



**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ
ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ
ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ**

Τμήμα Επιστημών Υγείας
Φαρμακευτική ΕΚΠΑ

**ΣΗΜΑΣΙΑ ΥΔΡΟΦΙΛΩΝ
ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΣΤΟ ΔΕΡΜΑ**



Μεταπτυχιακή Φοιτήτρια: Δημακοπούλου Αγγελική

Υπεύθυνος καθηγητής: Μιχαήλ Ράλλης

Αθήνα, 2017

Αφιερώνεται στους γονείς μου,
Διονύσιο και Θεοδώρα ...

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Ράλλης Μιχαήλ, Επίκουρος Καθηγητής Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Παρασκευάς Δάλλας, Επίκουρος Καθηγητής Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Βλάχου Κωνσταντινίδου Μαριλένα, Επίκουρη Καθηγήτρια Τομέα Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του μεταπτυχιακού «Βιομηχανική Φαρμακευτική» του τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Η πραγματοποίηση της έγινε κατά το ακαδημαϊκό έτος 2016-2017 από τη μεταπτυχιακή φοιτήτρια του τμήματος Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Αθηνών: Δημακοπούλου Αγγελική με θέμα: « Σημασία Υδροφίλων Αντιοξειδωτικών στο Δέρμα ». Η ανάθεση του θέματος έγινε από τον επίκουρο καθηγητή κ.Ράλλη Μιχαήλ.

Με την ολοκλήρωση της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη και τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου σε όσους με βοήθησαν και συνέβαλαν στην περάτωση της.

Πρώτον απ' όλους θα ήθελα να ευχαριστήσω βαθύτατα τον επιβλέποντα καθηγητή μου κύριο Ράλλη για την εξαιρετική συνεργασία που είχαμε, τις πολύτιμες συμβουλές και γνώσεις που μου προσέφερε αλλά και τη στήριξη που μου παρείχε. Τον κύριο Δάλλα και την κυρία Βλάχου που αποτελούν τα μέλη της τριμελούς μου επιτροπής. Δε θα μπορούσα να παραλείψω να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τη Μαρία Κυριαζή και την κυρία Παντερή Ειρήνη για την καθοδήγηση και τη βοήθεια που μου προσέφεραν.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω θερμά την οικογένεια μου για την αμέριστη και αδιάκοπη στήριξη που μου προσέφερε όλο αυτό το διάστημα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία αποτελεί ένα καθημερινό φαινόμενο, το οποίο προκαλεί ποικιλία θετικών ή αρνητικών επιδράσεων στο δέρμα, συναρτήσει της δόσης. Συσχετίζεται με την παραγωγή ελευθέρων ριζών και συνεπώς με την αύξηση του οξειδωτικού στρες στο δέρμα. Σαν αποτέλεσμα προκύπτουν παθολογικές καταστάσεις του δέρματος όπως ηλιακά εγκαύματα, φλεγμονές, καρκίνος και φωτογήρανση. Για τον περιορισμό των επιβλαβών αυτών επιπτώσεων σημαντικό ρόλο κατέχει το αντιοξειδωτικό σύστημα του δέρματος, το οποίο αποτελείται από ενζυμικά και μη-ενζυμικά αντιοξειδωτικά. Η μελέτη αντιοξειδωτικών παραγόντων, οι οποίοι μπορούν να προλάβουν ή να καταστείλουν το οξειδωτικό στρες, κρίνεται καθοριστικής σημασίας για την υγεία του δέρματος και ευρύτερα του ανθρώπου.

Μελετήθηκε η σημασία των υδρόφιλων αντιοξειδωτικών παραγόντων και συγκεκριμένα του ασκορβικού, ουρικού οξέος και της γλουταθειόνης σε δέρμα μυνών φυσιολογικό και φλεγμαίνον κάτω από διαφορετικές συνθήκες. Για κάθε πείραμα χρησιμοποιήθηκε διαφορετικό ζωικό πρότυπο, άλλες συνθήκες ακτινοβολίας και διαφορετική αγωγή. Εξετάσθηκε η μεταβολή τους υπό την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας και η μεταξύ τους συσχέτιση. Παράλληλα, αξιολογήθηκε η επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας και σε διαβητικό δέρμα μυνών.

Από τα αποτελέσματα συνάγεται ότι η έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία οδηγεί σε μείωση των αντιοξειδωτικών μορίων. Στην επιδερμίδα η συγκέντρωση τους ήταν πιο υψηλή σε σχέση με τη δερμίδα. Ο προστατευτικός ρόλος των υδρόφιλων αντιοξειδωτικών μορίων κρίθηκε ιδιαίτερα σημαντικός. Τέλος το διαβητικό δέρμα είναι πιο ευαίσθητο στην υπεριώδη ακτινοβολία και η περιεκτικότητά του σε υδρόφιλα αντιοξειδωτικά είναι μικρότερη του φυσιολογικού.

ABSTRACT

Exposure to ultraviolet radiation is a daily phenomenon that causes a variety of positive or negative effects on the skin, as a function of the dose. It is associated with the production of free radicals and consequently with the increase of oxidative stress on the skin. As a result, pathological conditions of skin such as sunburn, inflammation, cancer and photoaging occur. In order to limit these harmful effects, the antioxidant system of the skin, which consists of enzyme and non-enzymatic antioxidants, plays an important role. The study of antioxidant agents, which can prevent or suppress oxidative stress, is critical for the health of the skin and the human wider.

The importance of hydrophilic antioxidants, namely ascorbic, uric acid and glutathione, has been studied in normal and inflammatory muscle skin under different conditions. For each experiment a different animal model, other irradiation conditions, and different treatment were used. Their change under the influence of ultraviolet radiation and the correlation between them was examined too. At the same time, the effect of ultraviolet radiation on diabetic muscle skin was also evaluated.

The results show that exposure to ultraviolet radiation leads to a decrease in antioxidant molecules. In the epidermis their concentration was higher than in the dermis. The protective role of hydrophilic antioxidant molecules has been found to be particularly important. Finally, diabetic skin is more susceptible to ultraviolet radiation and its content in hydrophilic antioxidants is less than normal.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	4
ABSTRACT	5
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	12
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	13
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ	14
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	15
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΤΟ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΔΕΡΜΑ	15
1.1 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΔΕΡΜΑΤΟΣ	16
1.2 ΔΟΜΗ ΔΕΡΜΑΤΟΣ	16
1.2.1. ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑ	16
1.2.2. ΧΟΡΙΟ	18
1.2.2.1. ΧΟΡΙΟ-ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΗ ΕΝΩΣΗ	19
1.2.3. ΥΠΟΔΕΡΜΑ.....	19
1.3 ΑΓΓΕΙΑ ΚΑΙ ΝΕΥΡΑ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ	19
1.4 ΤΑ ΕΞΑΡΤΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ.....	21
1.5 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ	22
1.6 ΤΥΠΟΙ ΔΕΡΜΑΤΟΣ	22
1.7 ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ ΒΙΤΑΜΙΝΩΝ ΚΑΙ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΣΤΟ ΔΕΡΜΑ	23
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΔΕΡΜΑ ΚΑΙ ΗΛΙΑΚΟ ΦΩΣΉ ΥΠΕΡΙΩΔΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ	26
2.1 ΩΦΕΛΙΜΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΗΛΙΟΥ.....	27
2.2 ΒΛΑΒΕΡΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΗΛΙΟΥ	27
2.3 Η ΥΠΕΡΙΩΔΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ.....	28
2.4 ΚΑΤΑΣΤΡΕΠΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΕΠΙΠΕΔΟ.....	30
2.4.1. ΔΙΑΣΠΑΣΗ ΤΟΥ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟΥ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ (ΦΩΤΟΓΗΡΑΝΣΗ) ..	30
2.4.2. ΔΙΑΚΟΠΗ ΤΗΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΝΕΟΥ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟΥ	31
2.4.3. ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ	31
2.4.4. ΚΑΤΑΣΤΡΟΦΗ ΤΟΥ DNA	32
2.4.5. ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ DNA	32
2.4.6. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΟ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	32
2.4.7. ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΘΑΝΑΤΟΣ.....	33
2.5 ΚΑΤΑΣΤΡΕΠΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΣΕ ΕΠΙΠΕΔΟ ΔΕΡΜΑΤΟΣ	33
2.5.1. ΕΠΙΔΕΙΝΩΣΗ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ – ΦΩΤΟΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ	33
2.5.2. ΑΛΛΕΡΓΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ.....	33

2.5.3. ΗΛΙΑΚΟ ΕΓΚΑΥΜΑ.....	33
2.5.4. ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ	34
2.5.5. ΜΕΛΑΝΩΜΑ	35
2.6 ΕΝΔΟΓΕΝΕΙΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ ΑΠΟ ΤΙΣ ΒΛΑΠΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ	35
2.7 ΤΡΟΠΟΙ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ ΑΠΟ ΤΙΣ ΒΛΑΠΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ	35
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ.....	37
3.1 ΟΞΥΓΟΝΟΥΧΕΣ ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ (OXYGEN FREE RADICALS) ΚΑΙ ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥΧΕΣ ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ (ROS)	38
3.2 ΠΗΓΕΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ.....	39
3.2.1. ΕΝΔΟΓΕΝΕΙΣ ΠΗΓΕΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ.....	39
3.2.2. ΕΞΟΓΕΝΕΙΣ ΠΗΓΕΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ.....	40
3.3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΕΙΔΩΝ ΟΞΥΓΟΝΟΥ.....	41
3.3.1. ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ	41
3.3.2 ΑΡΝΗΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ.....	41
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS	43
4.1 ΟΙ ΚΥΡΙΟΤΕΡΕΣ ΒΛΑΒΕΣ ΑΠΟ ΤΟ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ	44
4.2 ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ	45
4.2.1. ΑΜΕΣΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ.....	45
4.2.2. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΒΛΑΒΗΣ ΣΤΑ ΛΙΠΙΔΙΑ, ΤΙΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΚΑΙ ΤΟ DNA	45
4.2.3. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ.....	46
4.2.3.1. ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ	46
4.2.3.2. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ.....	46
4.2.3.3. ΟΛΙΚΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ.....	46
4.2.3.4. ΑΛΛΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ	46
4.3 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΑΣΚΗΣΗ.....	47
4.4 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ	47
4.5 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΕΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΔΕΡΜΑΤΟΣ	48
4.6 ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ STRESS	49
4.7 ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ ΣΤΡΕΣ	49
4.7.1. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ.....	50
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ.....	51
5.1 ΙΣΧΥΡΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ.....	52
5.2 ΤΡΟΠΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΙΚΩΝ ΚΑΙ ΜΗ ΕΝΖΥΜΙΚΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΟΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ	53
5.3 ΕΝΖΥΜΙΚΟΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ	53

5.4 ΜΗ ΕΝΖΥΜΙΚΟΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ.....	54
5.4.1. ΑΣΚΟΡΒΙΚΟ ΟΞΥ (VITAMIN C).....	57
5.4.1.1. Ο ΑΜΦΙΠΛΕΥΡΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ	58
5.4.1.2. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ C.....	59
5.4.2. ΟΥΡΙΚΟ ΟΞΥ.....	61
5.4.2.1. ΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ	61
5.4.2.2. ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ	61
5.4.2.3. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΟΥΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ	62
5.4.3. ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗ (GSH).....	63
5.4.3.1. ΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ	63
5.4.3.2. ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ	64
5.4.3.3. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ	64
5.4.3.4. ΔΡΑΣΕΙΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ	65
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ (HPLC).....	68
6.1 ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΥΓΡΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ ΥΨΗΛΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ..	68
6.2 ΔΙΑΛΥΤΕΣ ΚΙΝΗΤΗΣ ΦΑΣΗΣ.....	69
6.3 ΣΤΗΛΕΣ	69
6.5 ΑΝΙΧΝΕΥΤΕΣ	70
6.6 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ.....	70
6.6.1. ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	70
6.6.2. ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	71
6.7 ΗΛΕΚΤΡΟΧΗΜΙΚΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΣ.....	71
6.7.1. ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΜΕ ΗΛΕΚΤΡΟΧΗΜΙΚΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ (LC-EC, liquid chromatography with electrochemical detection)	71
6.7.1.1. ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ LC-EC.....	72
6.7.1.2. ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ LC-EC	72
 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	74
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	74
1.1 ΥΛΙΚΑ.....	74
1.1.1. Αντιδραστήρια	74
1.1.2. Συσκευές	74
1.2 ΜΕΘΟΔΟΙ	76
1.2.1. Προετοιμασία των Προτύπων Διαλυμάτων.....	76
1.2.2. Παρασκευή κινητών φάσεων	77
1.2.3. Προετοιμασία ρυθμιστικών διαλυμάτων για την επεξεργασία των δειγμάτων.....	77
1.2.4. Επεξεργασία δειγμάτων.....	78

1.3 HPLC ΑΝΑΛΥΣΗ	79
1.4 ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΚΑΜΠΥΛΩΝ ΑΝΑΦΟΡΑΣ	79
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΝΕΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΩΝ-ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΜΟΡΙΩΝ.....	83
2.Α. Πειραματική Διαδικασία.....	83
2.Β. Αποτελέσματα - Συζήτηση αποτελεσμάτων	84
2.Γ. Στατιστική Επεξεργασία	91
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΜΕΛΕΤΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΩΝ ΑΠΟ ΧΕΛΙ.....	93
3.Α. Πειραματική διαδικασία	93
3.Β. Αποτελέσματα- Συζήτηση αποτελεσμάτων	94
3.Γ. Στατιστική Επεξεργασία	96
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΩΝ ΜΕ ΤΡΕΤΙΝΟΪΝΗ, ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ, ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΟ ΑΥΞΗΤΙΚΟ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΚΑΙ ΣΑΛΙΚΥΛΙΚΟ ΟΞΥ ΣΤΗ ΦΩΤΟΓΗΡΑΝΣΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ.....	98
4.Α. Πειραματική διαδικασία	100
4.Β. Αποτελέσματα- Συζήτηση αποτελεσμάτων	101
4.Γ. Στατιστική Επεξεργασία	105
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΜΕΛΕΤΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΜΕΛΙΣΣΟΚΟΜΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΚΑΙ ΠΑΡΑΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΗΛΙΑΚΟΥ ΕΓΚΑΥΜΑΤΟΣ 2 ^{ου} ΒΑΘΜΟΥ.....	107
5.Α. Πειραματική διαδικασία	109
5.Β. Αποτελέσματα- Συζήτηση αποτελεσμάτων	110
5.Γ. Στατιστική Επεξεργασία	112
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟ ΚΑΙ ΔΙΑΒΗΤΙΚΟ ΔΕΡΜΑ.....	114
6.Α. Πειραματική διαδικασία	115
6.Β. Αποτελέσματα- Συζήτηση αποτελεσμάτων	116
6.Γ. Στατιστική Επεξεργασία	120
 Προκαταρκτική εξέταση των υδρόφιλων αντιοξειδωτικών στην κεράτινη στοιβάδα του ανθρώπου.....	122
 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	123
ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ	125
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ-ΔΙΑΔΙΚΤΥΑΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ	126

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ	136
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΜΟΡΙΩΝ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΚΑΙ ΣΤΑ STRIPPING ΔΕΡΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΥΤΩΝ	136
Μελέτη αντιοξειδωτικής δράσης εκχυλισμάτων λιπιδίων από χέλι	136
Μελέτη αντιοξειδωτικής δράσης μελισσοκομικών προϊόντων και παραπροϊόντων στη θεραπεία ηλιακού εγκαύματος 2 ^{ου} βαθμού.	140
Επίδραση και σύγκριση σκευασμάτων με τρετινοΐνη, γαλακτικό οξύ, επιδερμικό αυξητικό παράγοντα και σαλικυλικό οξύ στη φωτογήρανση του δέρματος	144
• Ιστοί δερμάτων	144
• Stripping δερμάτων.....	148
Η επίδραση της ακτινοβολίας σε φυσιολογικό και διαβητικό δέρμα	151
• Stripping δερμάτων μετά από 3 μήνες ακτινοβολήσης.....	151
• Stripping δερμάτων μετά από 5 μήνες ακτινοβολήσης.....	154
Μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης νέων παραγώγων αντιφλεγμονωδών-αντιοξειδωτικών μορίων	157
• Για ιστούς δερμάτων.....	157
• Στα stripping των δερμάτων (φάση 1)	162
• Στα stripping των δερμάτων (φάση 2)	164

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Δεδομένα πρότυπων διαλυμάτων ουρικού οξέος

Πίνακας 2: Δεδομένα πρότυπων διαλυμάτων ασκορβικού οξέος

Πίνακας 3: Δεδομένα πρότυπων διαλυμάτων γλουταθειόνης

Πίνακας 4,7,8,10: Αποτελέσματα συγκεντρώσεων ασκορβικού, ουρικού οξέος και γλουταθειόνης

Πίνακας 5,6,9: Αποτελέσματα συγκεντρώσεων ουρικού οξέος και γλουταθειόνης

Πίνακας 11: Αποτελέσματα συγκεντρώσεων ουρικού οξέος και γλουταθειόνης μετά από 3 μήνες ακτινοβολήσης σε φυσιολογικό και διαβητικό δέρμα

Πίνακας 12: Αποτελέσματα συγκεντρώσεων ουρικού οξέος και γλουταθειόνης μετά από 5 μήνες ακτινοβολήσης σε φυσιολογικό και διαβητικό δέρμα

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Δομή δέρματος και εξαρτημάτων του

Εικόνα 2: UVA & UVB ακτινοβολία

Εικόνα 3: Το αποτέλεσμα των UVA & UVB στο δέρμα

Εικόνα 4: Αποτελέσματα UV ακτινοβολίας στο δέρμα

Εικόνα 5: Δομή ελεύθερης ρίζας

Εικόνα 6: Αλυσιδωτή αντίδραση ελευθέρων ριζών

Εικόνα 7: Η παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) από την επιστράτευση των πολυμορφοσυνεργιστών (PMN) στο εσωτερικό του κυττάρου, όπου $O_2^{\cdot -}$ = ρίζα σουπεροξειδίου, $OH^{\cdot}$ = ρίζα υδροξυλίου, H_2O_2 = υπεροξείδιο του υδρογόνου, $HOCl$ = υποχλωριώδες οξύ, O_2 = οξυγόνο.

Εικόνα 8: Εξωγενείς πηγές παραγωγής ελευθέρων ριζών.

Εικόνα 9: Σχηματική απεικόνιση οξειδωτικού στρες.

Εικόνα 10: Σχηματική απεικόνιση ποικίλων μεταγραφικών παραγόντων που επηρεάζονται από τις ROS. Μεταγωγέας σήματος και ενεργοποιητής της μεταγραφής-STAT3, μέσω υποξίας επαγόμενος παράγοντας-1α (HIF-1α), ενεργοποιός πρωτεΐνη-1 (AP-1), πυρηνικός παράγων των ενεργοποιημένων T λεμφοκυττάρων E2 (Nrf2).

Εικόνα 11: Θέσεις των πρωτογενών ενζυμικών και μη ενζυμικών αντιοξειδωτικών σε μυϊκά κύτταρα, GPX= υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, SOD1= υπεροξειδική δισμουτάση 1, SOD2=υπεροξειδική δισμουτάση 2, GPx = υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, GR = αναγωγή της γλουταθειόνης, GSSG = οξειδωμένη γλουταθειόνη, GSH = αναγμένη γλουταθειόνη, γ-GCS = γ-γλουτάμυλο-κυστεΐνη, NADPH = νικοτινάμιο δινουκλεοτιδικό φωσφορικό.

Εικόνα 12: Δράση αντιοξειδωτικού μορίου

Εικόνα 13: Απεικόνιση της δράσης της υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD), της καταλάσης (CAT), της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPX) και της αναγωγής της γλουταθειόνης

Εικόνα 14: Δομή βιταμίνης C

Εικόνα 15: Δομή ουρικού οξέος

Εικόνα 16: Δομή γλουταθειόνης

Εικόνα 17: Φυγόκεντρος

Εικόνα 18: Λουτρό Υπερήχων

Εικόνα 19: Ζυγός

Εικόνα 20: Μαγνητικός Αναδευτήρας

Εικόνα 21: Σύστημα HPLC

Εικόνα 22: Σύστημα διήθησης κινητών φάσεων

Εικόνα 23 a,b,c: Χρωματογραφήματα πρότυπων διαλυμάτων ασκορβικού, ουρικού οξέος και γλουταθειόνης (10, 10, 250 μ M)

Εικόνα 24: Πρόκληση διαβήτη σε φυσιολογικό δέρμα

Εικόνα 25: Χρωματογράφημα ουρικού οξέος σε ανθρώπινο δέρμα

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ

Διάγραμμα 1: Πρότυπη καμπύλη αναφοράς ουρικού οξέος

Διάγραμμα 2: Πρότυπη καμπύλη αναφοράς ασκορβικού οξέος

Διάγραμμα 3: Πρότυπη καμπύλη αναφοράς γλουταθειόνης

Διάγραμμα 4,13,16,21: Συγκέντρωση ασκορβικού οξέος σε κάθε ομάδα (στους ιστούς δερμάτων)

Διάγραμμα 5,14,17,22: Συγκέντρωση ουρικού οξέος σε κάθε ομάδα (στους ιστούς δερμάτων)

Διάγραμμα 6,15,18,23: Συγκέντρωση γλουταθειόνης σε κάθε ομάδα (στους ιστούς δερμάτων)

Διάγραμμα 7,9,19: Συγκέντρωση ουρικού οξέος σε κάθε ομάδα (στα stripping δερμάτων)

Διάγραμμα 8,10,20 : Συγκέντρωση γλουταθειόνης σε κάθε ομάδα (στα stripping δερμάτων)

Διάγραμμα 11: Σύγκριση αποτελεσμάτων ουρικού οξέος μεταξύ των δύο φάσεων

Διάγραμμα 12: Σύγκριση αποτελεσμάτων γλουταθειόνης μεταξύ των δύο φάσεων

Διάγραμμα 24: Συγκέντρωση ουρικού οξέος σε φυσιολογικό και διαβητικό δέρμα (μετά από 3 μήνες ακτινοβολήσης)

Διάγραμμα 25: Συγκέντρωση γλουταθειόνης σε φυσιολογικό και διαβητικό δέρμα (μετά από 3 μήνες ακτινοβολήσης)

Διάγραμμα 26: Συγκέντρωση ουρικού οξέος σε φυσιολογικό και διαβητικό δέρμα (μετά από 5 μήνες ακτινοβολήσης)

Διάγραμμα 27: Συγκέντρωση γλουταθειόνης σε φυσιολογικό και διαβητικό δέρμα (μετά από 5 μήνες ακτινοβολήσης)

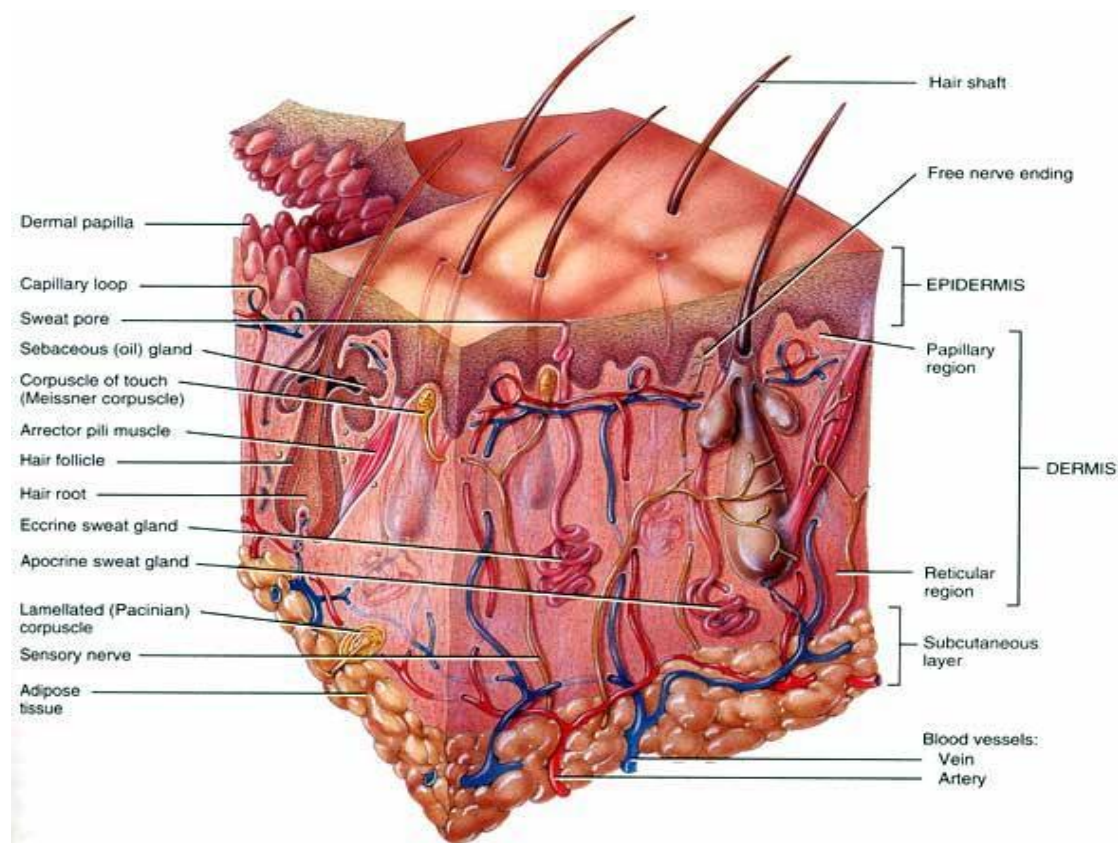
Διάγραμμα 28: Σύγκριση της συγκέντρωσης ουρικού οξέος σε φυσιολογικό και διαβητικό δέρμα (μετά από 3 και 5 μήνες ακτινοβολήσης)

Διάγραμμα 29: Σύγκριση της συγκέντρωσης γλουταθειόνης σε φυσιολογικό και διαβητικό δέρμα (μετά από 3 και 5 μήνες ακτινοβολήσης)

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΤΟ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΔΕΡΜΑ

Το ανθρώπινο δέρμα δεν είναι ένα προστατευτικό κάλλυμα για το σώμα. Αποτελεί ένα φράγμα, το οποίο παρεμβάλλεται ενεργά μεταξύ του οργανισμού και του περιβάλλοντος. Αντιπροσωπεύει το 16% του συνολικού βάρους του ενώ το πάχος του είναι ίσο με 0,5-5 mm και ποικίλει από περιοχή σε περιοχή. Η επιφάνεια του δέρματος είναι μεγαλύτερη σε έκταση από την επιφάνεια του σώματος, περίπου 1,8 τ.μ., αφού σε κάποιες περιοχές αναδιπλώνεται και εμφανίζεται ανώμαλη καθώς παρατηρούνται σ' αυτή οι τρίχες, το χνούδι, οι πόροι, οι δερματικές θηλές, οι πτυχές, οι δερματικές ακρολοφίες και οι γραμμές του Langer. Το χρώμα του δέρματος οφείλεται στη φυσιολογική χρωστική τη μελανίνη, στο πάχος της κεράτινης στοιβάδας της επιδερμίδας, στον αριθμό και στην ανατομική θέση των αγγείων. Λεπτότερο είναι το δέρμα στα χείλη, στα βλέφαρα, στα αυτιά, στην πόσθη, ενώ πιο παχύ είναι στις παλάμες, στα πέλματα, στην εσωτερική επιφάνεια των δαχτύλων, στους γλουτούς και στο εφήβαιο και λειτουργεί τόσο ως προστατευτική ασπίδα, όσο και ως ρυθμιστής της επιρροής ανάμεσα στον εξωτερικό κόσμο και το ελεγχόμενο περιβάλλον που υπάρχει σ' αυτό. Αποτελείται από την επιδερμίδα με τα εξαρτήματά της και το χόριο με το υποδόριο λίπος. [1,2,11]



Εικόνα 1: Δομή δέρματος και εξαρτημάτων του [a]

Capillary loop	=	τριχοειδής αγκύλη
Dermal papilla	=	δερματική θηλή
Sweat pore	=	ιδρωτοποιός πόρος
Sebaceous (oil) gland	=	σμηγματογόνος αδένας
Corpuscle of touch	=	κύτταρα της αφής
Arrector pili muscle	=	ανελκτήρας μυς της τρίχας
Hair follicle	=	τριχικός θύλακας
Hair root	=	ρίζα της τρίχας
Exocrine sweat gland	=	εξωκρινείς ιδρωτοποιός αδένας
Apocrine sweat gland	=	απεκκριτικός ιδρωτοποιός αδένας
Lamellated corpuscle	=	φολιδώδη κύτταρα
Sensory nerve	=	αισθητήρια νεύρα
Adipose tissue	=	λιπώδης ιστός
Hair shaft	=	στέλεχος της τρίχας
Free nerve ending	=	ελεύθερη νευρική απόληξη
Epidermis	=	επιδερμίδα
Papillary region	=	θηλώδες στρώμα
Dermis	=	κύριο δέρμα, χόριο
Reticular region	=	δικτυωτό στρώμα
Subcutaneous layer	=	υποδόρια στοιβάδα
Blood vessels	=	αιμοφόρα αγγεία
Vein	=	φλέβα
Artery	=	αρτηρία

1.1 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Το δέρμα αποτελεί έναν εξωτερικό μη ειδικό μηχανισμό άμυνας. Λόγω του ότι έρχεται σε άμεση επαφή με το εξωτερικό περιβάλλον διαθέτει ορισμένες ιδιότητες απαραίτητες για την επιβίωση του ατόμου. Είναι αδιαπέραστο από μικροοργανισμούς και χημικές ουσίες, δεν υφίσταται απώλεια υγρών και προστατεύει από τη βλαπτική δράση της υπεριώδους ακτινοβολίας μέσω μιας χρωστικής ουσίας, της μελανίνης, που βρίσκεται στα μελανοκύτταρα. Η ρύθμιση της θερμοκρασίας του σώματος γίνεται κατά κύριο λόγο μέσω του δέρματος με τα πολλά αιμοφόρα αγγεία και την εξάτμιση του ιδρώτα. Συμμετέχει στην παραγωγή της βιταμίνης D και στις μεταβολικές επεξεργασίες ορισμένων ορμονών από τις οποίες εξαρτώνται τα δευτερογενή χαρακτηριστικά του φύλου. [c]

1.2 ΔΟΜΗ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Αποτελείται από τρεις στιβάδες: την επιδερμίδα, το χόριο ή κυρίως δέρμα και την υποδερμίδα ή υποδερμάτιο πέταλο που βρίσκεται κάτω από το χόριο.

1.2.1. ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑ [1,3,4,5,6,7,8,9,10,11]

Η επιδερμίδα είναι η εξωτερική στοιβάδα του δέρματος. Βρίσκεται πάνω από τη δερμίδα. Είναι αδιαπέραστη και αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας κατά των εξωτερικών επιδράσεων. Αποτελείται από μια στοιβάδα κυττάρων που αργότερα μετατρέπεται σε δίστοιβη. Είναι ένα πολύπλοκο όργανο που καλύπτεται εξωτερικά από την κεράτινη στιβάδα, η οποία υφίσταται διαρκή φθορά λόγω απολέπισης. Η επιφάνεια

της προς το χόριο είναι ανώμαλη και κυματοειδής και παρουσιάζει κοιλώματα, στα οποία εισέρχονται οι δερματικές θηλές του χορίου.

Η επιδερμίδα έχει δύο κύριες λειτουργίες :

1. την κερατινοποίηση και
2. την μελανινογένεση.

Η κερατινοποίηση είναι η κατασκευή της νεκρής και σκληρής κεράτινης στιβάδας. Η μελανινογένεση είναι η παραγωγή της φυσιολογικής χρωστικής του δέρματος, της γνωστής σε όλους ως μελανίνη.

Οι στιβάδες της επιδερμίδας από το βάθος προς την επιφάνεια είναι οι ακόλουθες:

1. Η βασική ή μητρική στιβάδα,
2. Η ακανθωτή στιβάδα,
3. Η κοκκώδης στιβάδα και
4. Η κεράτινη στιβάδα.

Κάθε μία από τις στιβάδες αυτές αποτελείται από διαφορετικά κύτταρα, τα οποία επιτελούν συγκεκριμένες λειτουργίες απαραίτητες για την υγεία και τις λειτουργίες του δέρματος.

Η βασική ή μητρική στιβάδα αποτελείται από μια σειρά επιθηλιακών κυττάρων, τα οποία διατάσσονται το ένα δίπλα στο άλλο σαν πάσσαλοι ενός φράκτη. Τα κύτταρα της βασικής στιβάδας παρουσιάζουν μιτώσεις, πολλαπλασιάζονται και ανεβαίνουν προς την επιφάνεια για να σχηματίσουν την κεράτινη στιβάδα. Χρειάζονται περίπου 28 ημέρες μέχρι να φθάσουν τα κύτταρα της μητρικής στιβάδας στην επιφάνεια της επιδερμίδας. Αυτή η διαδικασία της ανανέωσης των κυττάρων ονομάζεται κερατινοποίηση.

Η ακανθωτή στιβάδα βρίσκεται πάνω από την βασική στιβάδα. Αποτελείται από πολλές σειρές πολυγωνικών κυττάρων.

Η κοκκώδης στιβάδα αποτελείται από μία έως τέσσερις σειρές ρομβοειδών και αποπεπλατυσμένων κυττάρων. Αυτή περιέχει κοκκία κερατοϋαλίνης, τα οποία αποτελούν την πρόδρομη ουσία της κεράτινης στιβάδας.

Η τελική, εξωτερική στιβάδα είναι η κεράτινη, η οποία αποτελείται από απύρηννα, επιπεδωμένα κύτταρα. Αυτά τα κύτταρα περιέχουν μια ινώδη πρωτεΐνη, την κερατίνη. Το ένα κερατινοκύτταρο επικαλύπτει το άλλο σαν κεραμίδια. Στόχος των κερατινοκυττάρων είναι να εμποδίζουν το νερό και άλλες ουσίες να μουν στον οργανισμό. Οι στρώσεις των κυττάρων παρουσιάζονται πιο σφικτές στο βάθος της στιβάδας, ενώ όσο ανεβαίνουν προς την επιφάνεια χαλαρώνουν μέχρι να απομακρυνθούν πλήρως.

Η κοκκώδης, η διανυγής και η κεράτινη στιβάδα έχουν συνολικό πάχος από 10 μέχρι 300 μικρά και είναι ιδιαίτερα αναπτυγμένες στις περιοχές του δέρματος που έχουν θηλές.

Η επιδερμίδα περιέχει τέσσερα είδη κυττάρων:

1. Κερατινοκύτταρα
2. Μελανοκύτταρα
3. Κύτταρα του Langerhans
4. Τα κύτταρα του Merkel

Τα κερατινοκύτταρα είναι τα κύτταρα που κατακλύζουν την επιδερμίδα. Ξεκινάνε από τη βασική στοιβάδα, όπου παρουσιάζουν και τη μεγίστη μιτωτική δραστηριότητα. Έχουν ένα μεγάλο βαθυχρωματικό πυρήνα με έναν ή περισσότερους πυρηνίσκους. Το κυτταρόπλασμα των κερατινοκυττάρων περιέχει ριβοσώματα, μιτοχόνδρια και τονοϊνίδια (δηλαδή, πολυπεπτίδια που συμμετέχουν στην κατασκευή των δεσμοσωμάτων), τα οποία συνδέουν τα κύτταρα της επιδερμίδας μεταξύ τους. Το κάθε κερατινοκύτταρο κινείται προς τις εξωτερικές στοιβάδες για να φτάσει τελικά στην κεράτινη στοιβάδα. Η διαδικασία παραγωγής του κερατινοκυττάρου, η οποία ξεκινάει από τη βασική στοιβάδα, υφίσταται μεγάλο αριθμό μεταβολών και τελικά καταλήγει στην κεράτινη στοιβάδα ως απύρνηνο, αποπλατυσμένο πετάλιο.

Τα μελανοκύτταρα βρίσκονται ανάμεσα και κάτω από το κύτταρα της βασικής στοιβάδας. Αυτά είναι υπεύθυνα για την παραγωγή της μελανίνης. Η ποσοτική τους σχέση με τα κύτταρα της βασικής στοιβάδας είναι 1:5. Τα μελανοκύτταρα είναι κύτταρα νευρογενούς προέλευσης και φέρουν δενδρίτες, όπου διακλαδίζονται μεταξύ των επιθηλιακών κυττάρων. Οι δενδρίτες είναι γεμάτοι από μελανοσώματα (κοκκία που περιέχουν μελανίνη προερχόμενη από τη διαδικασία της μελανογένεσης). Ο αριθμός των μελανοκυττάρων είναι ο ίδιος σε όλες τις φυλές, διαφέρουν όμως στον αριθμό και το μέγεθος των μελανοσωμάτων. Τα μελανοσώματα που βρίσκονται στους δενδρίτες των μελανοκυττάρων, φαγοκυτταρώνονται από τα επιθηλιακά κύτταρα, περιβάλουν τον πυρήνα των κυττάρων αυτών και τα προστατεύουν από την υπερϊώδη ακτινοβολία. Κάθε μελανοκύτταρο "αρδεύει" αρκετά επιθηλιακά κύτταρα.

Τα κύτταρα του Langerhans (LC) είναι δενδριτικά κύτταρα μεσεγχυματικής προέλευσης και βρίσκονται πάνω από τη βασική στοιβάδα. Τα LC συμμετέχουν στην ανοσολογική λειτουργία και είναι υπεύθυνα για την αναγνώριση και παρουσίαση των αλλεργιογόνων στα λεμφοκύτταρα.

Τα κύτταρα του Merkel εξυπηρετούν την αισθητική λειτουργία του δέρματος και είναι άφθονα σε περιοχές μεγάλης ευαισθησίας.

1.2.2. ΧΟΡΙΟ [11,d]

Το χόριο τρέφει και υποστηρίζει την επιδερμίδα, βρίσκεται κάτω από αυτήν και είναι η μεγαλύτερη στοιβάδα του δέρματος. Η επιφάνειά του είναι ανώμαλη και εμφανίζει πολλές προεκβολές. Αποτελείται από κύτταρα, ίνες, αγγεία, νεύρα και τη βασική ουσία, η οποία είναι μία άμορφη κολλώδης ουσία που περιέχει πολυσακχαρίτες, λευκώματα και ηλεκτρολύτες. Το πάχος του κυμαίνεται από 0,3-4mm. Στο χόριο υπάρχουν αυτόχθονα και ετερόχθονα κύτταρα. Τα περισσότερα από τα αυτόχθονα κύτταρα είναι οι ινοβλάστες, οι οποίοι συνθέτουν 3 ειδών ίνες: τις κολλαγόνες ίνες, τις ελαστικές ίνες και τέλος τις δικτυωτές ίνες, τα ιστοκύτταρα, τα σιτευτικά κύτταρα, τα πολυμορφοπύρνηνα, τα ουδετερόφιλα, και τα πλασματοκύτταρα. Τα ετερόχθονα κύτταρα του χορίου είναι τα μαστοκύτταρα, τα μακροφάγα και τα λεμφοκύτταρα.

Λόγω των ινών το χόριο θεωρείται από μηχανικής άποψης το σημαντικότερο τμήμα του δέρματος. Χαρακτηριστικό και αποδεικτικό της μεγάλης αντοχής του χορίου είναι το ότι το δέρμα του εμπορίου προέρχεται από κατεργασμένο και βαμμένο χόριο από δέρμα ζώων. Οι κολλαγόνες ίνες είναι παχύτερες και τραχύτερες στα βαθύτερα στρώματα του χορίου (δικτυωτό στρώμα) σε σχέση με τα πιο επιφανειακά στρώματα (θηλώδες στρώμα), όπου οι κολλαγόνες ίνες είναι λεπτότερες και πιο χαλαρές.

Στο χόριο υπάρχουν:

- οι ρίζες των τριχών
- οι αδένες
- τα αιμοφόρα αγγεία

- τα κύτταρα συνδετικού ιστού
- τα ελεύθερα κύτταρα του ανοσολογικού συστήματος και
- τα νευρικά κύτταρα.

Το χόριο διακρίνεται σε δύο στοιβάδες:

- α) τη θηλώδη στοιβάδα και
- β) τη δικτυωτή στοιβάδα

Η θηλώδης στοιβάδα συνορεύει με το βασικό υμένα της επιδερμίδας, με την οποία και διαπλέκεται με τις θηλές. Επίσης, διαπλέκεται με τις δικτυωτές ίνες και τα ριζικά πόδια της βασικής στοιβάδας της επιδερμίδας. Χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι οι μικρές θηλές που υπάρχουν στο δέρμα των βλεφάρων και οι πολλές και καλά αναπτυγμένες στο δέρμα από το γόνατο και τον αγκώνα, τα οποία δέχονται συνεχείς μικρότερες ή μεγαλύτερες πιέσεις. Επίσης, στο τριχωτό δέρμα οι θηλές μπορεί να λείπουν, αλλά στο άτριχο δέρμα είναι υψηλές.

Η δικτυωτή στοιβάδα αποτελείται από τις διαπλεκόμενες κολλαγόνες ίνες στις οποίες οφείλεται η αντίσταση του δέρματος στις μηχανικές πιέσεις. Το δίκτυο αυτών των ινών έχει ορισμένη διάταξη, στην οποία οφείλεται και το γεγονός πως μια τομή του δέρματος δεν αφήνει κυκλικό άνοιγμα, αλλά σχισμή.

1.2.2.1. ΧΟΡΙΟ-ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΗ ΕΝΩΣΗ

Η ένωση επιδερμίδας και χορίου γίνεται με καταδύσεις της επιδερμίδας στο χόριο και αντίστοιχες αναδύσεις του χορίου στην επιδερμίδα, γνωστές ως θηλές. Μία μεμβράνη, η βασική μεμβράνη, χωρίζει την επιδερμίδα από το χόριο και αποτελείται από δύο λεπτά πέταλα, διακριτά με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Αυτά τα πέταλα είναι: το διαυγές πέταλο, όπου βρίσκεται σε επαφή με τη βασική στιβάδα και το πυκνό πέταλο που βρίσκεται σε επαφή με το χόριο. Το πυκνό πέταλο είναι πλούσιο σε ινίδια κολλαγόνου, σαν άγκυρες, τα οποία "δένουν" την επιδερμίδα με το χόριο.

Η δερμο-επιδερμική ένωση εξασφαλίζει τη μηχανική υποστήριξη της επιδερμίδας και λειτουργεί και ως ημιδιαπερατό φίλτρο που ρυθμίζει τη δίοδο ουσιών από τα έξω προς τα μέσα και αντίστροφα.

1.2.3. ΥΠΟΔΕΡΜΑ [1,11,d]

Το υπόδερμα είναι το τρίτο και βαθύτερο στρώμα του δέρματος, είναι συνεκτικός ιστός, στον οποίο βρίσκονται σε μεγάλο αριθμό λιποκύτταρα, τα οποία είναι τα κύτταρα που εναποθηκεύουν λίπος. Λειτουργεί ως: α) μονωτικό έναντι της θερμότητας, β) λιποαποθήκη και γ) βοηθά και στην απορρόφηση των κραδασμών.

1.3 ΑΓΓΕΙΑ ΚΑΙ ΝΕΥΡΑ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ [12]

Τα αγγεία του δέρματος (αρτηρίες-φλέβες-τριχοειδή) δημιουργούν δύο κύρια οριζόντια πλέγματα. Το εν τω βάθει αγγειακό πλέγμα, το οποίο βρίσκεται κοντά στο υποδόριο λίπος και τροφοδοτεί τους ιδρωτοποιούς αδένες και τους θυλάκους των τριχών. Το επιπολής αγγειακό πλέγμα βρίσκεται στο ανώτερο-χόριο (θηλώδες στρώμα) και εκπέμπει τις τριχοειδείς αγκύλες, οι οποίες αιματώνουν τις ανώτερες στιβάδες του χορίου και την επιδερμίδα. Επίσης, μέσα στο χόριο υπάρχουν λεμφαγγεία, όπως και

πλήθος αισθητικών νεύρων και νευρικών απολήξεων, τα οποία εξασφαλίζουν την αίσθηση της αφής και τις πολλαπλές παραλλαγές της (πόνος-αίσθηση θερμού-ψυχρού, πίεσης κλπ).

1.4 ΤΑ ΕΞΑΡΤΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ [10,11,12]

Τα εξαρτήματα του δέρματος είναι τα εξής:

- Τρίχες
- Νύχια
- Αδένες (ιδρωτοποιοί και σμηγματογόνοι)

και προέρχονται από επιθηλιακές βλάστες κατά την εμβρυογένεση και βρίσκονται στο χόριο και το υπόδερμα, με εξαίρεση τα νύχια.

Οι τρίχες αποτελούν κεράτινα εξαρτήματα του δέρματος, προερχόμενα από μια βαθιά περιγεγραμμένη εσοχή της επιδερμίδας. Απουσιάζουν από μερικές δερματικές περιοχές, όπως είναι οι παλάμες, τα πέλματα και ορισμένα μέρη των έξω γεννητικών οργάνων. Μέσω αυτών εξυπηρετείται η αφή και η διατήρηση της θερμοκρασίας. Η τρίχα αυξάνεται από τα κύτταρα του βολβού και τρέφεται από τη θηλή της τρίχας. Καταστροφή της θηλής συνεπάγεται απώλεια της τρίχας. Στην τρίχα διακρίνουμε: α) τη ρίζα της και β) το στέλεχος. Η ρίζα της τρίχας βρίσκεται μέσα στο δέρμα και καταλήγει στο βολβό της ρίζας. Περιβάλλεται από έναν επιθηλιακό θύλακα στον οποίο εκβάλλει ένας σμηγματογόνος αδένας. Πάνω από την εκβολή του αδένος υπάρχει ο τριχικός πόρος και κάτω από αυτόν προσφύεται μια δεσμίδα λείων μυϊκών ινών, ο ορθωτήρας μυς της τρίχας, που εκτείνεται μέχρι την κάτω επιφάνεια της επιδερμίδας. Το στέλεχος της τρίχας εξέχει λοξά από το δέρμα. Κατά την αύξηση της τρίχας το στέλεχος επιμηκύνεται έως ότου φτάσει το κανονικό του μήκος. Στη συνέχεια ακολουθεί η περίοδος της ηρεμίας που ποικίλλει στη διάρκειά της. Η περίοδος ηρεμίας είναι μεγαλύτερη σε νεαρά και υγιή άτομα. Στο τέλος η ρίζα αποπίπτει. Συνήθως το 85% των τριχών βρίσκεται στην περίοδο της αύξησης και το 15% στην περίοδο της ηρεμίας. Κάθε μέρα υπάρχει απώλεια περίπου 50-100 τριχών. Το χρώμα της τρίχας οφείλεται κυρίως στη μελανίνη. Όταν οι τρίχες γίνονται γκριζές η παραγωγή μελανίνης από τα μελανοκύτταρα τείνει να σταματήσει.

Τα νύχια είναι θολωτά κεράτινα πέταλα που καλύπτουν τη ραχιαία επιφάνεια των ονυχοφόρων φαλάγγων των δακτύλων των χεριών και των ποδιών. Παίζουν σημαντικό ρόλο στην αίσθηση της αφής γιατί λειτουργούν ως αντερείσματα των ραγών των δακτύλων, στις οποίες είναι ιδιαίτερα αναπτυγμένη η αίσθηση της αφής. Κάθε νύχι έχει πάχος 0.5 mm και προσφύεται στο χόριο στην κοίτη του νυχιού. Αποτελείται από πολυγωνικές κερατινοποιημένες φολίδες, οι οποίες συνάπτονται στενότερα μεταξύ τους και εμφανίζουν διάταξη, όπως τα κεραμίδια. Μεταξύ των φολίδων αυτών φέρονται τρεις στοιβάδες αλληλοδιαπλεκόμενων τονικών ινιδίων. Κάθε νύχι εμφανίζει δύο επιφάνειες και τέσσερα χείλη. Το πρόσθιο χείλος είναι ελεύθερο, ενώ τα πλάγια και τα πίσω χείλη καλύπτονται από την αύλακα του νυχιού, η οποία στην περιοχή της ρίζας του νυχιού έχει μήκος 0.5 mm. Σε κάθε νύχι διακρίνουμε τρία μέρη: α) τη ρίζα (ριζονύχιο), β) το σώμα και γ) την κορυφή. Κάτω από τη ρίζα υπάρχει πάχυνση της βλαστικής στοιβάδας, η «μήτρα του νυχιού», από την οποία αυξάνεται το νύχι. Αν καταστραφεί η μήτρα του νυχιού, τότε το νύχι δεν αναγεννάται. Το νύχι αυξάνεται περίπου 0.14 με 0.4mm την ημέρα.

Ο σμηγματογόνος αδένας εκκρίνει το σμήγμα, μια ουσία, η οποία προέρχεται από την αποσύνθεση των κυττάρων του σμηγματογόνου αδένος. Ο σμηγματογόνος αδένας δεν έχει εκφορητικό μέρος και το σμήγμα φθάνει στην επιφάνεια μέσα από το θύλακα. Η δραστηριότητα αυτού αυξάνεται με την εφηβεία. Οι ιδρωτοποιοί αδένες ανήκουν στους εκκρινείς αδένες, υπάρχουν σε ολόκληρο το σώμα και σχετίζονται με τη θερμορύθμιση. Το σπειροειδές εκκριτικό μέρος του ιδρωτοποιού αδένος βρίσκεται στο δικτυωτό στρώμα του χορίου και ο εκφορητικός πόρος διασχίζει το θηλώδες στρώμα και την

επιδερμίδα και καταλήγει στην επιφάνεια του δέρματος. Μια κατηγορία ιδρωτοποιών αδένων είναι και οι σμηγματογόνοι αδένες (απεκρινείς), οι οποίοι υπάρχουν κυρίως στις μασχάλες και στη γεννητική περιοχή και είναι υπεύθυνα για την οσμή του σώματος. Ο εκφορητικός πόρος των σμηγματογόνων αδένων δεν φθάνει στην επιφάνεια του δέρματος αλλά καταλήγει στον τριχοσμηγματογόνο θύλακα και μέσω αυτού στην επιφάνεια του δέρματος. Η οσμή που προέρχεται από τους σμηγματογόνους αδένες είναι χαρακτηριστική για το φύλο, τη φυλή, ακόμα και για το ίδιο το άτομο

1.5 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ [d]

Το δέρμα επιτελεί τις παρακάτω λειτουργίες:

1. Βοηθάει στη ρύθμιση της θερμοκρασίας του σώματος και στην επούλωση των τραυμάτων.
2. Αποτελεί προστατευτικό φράγμα ενάντια σε βλαπτικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες.
3. Εμποδίζει την διείσδυση τοξινών και μικροβίων καθώς και την απώλεια ύδατος.
4. Προστατεύει το σώμα με το επιθήλιό του από τις διάφορες εξωτερικές επιδράσεις (μηχανικές, χημικές και θερμικές).
5. Είναι αισθητήριο όργανο, μεταβιβάζοντας ερεθίσματα από το εξωτερικό περιβάλλον στο εσωτερικό και αντιστρόφως.
6. Συμμετέχει στη διατήρηση του ισοζυγίου του νερού με το να προφυλάσσει το σώμα από την αποξήρανση και να αποτελεί οδό αποβολής υγρών και αλάτων με την έκκριση των αδένων του.
7. Έχει ανοσολογικό και μεταβολικό ρόλο.
8. Έχει εκκριτική λειτουργία.

Πιο συγκεκριμένα:

-Προστατευτική λειτουργία: το δέρμα μάς προστατεύει από τις βλαπτικές επιδράσεις του περιβάλλοντος και φυσικά από την ηλιακή ακτινοβολία. Η φυσική σκληρότητα του εμποδίζει την είσοδο βλαβερών χημικών και την εισβολή διάφορων βακτηρίων και ιών.

-Απεκκριτική λειτουργία: βοηθάει στην αποβολή του ιδρώτα και του σμήγματος, που έχουν θετικές επιδράσεις στο δέρμα σε φυσιολογικές συνθήκες.

-Αισθητήρια λειτουργία: το δέρμα αποτελεί το αισθητήριο της αφής, της πίεσης, του θερμού, του ψυχρού και του πόνου. Η περιοχή του δέρματος που εκτίθεται στον ήλιο αποτελεί το κύριο μέρος παραγωγής της βιταμίνης D που είναι αναγκαία για την ανάπτυξη και την συντήρηση των οστών.

-Θερμορυθμιστική λειτουργία: το δέρμα παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της θερμοκρασίας του σώματος με δύο μηχανισμούς: την παραγωγή κι εξάτμιση του ιδρώτα και τη διαστολή ή συστολή των επιφανειακών αγγείων.

1.6 ΤΥΠΟΙ ΔΕΡΜΑΤΟΣ [d]

Το δέρμα διακρίνεται σε:

1. ΚΑΝΟΝΙΚΟ ΔΕΡΜΑ: Είναι δέρμα με καθαρότητα, λεία όψη με μικρούς, κλειστούς και ομοιόμορφους πόρους. Δείχνει ενυδατωμένο, χωρίς σημάδια ξηρότητας ή λιπαρότητας. Δεν χρειάζεται εντατική περιποίηση αρκεί να καθαρίζεται κάθε βράδυ και να τοποθετείτε μια ενυδατική κρέμα. Ωστόσο η εμφάνιση αυτού του τύπου δέρματος δεν είναι ιδιαίτερα συχνή.

2. **ΛΙΠΑΡΟ ΔΕΡΜΑ:** Χαρακτηριστικό αυτού του τύπου δέρματος είναι οι ανοιχτοί πόροι και η υπερβολική έκκριση σμήγματος που κάνει το δέρμα να γυαλίζει, ενώ παράλληλα δείχνει θαμπό και τραχύ με πολλές ατέλειες όπως σπυράκια ή μαύρα στίγματα. Η περιποίηση του είναι πολύ δύσκολη αφού θα πρέπει να γίνει αφαίρεση του περιττού σμήγματος που εγκλωβίζεται στους πόρους και δημιουργεί τις ατέλειες. Παρά τη δυσκολία περιποίησής του, είναι ο πιο ανθεκτικός τύπος δέρματος στη δημιουργία ρυτίδων. Μπορεί να εμφανιστεί ακμή ακόμα και να υπάρξει αύξηση τριχοφυΐας. Το λιπαρό δέρμα της νεανικής ηλικίας συνήθως αντικαθίσταται με το ξηρό, τραχύ δέρμα στην εμμηνόπαυση.
3. **ΜΙΚΤΟ ΔΕΡΜΑ:** Πρόκειται για δέρμα που έχει τα χαρακτηριστικά τόσο του λιπαρού όσο και του ξηρού δέρματος. Παρουσιάζει λιπαρότητα στο λεγόμενο T του προσώπου δηλαδή στο μέτωπο, τη μύτη, το πηγούνι καθώς και ξηρότητα σε άλλες περιοχές. Η περιποίηση του είναι ιδιαίτερα δύσκολη και δεν αποτελεί βασικό τύπο αφού όλα τα δέρματα παρουσιάζουν μικτά στοιχεία.
4. **ΞΗΡΟ ΔΕΡΜΑ:** Είναι αδιάφανο, ευαίσθητο, με μικρά αγγεία και πόρους, συχνά ξεφλουδίζει ενώ σε περιοχές όπως τα μάγουλα έχει άγρια υφή. Δεν έχει καθόλου ελαστικότητα και εμφανίζει εύκολα ρυτίδες.
5. **ΕΥΑΙΣΘΗΤΟ ΔΕΡΜΑ:** Αυτός ο τύπος δέρματος χαρακτηρίζεται από ευαισθησία, τόσο στο περιβάλλον και τις κλιματολογικές συνθήκες, όσο και στα καλλυντικά. Αντιδρά σε χαμηλές θερμοκρασίες και παρουσιάζει δυσανεξία σε πολλά συστατικά. Εμφανίζει ερυθρότητα, κνησμό ή αίσθημα καύσου και μπορεί να επιβαρυνθεί και από το στρες.
6. **ΑΦΥΔΑΤΩΜΕΝΟ ΔΕΡΜΑ:** Η αφυδατωμένη επιδερμίδα χαρακτηρίζεται από την έλλειψη νερού. Η όψη του είναι θαμπή και πολλές φορές ξεφλουδίζει. Το δέρμα φαίνεται λεπτό, τραχύ, καθόλου ελαστικό και συχνά παρουσιάζει κοκκίνισμα και ερεθισμό.

Ο κάθε τύπος δέρματος μπορεί να αλλάξει με την πάροδο του χρόνου, τις ορμονικές μεταβολές, τις περιβαλλοντικές συνθήκες και απλά ο σκοπός είναι να παρατηρείται το πρόσωπο ώστε να ακολουθηθεί μία συγκεκριμένη φροντίδα που είναι η πιο κατάλληλη.

1.7 ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ ΒΙΤΑΜΙΝΩΝ ΚΑΙ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΣΤΟ ΔΕΡΜΑ [13,14,15,16]

Οι διατροφικοί παράγοντες ασκούν σημαντική δράση στο δέρμα, προστατεύοντάς το από τις περιβαντολλογικές επιδράσεις και βελτιώνοντας τη λειτουργία του. Πολλά νοσήματα με ανεπαρκή διαιτητική πρόσληψη μπορεί να εμφανίσουν διάφορες δερματικές εκδηλώσεις όπως: εξάνθημα στα άκρα, στις πτυχές, στο πρόσωπο, ατροφική γλωσσίδα και αλωπεκία. Όλα τα ανωτέρω συμβαίνουν, γιατί πολλά από τα θρεπτικά συστατικά συμμετέχουν στο μεταβολισμό των λιπαρών οξέων και η έλλειψη αυτών συνεπάγεται λανθασμένη ανάπτυξη της επιδερμίδας. Είναι γεγονός ότι η ελλιπής ανάπτυξη της επιδερμίδας δυσχεραίνει την επαφή με το εξωτερικό περιβάλλον ολόκληρου του οργανισμού.

➤ Έλλειψη βιταμίνης B2

Ενδείξεις έλλειψης βιταμίνης B2 (ριβοφλαβίνη) αποτελούν τα σκασίματα και η φλεγμονή στις γωνίες των χειλιών, η ατροφία της γλώσσας και η δερματίτιδα στη

περιοχή των γεννητικών οργάνων. Κύριες πηγές της είναι τα δημητριακά και ιδιαίτερα τα ολικής αλέσεως, το γάλα, το κρέας, τα αυγά, τα καρύδια και τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά.

➤ Έλλειψη βιταμίνης B3

Η έλλειψη της βιταμίνης B3 (νιασίνη) προκαλεί ένα χρόνιο νόσημα που ονομάζεται πελλάγρα. Η πελλάγρα παρουσιάζει ένα χαρακτηριστικό εξάνθημα στα μέρη του σώματος που εκτίθενται στο φως (π.χ πρόσωπο, λαιμός, χέρια και πόδια). Υπερβιταμίνωση με B3, η οποία μπορεί να προκληθεί μόνο από υπερδοσολογία συμπληρωμάτων, προκαλεί δερματικά εξανθήματα και κοκκινίλες. Οι κυριότερες πηγές της νιασίνης είναι τα δημητριακά ολικής άλεσης, τα πουλερικά, τα ψάρια, τα έλαια ξηρών καρπών, το κρέας μοσχαριού.

➤ Έλλειψη βιταμίνης A

Το χαρακτηριστικό εξάνθημα, «το φρυνόδερμα», προκαλείται από έλλειψη βιταμίνης A. Στο φρυνόδερμα εμφανίζονται πολλές μικρές σκληρές προεξοχές στο δέρμα των άνω και κάτω ακρών, τους ωμούς, καθώς και ακμή στο πρόσωπο. Η βιταμίνη A είναι πολύ σημαντική για την αντιοξειδωτική της δράση, η οποία βοηθάει στο να μειώσει τον κίνδυνο για σημαντικές ασθένειες, όπως ο καρκίνος. Επίσης προστατεύει και από μολύνσεις, συμβάλλει στην ανάπτυξη και την επιδιόρθωση των κυττάρων των ιστών του δέρματος και ανακουφίζει από τα συμπτώματα της αλλεργίας. Από έλλειψή της προκαλείται επίσης κνησμός, ξηρότητα, αλωπεκία και μείωση της ελαστικότητας του δέρματος. Οι κυριότερες τροφές που περιέχουν βιταμίνη A είναι: α)πατάτες, β)ντομάτα, γ)αυγά, δ)γάλα, ε)ψάρια, στ)συκώτι. Επίσης, περιέχεται στα πράσινα φυλλώδη λαχανικά, όπως το σπανάκι και το μπρόκολο, στα πορτοκάλια, στα κόκκινα και κίτρινα φρούτα, στο μάνγκο, τα βερίκοκα, το γκτρεϊπφρούτ και τα σπαράγγια.

➤ Έλλειψη βιταμίνης D

Η έλλειψη της βιταμίνης D, παρότι συντίθεται στο δέρμα, μπορεί να προκαλέσει αλωπεκία.

➤ Έλλειψη βιταμίνης E

Η βιταμίνη E έχει σημαντική αντιοξειδωτική δράση κατά των ελεύθερων ριζών, μειώνοντας τον κίνδυνο κατά των ασθενειών και ειδικά για το δέρμα καθυστερεί την γήρανση και τη δημιουργία ρυτίδων. Κυριότερες πηγές της είναι οι ξηροί καρποί, τα φυλλώδη λαχανικά, τα δημητριακά ολικής άλεσης, οι ελιές, το μαύρο ρύζι, τα μήλα, οι γλυκοπατάτες, τα όσπρια, οι κόκκινες πιπεριές.

➤ Έλλειψη βιταμίνης K

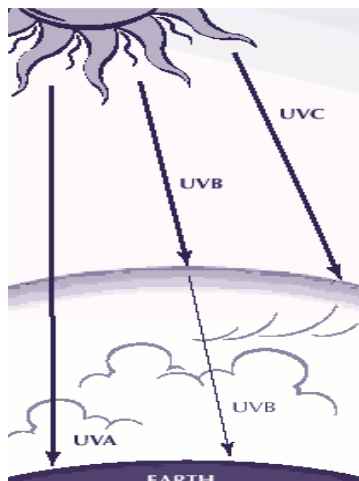
Η βιταμίνη K συντίθεται στο έντερο και επειδή είναι σημαντική για την πήξη του αίματος, τυχόν έλλειψή της προκαλεί στο δέρμα την εμφάνιση μπλε ή κόκκινων κηλίδων καθώς και εκχυμώσεων.

➤ Έλλειψη βιταμίνης C

Η έλλειψη της βιταμίνης C προκαλεί μικρές αιμορραγικές κηλίδες γύρω από τους θυλάκους των τριχών, αιμορραγική ουλίτιδα, επώδυνα οζίδια στο δέρμα καθώς και μικρά σκληρά βύσματα στους θυλάκους των τριχών. Επίσης η έλλειψή της μειώνει τη σταθερότητα και την ελαστικότητα του δέρματος και προκαλεί πρόωγη γήρανση. Είναι σημαντική για τις αντιοξειδωτικές της ιδιότητες, την αντισταμινική της δράση στις δερματικές αλλεργίες, την καταπολέμηση των δερματικών μολύνσεων και την

επούλωση των πληγών, την παραγωγή κολλαγόνου και ελαστίνης. Οι κυριότερες πηγές της είναι τα εσπεριδοειδή φρούτα, οι φράουλες, οι κόκκινες πιπεριές και το μπρόκολο. Τη βιταμίνη C τη βρίσκουμε στα εσπεριδοειδή, στις ντομάτες, στο μπρόκολο, στο σπανάκι και στις πιπεριές. Το L-ασκορβικό οξύ που είναι η ενεργός μορφή της βιταμίνης C, αποτελεί το αντιοξειδωτικό που υπάρχει σε μεγαλύτερη αφθονία στο δέρμα. Ο ανθρώπινος οργανισμός όμως, δεν μπορεί να συνθέσει βιταμίνη C, επομένως πρέπει να τη λαμβάνει με την διατροφή του. Η ελάχιστη ημερήσια ποσότητα βιταμίνης C (60 mg) δεν αρκεί για να παρέχει στο δέρμα επαρκή επίπεδα προστασίας κατά των οξειδωτικών stress της UVR. Συνεπώς, πρέπει να αυξάνεται η ημερήσια πρόσληψή της. Πρέπει επίσης να τονιστεί ότι μεταξύ άλλων, η βιταμίνη C είναι απαραίτητη για τη σύνθεση του κολλαγόνου και αποτελεί έναν ισχυρό αντιφλεγμονώδη παράγοντα. Προλαμβάνει την οφειλόμενη στην UVR ανοσοκαταστολή, φωτίζει το δέρμα και χρησιμοποιείται ήδη από καιρό για τη θεραπεία των ηλιακών εγκαυμάτων. Επίσης η βιταμίνη αυτή είναι ασπίδα κατά του καπνίσματος που δυσχεραίνει την κυκλοφορία και αποτελεί με τη σειρά του σημαντικό παράγοντα γήρανσης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΔΕΡΜΑ ΚΑΙ ΗΛΙΑΚΟ ΦΩΣ Ή ΥΠΕΡΙΩΔΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ



Εικόνα 2: UVA & UVB ακτινοβολία [e]

Ο ήλιος είναι ένας τεράστιος σταθμός παραγωγής ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. Οι ακτινοβολίες που επηρεάζουν το δέρμα είναι ένα μόνο μικρό τμήμα του ηλιακού φάσματος. Αυτές οι ακτινοβολίες είναι:

1. Υπέρυθρη ακτινοβολία
2. Ορατό φως
3. Υπεριώδης ακτινοβολία

Η αλόγιστη έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία, συσσωρεύει κυτταρικές βλάβες στο δέρμα και από ένα σημείο και μετά οι επιδράσεις της είναι επιζήμιες. Η υπέρυθρη ακτινοβολία και το ορατό φως είναι σχετικά ακίνδυνα για τον άνθρωπο. Ωστόσο, η υπέρυθρη ακτινοβολία ενοχοποιείται για την πρόκληση θερμότητας στο δέρμα καθώς και για την ενίσχυση της βλαπτικής επίδρασης της υπεριώδους ακτινοβολίας.

Κύρια πηγή έκθεσης στην υπεριώδη ακτινοβολία είναι ο ήλιος. Άλλες πηγές έκθεσης στην υπεριώδη ακτινοβολία αποτελούν οι θάλαμοι μαυρίσματος, τα μαύρα φώτα, οι μικροβιοκτόνοι λαμπτήρες (UVC) και οι τράπεζες υπεριώδους ακτινοβολίας (UVB) στα εργαστήρια. Μακροχρόνια, η έκθεση στην UV ακτινοβολία προκαλεί εκφυλιστικές βλάβες στα κύτταρα, στον ινώδη ιστό και στα αγγεία του δέρματος. Αυτές, μπορεί να ταξινομηθούν αδρά σε πρόωγη γήρανση (φωτογήρανση), δερματικούς καρκίνους και άλλες βλάβες. Μέσω ενός σύνθετου γενετικού μηχανισμού, το ηλιακό φως καταστέλλει τη παραγωγή κολλαγόνου αδρανοποιώντας τα γονίδια που 'παράγουν' το κολλαγόνο. Ταυτοχρόνως, το ηλιακό φως ενεργοποιεί καταστρεπτικά για το κολλαγόνο ένζυμα. [17,18]

2.1 ΩΦΕΛΙΜΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΗΛΙΟΥ

Η ηλιακή ακτινοβολία μπορεί να προκαλεί ποικιλία θετικών ή αρνητικών επιδράσεων στο δέρμα, συναρτήσει της δόσης με την οποία προσπίπτει στο δέρμα. Μικρές δόσεις ηλιακής ακτινοβολίας είναι ωφέλιμες και σχετίζονται με:

- τη σύνθεση της βιταμίνης D (μέσω ενεργοποίησης της 7-δευδροχοληστερόλης), η οποία ρυθμίζει το μεταβολισμό ασβεστίου και φωσφόρου.
- τη μείωση της πίεσης του αίματος, καθώς αυξάνει το σχηματισμό αιμοσφαιρίνης και διεγείρει την κυκλοφορία του αίματος στο χόριο.
- τη θεραπεία δερματικών ασθενειών όπως η ψωρίαση, ακμή, λεύκη, ραχίτιδα.
- τη θεραπεία ορισμένων τύπων φυματίωσης όπως των αδένων και των οστών.
- Ασκεί ευεργετική επίδραση στο αυτόνομο νευρικό σύστημα με ενεργοποίηση βιταμινών, ορμονών και ενζύμων.
- Λόγω της ξηραντικής του δράσης πάνω στο δέρμα μειώνει την ευπάθεια σε διάφορες βακτηριακές και μυκητιακές μολύνσεις.
- Παράγει μελανίνη και προκαλεί πάχυνση της κερατίνης στοιβάδας με αποτέλεσμα να προστατεύει το δέρμα από τα ηλιακά εγκαύματα. [1,19,20]

2.2 ΒΛΑΒΕΡΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΗΛΙΟΥ

Οι βλαβερές επιδράσεις του ήλιου είναι είτε άμεσες που εκδηλώνονται μετά από μερικές ώρες ή μέρες, είτε μακροπρόθεσμες που εμφανίζονται μετά από χρόνια και είναι αθροιστικές επανειλημμένες εκθέσεις. Μια από αυτές είναι το ερύθημα που οφείλεται στη διαστολή των αιμοφόρων τριχοειδών αγγείων του χορίου. Το ηλιακό έγκαυμα αλλά και το ερύθημα είναι αποτέλεσμα απορρόφησης του δέρματος μήκους κύματος του ήλιου που διεγείρει τα ηλεκτρόνια των μορίων ορισμένων ουσιών που βρίσκονται στην επιδερμίδα από μια επιτρεπτή στάθμη ενέργειας σε μια άλλη υψηλότερης ενέργειας. Άλλες βλάβες συσσωρευμένες και μη αναστρέψιμες είναι η καταστροφή του κολλαγόνου, η υπερπλασία των ινών της ελαστίνης, η μερική καταστροφή των μικροαγγείων και η μείωση των δενδριτικών κυττάρων του Langerhans της επιδερμίδας, με αποτέλεσμα τη μείωση της ανοσοποιητικής ικανότητας του δέρματος.

Εκδήλωση των βλαβών αυτών είναι η πάχυνση της κερατίνης στοιβάδας, η απώλεια της ελαστικότητας του δέρματος, η ξηρότητα, η απολέπιση, η εμφάνιση ρυτίδων και μερικές φορές η εμφάνιση μελαγχρωματικών κηλίδων (χλόασμα), τα οποία είναι αποτέλεσμα της πρόωρης γήρανσης του δέρματος με τον όρο ακτινική ή ηλιακή ελάστωση. Η ηλιακή ελάστωση οδηγεί σε ακτινική υπερκεράτωση που θεωρείται ως προκαρκινική δερματοπάθεια και συχνά εξελίσσεται σε διάφορων ειδών καρκίνους, όπως π.χ. ακανθοκυτταρικά καρκινώματα και βασικοκυτταρικά επιθηλώματα.

Τέλος η ηλιακή ακτινοβολία σε επίπεδο επιδερμίδας ή χορίου προκαλεί ενεργοποίηση ελευθέρων ριζών που έχουν σαν αποτέλεσμα αφενός την υπεροξειδωση των λιπιδίων του δέρματος και τη δημιουργία διμερών θυμίνης-θυμίνης στο DNA των κυττάρων της επιδερμίδας (δηλαδή στα κερατινοκύτταρα), αφετέρου την απελευθέρωση ουσιών επαγωγέων φλεγμονώδους αντίδρασης, όπως οι προσταγλαδίνες και το αραχιδονικό οξύ. [18,19,20]

2.3 Η ΥΠΕΡΙΩΔΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ

Ο ήλιος εκπέμπει υπεριώδη ακτινοβολία, η οποία διακρίνεται σε τρεις κατηγορίες, ανάλογα με το μήκος κύματός της:

1. UVC 200-290 nm
2. UVB 290-320 nm
3. UVA 320-400 nm

Η UVC ακτινοβολία απορροφάται τελείως από την στοιβάδα του όζοντος, στην στρατόσφαιρα. Δεν φτάνει στην επιφάνεια της γης. Είναι πολύ επικίνδυνη και καρκινογόνος για το δέρμα. Είναι η πιο δραστική και προκαλεί, ακόμη και με μικρή έκθεση, βιολογικές καταστροφές σε όλες τις μορφές ζωής. Είναι ισχυρά τοξική και μεταλλαξιογόνος. Απορροφάται τόσο από τις πρωτεΐνες όσο και από τα νουκλεϊκά οξέα και προκαλεί εκτενείς καταστροφές στο δέρμα. Ωστόσο, η UV-C ακτινοβολία, απορροφάται εξ' ολοκλήρου από τη στοιβάδα του όζοντος κι έτσι δε φθάνει στην επιφάνεια της γης. [21,22,23]

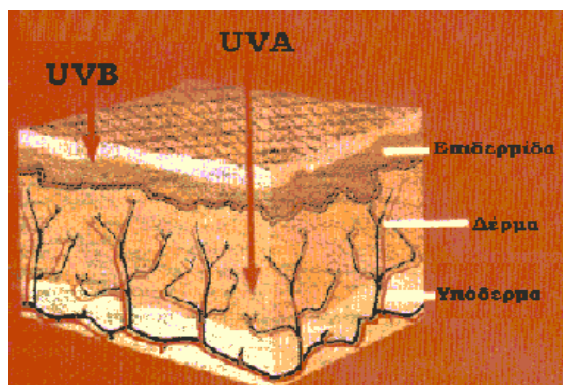
Οι UVB ακτίνες αποτελούν περίπου το 5% της ολικής υπεριώδους ακτινοβολίας το καλοκαίρι. Είναι οι ακτίνες που συμβάλλουν στο σχηματισμό της βιταμίνη D και μένουν στην επιφάνεια της επιδερμίδας, διεγείροντας τα μελανοκύτταρα που παράγουν τη μελανίνη. Η UVB ακτινοβολία είναι η μικρότερη σε ποσότητα αλλά η πιο δραστική μορφή της ηλιακής ακτινοβολίας. Στην επιφάνεια της γης φθάνει σε μικρότερες ποσότητες, λόγω της απορρόφησης μεγάλου μέρους της από τη στοιβάδα του όζοντος. Όμως, και πάλι αρκεί για να προκαλέσει βλάβη. Εντούτοις είναι σημαντική διότι ευθύνεται για τη φωτογήρανση, το έγκαυμα και κυρίως κατά το 80% στην πρόκληση αλλοιώσεων στο DNA των κυττάρων. Συνεπώς, στην πρόκληση καρκίνου του δέρματος. Η UVB διεισδύει στις εξωτερικές στοιβάδες του δέρματος (επιδερμίδα), αποτελεί το πρωταρχικό αίτιο πρόκλησης εγκαυμάτων από τον ήλιο. Η δράση της είναι πιο έντονη το καλοκαίρι, τις μεσημβρινές ώρες και όσο οδηγούμαστε προς τον ισημερινό ή στα πιο υψηλά μέρη της γης. Έχει πιο ισχυρή μεταλλαξιογόνο δράση χίλιες φορές μεγαλύτερη ικανότητα πρόκλησης εγκαύματος από ότι η UVA. Η UVB είναι λιγότερο διεισδυτική από τη UVA ασκώντας τη δράση της κυρίως στην επιδερμική βασική στοιβάδα. Πιο συγκεκριμένα η UVB προκαλεί βλάβες στο DNA (διμερή κυκλοβουτανίου-πυριμιδίνης, διμερή πυριμιδίνης-πυριμιδόνης, φωτοπροϊόντα), τις πρωτεΐνες (αντιδρώντας με αρωματικά αμινοξέα) και πολλά μακρομόρια. Επίσης, προάγει την παραγωγή ελευθέρων ριζών ενώ παράλληλα μειώνει τα αντιοξειδωτικά του δέρματος, με αποτέλεσμα το δέρμα να χάνει την ικανότητα του να προστατεύεται από το οξειδωτικό στρες που προκαλείται, έπειτα από την έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία. Παράλληλα η UVB προκαλεί φωτοισομερισμό από trans σε cis του ουροκανικού οξέος, αύξηση της δραστηριότητας της δικαρβοξυλάσης της ορνιθίνης, μεταβολές στον κυτταρικό κύκλο και καταστροφή των μηχανισμών σύνθεσης του DNA στο δέρμα. Όλοι αυτοί οι μηχανισμοί μπορούν να προκαλέσουν φωτογήρανση και φωτοκαρκινογένεση. Η UVB ακτινοβολία ενοχοποιείται για καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος του δέρματος. Διεισδύει στις εξωτερικές στοιβάδες του δέρματος (επιδερμίδα) επάγοντας την παραγωγή μελανίνης από τα μελανοκύτταρα του δέρματος οδηγώντας σε πιο έντονο μαύρισμα, το οποίο μπορεί να διατηρηθεί για αρκετό καιρό. Επίσης η UVB ακτινοβολία διεγείρει τα κύτταρα να παράγουν μια παχύτερη επιδερμίδα, μέσω της

πάχυνσης των εξωτερικών κυττάρων, το οποίο είναι αμυντικός μηχανισμός ενάντια στην περαιτέρω αρνητική επίδραση της UVB ακτινοβολίας. [24,25,26,26]

Οι ακτίνες UVA αποτελούν το 95% της ολικής υπεριώδους ακτινοβολίας το καλοκαίρι. Η UVA ευθύνεται για το 80-90% των εγκαυμάτων, της φωτογήρανσης και του καρκίνου του δέρματος. Τα τελευταία χρόνια έχει αποδειχθεί ότι συνεισφέρει στο μέγιστο στις δερματικές βλάβες. Διεισδύει βαθύτερα στο δέρμα από την UVB, φτάνοντας μέχρι το χόριο, όπου παίρνουν μέρος πολλές διαδικασίες φωτογήρανσης. Η δράση της είναι συνεχής όλο το χρόνο σε όλα τα μήκη και πλάτη της γης. Εμφανίζεται σε όλη τη διάρκεια της ημέρας, ενώ η UVB είναι έντονη μόνο κατά τη διάρκεια του μεσημεριού. Αυτές, οι ακτίνες καταστρέφουν τα τριχοειδή αγγεία, τους ινοβλάστες και τις πρωτεΐνες των κυττάρων. Έντονη ή εκτεταμένη έκθεση στη UV-A ακτινοβολία μπορεί να προκαλέσει έγκαυμα σε ευαίσθητο δέρμα, και αν η έκθεση επιμηκυνθεί, μπορεί να βλάψει δομές στο χόριο, με αποτέλεσμα το δέρμα να χάνει την ελαστικότητά του και να διεγείρεται ο σχηματισμός ρυτίδων, δηλαδή η UVA ακτινοβολία επάγει την πρόωρη γήρανση. Περισσότερο ή λιγότερο εμφανή αποτελέσματα της φωτογήρανσης είναι η ρυτίδες, η χαλαρότητα, η ξηρότητα και η αποσπασματική μελάγχρωση του δέρματος. Η UVA ακτινοβολία προκαλεί επίσης νέκρωση στα ενδοθηλιακά κύτταρα και καταστροφές στα αγγεία της επιδερμίδας. Οι δράσεις της προκύπτουν μέσω της οξειδωτικής διαδικασίας που επάγεται από ενδογενή φωτοευαισθητοποίηση. Έτσι, μετά την έκθεση στην UVA ακτινοβολία ελεύθερες ρίζες οξυγόνου δημιουργούνται και μπορούν να προκαλέσουν καταστροφές στις ενδοκυττάρια πρωτεΐνες, λιπίδια και υδατάνθρακες. Τέλος από πρόσφατες μελέτες έχει εξαχθεί το γεγονός ότι η UVA ακτινοβολία οδηγεί στην ανάπτυξη καρκίνων του δέρματος. Παρόλο που ο μηχανισμός της καρκινογένεσης δεν είναι σαφής, το οξειδωτικό στρες ενοχοποιείται για αυτή την αρνητική επίδραση. [21,22,28,29,30,31,32]

2.4 ΚΑΤΑΣΤΡΕΠΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΕΠΙΠΕΔΟ

Η UVA και η UVB ακτινοβολία προκαλούν εμφάνιση ρυτίδων, μειωμένη ανοσία ενάντια στις λοιμώξεις, βλάβες γήρανσης του δέρματος και καρκίνους. Ως πιθανοί μηχανισμοί για αυτά τα βλαπτικά αποτελέσματα είναι η διάσπαση του κολλαγόνου, ο σχηματισμός ελεύθερων ριζών, η αλληλεπίδραση με μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA και η ανασταλτική τους δράση σε ανοσολογικούς μηχανισμούς.

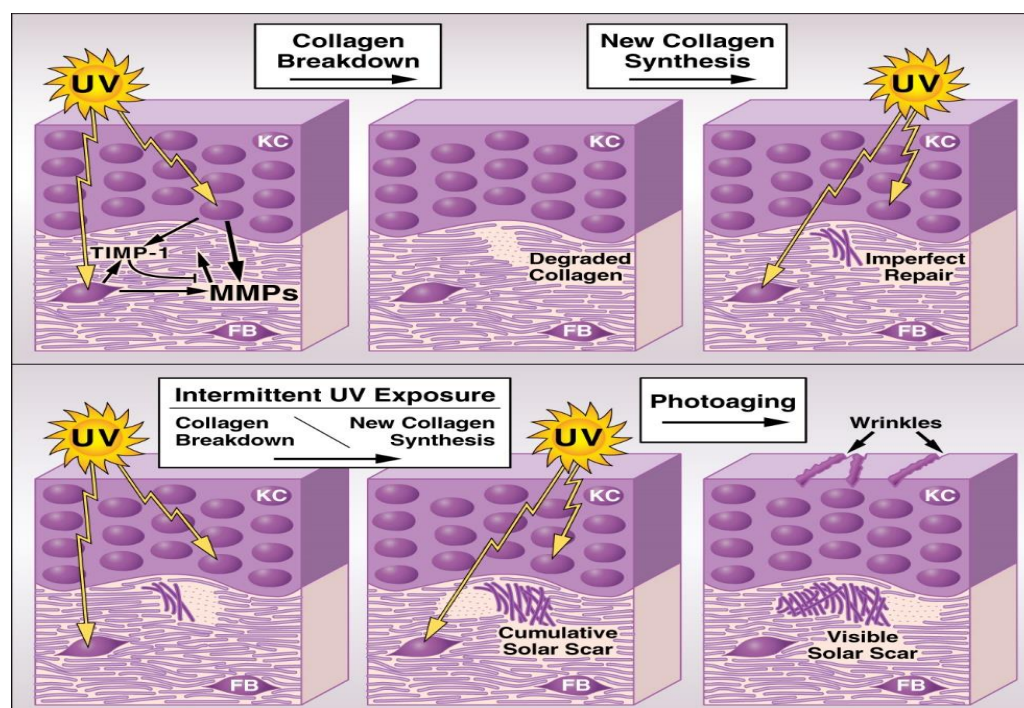


Εικόνα 3: Το αποτέλεσμα των UVA & UVB στο δέρμα [f]

2.4.1. ΔΙΑΣΠΑΣΗ ΤΟΥ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟΥ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ (ΦΩΤΟΓΗΡΑΝΣΗ)

Η UV ακτινοβολία προκαλεί διάσπαση του κολλαγόνου στο χόριο σε μεγαλύτερους ρυθμούς από αυτούς της χρονολογικής γήρανσης. Το ηλιακό φως καταστρέφει τις κολλαγόνες ίνες με αποτέλεσμα τη συσσώρευση ελαττωματικής ελαστίνης. Όταν, αυτή η ελαστίνη αυξάνεται ποσοτικά, παράγονται μεταλλοπρωτεϊνάσες MMPs (ένζυμα) σε μεγάλες ποσότητες, γεγονός που οδηγεί σε υπερβολική αποδόμηση των εξωκυτταρικών υλικών του χορίου. Το εξωκυτταρικό περιβάλλον είναι υπεύθυνο για την ανάπτυξη, μετακίνηση, συγκόλληση και διαφοροποίηση των κυττάρων όπως επίσης προσδίδει μηχανική αντοχή σε ιστούς και όργανα του σώματος. Οι πρωτεΐνες του εξωκυττάρου περιβάλλοντος παράγονται από ινοβλάστες, ενώ ταυτόχρονα ρυθμίζουν τη δράση τους με διαδικασίες ανάδρασης. Αυτή η αμφίδρομη διαδικασία είναι πολύ σημαντική για τη λειτουργία του συνδετικού ιστού του δέρματος. Οι τύποι του κολλαγόνου που απαντούν στο συνδετικό ιστό του δέρματος είναι κυρίως ο τύπος 1 σε ποσοστό περίπου 85% του ολικού ποσοστού σε πρωτεΐνες και ο τύπος 3 σε ποσοστό περίπου 8,5%. Και οι 2 τύποι κολλαγόνου συντίθενται στο χόριο από ινοβλάστες, ως προκολλαγόνο το οποίο φέρει στο άκρο του N-τελικές ή C-τελικές σφαιρικές δομές, οι οποίες επιτρέπουν στο προκολλαγόνο να εκκρίνεται από τους ινοβλάστες με τη μορφή μονομερούς. Μετά την έκκρισή του το προκολλαγόνο διασπάται ενζυματικά στα τελικά του άκρα κι έτσι τα ελεύθερα μόρια συνδέονται μεταξύ τους σχηματίζοντας τις ίνες του κολλαγόνου. Καινούργια μόρια κολλαγόνου συνδέονται στις ήδη υπάρχουσες ίνες ενώ παράλληλα σχηματίζουν και εγκάρσιους διαμοριακούς δεσμούς και με τον τρόπο αυτό «ωριμάζουν» οι ίνες κολλαγόνου. Οι ίνες του κολλαγόνου διευθετούνται κατάλληλα δημιουργώντας δέσμες οι οποίες

προσδίδουν αντοχή και ελαστικότητα στο δέρμα. Ο χρόνος ημιζωής του κολλαγόνου ανέρχεται σε αρκετά χρόνια, ενώ αυτό αποδομείται τελικά από τις κολλαγενάσες MMP-1, MMP-8, MMP-13. Η UV ακτινοβολία ενισχύει τις κολλαγενάσες MMP-1 και MMP-8, με αποτέλεσμα τη διάσπαση του κολλαγόνου. Η MMP-1 ενοχοποιείται κυρίως για τη διάσπαση του κολλαγόνου καθώς η MMP-8 παραμένει σε μια ανενεργή κατάσταση. Η επαγωγή των κολλαγενασών είναι αποτέλεσμα εισροής ουδετερόφιλων, τα οποία εισρέουν στο δέρμα ως αντίδραση του ανοσοποιητικού στην υπεριώδη ακτινοβολία. [1,33,34]



Εικόνα 4: Αποτελέσματα UV ακτινοβολίας στο δέρμα [g]

2.4.2. ΔΙΑΚΟΠΗ ΤΗΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΝΕΟΥ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟΥ

Η υπεριώδης ακτινοβολία αναστέλλει τη σύνθεση των προκολλαγόνων τύπου 1 κατά 70% μέσα σε 24 ώρες και τύπου 3. Η αναστολή αυτή περιορίζεται στο υψηλότερο 1/3 του χορίου αποκαλύπτοντας τη διείσδυση της υπεριώδους ακτινοβολίας στο δέρμα. [33,34]

2.4.3. ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ

Η UV ακτινοβολία αποτελεί έναν από τους κύριους παράγοντες σχηματισμού ελεύθερων ριζών. Οι ελεύθερες ρίζες αποτελούν ασταθή μόρια οξυγόνου τα οποία φέρουν ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο. Στην προσπάθεια δημιουργίας μοριακού τροχιακού, το οξυγόνο με το ασύζευκτο ηλεκτρόνιο προσβάλλει άλλα μόρια. Αυτά τα μόρια, χάνουν ένα ηλεκτρόνιο και μετατρέπονται σε ελεύθερες ρίζες, οι οποίες με τη σειρά τους προσβάλλουν άλλα μόρια. Η αλυσιδωτή αυτή αντίδραση μπορεί να οδηγήσει σε καταστροφή της κυτταρικής λειτουργίας (ενεργοποίηση μεταλλοπρωτεϊνών, η οποία συνεπάγεται διάσπαση κολλαγόνου) και μεταβολές στο

γενετικό υλικό των κυττάρων (DNA και RNA) με καταστρεπτικές συνέπειες για τον οργανισμό. [34]

2.4.4. ΚΑΤΑΣΤΡΟΦΗ ΤΟΥ DNA

Η αφετηρία των φωτοβιολογικών μεταβολών του δέρματος μετά από την έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία σημειώνεται πιθανότατα στον πυρήνα των κυττάρων, με την άμεση απορρόφηση της UV-ακτινοβολίας από το μοριακό DNA των κυττάρων. Η ενέργεια των φωτονίων της UV απορροφάται από τα μόρια των νουκλεοτιδίων, τα οποία μεταπίπτουν σε μια ενεργοποιημένη κατάσταση (excited state), με αλλαγές στη θέση των ηλεκτρονίων, αναδιάταξη των χημικών δεσμών και δημιουργία νέων χημικών ενώσεων μεταξύ των νουκλεϊκών οξέων, οι οποίες ονομάζονται φωτοπροϊόντα. Τα φωτοπροϊόντα σχηματίζονται σε συγκεκριμένες ευάλωτες θέσεις του γονιδιώματος, που συνήθως περιέχουν διαδοχικές βάσεις πυριμιδινών (κυτοσίνης ή θυμίνης) πάνω στην ίδια αλυσίδα του DNA. Τα διμερή κυκλοβουτανίου (θυμίνης ή κυτοσίνης) είναι τα συχνότερα φωτοπροϊόντα και οφείλονται στη διάνοιξη του διπλού δεσμού στις θέσεις C5 και C6 δύο γειτονικών βάσεων κυτοσίνης ή θυμίνης και στον επακόλουθο σχηματισμό ενός τετραμελούς δακτυλίου κυκλοβουτανίου μεταξύ τους. Αντίθετα, η αντίδραση του διπλού δεσμού της θέσης C5 μιας βάσης πυριμιδίνης με την εξωκυκλική ομάδα της γειτονικής πυριμιδίνης και η επακόλουθη ένωσή τους στις θέσεις C6 και C4 δημιουργεί το φωτοπροϊόν πυριμιδίνης-πυριμιδόνης. Θραύσεις μονόκλωνου ή δίκλωνου DNA και διασταυρούμενες ενώσεις μπορούν επίσης να σχηματισθούν, αλλά η παρουσία τους είναι γενικά ασύμβατη με την επιβίωση των κυττάρων. Τα φωτοπροϊόντα μεταβάλλουν τη στερεοτακτική δομή του μορίου του DNA και προδιαθέτουν στο σχηματισμό μεταλλάξεων, προκαλώντας δυσκολίες στην αναγνώριση των βάσεων κατά τη διάρκεια του διπλασιασμού του DNA από το ένζυμο της DNA-πολυμεράσης.[38]

2.4.5. ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ DNA

Η UV ακτινοβολία επηρεάζει την παραγωγή και τη δράση των ενζύμων που παίζουν ρόλο στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA. Γίνονται μελέτες για το ρόλο που διαδραματίζει ένα ειδικό ένζυμο, η T₄ ενδονουκλεάση-5 (T₄N₅) στην επιδιόρθωση του DNA.[33]

2.4.6. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΟ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Η υπεριώδης ακτινοβολία και συγκεκριμένα η UVB, προκαλεί καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος μέσω πληθώρας μηχανισμών. Η UVB ακτινοβολία αποκλείει την παρουσία αντιγόνων, ενισχύει την έκκριση των ανοσοκατασταλτικών κυτοκινών και προκαλεί απόπτωση των λευκοκυττάρων. Ωστόσο, η UVB ακτινοβολία δεν προκαλεί γενική ανοσοκαταστολή αλλά αποκλείει την ανοσολογική αντίδραση έναντι συγκεκριμένων αντιγόνων. Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η ανοσοκατασταλτική προδιάθεση κάθε ατόμου απέναντι στην υπεριώδη ακτινοβολία εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον τύπο του δέρματός του. Όσον αφορά το μηχανισμό πρόκλησης της ανοσοκαταστολής, νεότερες έρευνες δείχνουν ότι η UV ακτινοβολία διαταράσσει την αντιγονοπαρουσιαστική ικανότητα των δενδριτικών κυττάρων του δέρματος (κύτταρα Langerhans) και προκαλεί μεταβολές στους λεμφοκυτταρικούς πληθυσμούς και τις παραγόμενες κυτταροκίνες, οδηγώντας τελικά σε υπερίσχυση ανοσοκατασταλτικών έναντι ανοσοδιεγερτικών μηχανισμών.

Άλλοι μοριακοί μηχανισμοί, όπως η παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου, καθώς και οι μεταβολές στην ενδοκυττάρια μεταβίβαση σήματος, πιθανώς συμμετέχουν στην αρχική φάση της UV ανοσοκαταστολής. [35,36,37]

2.4.7. ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΘΑΝΑΤΟΣ

Η τελική αμυντική γραμμή του ανοσολογικού συστήματος είναι μια διαδικασία που ονομάζεται απόπτωση. Αυτή είναι μια διαδικασία κατά την οποία κύτταρα που έχουν υποστεί σοβαρή βλάβη «αυτοκτονούν», έτσι ώστε να μην μετατραπούν σε καρκινικά. Αυτή η διαδικασία φαίνεται όταν το δέρμα «ξεφλουδίζει» μετά από ένα ηλιακό έγκαυμα. Συνεπώς, υπάρχουν ορισμένοι παράγοντες μεταξύ των οποίων και η UV ακτινοβολία, οι οποίοι προλαμβάνουν αυτό τον κυτταρικό θάνατο, αποτρέποντας τα κύτταρα να συνεχίζουν να πολλαπλασιάζονται με πιθανότητα να μεταλλαχθούν σε καρκινικά. Για την αναστολή της απόπτωσης ενοχοποιούνται οι ελεύθερες ρίζες και η καταστροφή του DNA. [38]

2.5 ΚΑΤΑΣΤΡΕΠΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΣΕ ΕΠΙΠΕΔΟ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

2.5.1. ΕΠΙΔΕΙΝΩΣΗ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ – ΦΩΤΟΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ

Η υπεριώδης ακτινοβολία είναι δυνατό να προκαλέσει ή να επιδεινώσει προϋπάρχουσες δερματοπάθειες. Οι προκαλούμενες από την υπεριώδη ακτινοβολία δερματοπάθειες είναι το πολύμορφο εξάνθημα εκ φωτός, μια δερματοπάθεια που τυπικά εμφανίζεται στις αρχές της άνοιξης και υποχωρεί με τη σταδιακή έκθεση στον ήλιο, η ηλιακή κνίδωση που ανήκει στις φυσικές κνιδώσεις, η ευλογιοειδής ιδρώα, μια σπάνια δερματοπάθεια που αφορά κυρίως παιδιά, η εαρινή κνήφη που είναι ένα είδος πολύμορφου εξανθήματος και η ακτινική δερματίτιδα, μια δερματοπάθεια που αφορά κυρίως ηλικιωμένους άνδρες και συχνά συνοδεύεται από αλλεργική δερματίτιδα. Ροδόχροος νόσος, απλός έρπης, ανεμευλογιά, ψωρίαση (10%), ερυθματώδης λύκος, πορφυρίες αλλά και άλλες δερματοπάθειες συγγενείς και μη αποτελούν επίσης δερματικές παθήσεις προκαλούμενες από την υπεριώδη ακτινοβολία. [39,42]

2.5.2. ΑΛΛΕΡΓΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

Οι αντιδράσεις αυτές οφείλονται είτε σε αλλεργία στο ηλιακό φως (ηλιακή κνίδωση) είτε σε αλληλεπίδραση ακτινοβολίας με καλλυντικά, αρώματα, φυτά, τοπικές κρέμες και αντιηλιακά. Επίσης ορισμένα φάρμακα, όπως τα αντισυλληπτικά, αντιυπερτασικά, τα αντιφλεγμονώδη και τα αντικαταθλιπτικά μπορεί να προκαλέσουν φωτοαλλεργικό εξάνθημα. [42]

2.5.3. ΗΛΙΑΚΟ ΕΓΚΑΥΜΑ

Το μικρής διάρκειας αυτό αποτέλεσμα της ηλιακής ακτινοβολίας, αποτελεί μια προσωρινή βλάβη της επιδερμίδας με τα γνωστά συμπτώματα. Αυτά ποικίλλουν σε σοβαρότητα, από ένα απλό ερύθημα, μέχρι επίπονα εγκαύματα και σχηματισμό φυλκταινών, που συνοδεύονται, σε πιο βαριές περιπτώσεις, από ρίγη, πυρετό, ναυτία

και καμιά φορά κνησμό. Σύμφωνα με τον Keller, τα συμπτώματα του εγκαύματος, είναι άμεσα αποτελέσματα της βλάβης ή καταστροφής των κυττάρων της ακανθώδους στιβάδας του δέρματος, πιθανόν δια μέσου της μετουσίωσης των συστατικών πρωτεϊνών της. Ουσίες που μοιάζουν με την ισταμίνη και ελευθερώνονται από τα κατεστραμμένα κύτταρα, είναι υπεύθυνα για τη διαστολή των αιμοφόρων αγγείων και για το ερύθημα που προκαλείται. Επίσης, οι ουσίες αυτές προκαλούν οίδημα και τα κύτταρα της βασικής στιβάδας διεγείρονται σε πολλαπλασιασμό. Το ηλιακό έγκαυμα δεν αφήνει ουλές. Ένα ελαφρύ έγκαυμα, που δεν εκτίθεται πλέον στην ηλιακή ακτινοβολία, εξαφανίζεται μετά από 24-36 ώρες. Πιο σοβαρά εγκαύματα θεραπεύονται συνήθως σε 4-8 ημέρες. Αρχικά, υποχωρεί η φλεγμονή και ακολουθεί το ξεφλούδισμα του δέρματος. [1]

2.5.4. ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ

Όπως ισχύει γενικώς για το φαινόμενο του καρκίνου στον άνθρωπο, έτσι και στον καρκίνο του δέρματος, οι μεταλλάξεις που προκαλεί η UV ακτινοβολία στο γονιδιακό υλικό μπορούν να οδηγήσουν στην εμφάνιση δερματικών όγκων μέσα από σύνθετες και μακροχρόνιες διαδικασίες. Για να συμβεί αυτό, θα πρέπει οι ανωτέρω μεταλλάξεις να επισυμβούν σε ορισμένα ρυθμιστικά γονίδια, όπως είναι τα πρωτο-ογκογονίδια και τα ογκοκατασταλτικά γονίδια. Ογκογονίδια που απορυθμίζονται στον καρκίνο του δέρματος είναι το ras και το c-fos, ενώ τα ογκοκατασταλτικά γονίδια p53 και p16 αποτελούν και αυτά στόχους της υπερϊώδους ακτινοβολίας, συμμετέχοντας έτσι στην καρκινογενετική διαδικασία των μη μελανωματικών όγκων και των μελανωματικών αντίστοιχα. Ειδικά το γονίδιο p53, αποτελεί ένα σημαντικό ογκοκατασταλτικό μηχανισμό, που συσχετίζεται άμεσα με την αποκατάσταση βλαβών του DNA και την προστασία των κυττάρων από διάφορες γενοτοξικές βλάβες. Η δυσλειτουργία ενός τέτοιου γονιδίου επιτρέπει τη συσσώρευση ογκογόνων μεταλλάξεων που σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες μπορεί να οδηγήσει στην εκτροπή των δερματικών κυττάρων. [39]

Βασικοκυτταρικό Καρκίνωμα (BCC): Είναι η πιο συνηθισμένη μορφή καρκίνου του δέρματος, που προσβάλλει περίπου ένα εκατομμύριο Αμερικανών κάθε χρόνο. Αυτή η μορφή καρκίνου εμφανίζεται στα βασικά κύτταρα που βρίσκονται στα βαθύτερα στρώματα (στοιβάδες) της επιδερμίδας (της επιφανειακής στοιβάδας). Σχεδόν όλα τα βασικοκυτταρικά καρκινώματα συμβαίνουν σε σημεία του σώματος που έχουν εκτεταμένα εκτεθεί στον ήλιο και ειδικά στο πρόσωπο, αυτιά, λαιμό, κεφαλή, ώμους και ράχη. Σε σπάνιες περιπτώσεις όμως οι όγκοι αναπτύσσονται σε μη εκτεθειμένες περιοχές. Σε μερικές δε περιπτώσεις η επαφή με αρσενικό, έκθεση στην ραδιενέργεια, ανοικτές πληγές που επιμένουν και δεν επουλώνονται, χρόνιες φλεγμαίνουσες δερματικές καταστάσεις και επιπλοκές από εγκαύματα, ουλές, μολύνσεις, εμβόλια ή ακόμη και από τατουάζ είναι επιβαρυντικοί παράγοντες. Ο οποιοσδήποτε με ιστορικό έκθεσης στον ήλιο μπορεί να αναπτύξει βασικοκυτταρικό καρκίνωμα (BCC). Παρόλα αυτά, άτομα που είναι υψηλού κινδύνου, έχουν ανοιχτό δέρμα, ξανθά ή κόκκινα μαλλιά και μπλε, πράσινα ή γκρι μάτια. Αυτοί που προσβάλλονται πιο συχνά είναι οι ηλικιωμένοι αλλά καθώς οι νέες περιπτώσεις, αυξάνονται αριθμητικά κάθε χρόνο τις τελευταίες δεκαετίες, ο μέσος όρος ηλικίας των ασθενών κατά την προσβολή τους έχει σταθερά μειωθεί. [39,40]

Ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα: Αυτή η μορφή καρκίνου συναντάται στα ακανθοκύτταρα από τα οποία αποτελείται το μεγαλύτερο μέρος της ακανθώδους στιβάδας της επιδερμίδας. Τα ακανθοκυτταρικά καρκινώματα δύνανται να εμφανιστούν σε

οποιαδήποτε περιοχή του δέρματος συμπεριλαμβανομένου των βλεννογόνων του στόματος και των γεννητικών οργάνων. Βέβαια παρατηρείται πιο συχνά σε σημεία τα οποία εκτίθενται στον ήλιο όπως π.χ. στο πτερύγιο του αυτιού, το κάτω χέιλος, το πρόσωπο, το φαλακρό τμήμα ενός κρανίου, στο λαιμό, τα χέρια, τους βραχίονες καθώς επίσης και στα πόδια. Συχνά το δέρμα στα σημεία αυτά φαίνεται οπτικά σαν να έχει προκληθεί βλάβη από τον ήλιο, εμφανίζει ρυτίδες, αλλαγές στο χρώμα καθώς επίσης και απώλεια της ελαστικότητας. Άτομα με ανοιχτόχρωμη επιδερμίδα, ξανθά μαλλιά και μπλε, πράσινα ή γκρι μάτια ανήκουν στις ομάδες υψηλού κινδύνου. Όμως οποιοσδήποτε με ιστορικό σημαντικής έκθεσης στον ήλιο ανήκει επίσης στην ομάδα υψηλού κινδύνου. Κάποιος ο οποίος είχε στο παρελθόν βασικοκυτταρικό καρκίνωμα (BCC), έχει μεγαλύτερες πιθανότητες να αναπτύξει ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα (SCC) όπως συμβαίνει στα άτομα τα οποία έχουν κληρονομική ευαισθησία στη UVA ακτινοβολία όπως αυτοί που έχουν μελαγχρωματική ξηροδερμία. [39,41]

2.5.5. ΜΕΛΑΝΩΜΑ

Το μελάνωμα αποτελεί επιθετικό όγκο ο οποίος δίνει σύντομα μεταστάσεις. Χαρακτηρίζεται από ένα ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των μελανοκυττάρων της επιδερμίδας. Μπορεί να εμφανιστεί ξαφνικά, χωρίς προειδοποίηση, αλλά και πάνω σε ένα προυπάρχοντα σπίλο. Εντοπίζονται συχνότερα στη ράχη - πλάτη ανδρών και γυναικών και στις κνήμες των γυναικών αλλά και οπουδήποτε στο σώμα. Ενώ το μελάνωμα αφορά μόνο το 4% των δερματικών καρκίνων, είναι υπεύθυνο για το 80% των θανάτων από αυτούς. [42]

2.6 ΕΝΔΟΓΕΝΕΙΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ ΑΠΟ ΤΙΣ ΒΛΑΠΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ

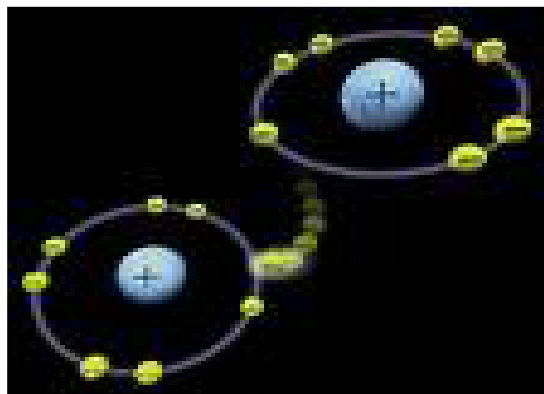
Από τη στιγμή που το δέρμα έχει ως πρωταρχική λειτουργία, την προστασία του οργανισμού από τη βλαπτική υπερϊώδη ακτινοβολία, έχει αναπτύξει αρκετούς μηχανισμούς, οι οποίοι αποτρέπουν τις μεταβολές που επάγονται από τη UV-ακτινοβολία. Αυτοί οι μηχανισμοί περιλαμβάνουν τη αναστολή του κυτταρικού κύκλου και την ενίσχυση της απόπτωσης των κυττάρων, διεργασίες που διεκπεραιώνονται μέσω της πρωτεΐνης p53, όπως και την ενεργοποίηση της κυτταρικής επιβίωσης και πολλαπλασιασμού, με σκοπό να περιορίσουν τις ελεύθερες ρίζες, μέσω της αύξησης της έκφρασης των αντιοξειδωτικών δερματικών ενζύμων. [42]

2.7 ΤΡΟΠΟΙ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ ΑΠΟ ΤΙΣ ΒΛΑΠΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ

- Αποφυγή της ηλιοθεραπείας κατά τους καλοκαιρινούς μεταξύ των ωρών 11 π.μ. έως 4 μ.μ. , όπου η κατεύθυνση των ακτίνων του ήλιου είναι κάθετη.
- Επιλογή ανοιχτόχρωμων δροσερών ενδυμάτων με μακριά μανίκια, καπέλου και γυαλιών ηλίου.
- Κατανάλωση αυξημένης ποσότητας νερού κατά τους καλοκαιρινούς μήνες.
- Καθημερινή χρήση αντηλιακού προϊόντος ευρέως φάσματος με δείκτη ηλιακής προστασίας 15 και άνω. Τα άτομα με πολλούς σπίλους να χρησιμοποιούν αντηλιακό με δείκτη προστασίας 50.

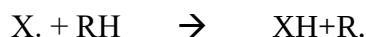
- Η εφαρμογή του προτεινόμενου αντηλιακού να γίνεται μισή ώρα πριν την έκθεση στον ήλιο (ισχύει για αντηλιακά με χημικά φίλτρα και όχι με φυσικά που δρουν άμεσα) και επανάληψη των επαλείψεων τουλάχιστον κάθε 2 ώρες, κατά το διάστημα παραμονής στον ήλιο.
- Έρευνες έχουν δείξει ότι το χρόνιο στρες σε συνδυασμό με υπερέκθεση στον ήλιο, μπορεί να αυξήσει σημαντικά τον κίνδυνο για καρκίνο του δέρματος. Επομένως απαιτείται ξεκούραση σε κάθε ευκαιρία.
- Χρήση του αντηλιακού σε μεγάλο υψόμετρο και σε ενασχόληση με δραστηριότητες όπως ορειβασία, σκι ή πεζοπορία ,γιατί οι ακτίνες του ήλιου είναι και τότε επιβλαβείς ακόμη και σε συνεφιασμένες και βροχερές ημέρες.
- Αποφυγή των λαμπών μαυρίσματος σε ορισμένα ινστιτούτα αισθητικής (tanning parlors). Η ακτινοβολία που εκπέμπουν προκαλεί έγκαυμα, πρόωγη γήρανση του δέρματος και αυξάνει τον κίνδυνο μελλοντικής εμφάνισης καρκίνου του δέρματος.
- Ειδική μέριμνα πρέπει να λαμβάνεται για τα βρέφη και τα παιδιά. Το 50% του συνόλου της ακτινοβολίας που λαμβάνει ένα άτομο κατά την διάρκεια της ζωής του, το δέχεται κατά τα πρώτα 18-20 έτη. Είναι λοιπόν αναγκαία η εκπαίδευση των παιδιών στη χρήση αντηλιακών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ



Εικόνα 5: Δομή ελεύθερης ρίζας

Ελεύθερη ρίζα ονομάζουμε κάθε χημικό είδος που έχει ένα ή περισσότερα μονήρη άτομα ή ένα σύνολο ατόμων με ένα ή περισσότερα αζευγάρωτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική τροχιά τους. Σε ορισμένες περιπτώσεις μπορούν να υπάρχουν δύο ή περισσότερα μονήρη ηλεκτρόνια, αλλά να απέχουν σημαντικά μεταξύ τους, ώστε να μην υπάρχει σύζευξη. Οι ελεύθερες ρίζες είναι ασταθείς, δραστικές ενώσεις και τείνουν να αποσπούν ένα άτομο με ηλεκτρόνιο για τη δημιουργία ζεύγους. Οι βιολογικά ελεύθερες ρίζες περιλαμβάνουν: το οξυγόνο, τον άνθρακα, το άζωτο και το χλώριο στο μόριο τους. Οι ελεύθερες ρίζες αντιδρούν με χημικά μόρια αποσπώντας ένα τμήμα του, κυρίως άτομα υδρογόνου. Ιδιαίτερη σημασία έχει η απόσπαση αυτή από οργανικές ενώσεις (RH):



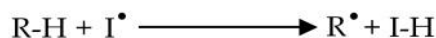
Συνήθως, αυτές οι αντιδράσεις δημιουργούν αλυσιδωτή αντίδραση που μπορεί σε βιολογικούς οργανισμούς να προκαλέσουν τοξικές βλάβες ή θραύσεις σε βιομόρια (υπεροξείδωση λιπιδίων, κυτταρικών μεμβρανών ή θραύσεις κλώνων DNA).

Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να αντιδρούν είτε μεταξύ τους είτε με διάφορα άλλα μόρια τα οποία δεν είναι ρίζες. Όταν αντιδρούν μεταξύ τους οδηγούν στην παραγωγή μιας μη ρίζας. Η μη ρίζα αυτή συνήθως είναι λιγότερο δραστική από εκείνες που οδήγησαν στην παραγωγή της. Όταν οι ελεύθερες ρίζες αντιδρούν με μία μη ρίζα, όπως είναι τα περισσότερα βιομόρια (DNA, λιπίδια, πρωτεΐνες), παράγονται νέες ρίζες οι οποίες στην συνέχεια μπορούν να αντιδράσουν με άλλα μόρια και να οδηγήσουν στην παραγωγή νέων ριζών. Η διαδικασία αυτή μπορεί να συνεχιστεί αλυσιδωτά με δυσμενείς συνέπειες για τον οργανισμό.

Radical formation



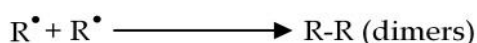
Initiation



Propagation



Termination



Εικόνα 6: Αλυσιδωτή αντίδραση ελευθέρων ριζών

Τα σημεία παραγωγής ριζών μέσα στο κύτταρο είναι πέντε: η κυτταρική μεμβράνη, τα μιτοχόνδρια, τα υπεροξεισωμάτια, το ενδοπλασματικό δίκτυο και το κυτταρόπλασμα. Αυτή η συνεχής παραγωγή των ελευθέρων ριζών βρίσκεται κάτω από φυσιολογικές συνθήκες υπό τον έλεγχο του αντιοξειδωτικού αμυντικού συστήματος του ανθρώπινου οργανισμού. [43,44,45,96]

3.1 ΟΞΥΓΟΝΟΥΧΕΣ ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ (OXYGEN FREE RADICALS) ΚΑΙ ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥΧΕΣ ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ (ROS)

Για τις ελεύθερες ρίζες συχνά χρησιμοποιείται γενικά ο όρος δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive oxygen species, ROS). Ο όρος περιγράφει τις ελεύθερες ρίζες που έχουν σαν κεντρικό μόριο το οξυγόνο. Χαρακτηριστικά παραδείγματα ελευθέρων ριζών είναι η ρίζα:

- του σουπεροξειδίου ($O_2^{\bullet-}$),
- του υδροξυλίου ($OH^\bullet$),
- του αλκοξυλίου ($RO^\bullet$) και
- του υδροπεροξυλίου ($HO_2^\bullet$).

Ωστόσο, στις ROS εντάσσονται και μη ριζικά παράγωγα του οξυγόνου όπως είναι το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), οι ρίζες τριχλωρομεθυλίου ($CCl_3^\bullet$), οι θειούχες ρίζες ($RS^\bullet$) και το υποχλωριώδες οξύ ($COCl$). Στις ελεύθερες ρίζες επίσης ανήκουν και οι δραστικές μορφές αζώτου (Reactive nitrogen species, RNS). Οι RNS περιλαμβάνουν ρίζες που έχουν σαν κεντρικό μόριο το άζωτο, όπως το μονοξειδίο του αζώτου ($NO^\bullet$) και το διοξειδίο του αζώτου ($NO_2^\bullet$) καθώς και αζωτούχες ενώσεις που δεν είναι ελεύθερες ρίζες αλλά είναι οξειδωτικοί παράγοντες ή μετατρέπονται εύκολα σε ελεύθερες ρίζες (π.χ. το νιτρώδες οξύ (HNO_2) και το ανιόν του νιτρικού υπεροξειδίου ($ONOO^-$)). [43,44,45,96]

3.2 ΠΗΓΕΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ

Οι ελεύθερες ρίζες σχηματίζονται κατά τις κυτταρικές διεργασίες από:

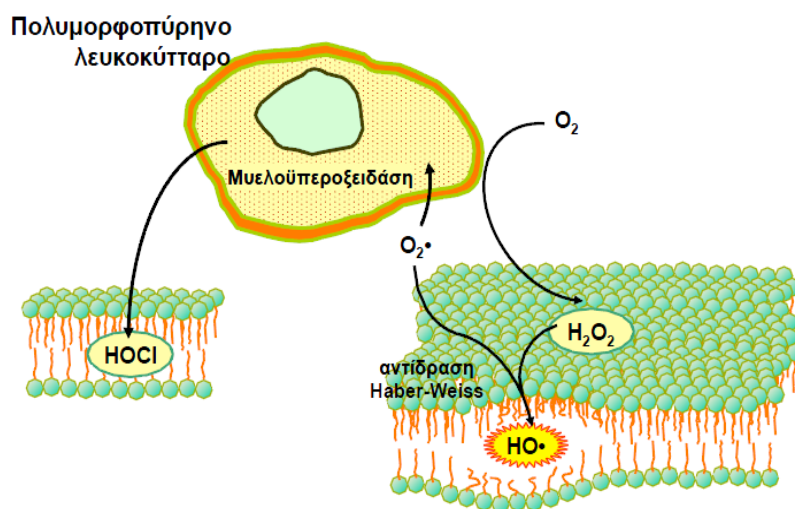
1. ενδογενείς φυσιολογικούς μηχανισμούς ή
2. κάτω από την επίδραση εξωτερικών επιδράσεων.

3.2.1. ΕΝΔΟΓΕΝΕΙΣ ΠΗΓΕΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ

Οι ενδογενείς (ενδοκυτταρικές) πηγές παραγωγής ελευθέρων ριζών περιλαμβάνουν εκείνες που παράγονται στο εσωτερικό του κυττάρου ενεργώντας μέσα στο κύτταρο και εκείνες που σχηματίζονται στο εσωτερικό του κυττάρου και απελευθερώνονται στη γύρω περιοχή και είναι οι εξής:

- 1) Μικροσωμική αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων.
- 2) Μιτοχονδριακή αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων.
- 3) Χλωροπλαστική αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων.
- 4) Οξειδωτικά ένζυμα: οξειδάση της ξανθίνης, οξειδάση της γαλακτόξης, λιποξυγενάση, οξειδάση της μονοαμίνης. Ο μεταβολισμός του οξυγόνου που πραγματοποιείται στα μιτοχόνδρια, γενικά θεωρείται ότι σχετίζεται με την παραγωγή ROS. Η οξειδωτική φωσφορυλίωση οδηγεί στο σχηματισμό τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP). Οξείδωση του υποστρώματος συμβαίνει στον κύκλο του Krebs και στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, με το οξυγόνο να έχει το ρόλο του δέκτη ηλεκτρονίων. Στην αναπνευστική αλυσίδα 95-99 % του οξυγόνου που καταναλώνεται ανάγεται σε H_2O από το συνένζυμο Q (CoQ). Ωστόσο, 1-5 % του O_2 θα οδηγήσει στο σχηματισμό $O_2^{\cdot-}$. Ο σχηματισμός ROS είναι ανάλογος με τη δραστηριότητα της αναπνευστικής αλυσίδας.
- 5) Φαγοκυτταρικά κύτταρα: ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα και μακροφάγα, (ηωσινόφιλα, ενδοθηλιακά κύτταρα). Τα πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα (PMN) είναι κύτταρα του αίματος που παίζουν σημαντικό ρόλο στην προστασία των ιστών από την προσβολή τους από ιούς και βακτήρια. Η ενεργοποίηση των PMN τυπικά αρχίζει με την καταστροφή του ιστού που προκαλείται από ROS ή άλλους μηχανισμούς. Στην οξεία φάση αντίδρασης, τα PMN μεταναστεύουν στην περιοχή τραυματισμού καθώς προσελκύονται από χημειοτακτικούς παράγοντες που προέρχονται από τα κατεστραμμένα κύτταρα και απελευθερώνουν τα λυτικά ένζυμα και το $O_2^{\cdot-}$ κατά τη διάρκεια της φαγοκύτωσης. Τα λυτικά ένζυμα διευκολύνουν την καταστροφή των πρωτεϊνών που έχουν υποστεί βλάβες, ενώ το $O_2^{\cdot-}$ παράγεται από τη μυελοπεροξειδάση και την NADPH οξειδάση. Η κυτταροπλασματική υπεροξειδική δισμουτάση μετατρέπει το $O_2^{\cdot-}$ σε H_2O_2 , το οποίο στη συνέχεια μετατρέπεται σε $OH^{\cdot}$ από ιόντα μετάλλων ή σε $HOCl$. Αν και αυτή η φλεγμονώδης αντίδραση θεωρείται σημαντική για την απομάκρυνση κατεστραμμένων πρωτεϊνών και την παρεμπόδιση βακτηριακής και ιικής μόλυνσης, ROS και άλλα οξειδωτικά που απελευθερώνονται από τα ουδετερόφιλα μπορούν να προκαλέσουν δευτερογενή βλάβη όπως υπεροξείδωση των λιπιδίων.

- 6) Αντιδράσεις αυτό-οξειδωσης: Ορισμένα μόρια όπως φλαβόνες, κατεχολαμίνες, θειόλες και η αιμογλοβίνη μπορούν να αυτοοξειδωθούν σχηματίζοντας $O_2^{\cdot-}$.
[43,46,46,48,49,50]



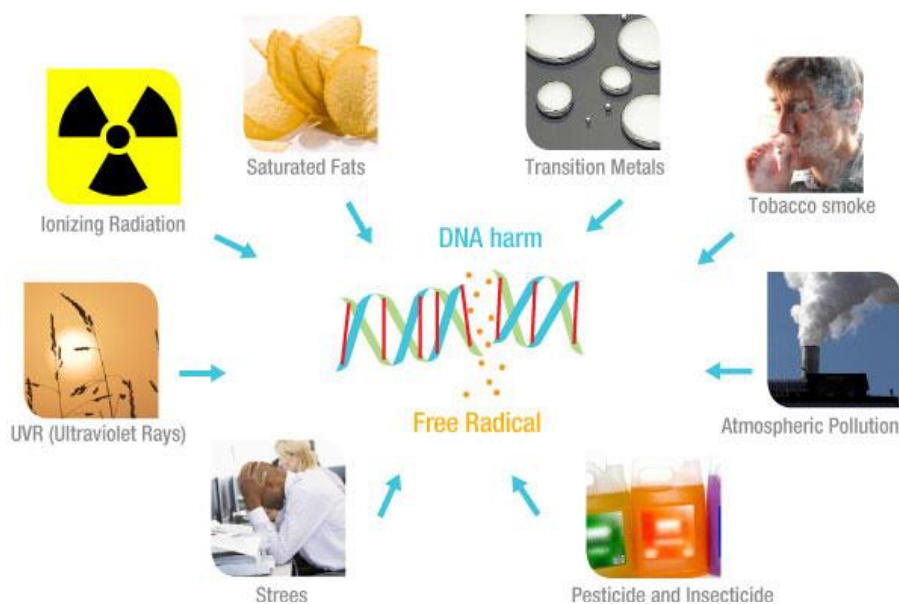
Εικόνα 7: Η παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) από την επιστράτευση των πολυμορφοσυνετρόφιλων (PMN) στο εσωτερικό του κυττάρου, όπου $O_2^{\cdot-}$ = ρίζα σουπεροξειδίου, $OH^{\cdot}$ = ρίζα υδροξυλίου, H_2O_2 = υπεροξείδιο του υδρογόνου, $HOCl$ = υποχλωριώδες οξύ, O_2 = οξυγόνο.

3.2.2. ΕΞΩΓΕΝΕΙΣ ΠΗΓΕΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ

Σημαντικές εξωγενείς πηγές ελευθέρων ριζών αποτελούν :

1. Οξειδώσεις φαρμάκων (π.χ. παρακεταμόλη).
 2. Καπνός τσιγάρου (σταθερές ρίζες στην πίσσα, ασταθείς στην αέρια φάση του κύριου και δευτερεύοντος ρεύματος του καπνού).
 3. Ιοντίζουσα ακτινοβολία (υψηλή ενέργεια που προκαλεί θραύση δεσμών και δημιουργία ελεύθερων ριζών).
 4. Ηλιακή ακτινοβολία (UV-A, UV-B).
 5. Διατροφή.
 6. Θερμικό shock.
 7. Ουσίες που οξειδώνουν τη γλουταθειόνη.
 8. Καρκινογόνες ουσίες (τετραχλωράνθρακας, αμίαντος, βενζόλιο, βαριά μέταλλα).
 9. Οξειδωτικά αέρια της ατμοσφαιρικής ρύπανσης (οξειδία αζώτου, όζον, αιωρούμενα εισπνεόμενα σωματίδια καυσαερίων).
 10. Τοξικές ουσίες (νιτρώδη άλατα, διοξίνες, κινόνες, νιτρο- και άζω- ενώσεις).
 11. Παρασιτικές ασθένειες, φλεγμονώδεις καταστάσεις (βακτήρια, ιοί κ.ά.).
- [43,46,46,48,49,50]

Επίσης, ελεύθερες ρίζες παράγονται από τη δράση φαρμάκων και άλλων ξενοβιοτικών όπως τοξίνες και εντομοκτόνα αλλά και από το αλκοόλ.



Εικόνα 8: Εξωγενείς πηγές παραγωγής ελευθέρων ριζών.

Οι ενδογενείς πηγές παραγωγής ελευθέρων ριζών και ROS αντιμετωπίζονται με τους ενζυμικούς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς και τις μικρού μοριακού βάρους αντιοξειδωτικές ουσίες (κυρίως στο πλάσμα του αίματος).

Οι εξωγενείς πηγές παραγωγής ελευθέρων ριζών, εφόσον υπερβούν τους αμυντικούς μηχανισμούς και την αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού προκαλούν διάφορες βλάβες σε βιομόρια, οξειδωτικό στρες, ασθένειες, και παθολογικές καταστάσεις.

3.3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΕΙΔΩΝ ΟΞΥΓΟΝΟΥ

3.3.1. ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ

1. Χρησιμεύουν ως κυτταρικοί αγγελιοφόροι, έχουν δηλαδή την ικανότητα να μεταφέρουν σήματα από τα σηματοδοτικά μονοπάτια μεταξύ των κυττάρων.
2. Συνεισφέρουν και στο ανοσοποιητικό σύστημα, δρώντας ενάντια στα αντιγόνα κατά τη διάρκεια της φαγοκύττωσης. Ο ρόλος τους αυτός ενισχύεται κατά τη διάρκεια της φλεγμονής.
3. Οι ROS ρυθμίζουν μηχανισμούς που συνδέονται με την ενζυμική ενεργοποίηση, την αποτοξικοποίηση φαρμάκων και την αναπλήρωση του γλυκογόνου. Αναστολή της παραγωγής ROS οδηγεί σε απώλεια της μυϊκής συστολής ενώ αυξημένη παραγωγή ROS έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση μυϊκής κόπωσης. [51,52,53,54]

3.3.2 ΑΡΝΗΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ

Παρά τις επωφελείς επιδράσεις, οι ROS έχουν και κάποιες αρνητικές επιδράσεις:

1. Αλλάζουν το μέγεθος και το σχήμα των μορίων με τα οποία αλληλεπιδρούν. Συνεπώς, οι ROS μπορούν να επάγουν την απόπτωση σε υγιή κύτταρα, να

προκαλέσουν φλεγμονή και να αλλοιώσουν τις κυτταρικές λειτουργίες. Όλες οι παραπάνω αλλοιώσεις μπορούν να οδηγήσουν σε εκφυλιστικές ασθένειες, όπως καταρράκτης, καρκίνος, νόσος Parkinson, νόσος Alzheimer και καθώς και γήρανση. [55,56]

2. Προσβάλλουν βιολογικά μακρομόρια:

α) τα λιπίδια

Τα λιπίδια των μεμβρανών που είναι παρόντα σε υποκυτταρικά οργανίδια, είναι ιδιαίτερα ευάλωτα σε βλάβη προκαλούμενη από ελεύθερες ρίζες. Τα λιπίδια όταν αντιδρούν με τις ελεύθερες ρίζες, μπορεί να υποβληθούν σε μια εξαιρετικά επιζήμια αλυσίδα αντιδράσεων λιπιδικής υπεροξειδωσης, οδηγώντας τόσο σε άμεσες όσο και σε έμμεσες επιπτώσεις. Κατά τη διάρκεια της λιπιδικής υπεροξειδωσης ένας μεγάλος αριθμός τοξικών παραπροϊόντων σχηματίζονται, τα οποία συμπεριφέρονται ως “δεύτεροι αγγελιοφόροι” και δρουν σε περιοχές μακριά από τη θέση παραγωγής τους. Η βλάβη που προκαλείται από τη λιπιδική υπεροξειδωση είναι ιδιαίτερα επιζήμια για τη λειτουργία του κυττάρου. Η λιπιδική υπεροξειδωση είναι μία διαδικασία μεσολαβούμενη από ελεύθερες ρίζες. Η έναρξη της υπεροξειδικής αλληλουχίας οφείλεται στην προσβολή από ελεύθερες ρίζες, οι οποίες αποσπών ένα άτομο υδρογόνου από μια ομάδα μεθυλενίου (CH_2), αφήνοντας ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο στο άτομο άνθρακα ($\bullet\text{CH}$). Αλλάζει τη ρευστότητα των κυτταρικών μεμβρανών, μειώνει την ικανότητα διατήρησης μιας εξισοροποιημένης βαθμίδας συγκέντρωσης και αυξάνει τη διαπερατότητα της μεμβράνης και τη φλεγμονή. Συνεπώς, είναι πιθανό να εντοπίσουμε απώλεια ενδοκυτταρικών υγρών, μείωση της μεταφοράς ηλεκτρονίων στο ενδοπλασματικό δίκτυο και αλλαγές στις μιτοχονδριακές λειτουργίες. [57,58]

β) τις πρωτεΐνες

Οι ROS μπορούν να οξειδώσουν τόσο πρωτεΐνες αίματος όσο και δομικές πρωτεΐνες και να αναστείλουν το πρωτεολυτικό σύστημα. Κατά τη διάρκεια της οξειδωσης, οι πρωτεΐνες μπορεί να χάσουν αμινοξέα ή να κατακερματιστούν. Οι επιπτώσεις της πρωτεϊνικής καταστροφής είναι απώλεια της ενζυμικής λειτουργίας, αλλαγμένες κυτταρικές λειτουργίες όπως παραγωγή ενέργειας και αλλαγές στον τύπο και στο επίπεδο των κυτταρικών πρωτεϊνών. Οι ROS έχουν επίσης την ικανότητα να αλλάζουν το λυσοσωμικό σύστημα και το πρωτεάσωμα, δύο κύρια μονοπάτια αποικοδόμησης πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση οξειδωμένων πρωτεϊνών.[45,59,60,61]

γ) το DNA

Αν και το DNA είναι ένα σταθερό και καλά προστατευμένο μόριο, οι ROS μπορούν να αλληλεπιδράσουν με αυτό και να προκαλέσουν καταστροφές όπως η τροποποίηση των βάσεων, θραύσεις του DNA, απώλεια πουρινών, αλλαγή στο σάκχαρο δεοξυριβόζης και βλάβη στο σύστημα επιδιόρθωσης του DNA. Η ρίζα υδροξυλίου ($\text{OH}\cdot$) αντιδρά με τη γουανίνη στην θέση C-8 και σχηματίζει ένα οξειδωτικό προϊόν την 8-υδροξυ-2'-γουανοσίνη (8-OHdG). Οι ρίζες υδροξυλίου μπορούν επίσης να αντιδράσουν και με άλλες βάσεις όπως η αδενίνη για να σχηματίσουν την 8-υδροξαδενίνη. Αλληλεπίδραση ανάμεσα στις πυριμιδίνες και στις ρίζες υδροξυλίου οδηγεί στο σχηματισμό υπεροξειδίου της θυμίνης, 5-ουρακίλης, γλυκολών της θυμίνης και άλλων τέτοιων προϊόντων.[45,50,62,63]

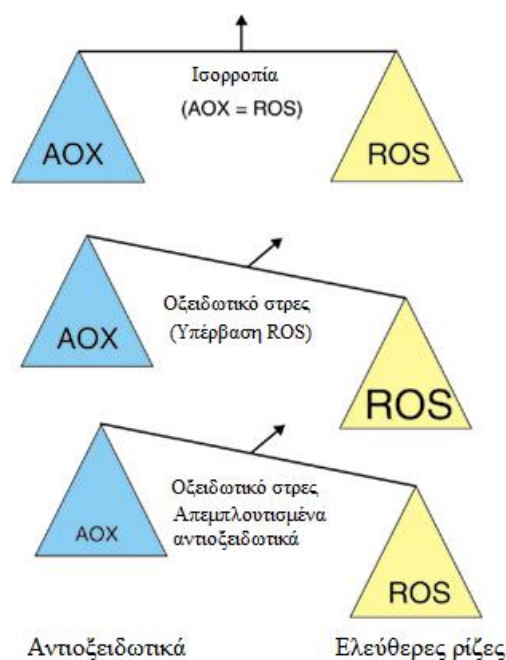
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS

Χαρακτηρίζεται ως η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ των ελευθέρων ριζών και της αντιοξειδωτικής άμυνας του οργανισμού υπέρ των πρώτων.

Ο όρος “οξειδωτικό στρες” εισάχθηκε από τον Sies το 1991 ως η διαταραχή της προοξειδωτικής (π.χ. ελεύθερες ρίζες) - αντιοξειδωτικής ισορροπίας υπέρ της πρώτης, που οδηγεί σε πιθανή βλάβη. Η διαταραχή μεταξύ της παραγωγής ελευθέρων ριζών και της αντιοξειδωτικής άμυνας οδηγεί σε μία οξειδωτική κατάσταση, που εμπλέκεται στη διαδικασία της γήρανσης και σε παθολογικές καταστάσεις (π.χ. καρκίνος, ασθένεια Parkinson). Το οξειδωτικό στρες μπορεί επίσης να αυξηθεί και κάτω υπό φυσιολογικές συνθήκες όπως η σωματική άσκηση. Κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής μεταβολικής δραστηριότητας οι βιολογικοί οργανισμοί σε νεαρές και μεσαίες ηλικίες, σε συνεργασία και κάποια δομικά συστήματα του ενδοκυττάριου περιβάλλοντος είναι ικανά να αντιμετωπίσουν και να προστατεύσουν βιομόρια και ιστούς μέσω αμυντικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών από τις βλαβερές επιπτώσεις του οξειδωτικού στρες. Με τη γήρανση των οργανισμών, αυτοί οι αμυντικοί μηχανισμοί δεν λειτουργούν ικανοποιητικά. Υπάρχουν και εξωγενείς παράγοντες, στους οποίους εκτίθενται καθημερινά οι άνθρωποι (διατροφή, τοξικές και καρκινογόνες χημικές ουσίες, ακτινοβολία, όζον, ατμοσφαιρικοί ρύποι καπνός του τσιγάρου κ.ά.), οι οποίοι συμβάλλουν στη δημιουργία οξειδωτικού στρες και πρέπει να αντιμετωπισθούν με επιπρόσθετες αντιοξειδωτικές ουσίες. Το οξειδωτικό στρες έχει συσχετισθεί με μεγάλο αριθμό βλαβών στους ιστούς και με οξείες και χρόνιες ασθένειες.

Το οξειδωτικό στρες μπορεί να προέλθει από:

1. Μειωμένα επίπεδα αντιοξειδωτικών, π.χ. μεταλλάξεις επηρεάζουν ένζυμα αντιοξειδωτικής άμυνας (CuZnSOD, MnSOD, GSHPX) ή τοξικοί παράγοντες εξαντλούν τέτοιες άμυνες. Για παράδειγμα, πολλά ξеноβιοτικά μεταβολίζονται με σύζευξη με τη GSH: υψηλές δόσεις μπορούν να εξαντλήσουν την GSH και να προκαλέσουν οξειδωτικό στρες. Εξάντληση των διατροφικών αντιοξειδωτικών και άλλων βασικών συστατικών της διατροφής μπορούν επίσης να οδηγήσουν σε οξειδωτικό στρες.
2. Αυξημένη παραγωγή ROS/RNS, π.χ. από έκθεση σε αυξημένα επίπεδα τοξινών που είτε είναι τα ίδια δραστικά είδη είτε μεταβολίζονται σε τέτοια είδη ή από ενεργοποίηση “φυσικών” συστημάτων παραγωγής ROS/RNS (π.χ. ενεργοποίηση φαγοκυττάρων σε χρόνιες φλεγμονώδεις ασθένειες). [64,96]



Εικόνα 9: Σχηματική απεικόνιση οξειδωτικού στρες.

4.1 ΟΙ ΚΥΡΙΟΤΕΡΕΣ ΒΛΑΒΕΣ ΑΠΟ ΤΟ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

Οι κυριότερες βλάβες από τις ROS στον οργανισμό είναι:

1. Η λιπιδική υπεροξείδωση σε λιπίδια μεμβρανών των κυττάρων και άλλες λιποπρωτεΐνες.
2. Βλάβη στους ιστούς. Το οξειδωτικό στρες μπορεί να προκαλέσει βλάβες σε όλα τα μακρομόρια (DNA, πρωτεΐνες και λιπίδια). Οι πρωτεΐνες μπορεί να υποστούν αλλαγές στην τριτοταγή τους δομή, εκφυλισμό και γενικότερα άμεση και έμμεση καταστροφή. Οι επιπτώσεις της πρωτεϊνικής καταστροφής σχετίζονται συνήθως με την απώλεια της φυσιολογικής λειτουργίας των πρωτεϊνών. Όσον αφορά το DNA, οι τροποποιήσεις των βάσεων, οι θραύσεις των αλυσίδων του, οι καταστροφές στο σάκχαρο της δεοξυριβόζης και οι βλάβες στο σύστημα επιδιόρθωσης του είναι μερικές επιπτώσεις του οξειδωτικού στρες που μπορεί να οδηγήσουν στον εκφυλισμό του.
3. Κυτταρικός θάνατος. Αυτό μπορεί να συμβεί με δύο μηχανισμούς: τη νέκρωση και την απόπτωση. Και οι δύο προκύπτουν από το οξειδωτικό στρες. Στο νεκρωτικό κυτταρικό θάνατο, το κύτταρο διογκώνεται και διαρρηγνύεται, απελευθερώνοντας το περιεχόμενό του στον περιβάλλοντα χώρο και επηρεάζοντας τα γειτονικά κύτταρα. Το περιεχόμενο των κυττάρων περιλαμβάνει αντιοξειδωτικά, όπως CAT ή GSH και προοξειδωτικά όπως ιόντα χαλκού και σιδήρου. Ακόμη και αν ένα κύτταρο οδηγείται σε θάνατο από μηχανισμούς άλλους εκτός του οξειδωτικού στρες, ο νεκρωτικός κυτταρικός θάνατος μπορεί να οδηγήσει σε οξειδωτικό στρες στον περιβάλλοντα χώρο. Στην απόπτωση, ο 'μηχανισμός αυτοκτονίας' του κυττάρου ενεργοποιείται, τα αποπτωτικά κύτταρα δεν απελευθερώνουν το περιεχόμενό τους και έτσι η απόπτωση γενικά δεν προκαλεί βλάβη στα περιβάλλοντα κύτταρα. Ο αποπτωτικός κυτταρικός θάνατος μπορεί να επιταχυνθεί σε ορισμένες ασθένειες, όπως κάποιες νευροεκφυλιστικές ασθένειες στις οποίες εμπλέκεται το οξειδωτικό στρες. [64,96]

4.2 ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ

Το οξειδωτικό στρες μπορεί να εκτιμηθεί με μέτρηση:

- i) των ελευθέρων ριζών,
- ii) των βλαβών σε λιπίδια, πρωτεΐνες ή DNA και
- iii) της αντιοξειδωτικής ενζυμικής δραστηριότητας.

4.2.1. ΑΜΕΣΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ

Η παραγωγή των ROS μπορεί να προσδιοριστεί με άμεσες μεθόδους. Η τεχνική του συντονισμού περιστροφής των ηλεκτρονίων είναι μια άμεση φασματοσκοπική μέθοδος που επιτρέπει την άμεση μέτρηση των ROS σύμφωνα με τις παραμαγνητικές τους ιδιότητες. Οι μετρήσεις μπορούν να πραγματοποιηθούν *in vitro*, *in vivo* ή *ex vivo*.

Η μέθοδος προσδιορισμού ελευθέρων ριζών που εφαρμόζεται στη χώρα μας σε εξειδικευμένα ιατρικά κέντρα, επιτρέπει την εκτίμηση και των δύο παραμέτρων του οξειδωτικού στρες:

1. Την προοξειδωτική κατάσταση (*pro-oxidant status*), δηλαδή την ποσότητα των ελευθέρων ριζών που παράγεται στον οργανισμό και
2. Την αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού (*biological antioxidant potential*), δηλ. την ικανότητα του οργανισμού να εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες κατά την παραγωγή τους, πριν προκληθούν βλάβες στα κύτταρα. [51,65,66,96]

4.2.2. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΒΛΑΒΗΣ ΣΤΑ ΛΙΠΙΔΙΑ, ΤΙΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΚΑΙ ΤΟ DNA

Μια βασική προσέγγιση μελέτης του οξειδωτικού στρες είναι η μέτρηση του ρυθμού υπεροξειδωσής των μεμβρανικών λιπιδίων ή των λιπαρών οξέων. Η λιπιδική υπεροξειδωση οδηγεί σε καταστροφή των λιπιδίων και σχηματισμό ενός ευρέους φάσματος πρωτογενών προϊόντων οξείδωσης, όπως τα συζευγμένα διένια ή τα λιπιδικά υδροϋπεροξειδία, και δευτερογενών προϊόντων οξείδωσης, όπως η μαλονδιαλδεΰδη (MDA), τα F2-ισοπροστανία, το πεντάνιο, το αιθάνιο ή το εξάνιο. Η μέτρηση των συζευγμένων διενίων ανιχνεύει τη μοριακή αναδιοργάνωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων κατά τη διάρκεια της αρχικής φάσης της λιπιδικής υπεροξειδωσής. Τα λιπιδικά υδροϋπεροξειδία είναι ένας ακόμη δείκτης της αρχικής αντίδρασης των ελευθέρων ριζών. Η MDA είναι ένα δευτερογενές προϊόν οξείδωσης και παράγεται κατά την αυτοοξείδωση των λιπαρών οξέων. Αυτή η ουσία προσδιορίζεται κατά την αντίδραση της με το θειοβαρβιτουρικό οξύ, που παράγει τις δραστικές ουσίες του θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBARS). Ο προσδιορισμός των F2-ισοπροστανίων, ένα ακόμη δευτερογενές προϊόν οξείδωσης, είναι μια ακόμη μέθοδος προσδιορισμού της ενδογενούς λιπιδικής υπεροξειδωσής και οξειδωτικής βλάβης. Η τροποποίηση των πρωτεϊνών από τις ελεύθερες ρίζες προκαλεί το σχηματισμό καρβονυλομάδων στα αμινοξέα των πλευρικών αλυσίδων. Αύξηση των καρβονυλίων είναι παρούσα σε κάθε φαινόμενο που σχετίζεται με το οξειδωτικό στρες. Έτσι, η μέτρηση του σχηματισμού καρβονυλίων είναι η πιο συνηθισμένη μέθοδος προσδιορισμού της πρωτεϊνικής βλάβης. Οι ολικές πρωτεΐνες συχνά μετριοούνται, με σκοπό ο λόγος των καρβονυλίων προς τις πρωτεΐνες να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης πρωτεϊνικής οξείδωσης. Ακόμη, ο προσδιορισμός των οξειδωμένων αμινοξέων αποτελεί μια εναλλακτική μέθοδο μέτρησης των οξειδωμένων

πρωτεϊνών. Οι ROS επάγουν πολλούς τύπους DNA βλάβης όπως σπάσιμο κλώνων, τροποποιήσεις βάσεων και σταυροδιασυνδέσεις DNA-πρωτεΐνης. Υπάρχουν πολλές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ποσοτικοποίηση των DNA τροποποιήσεων. Ο πιο συχνά χρησιμοποιούμενος δείκτης είναι το νουκλεοτίδιο 8-OHdG, που παράγεται κατά την οξείδωση της γουανίνης από τις ελεύθερες ρίζες. Το οξειδωμένο DNA συνεχώς επιδιορθώνεται και τα οξειδωμένα νουκλεοτίδια όπως το 8-OHdG απεκκρίνονται μέσω του αίματος και των ούρων.[60,67,68]

4.2.3. ANTIOΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

4.2.3.1. ENZYMΙΚΗ ANTIOΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ

Η ενζυμική αντιοξειδωτική δραστηριότητα (SOD, CAT, GPx) είναι μία μέθοδος, η οποία μπορεί να εκτιμήσει την ποιότητα της αντιοξειδωτικής προστασίας υπό φυσιολογικές συνθήκες αλλά μπορεί επίσης να δείξει τη σημασία του οξειδωτικού στρες, ειδικά μετά από φυσική δραστηριότητα. Η αντιοξειδωτική ενζυμική δραστηριότητα μπορεί να μεταβληθεί διαφορετικά: να αυξηθεί στην αρχή (προσαρμογή) ή να μειωθεί εάν το οξειδωτικό στρες είναι σημαντικό ή μεγάλο (χρήση).

4.2.3.2. ANTIOΞΕΙΔΩΤΙΚΕΣ ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ

Η ποσοτικοποίηση των αντιοξειδωτικών πρωτεϊνών (βιταμίνη A, C, E) είναι μια κοινή μέθοδος εκτίμησης της αντιοξειδωτικής προστασίας και της ανίχνευσης της ανεπάρκειας βιταμίνης. Όπως και με τα αντιοξειδωτικά ένζυμα, οι συγκεντρώσεις των αντιοξειδωτικών βιταμινών αλλάζουν παρουσία οξειδωτικού στρες και μπορεί να αποτελέσουν έμμεσους δείκτες οξειδωτικού στρες. [51,69]

4.2.3.3. ΟΛΙΚΗ ANTIOΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ

Ο μεγάλος αριθμός αντιοξειδωτικών στα ανθρώπινα υγρά ή τους ιστούς κάνει δύσκολη τη μέτρηση κάθε αντιοξειδωτικού ξεχωριστά. Επομένως, πολλοί μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί για τη μέτρηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) ενός βιολογικού δείγματος. Η χρήση ενός προοξειδωτικού με σκοπό να ποσοτικοποιήσουμε την ικανότητα απορρόφησης της ρίζας οξυγόνου είναι μία από τις πιο συχνά χρησιμοποιούμενες τεχνικές.[65,66,69]

4.2.3.4. ΆΛΛΑ ANTIOΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

Μια ακόμη τεχνική για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του οργανισμού και του οξειδωτικού στρες είναι η μέτρηση των θειολών. Όπως και με τα υπόλοιπα αντιοξειδωτικά, απώλεια θειολών μπορεί να εμφανιστεί κατά τη διάρκεια μεγάλης περιόδου οξειδωτικού στρες. Όμως η ποσοτικοποίηση της GSH, η πιο σημαντική θειόλη στο ανθρώπινο σώμα, και της GSSG (η οξειδωμένη μορφή της GSH) είναι μια γνωστή τεχνική για την εκτίμηση του οξειδωτικού στρες. Ο λόγος GSH/GSSG είναι ένας ενδιαφέρον δείκτης οξειδωτικού στρες επειδή οι ελεύθερες ρίζες οξειδώνουν την GSH σε GSSG. Το ουρικό οξύ είναι ένα σημαντικό αντιοξειδωτικό στο πλάσμα και τους μύες. Η αλλαντοΐνη, ένα προϊόν οξείδωσης του ουρικού οξέος μπορεί επίσης να είναι ένας αξιόλογος ενδογενής δείκτης οξειδωτικού στρες. [70,71]

4.3 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΑΣΚΗΣΗ

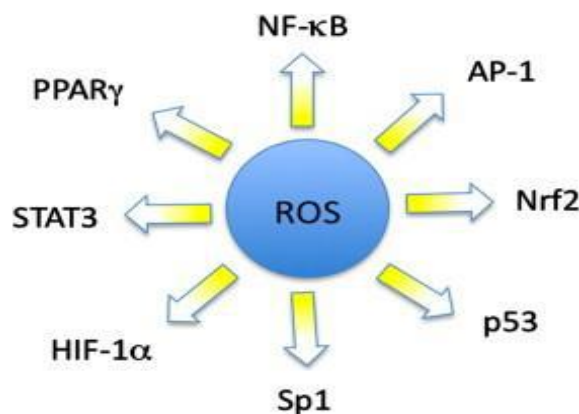
Η άσκηση έχει συνδεθεί με θετικά αποτελέσματα στο καρδιαγγειακό σύστημα, το μεταβολισμό, το μυϊκό σύστημα κ.ά. Μερικά από αυτά τα οφέλη συνδέονται με μείωση της πίεσης του αίματος, αύξηση της ενεργειακής δαπάνης κατά την ηρεμία, αλλαγές στο λιπιδικό προφίλ, μείωση της λιπώδους μάζας και αύξηση της μάζας χωρίς λίπος. Η πλειοψηφία των μελετών που έχει εξετάσει τις θετικές επιδράσεις της άσκησης, έχει χρησιμοποιήσει είτε άσκηση αντοχής (αερόβια άσκηση) είτε άσκηση αντιστάσεως (αναερόβια άσκηση). Τα αποτελέσματα από έρευνες που πραγματοποιήθηκαν τόσο σε ανθρώπους όσο και σε πειραματόζωα έδειξαν ότι η εξαντλητική άσκηση συνδέεται με την αύξηση της παραγωγής των ελευθέρων ριζών και άρα επάγει την εμφάνιση του οξειδωτικού στρες. [72,96]

4.4 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ

Με τη δράση της λιποξυγονάσης, η απόσπαση του δισαλλυλικού υδρογόνου καταλήγει στο σχηματισμό λιπιδικής αλκυλορίζας ($L\cdot$). Μέρος από τις σχηματιζόμενες αλκυλορίζες διαφεύγει από το ενζυμικό αυτό σύστημα και μπορεί να αντιδράσει με το O_2 προς λιποϋπεροξυρίζες ($LOO\cdot$). Επιπλέον, εξαντλούνται αντιοξειδωτικά αμυντικά συστήματα του οργανισμού, όπως η γλουταθειόνη, γεγονός που φαίνεται ικανό να προκαλέσει οξειδωτικό στρες. Κατά τη διάρκεια της φλεγμονής, μαστοκύτταρα και λευκοκύτταρα προσελκύονται στο σημείο της λύσης, γεγονός που οδηγεί σε «αναπνευστική έκρηξη» (καλείται έτσι λόγω της αθρόας κατανάλωσης οξυγόνου, πραγματοποιείται μέσω οξειδασών NADPH, και όχι μόνο και είναι το κύριο στοιχείο για την αντιβακτηριακή ικανότητα των φαγοκυττάρων) και σε αυξημένη απελευθέρωση και συσσώρευση ελευθέρων ριζών στο σημείο της βλάβης. Από την άλλη, τα κύτταρα της φλεγμονής επίσης παράγουν διαλυτούς μεσολαβητές, όπως μεταβολίτες του αραχιδονικού οξέος, κυτοκίνες και χημειοκίνες, οι οποίες δρούν προσελκύοντας και άλλα φλεγμονώδη κύτταρα στο σημείο της φλεγμονής και παράγοντας επιπλέον ελεύθερες ρίζες. Αυτοί οι μεσολαβητές μπορούν να ενεργοποιήσουν τη μεταγωγή σήματος καθώς και να επάγουν αλλαγές σε μεταγραφικούς παράγοντες, όπως ο πυρηνικός παράγων-κΒ (NF-κΒ), ο παράγοντας ενεργοποίησης της μεταγραφής 3 (STAT3), η ενεργοποιός πρωτεΐνη-1 (AP-1) και άλλοι. Η μέσω οξειδωτικού φόρτου επαγόμενη φλεγμονή έχειδειχθεί ότι οδηγεί σε επαγωγή της κυκλοξυγονάσης 2, στην αύξηση της επαγωγίμης μορφής της συνθετάσης του μονοξειδίου του αζώτου (iNOS), καθώς και σε αθρόα αύξηση φλεγμονωδών κυτοκινών, όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκων (TNF) και η ιντερλευκίνη 1, καθώς και χημειοκινών, όπως ο υποδοχέας των χημειοκινών 4 (CXCR4), επιπλέον των αλλαγών που προκαλούνται στην έκφραση συγκεκριμένων microRNA. Γεγονός που συνηγορεί στα παραπάνω είναι ότι η χορήγηση λιποπολυσακχαρίτη (είναι μόριο αποτελούμενο από σκελετό λιπιδικής φύσης στο ένα άκρο, σκελετό γλυκανίων στο άλλο άκρο και προκαλεί έντονη ανοσολογική απόκριση στον ιστό και μετέπειτα στον οργανισμό στον οποίον εγκαθίσταται) προκαλεί τη διέγερση της παραγωγής του TNF, την αύξηση των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) και την ενεργοποίηση του NF-κΒ. Ο NF-κΒ έχει βρεθεί ότι μειώνει την παραγωγή ROS κυρίως μέσω της επαγωγής των γονιδίων των βαριών αλυσίδων της φερριτίνης (FHC) και της δισμουτάσης της ρίζας ανιόντος υπεροξειδίου (SOD2). Στην πρώτη περίπτωση έχουμε τη μείωση των ROS μέσω δέσμευσης από την κυκλοφορία της περίσσειας του σιδήρου και στη δεύτερη μέσω της κατανάλωσης της ρίζας ανιόντος υπεροξειδίου. Αντιθέτως, οι ROS αυξάνουν την ενεργοποίηση του NF-κΒ. Ο μηχανισμός δεν είναι εξακριβωμένος, αλλά πιστεύεται ότι πραγματοποιείται μέσω της ενεργοποίησης του TNF και της ιντερλευκίνης-1, ενώ χορήγηση αντιοξειδωτικών

παραγόντων μειώνει την ενεργοποίησή του. Τέτοια αντιοξειδωτικά-αναστολείς είναι μόρια περιέχοντα θειολική ομάδα ή φαινολικά υδροξύλια, όπως η L-κυστεΐνη, η N-ακετυλο-κυστεΐνη, πολυφαινόλες του πράσινου τσαγιού και η βιταμίνη Ε.

Στο παρακάτω σχήμα φαίνονται οι μεταγραφικοί παράγοντες που επηρεάζονται από το οξειδωτικό στρες. Οι παράγοντες αυτοί εμπλέκονται στην έναρξη και διάδοση της φλεγμονής, αλλά και σε άλλες διαδικασίες όπως ο καρκίνος (νεοπλασία των κυττάρων).



Εικόνα 10: Σχηματική απεικόνιση ποικίλων μεταγραφικών παραγόντων που επηρεάζονται από τις ROS. Μεταγωγέας σήματος και ενεργοποιητής της μεταγραφής-STAT3, μέσω υποξίας επαγόμενος παράγοντας-1a (HIF-1a), ενεργοποιός πρωτεΐνη-1 (AP-1), πυρηνικός παράγων των ενεργοποιημένων T λεμφοκυττάρων E2 (Nrf2).

Αυτή η παρατεταμένη ύπαρξη φλεγμονώδους και οξειδωτικού περιβάλλοντος, που προκαλούν το ένα τη γένεση του άλλου, οδηγούν σε φαύλο κύκλο γεγονότων τα οποία μπορούν να προκαλέσουν την καταστροφή γειτονικών κυττάρων στο σημείο της φλεγμονής και μακροχρόνια να επιφέρουν μέχρι και καρκινογένεση. [74,75,76,96]

4.5 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΕΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Το κολλαγόνο, πρωτεΐνη του δέρματος, είναι ιδιαίτερα επιρρεπής στις βλάβες από τις ελεύθερες ρίζες με αποτέλεσμα όταν αυτές οι βλάβες λάβουν χώρα τα μόρια του κολλαγόνου να διασπώνται και μετά να επανασυνδέονται αλλά με διαφορετικό τρόπο γνωστό ως σταυρωτή σύνδεση. Η σταυρωτή σύνδεση του κολλαγόνου κάνει το συνήθως «κινητό» κολλαγόνο να γίνει άκαμπτο και λιγότερο ευκίνητο. Η έκθεση στον ήλιο προκαλεί επίσης τα αγγελιοφόρα μόρια των δερματικών κυττάρων να γίνουν ενεργά και να προκαλέσουν φλεγμονώδη προϊόντα. Οι έρευνες έχουν δείξει ότι οι πολλαπλές μικροεκθέσεις σε υπερύλη ακτινοβολία οδηγούν σε σταθερή αύξηση των ενζύμων που προκαλούν αποσύνθεση του κολλαγόνου του δέρματος και συμβάλλουν στην φωτογήρανση. Επομένως, οι ρυτίδες και η χαλαρότητα χαρακτηρίζουν το φωτογηρασμένο δέρμα. Αντιθέτως, το ηλικιακά γερασμένο δέρμα που προστατεύεται από τον ήλιο διατηρείται λεπτό και με μειωμένη ελαστικότητα παραμένει όμως απαλό και ακηλίδωτο. Το φωτογηρασμένο δέρμα επιδεικνύει έντονες αλλαγές στην κυτταρική σύσταση και το εξωκυττάριο υγρό του συνδετικού ιστού. Η έκθεση στην ακτινοβολία UV οδηγεί σε συσσώρευση αποδιοργανωμένης ελαστίνης και σε σημαντική απώλεια κολλαγόνου δηλαδή τις βασικές δομικές πρωτεΐνες του συνδετικού

ιστού του δέρματος. Οι ενοποιημένοι παθογόνοι παράγοντες για αυτές τις αλλαγές είναι οι ελεύθερες ρίζες που παράγονται από την υπερϊώδη ακτινοβολία UV. Εκτός του ότι προκαλούν μόνιμες μεταλλάξεις στα γονίδια, οι ελεύθερες ρίζες ενεργοποιούν μηχανισμούς μετατροπής που σχετίζονται με την ανάπτυξη, την γήρανση και αποδόμηση του συνδετικού ιστού. [25,96]

4.6 ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ STRESS

Το οξειδωτικό stress εμπλέκεται στην παθοφυσιολογία:

- της αθηροσκλήρυνσης,
- της στεφανιαίας νόσου,
- της καρδιακής ανεπάρκειας,
- του σακχαρώδους διαβήτη,
- της αρτηριακής υπέρτασης,
- της νόσου Alzheimer,
- της νόσου Parkinson,
- της παγκρεατίτιδας,
- της μη αλκοολικής στεατονέκρωσης του ήπατος,
- της προεκλαμψίας,
- της ρευματοειδούς αρθρίτιδας και
- του συνδρόμου επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας (AIDS)

Οι διάφοροι παράγοντες που ενοχοποιούνται στη δημιουργία καρδιαγγειακών νόσων (κάπνισμα, αύξηση χοληστερόλης, σακχαρώδης διαβήτης) έχουν σχέση με το οξειδωτικό stress. Οι διεργασίες των φλεγμονών, ορισμένες περιπτώσεις καρκινογένεσεων ακόμα και η φυσιολογική εξέλιξη της γήρανσης, έχουν αποδοθεί στην παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Επίσης παρενέργειες φαρμάκων έχουν αποδοθεί στο οξειδωτικό stress.[79]

4.7 ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

Το βιολογικό στρες είναι βέβαιο ότι αποτελεί φαινόμενο παλαιότερο του ανθρώπου. Από τα προϊστορικά έτη θα πρέπει να είχαν υποπτευθεί την ύπαρξή του, όταν μετά από κοπιώδη προσπάθεια ή κίνδυνο παρουσιαζόταν η κοινή αίσθηση της απώλειας δύναμης και της εξάντλησης. Όλοι έχουμε βιώσει περισσότερες από μία φορές την εμπειρία ορισμένου βαθμού στρες. Ο άνθρωπος γρήγορα θα πρέπει να ανακάλυψε ότι, όταν αντιμετώπιζε μια μακρά και κοπιώδη υποχρέωση, ο οργανισμός του περνούσε διαμέσου σταδίων. Στην αρχή αισθανόταν κακουχία, μετά συνήθιζε σ' αυτή και μετά από ένα σημείο δεν μπορούσε να την αντέξει άλλο. Ο καθημερινός αγώνας για επιβίωση τον κρατούσαν πολύ απασχολημένο ώστε να καταπιαστεί και να αναλύσει θέματα όπως η ομοιόσταση ή το βιολογικό στρες. Έτσι ήταν ο Selye που πολύ αργότερα, το 1936, περιέγραψε επιστημονικά το βιολογικό στρες και το ανέλυσε με σύγχρονες προσεγγίσεις. Συμβάντα όπως ο τυχαίος τραυματισμός ακολουθούνται από απόκριση του οργανισμού που δεν ανήκει στην βλάβη αλλά συνιστά προσπάθεια του οργανισμού για ανάταξη της βλάβης. Έτσι και η ασθένεια δεν είναι μια απλή παράδοση στη βλάβη, αλλά μάχη για την υγεία η οποία προϋποθέτει τη σύγκρουση μεταξύ των δυνάμεων προσβολής και των αμυντικών μηχανισμών του οργανισμού. Με μια πρόχειρη ματιά είναι δύσκολο να δούμε πώς τόσο διαφορετικοί μεταξύ τους παράγοντες προκαλούν παρόμοια απόκριση του οργανισμού. Σήμερα όμως

γνωρίζουμε ότι μερικές από τις αποκρίσεις αυτές είναι μη ειδικές και κοινές για όλους τους τύπους στρεσογόνων. Έτσι, το βιολογικό στρες ορίζεται ως «η μη ειδική απόκριση του οργανισμού σε κάθε απαίτηση». Είναι προφανές λοιπόν ότι δεν υφίσταται η έννοια των διαφόρων ειδών στρες, αλλά στρες προκαλούμενο από τους διάφορους παράγοντες (π.χ. ψύχος, πείνα κ.ά.). [77,78]

4.7.1. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ

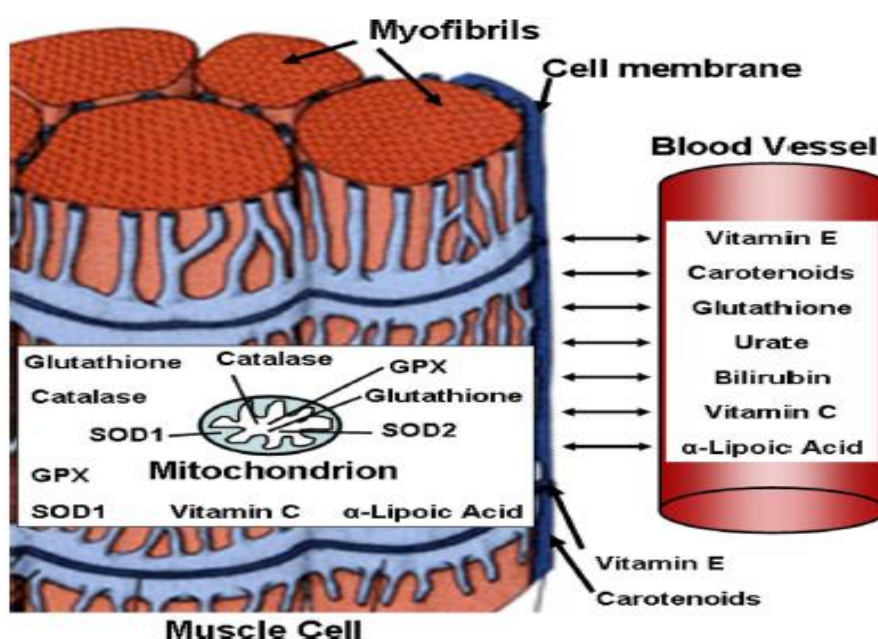
Υπάρχουν αρκετά δεδομένα που συσχετίζουν τα δύο είδη στρες:

- 1) Η εγκατάσταση βιολογικού στρες μέσω ιονίζουσας ακτινοβολίας προκαλεί και ομολυτική διάσπαση του ύδατος παράγοντας ρίζες υδροξυλίου (από τα ισχυρότερα οξειδωτικά και τοξικά σώματα) που οδηγούν σε οξειδωτικό στρες.
- 2) Το βιολογικό στρες προκαλεί σειρά παθολογικών καταστάσεων (διαβήτης, γήρανση κ.ά.).
- 3) Το βιολογικό στρες, μέσω των φλοιοεπινεφριδιακών ορμονών, δρα επί της δομής και λειτουργίας των βιολογικών μεμβρανών, που αποτελούν κύριους στόχους του οξειδωτικού στρες.
- 4) Το βιολογικό στρες, όταν συνεχισθεί με ένταση, οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο (προγραμματισμένο ή μη, απόπτωση ή νέκρωση). Νέκρωση του κυττάρου έχουμε και κατά την εγκατάσταση οξειδωτικού στρες, σε περίπτωση που δεν μπορέσει να απαλλαγεί από την περίσσεια του οξειδωτικού του φορτίου.

Πρόκληση βιολογικού στρες με οποιοδήποτε μέσο προκαλεί τελικά οξειδωτικό στρες. Παρατηρείται αύξηση πολλών δεικτών του βιολογικού στρες όπως γλυκοκορτικοειδή, πεψινογόνο, γενική καχεξία, αλλά και του οξειδωτικού στρες όπως μηλονική διαλδεύδη, 4-υδροξυ-εννεάλη, οξείδωση πρωτεϊνών, ελάττωση γλουταθειόνης. Καταλήγουμε τελικά στο συμπέρασμα ότι η πρόκληση ενός από τα δύο είδη στρες οδηγεί στην πρόκληση και του άλλου και ότι αγωγή που αίρει το ένα μπορεί πιθανόν να άρει και το άλλο. [77,78]

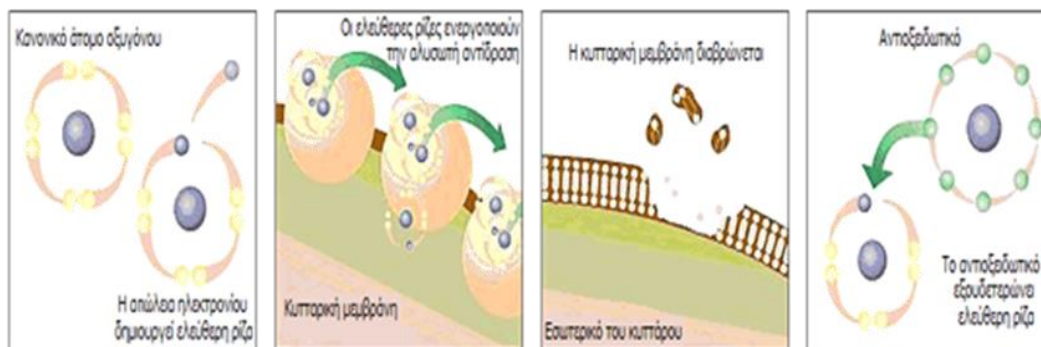
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

Για τον περιορισμό των επιβλαβών επιπτώσεων προκαλούμενες από το οξειδωτικό στρες, ο οργανισμός χρειάζεται ένα πολύπλοκο σύστημα προστασίας: το αντιοξειδωτικό σύστημα. Αυτό το σύστημα αποτελείται από αντιοξειδωτικά ένζυμα, τα οποία συμπεριλαμβάνουν την υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), την καταλάση (CAT), την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) και την αναγωγή της γλουταθειόνης (GR) και από μη-ενζυμικά αντιοξειδωτικά, τα οποία συμπεριλαμβάνουν τη βιταμίνη A (ρετινόλη), τη βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ), τη βιταμίνη E (τοκοφερόλη), τα φλαβονοειδή, τις θειόλες: γλουταθειόνη (GSH), το ουρικό οξύ, το συνένζυμο Q10, τη φερριτίνη, τη χολερυθρίνη και μικροσυστατικά (σίδηρος, χαλκός, ψευδάργυρος, σελήνιο, μαγνήσιο) τα οποία λειτουργούν ως ενζυμικοί συμπαράγοντες.[81,96]



Εικόνα 11: Θέσεις των πρωτογενών ενζυμικών και μη ενζυμικών αντιοξειδωτικών σε μυϊκά κύτταρα, GPX= υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, SOD1= υπεροξειδική δισμουτάση 1, SOD2=υπεροξειδική δισμουτάση 2, GPx = υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, GR = αναγωγή της γλουταθειόνης, GSSG = οξειδωμένη γλουταθειόνη, GSH = ανηγμένη γλουταθειόνη, γ-GCS = γ-γλουτάμυλο-κυστεΐνη, NADPH = νικοτινάμιδο δινουκλεοτιδικό φωσφορικό.

Τα αντιοξειδωτικά είναι μόρια, τα οποία αντιδρούν με τις ελεύθερες ρίζες και τερματίζουν την αλυσιδωτή αντίδραση, πριν να καταστραφούν τα βιομόρια των κυττάρων, βοηθώντας έτσι στη μείωση της σοβαρότητας του οξειδωτικού στρες, είτε σχηματίζοντας λιγότερο δραστικές ρίζες είτε επιδιορθώνοντας τις βλάβες που προκαλούνται από ελεύθερες ρίζες. [19,79,80,96]



Εικόνα 12: Δράση αντιοξειδωτικού μορίου

Τα αντιοξειδωτικά χρησιμοποιούνται σε καλλυντικά προϊόντα που προορίζονται για το πρόσωπο και για τη γήρανση του δέρματος. Μπορούν να αντιμετωπίσουν ελεύθερες ρίζες που βλάπτουν το DNA, τα λιπίδια και τις πρωτεΐνες. Η προσθήκη αντιοξειδωτικών γίνεται για λόγους σταθερότητας και για την αύξηση της ζωής του προϊόντος. Τα αντιοξειδωτικά μπορούν να είναι λιποδιαλυτά, υδατοδιαλυτά ή και τα δύο, το οποίο είναι απαραίτητο γιατί συνήθως έχουμε σκευάσματα 2 φάσεων.

Ένα ιδανικό αντιοξειδωτικό πρέπει να είναι

- 1) σταθερό,
- 2) δραστικό σε ευρεία περιοχή pH και σε χαμηλές συγκεντρώσεις (0,01-0,1 %),
- 3) διαλυτό και στην οξειδωμένη μορφή του συστήματος,
- 4) άχρωμο, ατοξικό ή έστω πολύ χαμηλής τοξικότητας,
- 5) να μην είναι πτητικό ή ερεθιστικό,
- 6) θερμοσταθερό,
- 7) συμβατό με τον περιέκτη και
- 8) το αντιοξειδωτικό και τα προϊόντα οξείδωσης να μην αντιδρούν ή απενεργοποιούν το δραστικό συστατικό. [19,79]

5.1 ΙΣΧΥΡΑ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

BITAMINEΣ

1. Βιταμίνη C
2. Βιταμίνη E
3. β- καροτίνη
4. Συνένζυμο Q10

ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΑ

Σελήνιο: αντιγηραντική ουσία.

ΜΕΤΑΛΛΑ

1. Ψευδάργυρος
2. Χαλκός
3. Μαγγάνιο

5.2 ΤΡΟΠΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ENZYMΙΚΩΝ ΚΑΙ ΜΗ ENZYMΙΚΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΟΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ

Η δράση των ενζυμικών και μη ενζυμικών αντιοξειδωτικών ουσιών διακρίνονται στις παρακάτω τέσσερις κατηγορίες:

- 1) καταλυτική απομάκρυνση ελευθέρων ριζών και ROS από ενδοκυττάριας περιοχές (ένζυμα, υπεροξειδική δισμουτάση, καταλάση, υπεροξειδάσες).
- 2) πρωτεϊνικής φύσης δέσμευση δραστικών μεταλλικών ιόντων (ιδιαίτερα σίδηρος, χαλκός) για τον περιορισμό προ-οξειδωτικών μηχανισμών και παραγωγή ελευθέρων ριζών.
- 3) εκκαθάριση ή εξουδετέρωση ελευθέρων ριζών μέσω αντιοξειδωτικών μηχανισμών, όταν σχηματίζονται στα βιολογικά διαμερίσματα και μείωση των αλυσιδωτών δράσεων οξειδωτικών βλαβών σε βιομόρια.
- 4) αποσύνθεση υπεροξειδίων και άλλων δραστικών μορίων, ώστε να περιορισθούν οι οξειδωτικές δράσεις και μείωση των συγκεντρώσεων οξυγόνου. [79]

5.3 ENZYMΙΚΟΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ [82,83,84]

Οι ενδοκυτταρικοί μηχανισμοί προστατεύονται από τις οξειδωτικές βλάβες από ειδικά ένζυμα με συγκεκριμένους αντιοξειδωτικούς στόχους. Αυτά τα ένζυμα είναι: Η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD)

Είναι η κύρια άμυνα απέναντι στις ρίζες σουπεροξειδίου και είναι η πρώτη γραμμή άμυνας απέναντι στο οξειδωτικό στρες. Η SOD καταλύει την αντίδραση μετατροπής του $O_2^{\cdot-}$ σε H_2O_2 . Στα θηλαστικά υπάρχουν τρεις ισομορφές SOD (SOD1, SOD2, SOD3) και όλες απαιτούν ένα οξειδοαναγωγικό δραστικό μέταλλο μεταπτώσεως στην ενεργή θέση για να πραγματοποιηθεί η καταλυτική διάσπαση του ανιόντος σουπεροξειδίου. Δύο από τις ισομορφές SOD βρίσκονται στο εσωτερικό του κυττάρου ενώ η τρίτη βρίσκεται στον εξωκυττάριο χώρο. Η SOD1 απαιτεί χαλκό-ψευδάργυρο ως συμπράγοντα και κατά κύριο λόγο βρίσκεται στο κυτοσόλιο και στον μιτοχονδριακό ενδιάμεσο χώρο. Η SOD2 χρησιμοποιεί μαγνήσιο σαν συμπράγοντα και βρίσκεται στη μιτοχονδριακή μήτρα. Τέλος, η SOD3 απαιτεί χαλκό-ψευδάργυρο σαν συμπράγοντα και βρίσκεται στον εξωκυττάριο χώρο.

1. Καταλάση (CAT)

Είναι παρούσα σε κάθε κυτταρικό τύπο και ιδιαίτερα στα υπεροξειδιοσωμάτια, κυτταρικές δομές που χρησιμοποιούν οξυγόνο με σκοπό να αποτοξικοποιήσουν τοξικές ουσίες και να παράγουν H_2O_2 . Αποτελείται από τέσσερις πρωτεϊνικές υπομονάδες καθεμία από τις οποίες περιέχει μία ομάδα αίμης στην ενεργό περιοχή τους. Κάθε υπομονάδα φέρει ένα μόριο NADPH, το οποίο συμβάλλει στη σταθερότητα του ενζύμου. Καταλύει την μετατροπή του H_2O_2 σε νερό και οξυγόνο.

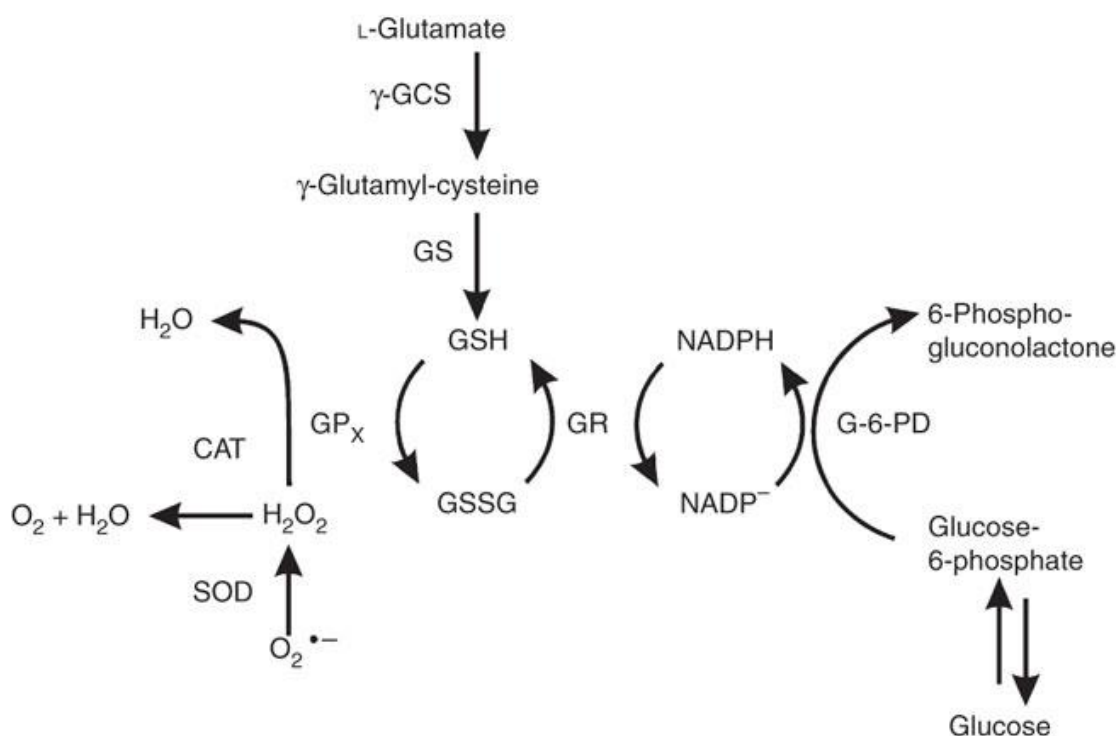
2. Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPX)

Στα θηλαστικά έχουν εντοπιστεί πέντε είδη υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPX1-GPX5). Η GPX καταλύει την αναγωγή του H_2O_2 ή του οργανικού υδροϋπεροξειδίου (ROOH) σε νερό και αλκοόλη, αντίστοιχα, χρησιμοποιώντας την GSH ή σε κάποιες περιπτώσεις τηνθειορεδοξίνη ή την γλουταρεδοξίνη ως δότη ηλεκτρονίων. Το γεγονός ότι πολλά ισοένζυμα GPx ανάγουν μια μεγάλη ποικιλία

υδροϋπεροξειδίων, κάνει την GPx ένα σημαντικό ενδοκυτταρικό αντιοξειδωτικό για την προστασία των λιπιδίων, των πρωτεϊνών και των νουκλεϊκών οξέων από βλάβες προερχόμενες από ROS.

3. Αναγωγή της γλουταθειόνης (GR)

Η αναγωγή της γλουταθειόνης είναι υπεύθυνη για την αναγωγή της οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSSG) σε GSH και συνεπώς για τη διατήρηση της φυσιολογικής αναλογίας GSSG:GSH στο εσωτερικό του κυττάρου. Αποτελείται από δύο υπομονάδες καθεμία από τις οποίες περιέχει στην ενεργό περιοχή της ένα φλαβινο-αδενινουκλεοτίδιο (FAD). Το NADPH ανάγει το FAD, το οποίο στη συνέχεια μεταφέρει τα ηλεκτρόνιά του στη δισουλφιδική γέφυρα. Οι δύο σουλφυδρυλομάδες που σχηματίζονται αλληλεπιδρούν με την GSSG και την ανάγουν σε 2 μόρια GSH.



Εικόνα 13: Απεικόνιση της δράσης της υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD), της καταλάσης (CAT), της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPX) και της αναγωγής της γλουταθειόνης

5.4 ΜΗ ΕΝΖΥΜΙΚΟΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

[19,52,81,85,86,87,88,89]

Οι κυριότεροι αντιοξειδωτικοί παράγοντες, ιδίως μικρού μοριακού βάρους ενώσεις, που κυκλοφορούν στα εξωκυτταρικά υγρά του ανθρώπινου σώματος (πλάσμα αίματος, υγρό των ιστών, εγκεφαλονωτιαίο υγρό, αρθρικό υγρό κ.ά.) είναι:

1. Ουβικινόνη ή συνένζυμο Q

Το συνένζυμο Q10 (CoQ10) είναι ένα ενδογενές μόριο το οποίο είναι απαραίτητο για τη σύνθεση ATP και είναι παρόν στη μιτοχονδριακή μεμβράνη. Ενεργεί ως αντιοξειδωτικό με άμεση δράση απέναντι στις ρίζες υπεροξυλίου ή με έμμεση δράση αναγεννώντας τις βιταμίνες C και παίζει βασικό ρόλο στη μιτοχονδριακή αλυσίδα

μεταφοράς ηλεκτρονίων. Έχει επίσης ωφέλιμες επιδράσεις, όπως η προστασία απέναντι σε καρδιαγγειακές ασθένειες, καρκίνο και κυτταρική γήρανση ή απόπτωση.

2. Τοκοφερόλες (α-τοκοφερόλη) & Βιταμίνη E

Η μοριακή δομή της διευκολύνει την απενεργοποίηση των ROS σε ένα λιπιδικό περιβάλλον, ιδιαίτερα τις ρίζες υπεροξυλίου που προέρχονται από την οξείδωση της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (LDL) και προστατεύει από τη λιπιδική υπεροξείδωση. Στο ανθρώπινο πλάσμα του αίματος, προστατεύει τις λιποπρωτεΐνες από οξείδωση. Η βιταμίνη E είναι μια λιποδιαλυτή βιταμίνη που αποτελείται από πολλές ισομορφές, γνωστές ως τοκοφερόλες. Η α-τοκοφερόλη είναι η πιο ενεργή και άφθονη μορφή. Αλληλεπιδρά με πολυάριθμα αντιοξειδωτικά όπως βιταμίνη C, GSH, β-καροτένιο ή λιποϊκό οξύ, τα οποία έχουν την ικανότητα να αναγεννούν τη βιταμίνη E από την οξειδωμένη της μορφή.

3. Μελανίνες

Είναι χρωμοφόρες ουσίες στο ζωϊκό βασίλειο, σχηματιζόμενες από οξείδωση και πολυμερισμό της τυροσίνης. Απορροφούν την UV ακτινοβολία (ευμελανίνες) στο δέρμα κι έχουν αντιοξειδωτική δράση.

4. Λακτοφερίνη

Κυκλοφορεί στο πλάσμα του αίματος. Δεσμεύει το σίδηρο, προστατεύοντας από την οξειδωτική δράση του τα βιομόρια. Η πρωτεΐνη δεν οξειδώνεται εύκολα από το H_2O_2 , HOCl, ONOO- ή λιπιδικά υπεροξείδια.

5. Σερουλοπλασμίνη

Αντιοξειδωτικό ένζυμο στο πλάσμα του αίματος. Περιορίζει αντιδράσεις παραγωγής ριζών υδροξυλίου, εμποδίζει τη λιπιδική υπεροξείδωση από ιόντα σιδήρου και χαλκού και οξειδώνει καταλυτικά το δισθενή σίδηρο σε τρισθενή σίδηρο χωρίς την απελευθέρωση οξυγονούχων ελευθέρων ριζών.

6. Γλυκόζη

Αποτελεί εκκαθαριστή ριζών υδροξυλίου, ισχυρό αντιοξειδωτικό όπως είναι η μανιτόλη.

7. Χολερυθρίνη

Η χολερυθρίνη είναι το τελικό προϊόν καταβολισμού της πρωτεΐνης της αίμης. Μεταφέρεται στο πλάσμα δεσμευμένη στην αλβουμίνη. Προστατεύει τα λιπαρά οξέα από υπεροξείδωση και είναι ευαισθητοποιητής της παραγωγής του μονήρους οξυγόνου. Αν και τόσο η χολερυθρίνη όσο και η χολοπρασίνη είναι αναγωγικά είδη, η χολερυθρίνη θεωρείται το καλύτερο φυσιολογικό αντιοξειδωτικό κατέχοντας ισχυρή αντιοξειδωτική δράση απέναντι στις ρίζες υπεροξυλίου και προστατεύοντας τα κύτταρα από τοξικά επίπεδα του H_2O_2 .

8. Αλβουμίνες

Πρωτεΐνες μικρού μοριακού βάρους με ικανότητα υψηλής διαλυτότητας. Ενώνονται εύκολα με δισθενή χαλκό. Επίσης είναι ισχυροί εκκαθαριστές του υποχλωριώδους οξέος και μεταφέρουν τη χολερυθρίνη.

9. Β-καροτένιο και βιταμίνη A (ρετινόλη)

Η βιταμίνη A είναι μια λιποδιαλυτή βιταμίνη παρούσα σε πολλές λιπιδικές ουσίες. Το β-καροτένιο, παρόν σε κυτταρικές μεμβράνες, μετατρέπεται σε βιταμίνη A όταν ο

οργανισμός το χρειάζεται. Αν και ο μηχανισμός της *in vivo* δράσης δεν είναι ξεκάθαρος, το β-καροτένιο απενεργοποιεί τις ROS (ιδιαίτερα το $1O_2$ και λιπιδικές ρίζες) και μειώνει τη λιπιδική υπεροξειδωση. Αν και λιγότερο σημαντική από τη βιταμίνη E, η βιταμίνη A και το β-καροτένιο ενεργούν από κοινού με τη βιταμίνη C και τη βιταμίνη E με σκοπό να προστατεύσουν τα κύτταρα από τις ROS.

10. Φλαβονοειδή

Τα φλαβονοειδή είναι φαιολικές ουσίες που σχηματίζονται στα φυτά από τα αμινοξέα φαινυλαλανίνη, τυροσίνη και μηλονικό. *In vitro* μελέτες έχουν τονίσει ότι η αντιοξειδωτική δράση των φλαβονοειδών οφείλεται στην ικανότητα τους να αναστέλουν προ-οξειδωτικά ένζυμα ή να σχηματίζουν σύμπλοκα με προ-οξειδωτικά ιόντα όπως Fe^{2+} , Fe^{3+} ή Cu^{2+} . Τα φλαβονοειδή έχουν επίσης άμεση δράση παγίδευσης κάποιων ROS με άμεση δωρεά ατόμου υδρογόνου. Τα πιο γνωστά είναι: οι κατεχίνες, όπου βρίσκονται κυρίως στο τσάι και το κρασί. Η κερσετίνη βρίσκεται στα μπρόκολα και το σταφύλι. Η ροτίνη, που βρίσκεται στα μήλα. Η απιγενίνη, που βρίσκεται στο σέλινο. Οι θεοφλαβίνες, που βρίσκονται κυρίως στο τσάι.

11. Πολυφαινόλες

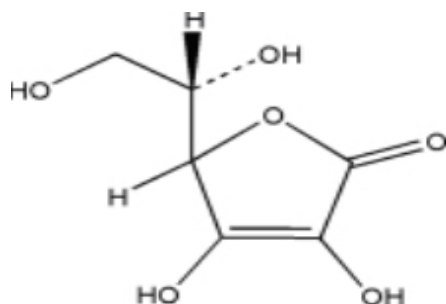
Οι πολυφαινόλες έχουν ευεργετική αντιοξειδωτική δράση. Συμβάλλουν στην προστασία του οργανισμού από τον καρκίνο. Στην κατηγορία των πολυφαινολών ανήκουν και οι πολύτιμες ουσίες: προβιταμίνη A και η βιταμίνη E.

12. Λυκοπένιο

Είναι μια κόκκινη χρωστική ουσία που ανήκει στην κατηγορία των καροτινοειδών. Το λυκοπένιο βρίσκεται στα φρούτα και στα λαχανικά και κυρίως στις ντομάτες.

Πέρα από τα προαναφερθέντα στην κατηγορία των μη ενζυμικών αντιοξειδωτικών παραγόντων ανήκουν : α) η γλουταθειόνη, β) το ουρικό οξύ και γ) το ασκορβικό οξύ. Η αντιοξειδωτική ικανότητα των τριών αυτών υδρόφιλων μορίων μελετήθηκε στην παρούσα εργασία. Παρακάτω γίνεται μια εκτενής αναφορά σε καθένα από αυτά τα μόρια.

5.4.1. ΑΣΚΟΡΒΙΚΟ ΟΞΥ (VITAMIN C) [19,20,79,90,91,96,97,98,103,108,109,110,111,c]

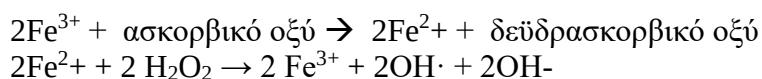


Εικόνα 14: Δομή βιταμίνης C

Η βιταμίνη C είναι μια υδατοδιαλυτή βιταμίνη και το πιο σημαντικό αντιοξειδωτικό στα εξωκυττάρια υγρά αλλά είναι αποτελεσματική και στο κυτταρόπλασμα. Έχει όξινη γεύση με μέγιστη σταθερότητα σε pH 5.4 και σκουραίνει κατά την έκθεση στο φως. Οξειδώνεται γρήγορα παρουσία φωτός, αέρα, ιχθών χαλκού και σιδήρου κάτι το οποίο έχει βλαβερές συνέπειες. In vino απαιτείται ως συμπάροντας οχτώ ενζύμων. Απαντάται σε υψηλές συγκεντρώσεις στο πλάσμα του αίματος και είναι πιο άφθονη σε ιστούς όπου η παραγωγή ROS είναι πιο σημαντική. Αυτό το φαινόμενο ορίζεται ως προσαρμογή απέναντι στο οξειδωτικό στρες. Στα εξωκυττάρια υγρά, η βιταμίνη C έχει την ικανότητα να εξουδετερώνει ROS ($\text{OH}^\cdot$, $\text{O}_2^\cdot$, $\text{LOO}^\cdot$, $\text{RO}^\cdot$). Έχει επίσης την ικανότητα να παγιδεύει ιόντα χαλκού, τα οποία έχουν πολύ ισχυρή οξειδωτική δράση. Ακόμη, βοηθά στην επαναφορά της βιταμίνης E στη δραστική της μορφή.

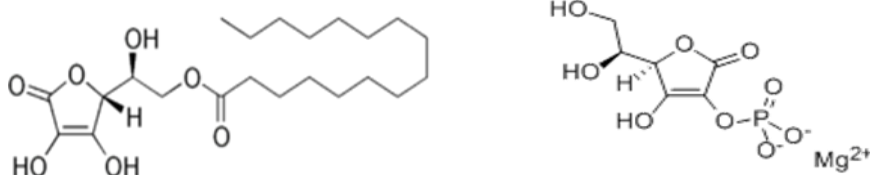
Είναι φωτοπροστατευτική, μειώνει 52% το ερύθημα που προκαλεί η UVB ακτινοβολία και κατά 62% τη βλάβη που προκαλεί η UV στο DNA 8-υδροξύ-δεόξυ-γουανωσίνη (8-OHdG). Επιπλέον συμβάλει στην αντιστροφή εμφάνισης φωτογήρανσης, επιτρέποντας την φωτοπροστασία για πολλούς μήνες δίνοντας στο δέρμα τη δυνατότητα να διορθώσει προηγούμενες βλάβες της φωτογήρανσης. Η σύνθεση κολλαγόνου και η αναστολή της MMP1 έχει αποδειχθεί ότι μειώνει τις ρυτίδες καθώς και η αναστολή της τυροσινάσης και η αντιφλεγμονώδη δραστηριότητα της είναι αποτελεσματικές στον αποχρωματισμό ηλιακών φακίδων.

Το ασκορβικό οξύ αποτελεί καλό δέκτη ηλεκτρονίων, παρουσία μεταλλικών ιόντων κι έτσι μπορεί να προκαλέσει εκκίνηση αντιδράσεων ελευθέρων ριζών με βλαπτικές οξειδωτικές αντιδράσεις στα βιομόρια. Αυτό οφείλεται στις τύπου Fenton που ακολουθούν την οξείδωση του ασκορβικού οξέος από μεταλλικά ιόντα σε υψηλή οξειδωτική κατάσταση. Έτσι, το ασκορβικό οξύ μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή ελεύθερων ριζών με αλληλουχίες αντιδράσεων όπως:



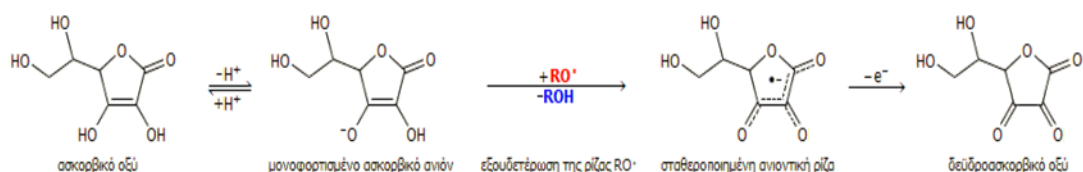
Το παράδοξο αυτό φαινόμενο, δηλαδή ισχυρές αντιοξειδωτικές ουσίες να δημιουργούν μέσω άλλων αντιδράσεων οξυγονούχες ελεύθερες ρίζες, έχει αρχίσει να απασχολεί τους επιστήμονες σχετικά πρόσφατα. Εξαιτίας του, οι επιστήμονες είναι πλέον επιφυλακτικοί ως προς την υπερβολική λήψη "βιταμινών" και "μεταλλικών ιχνοστοιχείων" (σίδηρος, χαλκός), η οποία μπορεί να οδηγήσει σε οξειδωτικό stress. Σε κάθε περίπτωση, μια αντιοξειδωτική ουσία δεν πρέπει να θεωρείται εκ των προτέρων ως ασφαλής.

Όταν ενεργεί ως αντιοξειδωτικό, το Cosmetic Ingredient Review (CIR) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι το ασκορβικό οξύ δεν είναι γονοτοξικό ούτε καρκινογόνο σε μελέτες που διεξήχθησαν από το Εθνικό Πρόγραμμα Τοξικολογίας. Υπάρχουν τρεις μορφές συνήθως διαθέσιμες σε καλλυντικά: ascorbyl palmitate, magnesium ascorbyl phosphate και L-ασκορβικό οξύ.



Το L-ασκορβικό οξύ είναι η ενεργή μορφή της βιταμίνης C. Αποτελεί το υδατοδιαλυτό αντιοξειδωτικό που υπάρχει σε μεγάλη αφθονία στο δέρμα και γενικά στον ανθρώπινο οργανισμό. Δεν συντίθεται στον ανθρώπινο οργανισμό, ως αποτέλεσμα μετάλλαξης στην L-γλυκονο-γ-λακτονο-οξειδάση. Λαμβάνεται διατροφικά και ως συμπλήρωμα διατροφής σε μασόμενα ή αναβράζοντα δισκία, όμως απαιτείται αδιάκοπη παροχή, επειδή η βιταμίνη C δεν αργεί να δράσει στους ιστούς και απεκκρίνεται με τα ούρα διαρκώς.

Ως δότης ηλεκτρονίων, το L-ασκορβικό οξύ είναι σε θέση να λειτουργήσει ως αντιοξειδωτικό. Στο ουδέτερο pH (7-7,5) των βιολογικών οργανισμών ουσιαστικά το σύνολο του ασκορβικού οξέος βρίσκεται στη μορφή του μονοφορτισμένου ασκορβικού ανιόντος. Το μονοφορτισμένο ασκορβικό ανιόν αυτό είναι σε θέση να εξουδετερώσει μια ελεύθερη ρίζα (RO[•]) με την παροχή μιας ρίζας υδρογόνου (H[•]) ή (ισοδύναμα) με την παροχή ενός πρωτονίου και ενός ηλεκτρονίου (H[•] = H⁺ + e⁻) σχηματίζοντας το αδρανές παράγωγο της ρίζας (ROH). Το αποτέλεσμα είναι η ελεύθερη ανιοντική ασκορβική ρίζα (C₆H₆O₆^{-•}), η οποία είναι σταθερή λόγω συντονισμού και αναφέρεται και ως ρίζα ημιδεδροασκορβικού οξέος. Απώλεια ενός επιπλέον ηλεκτρονίου από την ανιοντική ρίζα οδηγεί στον σχηματισμό του δευδροασκορβικού οξέος. Η αλληλουχία των αντιδράσεων μπορεί να αποδοθεί ως εξής:



5.4.1.1. Ο ΑΜΦΙΠΛΕΥΡΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Στην επιδερμίδα υπάρχει πέντε φορές περισσότερη βιταμίνη C από ότι στα βαθύτερα στρώματα του δέρματος. Οι λειτουργίες του L-ασκορβικού οξέος στο δέρμα είναι:

- Αποτρέπει την απώλεια ύδατος και με αυτό τον τρόπο διατηρεί τη λειτουργία του δέρματος ως σύνορο.
- Η βιταμίνη C ενισχύει τη σύνθεση του κολλαγόνου και ελαστίνης. Αυτή είναι απαραίτητη για την υδροξυλίωση της προλίνης και της λυσίνης για το σχηματισμό υδροξυπρολίνης και υδροξυλυσίνης, απαραίτητων αμινοξέων για τη λειτουργία του κολλαγόνου. Σε έλλειψη της, το δίκτυο του νεόπλαστου

κολλαγόνου από τους ινοβλάστες είναι αραιό και χαλαρό με αποτέλεσμα δυσχέρεια επούλωσης.

- Συντελεί στη λεύκανση της επιδερμίδας, αποχρωματίζοντας τη και βοηθά στην απομάκρυνση των κηλίδων.
- Λειτουργεί ως ασπίδα για το δέρμα, προστατεύοντας από τις ηλιακές ακτίνες, ειδικά όταν εφαρμόζεται σε υψηλές συγκεντρώσεις ή σε συνδυασμό με τη βιταμίνη E, αντιηλιακά και καταπραϊντικά προϊόντα. Συμβάλλει έτσι στην πρόληψη της φωτογήρανσης και στη φωτοπροστασία. Η βιταμίνη C δεν απορροφά την υπεριώδη ακτινοβολία, αλλά αντιδρά με τα ανιόντα του υπεροξειδίου, τις υδροξυλικές ρίζες και τα ανιόντα οξυγόνου, που παράγονται κατά την έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία. Η βιταμίνης C του δέρματος καταναλώνεται μετά την έκθεση σε UV, όπως έχουν αποδείξει τα μειωμένα επίπεδα που διαπιστώθηκαν στο δέρμα μετά από έκθεση σε UV. Αποτελέσματα τοπικής εφαρμογής βιταμίνης C, πειραματικά αποδεδειγμένα, είναι η αύξηση της ελάχιστης ερυθματογόνου δόσης, η μείωση της έντασης του ερυθήματος, λιγότερα κύτταρα ηλιακού εγκαύματος και γρηγορότερη απάντηση του δέρματος στη φωτοτοξικότητα. Τοπικά εφαρμοζόμενο L-ασκορβικού οξέος σε δέρμα αυξάνει τα επίπεδα του m-RNA για το προκολλαγόνο I και II, καθώς και τα επίπεδα των ενζύμων προκολλαγόνο-N-πρωτεάση, προκολλαγόνο-C-πρωτεάση και λυσιοξειδάση.
- Παίζει ουσιώδη ρόλο στη σύνθεση και της θεμέλιας ουσίας, στο μεταβολισμό της φαινυλαλανίνης, της τυροσίνης (μειώνει τη σύνθεση μελανίνης, αναστέλλοντας τη δράση της τυροσίνης στο δέρμα),
- Παίζει ρόλο εξίσου σημαντικό:
 - i. στην αναγωγή του φολικού οξέος,
 - ii. στην απορρόφηση του σιδήρου των τροφών και
 - iii. στην προστασία των σπερματοζωαρίων από την ενδογενή οξείωση
- Βελτιώνει τη λειτουργία του επιδερμидικού φραγμού ρυθμίζοντας την παραγωγή σφιγγολιπιδίων
- Προστατεύει από την οξείδωση την βιταμίνη E.

5.4.1.2. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ C

Οι αντιοξειδωτικοί ρόλοι της Βιταμίνης C είναι πολλαπλοί και κάποιες φορές εμφανίζονται σε συνεργασία με άλλες αντιοξειδωτικές ουσίες στα εξωκυττάρια υγρά.

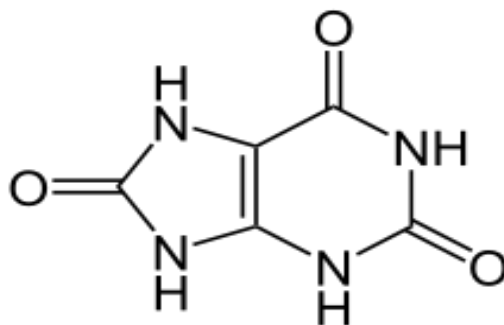
- Μπορεί να εξουδετερώνει τις ρίζες $O_2\cdot$ - και $HO\cdot$.
- Απομακρύνει υδατοδιαλυτές υπεροξυλο- ($RO_2\cdot$), θειυλο- και σουλφενυλο- ρίζες.
- Λιποφιλικοί εστέρες του ασκορβικού οξέος μπορούν να απομακρύνουν λιποδιαλυτές υπεροξυλο-ρίζες.
- Προφυλάσσει από βλάβες μέσω ελευθέρων ριζών που δημιουργούνται με προσβολές από ρίζες υδροξυλίου ($HO\cdot$) ή $RO_2\cdot$ στο ουρικό οξύ, πιθανά αντιδρώντας με τις ρίζες του ουρικού ανιόντος.
- Το ασκορβικό οξύ είναι ισχυρός εκκαθαριστής
 - i. του υποχλωριώδους οξέος ($HOCl$)
 - ii. του υπεροξυνιτρώδους ανιόντος ($ONOO^-$)

- iii. του μονήρους οξυγόνου (O_2).
- iv. των ριζών υδροξυλίου και νιτροξειδίου
- v. του όζοντος και του διοξειδίου του αζώτου (O_3 και NO_2) σε φυσιολογικά ανθρώπινα υγρά επικάλυψης των πνευμόνων από τις οξειδωτικές ενώσεις της ατμοσφαιρικής ρύπανσης.
- Προστατεύει από τη λιπιδική υπεροξείδωση που γίνεται μέσω μιγμάτων αιμοσφαιρίνης- H_2O_2 ή μυοσφαιρίνης - H_2O_2 καθώς και από τη διάλυση της αίμης και απελευθέρωση καταλυτικών ιόντων σιδήρου.
- Αναγεννά την α-τοκοφερόλη από τις τοκοφερόλη-ρίζες της, τόσο σε βιολογικές μεμβράνες όσο και σε λιποπρωτεΐνες.
- Προστατεύει τα λιπίδια του πλάσματος από την υπεροξείδωση που προκαλείται από τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα.
- Μπορεί να προστατεύσει μεμβράνες και λιποπρωτεΐνες από τη λιπιδική υπεροξείδωση που προκαλούν οι οξειδωτικές ουσίες του καπνού του τσιγάρου.
- Προστατεύει από τις οξειδωτικές βλάβες ελευθέρων ριζών που παράγονται από ορισμένα φάρμακα.

Οι αντιοξειδωτικοί ρόλοι του ασκορβικού ανιόντος στο πλάσμα του αίματος και τα άλλα εξωκυττάρια υγρά είναι υψίστης σημασίας για προστασία των ζωντανών οργανισμών. Επιπλέον, το ασκορβικό οξύ εμφανίζει και προ-οξειδωτικές ιδιότητες, όταν αντιδράσουν σύμπλοκα τρισθενούς σιδήρου με H_2O_2 και ασκορβικό ανιόν: Με αυτή την αντίδραση παράγονται ρίζες υδροξυλίου που μπορούν να λάβουν μέρος σε λιπιδική υπεροξείδωση και απελευθέρωση οξυγονούχων ελευθέρων ριζών.

Η επάρκεια βιταμίνης C στον άνθρωπο είναι σημαντική για την πρόληψη διαφόρων ασθενειών και την πρόληψη του οξειδωτικού stress. Τα τελευταία χρόνια έχουν προταθεί τα διαιτητικά όρια πρόσληψης με τα τρόφιμα διαφόρων βιταμινών, με ιδιαίτερη έμφαση των βιταμινών C και E που είναι οι κυριότερες. Όμως, όσο μεγάλη και αν είναι η πρόσληψη της αυτής της βιταμίνης, υπάρχει βιολογικός ρυθμιστικός μηχανισμός περιορισμού της ποσότητας της βιταμίνης C που απορροφάται και διανέμεται στο δέρμα.

5.4.2. ΟΥΡΙΚΟ ΟΞΥ [44,45,61,92,93,94,95,96,97,98,103,108]

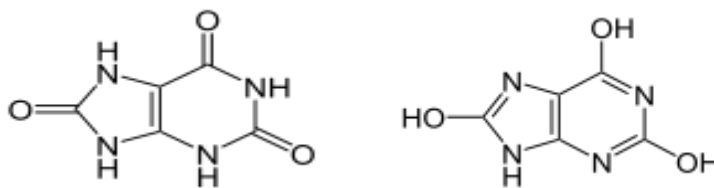


Εικόνα 15: Δομή ουρικού οξέος

Το ουρικό οξύ είναι μια ετεροκυκλική χημική ένωση με χημικό τύπο $C_5H_4N_4O_3$, που αποτελεί παράγωγο της πουρίνης. Σχηματίζεται στον οργανισμό κυρίως από τον καταβολισμό πουρινικών βάσεων (αδενίνη, γουανίνη και ουρακίλη) των νουκλεϊκών οξέων. Υψηλές συγκεντρώσεις ουρικού οξέος στο αίμα σχετίζονται με την εμφάνιση ουρικής αρθρίτιδας («ποδάγρας») και λίθων στα νεφρά (νεφρολιθίαση, ουρολιθίαση).

5.4.2.1. ΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Το ουρικό οξύ είναι διπρωτικό οξύ με σταθερές οξύτητας $pK_{a1} = 5,4$ και $pK_{a2} = 10,3$. Σε υψηλό pH συμπεριφέρεται σαν ισχυρή βάση κατά Lewis και σχηματίζει το διπλώς αρνητικά φορτισμένο ουρικό ιόν. Ωστόσο, σε φυσιολογικό pH χάνει μόνο ένα πρωτόνιο και σχηματίζει το απλώς φορτισμένο ουρικό ανιόν, γνωστό και ως «όξινο ουρικό». Η ένωση μπορεί να εμφανίζεται με ταυτομερείς κετονικές και ενολικές μορφές (ταυτομέρεια κετο-ενόλης), που διαφέρουν στην κατανομή των πρωτονίων μεταξύ των χαρακτηριστικών ομάδων του μορίου. Οι δύο ακραίες περιπτώσεις ταυτομερών είναι οι εξής:



Το ουρικό οξύ και τα άλατά του έχουν γενικά χαμηλή διαλυτότητα στο νερό, γεγονός που ευνοεί την δημιουργία κρυστάλλων.

5.4.2.2. ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ

Αυξημένα επίπεδα ουρικού οξέος στο αίμα οδηγούν στην κατάσταση που ονομάζεται υπερουριχαιμία. Αυτή δηλώνει ότι η ισορροπία μεταξύ της διάσπασης των πουρινών εντός του οργανισμού και της αποβολής του ουρικού οξέος έχει διαταραχθεί,

δηλαδή είτε παράγεται περισσότερο ουρικό οξύ από το φυσιολογικό (ή, ισοδύναμα, εισάγεται στον οργανισμό μεγάλη ποσότητα πουρινών), είτε η αποβολή του ουρικού οξέος είναι ατελής με αποτέλεσμα τη συσσώρευσή του. Η κατάσταση αυτή δεν συνιστά από μόνη της νόσο, ούτε έχει παθολογικά συμπτώματα. Σχετίζεται όμως με την ουρική αρθρίτιδα, η οποία εμφανίζεται με μορφή φλεγμονής και πόνου στα άκρα (κυρίως στα πόδια), και με την νεφρολιθίαση (λίθοι ουρικού οξέως), η οποία μπορεί να εκδηλωθεί με μορφή κωλικού ή αιματουρίας. Τα αίτια της υπερουριχαιμίας μπορεί να είναι είτε η αυξημένη παραγωγή ουρικού οξέος (π.χ. λόγω γενετικών/κληρονομικών παραγόντων ή διατροφής) είτε η μειωμένη απέκκρισή του (π.χ. λόγω νεφρικής δυσλειτουργίας που προσβάλλει ένα ποσοστό 5-25% των ανθρώπων, ή λήψης κάποιων φαρμάκων). Η αντίθετη κατάσταση (υποουριχαιμία) είναι πιο σπάνια και σχετίζεται με έλλειψη σιδήρου (αναιμία) ή μολυβδαινίου, δύο στοιχείων που είναι απαραίτητα για την λειτουργία της ξανθοξειδάσης.

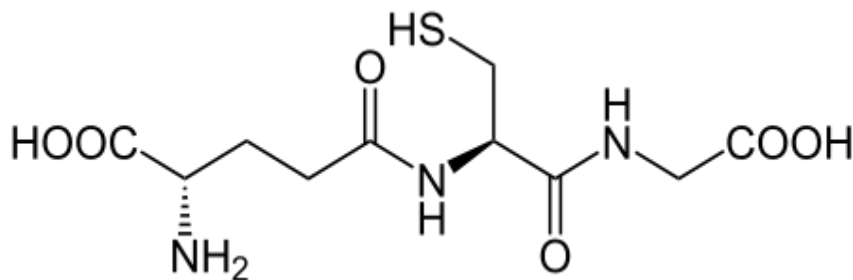
5.4.2.3. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΟΥΡΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Το ουρικό οξύ είναι το τελικό προϊόν μεταβολισμού των πουρινών στους ανθρώπους και αποτελεί αντιοξειδωτικό που συναντάται στο πλάσμα του αίματος. Η έντονη φυσική δραστηριότητα αυξάνει τις συγκεντρώσεις του ουρικού οξέος στο πλάσμα, το οποίο διαχέεται στους μύες με σκοπό να τους προστατεύσει από οξείδωση προκαλούμενη από ελεύθερες ρίζες. Πράγματι, το ουρικό οξύ στο πλάσμα και τον μυ, είναι ένα από τα πιο σημαντικά αντιοξειδωτικά με άμεσες επιδράσεις στο $1O_2$, το $HOCl$, τις ρίζες υπεροξυλίου, το $ONOO^-$ ή το όζον (O_3).

Το ουρικό οξύ αντιπροσωπεύει ένα σημαντικό κομμάτι (>50%) της αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος:

- 1) Προστατεύει τα ερυθροκύτταρα, τις κυτταρικές μεμβράνες, το υαλουρονικό οξύ και το DNA από οξείδωση.
- 2) Σχηματίζει σταθερά σύμπλοκα με ιόντα σιδήρου. Αυτή η διαδικασία εμποδίζει τον Fe^{3+} να δράσει προ-οξειδωτικά, την οξείδωση της βιταμίνης C και τη λιπιδική υπεροξείδωση.
- 3) Είναι εκκαθαριστής οξυγονούχων και αζωτούχων ελευθέρων ριζών.
- 4) Σχηματίζει σύμπλοκα με σίδηρο και χαλκό για την ενίσχυση αντιοξειδωτικής δράσης.
- 5) Αποτελεί άμεσο εκκαθαριστή αλκυλο, υπεροξυλο- ριζών και $HOCl$.

5.4.3. ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗ (GSH) [96,97,99,100,101,102,103,104,105,106,107,108]



Εικόνα 16: Δομή γλουταθειόνης

Η γλουταθειόνη γνωστή και ως γλουταθειό, είναι οργανική χημική ένωση με σημαντική αντιοξειδωτική δράση στους ζωντανούς οργανισμούς. Από βιοχημικής πλευράς είναι ένα τριπεπτίδιο, το μόριο του οποίου αποτελείται από μόρια τριών διαφορετικών αμινοξέων: του γλουταμινικού οξέος, της κυστεΐνης (που περιέχει και το μοναδικό άτομο θείου σε όλη την ένωση) και της γλυκίνης. Από γενικότερης χημικής απόψεως, η γλουταθειόνη είναι μία θειόλη και ταυτόχρονα δικαρβονικό οργανικό οξύ.

Η γλουταθειόνη, που απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1921 από τον Χόπκινς στη ζυθοζύμη και το ήπαρ των θηλαστικών, βρίσκεται σε αφθονία στους ζωικούς ιστούς και στις ζύμες, και λιγότερο στους ιστούς των φυτών. Η φυσιολογική περιεκτικότητα του ανθρώπινου αίματος σε γλουταθειόνη είναι 0,35 ως 0,45 gr ανά λίτρο. Μέσα στους οργανισμούς η ουσία υπάρχει σε δύο μορφές: μία αναγμένη και μία οξειδωμένη. Αυτό της επιτρέπει να παίρνει μέρος στα φαινόμενα οξειδοαναγωγής των ιστών, να διαδραματίζει τον ρόλο μεταφορέα του υδρογόνου και να αποτελεί έναν από τους κύριους παράγοντες σταθερότητας του δυναμικού οξειδοαναγωγής του κυττάρου. Η μεταβολή του ποσοστού της αναγμένης γλουταθειόνης στο αίμα και της σχέσεώς του με το ποσοστό της οξειδωμένης συνιστά ένδειξη μυικής κοπώσεως ή διάφορων νοσηρών καταστάσεων, όπως ο διαβήτης και η αβιταμίνωση.

5.4.3.1. ΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Ο μοριακός χημικός τύπος της γλουταθειόνης είναι $C_{10}H_{17}N_3O_6S$ και η συστηματική χημική της ονομασία κατά IUPAC είναι (2S)-2-αμινο-4-[[[(1R)-1-[(καρβοξυμεθυλ)καρβαμοϋλο]-2 σουλφανυλεθυλ]καρβαμοϋλο}βουτανοϊκό οξύ. Το μοριακό βάρος της είναι 307,32. Η καθαρή γλουταθειόνη είναι στερεό με σημείο τήξεως 195 °C, πολύ ευδιάλυτο στο νερό, αλλά αδιάλυτο στη μεθανόλη και στον διαιθυλαιθέρα.

5.4.3.2. ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ

Η γλουταθειόνη ανήκει στις χρήσιμες για τον οργανισμό ουσίες που μπορεί να συνθέσει ο οργανισμός μόνος του από τα αμινοξέα που την αποτελούν. Η υδροθειομάδα (SH) της κυστεΐνης χρησιμεύει ως δότης πρωτονίων και είναι υπεύθυνη για τη βιολογική της δράση. Η κυστεΐνη καθορίζει τον ρυθμό της κυτταρικής βιοσυνθέσεως της γλουταθειόνης, καθώς αυτό το αμινοξύ είναι το σπανιότερο από τα τρία στην τροφή. Τα κύτταρα παράγουν γλουταθειόνη σε δύο βήματα που εξαρτώνται από την τριφωσφορική αδενοσίνη:

- Πρώτα συντίθεται γ-γλουταμυλοκυστεΐνη από L-γλουταμινικό οξύ και κυστεΐνη δια του ενζύμου «συνθετάση της γ-γλουταμυλοκυστεΐνης» (ή «λιγάση της γλουταμικής κυστεΐνης», GCL).
- Μετά προστίθεται η γλυκίνη στο C-άκρο του μορίου της γ-γλουταμυλοκυστεΐνης από το ένζυμο συνθετάση της γλουταθειόνης.

Η ζωική λιγάση της γλουταμικής κυστεΐνης (GCL) είναι ένα πρωτεϊνικό ετεροδιμερές, που αποτελείται από μία καταλυτική (GCLC) και μία ρυθμιστική (GCLM) μονάδα. Η GCLC αντιπροσωπεύει όλη την ενζυματική δράση, ενώ η GCLM αυξάνει την καταλυτική αποδοτικότητα της GCLC. Μία ένδειξη της σημασίας της γλουταθειόνης είναι ότι ποντίκια χωρίς την GCLC πεθαίνουν πριν καν γεννηθούν. Αντιθέτως, ποντίκια χωρίς την GCLM δεν επιδεικνύουν ιδιάζοντα φαινότυπο, αλλά έχουν σημαντικά μειωμένη γλουταθειόνη GSH και αυξημένη ευαισθησία σε τοξικές προσβολές. Παρότι όλα τα κύτταρα στο ανθρώπινο σώμα είναι ικανά να συνθέτουν γλουταθειόνη, η σύνθεσή της από το ήπαρ έχει αποδειχθεί καίριας σημασίας: Ποντίκια με γενετικώς επαχθείσα απώλεια της GCLC μόνο στο ήπαρ πεθαίνουν μέσα στον πρώτο μήνα μετά τη γέννησή τους. Η φυτική λιγάση της γλουταμικής κυστεΐνης (GCL) είναι ομοδιμερές ένζυμο ευαίσθητο στο οξειδοαναγωγικό περιβάλλον και διατηρείται στο φυτικό βασίλειο. Σε οξειδωτικό περιβάλλον σχηματίζονται διαμοριακές «γέφυρες» δισουλφιδίων και το ένζυμο μεταπίπτει στην ενεργό κατάσταση, με δυναμικό μέσου σημείου του κρίσιμου ζεύγους κυστεΐνης -318 mV. Εκτός αυτού, η δράση του ενζύμου ρυθμίζεται από το ίδιο το προϊόν, τη γλουταθειόνη, που καταστέλλει τη δράση αυτή. Στα φυτά η GCL εντοπίζεται αποκλειστικά στα πλαστίδια. Η βιοσύνθεση της γλουταθειόνης γίνεται και σε βακτηρίδια, όπως τα κυανοβακτήρια και τα πρωτεοβακτήρια, αλλά απουσιάζει σε πολλά άλλα βακτηρίδια. Οι περισσότεροι ευκαρυωτικοί οργανισμοί συνθέτουν γλουταθειόνη, αλλά μερικοί όχι, όπως τα ψυχανθή, και τα γένη *Entamoeba*, and *Giardia*. Τα μοναδικά αρχαιοβακτήρια που συνθέτουν γλουταθειόνη είναι τα αλοβακτήρια.

5.4.3.3. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ

Είναι η πιο άφθονη μη πρωτεϊνική πηγή θειόλης στο κύτταρο και οι συγκεντρώσεις της στους περισσότερους ιστούς είναι στην κλίμακα των millimolar. Η GSH μπορεί να συντεθεί τόσο από ενδογενή όσο και από αμινοξέα της διατροφής, αλλά μόνο το ήπαρ συμβάλει σε σημαντική de novo σύνθεση της.

Η GSH εξυπηρετεί πολλές λειτουργίες κατά την προστασία των ιστών από οξειδωτική βλάβη και τη διατήρηση του ενδοκυτταρικού περιβάλλοντος σε αναγμένη κατάσταση. Είναι το κυριότερο ενδογενές αντιοξειδωτικό που παράγεται από τα κύτταρα, συμμετέχοντας απευθείας στην εξουδετέρωση των ελεύθερων ριζών και των ενεργών μορφών του οξυγόνου. Η GSH ανάγει το υδρογόνο και τα οργανικά υπεροξειδία μέσω μιας αντίδρασης που καταλύεται από την GPx, εξουδετερώνει την OH[•] και το μονήρες O₂ και ανάγει τις ρίζες τοκοφερόλης και βιταμίνης C εμποδίζοντας επομένως τη λιπιδική υπεροξειδωση. Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) καταλύει τη μετατροπή του H₂O₂, που παράγεται από τη δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD) με την αποσύνθεση του σουπεροξειδίου ανιόντος σε H₂O. Επίσης η GSH [παίζει ρόλο στην αποτοξίνωση από μια ποικιλία ξеноβιοτικών ουσιών, οι οποίες αλληλεπιδρούν με τη γλουταθειόνη και τελικά αποβάλλονται με τα ούρα ή τα κόπρανα, με τη μορφή меркаπтурικών οξέων. Η γλουταθειόνη όχι μόνο προστατεύει τις κυτταρικές μεμβράνες από οξειδωτική βλάβη, αλλά και βοηθά να διατηρηθούν οι ομάδες σουλφυδρυλίου πολλών πρωτεϊνών στην αναγμένη τους μορφή, μια απαίτηση για τη φυσιολογική λειτουργία τους.

5.4.3.4. ΔΡΑΣΕΙΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ

Μέσα στους οργανισμούς η γλουταθειόνη υπάρχει σε δύο καταστάσεις, την αναγμένη (GSH) και την οξειδωμένη (GSSG). Στην πρώτη, η υδροθειομάδα (SH) της κυστεΐνης είναι ικανή να δώσει ένα αναγωγικό ισοδύναμο (H⁺ + e⁻) σε άλλα ασταθή μόρια, όπως οι δραστικές ρίζες του οξυγόνου. Με την παροχή ενός ηλεκτρονίου η ίδια η γλουταθειόνη καθίσταται δραστική, αλλά γρήγορα αντιδρά με ένα άλλο μόριο δραστικής γλουταθειόνης και σχηματίζει διθειούχο γλουταθειόνη (GSSG). Μία τέτοια αντίδραση γίνεται αρκετά πιθανή εξαιτίας της σχετικώς υψηλής συγκεντρώσεως γλουταθειόνης μέσα στα κύτταρα (μέχρι και 5 mM στο ήπαρ).

Η GSH μπορεί να αναδημιουργηθεί από την GSSG με τη μεσολάβηση του ενζύμου αναγωγάση της γλουταθειόνης (GSR). Στα υγιή κύτταρα και ιστό περισσότερο από το 90% του ολικού αποθέματος γλουταθειόνης βρίσκεται στην αναγμένη κατάσταση (GSH) και λιγότερο από το 10% στην οξειδωμένη (GSSG). Αυξημένος λόγος GSSG προς GSH θεωρείται ένδειξη οξειδωτικού στρες.

Η γλουταθειόνη επιτελεί πολλές λειτουργίες στους ζωντανούς οργανισμούς:

- 1) Η GSH συζεύγνυται με το NO για να σχηματίσει S-νιτροζογλουταθειόνη, το οποίο διασπάται από το σύστημα θειορεδοξίνης για να απελευθερώσει GSH και NO.
- 2) Χρησιμεύει ως υπόστρωμα για την αφυδρογονάση της φορμαλδεΰδης, η οποία μετατρέπει την φορμαλδεΰδη και την GSH σε S-φόρμυλο-γλουταθειόνη. Η απομάκρυνση της φορμαλδεΰδης (καρκινογόνο) είναι φυσιολογικής σημασίας επειδή παράγεται από το μεταβολισμό της μεθειονίνης, της χολίνης, της μεθανόλης, της σαρκosίνης και των ξеноβιοτικών ουσιών.
- 3) Είναι απαραίτητη για τη μετατροπή της προσταγλανδίνης H₂ σε προσταγλανδίνες D₂ και E₂ από την ισομεράση του ενδοϋπεροξειδίου.
- 4) Συμμετέχει στο σύστημα της γλυοξυλάσης, η οποία μετατρέπει την μεθυλογλυοξυλάση σε D-γαλακτικό, ένα μονοπάτι δραστικό σε μικροοργανισμούς.

- 5) Επαρκείς συγκεντρώσεις GSH είναι απαραίτητες για τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, συμπεριλαμβανομένου των λεμφοκυττάρων και των εντερικών επιθηλιακών κυττάρων.
- 6) Είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων και των πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων καθώς και την παραγωγή κυτοκινών.
- 7) Ρυθμίζει τον κύκλο του μονοξειδίου του αζώτου, που είναι κρίσιμος για τη ζωή.
- 8) Επιδρά σε μεταβολικές και βιοχημικές αντιδράσεις όπως η σύνθεση και επισκευή του DNA, η πρωτεϊνοσύνθεση, η σύνθεση προσταγλανδίνης, η μεταφορά αμινοξέων και η ενεργοποίηση ενζύμων. Για τον λόγο αυτό, κάθε σύστημα του σώματος μπορεί να επηρεασθεί από την κατάσταση του συστήματος της γλουταθειόνης, ιδίως το ανοσοποιητικό, το νευρικό, το γαστρεντερικό και οι πνεύμονες. Χαμηλά επίπεδα γλουταθειόνης έχουν συνδεθεί με ηπατική δυσλειτουργία, δυσλειτουργία του ανοσοποιητικού, καρδιακή ασθένεια, πρόωρη γήρανση, Alzheimer, AIDS, ρευματοειδής αρθρίτιδα κ.ά.
- 9) Ζωτική είναι επίσης η δράση της στον μεταβολισμό του σιδήρου. Κύτταρα μαγιάς χωρίς ή με τοξικά επίπεδα γλουταθειόνης δείχνουν έντονες παρενέργειες από έλλειψη σιδήρου, όπως αδρανοποίηση των εξωμιτοχονδριακών ενζύμων ISC, και μετά πεθαίνουν.
- 10) Διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση των ανοσοκυττάρων και αποτελεί ισχυρό αποτοξινωτικό παράγοντα.

➤ Στα ζώα

Η γλουταθειόνη δρα ως υπόστρωμα σε συζευκτικές και αναγωγικές αντιδράσεις, που καταλύονται από το ένζυμο S-τρανσφεράση της γλουταθειόνης στο κυτταροπλασματικό υγρό, στα μικροσώματα και στα μιτοχόνδρια. Είναι επίσης ικανή να συμμετέχει σε μη ενζυματικές συζευκτικές αντιδράσεις με κάποιες ουσίες. Στην περίπτωση της NAPQI (N-ακετυλο-p-βενζοκινονιμίνης), ο ενεργός στο κυτόχρωμα P450 μεταβολίτης που σχηματίζεται από την παρακεταμόλη και καθίσταται ηπατοτοξικός όταν η γλουταθειόνη εξαντλείται από υπερβολική δόση του φαρμάκου (που είναι η δραστική ουσία του Deron), η γλουταθειόνη είναι ένα ουσιώδες αντίδοτο στην υπερβολική δόση. Η γλουταθειόνη συζεύγνυται με το NAPQI και βοηθά να το καταστήσει μη τοξικό, προστατεύοντας έτσι τις θειολικές κυτταρικές πρωτεΐνες. Η γλουταθειόνη συμμετέχει στη σύνθεση της λευκοτριένης. Είναι επίσης σημαντικό υδρόφιλο μόριο που προστίθεται στις λιπόφιλες τοξίνες και απόβλητα του ήπατος πριν γίνουν μέρος της χολής. Η γλουταθειόνη χρειάζεται και για την εξουδετέρωση της μεθυλογλυοξάλης, μιας τοξίνης που παράγεται ως παραπροϊόν του μεταβολισμού, μέσω των ενζύμων γλυοξαλάσες: η γλυοξαλάση I (EC 4.4.1.5) καταλύει τη μετατροπή της μεθυλογλυοξάλης και της αναγμένης γλουταθειόνης σε S-D-λακτοϋλογλουταθειόνη και στη συνέχεια η γλυοξαλάση II (EC 3.1.2.6) καταλύει την υδρόλυση της S-D-λακτοϋλογλουταθειόνης σε γλουταθειόνη και D-γαλακτικό οξύ.

➤ Στα φυτά

Στα φυτά η γλουταθειόνη είναι απαραίτητη για τον λεγόμενο «κύκλο γλουταθειόνης-ασκορβικού οξέος, ένα σύστημα αντιδράσεων που ανάγει το δηλητηριώδες υπεροξειδίο του υδρογόνου. Αποτελεί επίσης την πρόδρομη ένωση των φυτοχηλατινών (phytochelatins), ολιγομερών της γλουταθειόνης που αιχμαλωτίζουν βαρέα μέταλλα όπως το κάδμιο. Από την άλλη, η γλουταθειόνη

απαιτείται για την αποτελεσματική άμυνα εναντίον φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών, όπως η *Pseudomonas syringae* και η *Phytophthora brassicae*^[18]. Η αναγωγή APS, ένα ένζυμο της οδού αφομοιώσεως του θείου, χρησιμοποιεί τη γλουταθειόνη ως δότη ηλεκτρονίων. Υπάρχουν και άλλα ένζυμα που χρησιμοποιούν τη γλουταθειόνη ως υπόστρωμα, όπως οι γλουταρεδοξίνες, μικρά οξειδοαναγωγικά ένζυμα που συμμετέχουν στην ανάπτυξη των ανθέων και στα αμυντικά χημικά σήματα των φυτών.

➤ Στον καρκίνο

Η γλουταθειόνη βοηθάει στην προστασία έναντι του καρκίνου αλλά και άλλων ασθενειών οι οποίες προκαλούνται από οξειδωτική καταστροφή. Μετά την ανάπτυξη ενός όγκου, αυξημένα επίπεδα γλουταθειόνης μπορεί να δρουν προστατευτικά για τα καρκινικά κύτταρα, προσφέροντάς τους αντίσταση κατά των χημειοθεραπευτικών φαρμάκων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ (HPLC) [112,113,114,115,h]

Χρωματογραφική τεχνική είναι εκείνη που χρησιμοποιείται πρωταρχικά για το διαχωρισμό των συστατικών του δείγματος, τα οποία κατανέμονται ανάμεσα σε δύο φάσεις, η μία από τις οποίες είναι η στατική, ενώ η άλλη η κινητή. Η στατική φάση μπορεί να είναι στερεή ή υγρή, υποστηριζόμενη από ένα στερεό ή μια πηκτή και να βρίσκεται πακτωμένη σε στήλη, τοποθετημένη ως στοιβάδα ή ως υμένιο. Η κινητή φάση μπορεί να είναι υγρή ή αέρια ή υπερκρίσιμο ρευστό.

Όταν η κινητή φάση είναι υγρό και η στατική στερεό ή υγρό και βρίσκεται καλά πακτωμένη σε μια στήλη, τότε πρόκειται για την υγρή χρωματογραφία στήλης. Η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) αποτελεί μια σύγχρονη τεχνική και μπορεί να θεωρηθεί ως επέκταση της υγρής χρωματογραφίας στήλης, με εφαρμογή υψηλών πιέσεων. Η HPLC μπορεί να χρησιμοποιηθεί και να δώσει αξιόπιστα αποτελέσματα, τόσο στην ανάλυση διάφορων ιόντων, όσο και για την ανάλυση οργανικών μορίων. Αναπτύχθηκε στα μέσα της δεκαετίας του 1970 και η ταχύτατη εδραίωσή της στο χώρο της ενόργανης ανάλυσης βασίστηκε στην ανακάλυψη νέων υλικών πλήρωσης της στήλης, καθώς και στην ευκολία που παρείχαν οι συνδεδεμένοι σε σειρά ανιχνευτές. Στο τέλος της δεκαετίας αναπτύχθηκε και η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης αντίστροφης φάσης η οποία έλυσε ολοκληρωτικά το πρόβλημα διαχωρισμού παρόμοιων συστατικών. Στη δεκαετία του 1980 εμφανίστηκαν νέες τεχνικές στην υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης οι οποίες βελτίωσαν το διαχωρισμό, την ανίχνευση, τον ποιοτικό και τον ποσοτικό διαχωρισμό των ενώσεων, ενώ παράλληλα η ανάπτυξη των υπολογιστών διευκόλυνε ουσιαστικά την αυτοματοποίηση της συγκεκριμένης τεχνικής. Το γεγονός αυτό καθιέρωσε την HPLC ως μια ιδιαίτερα δημοφιλή τεχνική τα τελευταία χρόνια, καθώς θεωρείται η πλέον κατάλληλη για τον ακριβή και επαναλήψιμο προσδιορισμό ενός μεγάλου φάσματος ενώσεων τόσο οργανικών όσο και ανόργανων.

6.1 ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΥΓΡΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ ΥΨΗΛΗΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Η HPLC χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό πολύπλοκων ανόργανων και οργανικών μιγμάτων, καθώς και στην ποσοτική και ποιοτική ανάλυση. Η τεχνική αυτή έχει πολύ μεγάλη εφαρμογή στην ανάλυση βιολογικών και φαρμακευτικών μιγμάτων, καθώς και των μεταβολιτών τους.

Η Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης αποτελείται από τα εξής τμήματα:

- I. Σύστημα παροχής διαλυτών
- II. Αντλία
- III. Σύστημα εισαγωγής του δείγματος στη στήλη
- IV. Χρωματογραφική στήλη
- V. Ανιχνευτή
- VI. Σύστημα συλλογής και καταγραφής των αποτελεσμάτων

6.2 ΔΙΑΛΥΤΕΣ ΚΙΝΗΤΗΣ ΦΑΣΗΣ

Η κινητή φάση είναι συνήθως μίγμα, ενός ή περισσότερων οργανικών διαλυτών και νερού ή ρυθμιστικού διαλύματος με συγκεκριμένη τιμή pH, στην περίπτωση της αντίστροφης φάσης, ή μίγμα μη πολικών διαλυτών στην περίπτωση της κανονικής φάσης. Για να μπορεί ένας οργανικός διαλύτης να χρησιμοποιηθεί πρέπει να πληροί ορισμένες προϋποθέσεις:

1. Να είναι υψηλής καθαρότητας
2. Να είναι σχετικά φθηνός
3. Να έχει χαμηλή τοξικότητα
4. Να είναι δραστικός σε χαμηλές συγκεντρώσεις
5. Να μην καταστρέφει το δείγμα
6. Να μην αποσυντίθεται εύκολα
7. Να μην είναι πτητικός
8. Να έχει χαμηλό ιξώδες, χαμηλή πίεση επαναφοράς και μεγαλύτερη ικανότητα διαχωρισμού

6.3 ΣΤΗΛΕΣ

Η καρδιά του χρωματογραφικού συστήματος είναι η στήλη, αφού σ' αυτήν επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός των ουσιών. Πρέπει να είναι υψηλής ποιότητας, ώστε να μπορεί να δίνει ακριβή και επαναλήψιμα αποτελέσματα. Οι χρωματογραφικές στήλες διακρίνονται με βάση τη διάμετρό τους, το υπόστρωμά τους και τη μέθοδο διαχωρισμού τους.

Οι κυρίως στήλες ή απλά στήλες HPLC είναι κυλινδρικές από ανοξείδωτο μέταλλο, ή πλαστικό κατάλληλο, ώστε να αντέχουν στις μεγάλες πιέσεις που εξασκούν επάνω τους οι αντλίες. Οι διαστάσεις τους είναι 10-50 cm και η διάμετρό τους 1-5mm. Αγοράζονται έτοιμες από τις κατασκευάστριες εταιρίες. Το εσωτερικό τους πληρούται με 19λεπτόκοκκο αδρανές υλικό που οι πόροι του καλύπτονται με την υγρή στατική φάση. Μια καλά πληρωμένη στήλη μπορεί να έχει απόδοση περίπου 400 θεωρητικών πλακών ανά εκατοστό με σωματίδια 5-10μm. Η διαχωριστική ικανότητα μιας στήλης μπορεί να βελτιωθεί μεταβάλλοντας τον αριθμό των θεωρητικών πλακών "N" δηλαδή το μήκος της στήλης, ή μεταβάλλοντάς τη διάμετρο των κόκκων του υλικού πλήρωσης, ή αυξομειώνοντας την ταχύτητα της κινητής φάσης. Υπάρχουν δύο τύποι στηλών: α) αναλυτικές στήλες, β) προστατευτικές στήλες. Οι στήλες πληρούνται γενικά με τρεις τύπους σωματιδίων (πληρωτικών υλικών) :

- 1) Τα μικροπορώδη σωματίδια με διάμετρο πόρου 5-10μm και τα οποία επιτρέπουν τη διόδο μόνο μικρού μεγέθους συστατικών.
- 2) Τα μακροπορώδη σωματίδια που εκτός από μικρούς μοριακούς πόρους διαθέτουν και μεγάλους πόρους διαμέτρου >60μm που επιτρέπουν τη διόδο τόσο των μικρών όσο και των μεγάλων συστατικών.
- 3) Τα υμενοειδή σωματίδια διαμέτρου 35-45μm, τα οποία διαθέτουν ένα αδρανή πυρήνα καλυμμένο από ένα υμένα υγρής στατικής φάσης και επιτυγχάνεται υψηλή διαχωριστικότητα για μικρούς όγκους δείγματος.

Οι στήλες αντίστροφης φάσης (RPLC) χρησιμοποιούνται ευρέως στην υγρή χρωματογραφία. Πρόκειται για δεκαοκτυλο-(C18), οκτυλο-(C8), φαιναιθυλο- και

κυανοπροπυλο- ομάδες που είναι χημικά συνδεδεμένες με το οξείδιο του πυριτίου. Το χαρακτηριστικό γνώρισμα των στηλών αυτών είναι η μεγαλύτερη πολικότητα της κινητής φάσης σε σχέση με τη στατική, η οποία θεωρητικά θα πρέπει να συμπεριφέρεται σαν μια ιδανική μη πολική στατική φάση. Ως κινητές φάσεις σε αυτόν τον τύπο διαχωρισμού χρησιμοποιούνται μίγματα οργανικών διαλυτών με νερό.

6.5 ΑΝΙΧΝΕΥΤΕΣ

Ο ανιχνευτής είναι ένα βασικό συστατικό του εξοπλισμού μιας διάταξης υγρής χρωματογραφίας. Ένας ανιχνευτής HPLC πρέπει να πληροί κάποια χαρακτηριστικά, όπως:

1. Να έχει χαμηλό επίπεδο θορύβου.
2. Να έχει υψηλή ευαισθησία και μεγάλο εύρος γραμμικής περιοχής.
3. Να έχει μικρό χρόνο απόκρισης.
4. Να έχει μικρό νεκρό όγκο (να μη συνεισφέρει στη διεύρυνση των κορυφών).
5. Να είναι ανεξάρτητος από τις μεταβολές της θερμοκρασίας και της ροής.
6. Να παρουσιάζει σταθερότητα σε μεταβολές της σύστασης της κινητής φάσης.
7. Να είναι αξιόπιστος και εύκολος στη χρήση.
8. Να έχει δυνατότητα ανίχνευσης διαφορετικών ενώσεων και παροχή στοιχείων για την ταυτοποίησή τους.
9. Να μη καταστρέφει το δείγμα που αναλύεται.

Οι ανιχνευτές που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην HPLC είναι οι παρακάτω :

- Ανιχνευτές ορατού-υπεριώδους
- Παράταξης φωτοδιόδων
- Αγωγιμομετρικοί
- Δείκτη διάθλασης
- Φασματογράφοι μάζας
- Ηλεκτροχημικοί
- Φθορισμομετρικοί
- Ραδιενέργειας
- Σκεδασμού φωτός
- Φλόγας (ιονισμού φλόγας, εκπομπής, φωτομετρικοί ανιχνευτές)

6.6 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

Η χρωματογραφία αποτελεί πλέον την κυριότερη τεχνική διαχωρισμού συγγενών χημικών ουσιών. Επιπλέον, χρησιμοποιείται για την ποιοτική ταυτοποίηση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των διαχωριζόμενων ουσιών.

6.6.1. ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Από ένα χρωματογράφημα μπορεί να ληφθεί μόνο ένα είδος ποιοτικής πληροφορίας για κάθε ουσία σε ένα δείγμα: ο χρόνος κατακράτησής της ή η θέση της σε μια στατική φάση μετά από μια ορισμένη περίοδο έκλουσης. Πρόσθετα δεδομένα μπορούν να ληφθούν από χρωματογραφήματα με διάφορες κινητές και στατικές φάσεις και σε

διάφορες θερμοκρασίες έκλουσης. Ωστόσο, η πληροφόρηση που μπορεί να ληφθεί από τη χρωματογραφία είναι πολύ περιορισμένη σε σχέση με την πληροφόρηση από ένα και μόνο φάσμα IR, NMR ή ένα φάσμα μαζών. Επιπλέον, τα φασματικά μήκη κύματος μπορούν να προσδιορισθούν με πολύ μεγαλύτερη επαναληψιμότητα σε σχέση με τους χρόνους κατακράτησης των χρωματογραφημάτων. Από τα προηγούμενα δεν πρέπει να βγει το συμπέρασμα ότι η χρωματογραφία δεν βρίσκει σημαντικές εφαρμογές στην ποιοτική ανάλυση. Αντίθετα, χρησιμοποιείται ευρύτατα ως εργαλείο για τη διαπίστωση της παρουσίας ή απουσίας συστατικών σε μίγματα, που περιέχουν ένα περιορισμένο αριθμό ουσιών γνωστής ταυτότητας. Επομένως η χρωματογραφία αποτελεί ένα πρώτο στάδιο ζωτικής σημασίας σε μια ποιοτική φασματοσκοπική ανάλυση

6.6.2. ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η χρωματογραφία οφείλει τον κατακόρυφο ρυθμό ανάπτυξης κατά τις τέσσερις τελευταίες δεκαετίες στην ταχύτητά της, την απλότητα, στο σχετικά χαμηλό κόστος και την ευρεία εφαρμοσιμότητά της ως εργαλείο διαχωρισμών. Ωστόσο, είναι αμφίβολο κατά πόσο η χρωματογραφία θα έβρισκε τόσες πολλές εφαρμογές, εάν δεν παρείχε τη δυνατότητα ποσοτικού προσδιορισμού των διαχωριζόμενων ουσιών. Επομένως θα πρέπει να εξετάσουμε ορισμένα ποσοτικά χαρακτηριστικά της που ισχύουν σε κάθε τύπο χρωματογραφίας. Η ποσοτική χρωματογραφία στήλης βασίζεται σε σύγκριση του ύψους ή της επιφάνειας της κορυφής του αναλύτη με τις αντίστοιχες κορυφές ενός ή περισσότερων προτύπων. Για την επίπεδη χρωματογραφία η επιφάνεια που καλύπτει κάθε διαχωριζόμενη ουσία αποτελεί την αναλυτική παράμετρο. Με κατάλληλο έλεγχο των συνθηκών, οι παράμετροι αυτές μεταβάλλονται γραμμικά με τη συγκέντρωση.

6.7 ΗΛΕΚΤΡΟΧΗΜΙΚΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΤΗΣ

Εδώ και χρόνια έχει επικρατήσει για τον αμπερομετρικό ανιχνευτή ο όρος ηλεκτροχημικός ανιχνευτής, ο οποίος στηρίζεται στη μέτρηση του ηλεκτρικού ρεύματος που παράγεται κατά την οξειδωση ή αναγωγή του συστατικού στην επιφάνεια ηλεκτροδίων μιας κυψέλης συνεχούς ροής. Κατά την οξειδωση γίνεται μεταφορά ηλεκτρονίων από το συστατικό στο ηλεκτρόδιο, ενώ κατά την αναγωγή συμβαίνει το αντίστροφο.

6.7.1. ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΜΕ ΗΛΕΚΤΡΟΧΗΜΙΚΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ (LC-EC, liquid chromatography with electrochemical detection) [115,116]

Η υγρή χρωματογραφία με ηλεκτροχημική ανίχνευση χρησιμοποιείται σήμερα πάρα πολύ για τον προσδιορισμό πολύ μικρών ποσοτήτων ουσιών που οξειδώνονται ή ανάγονται εύκολα. Για έναν αριθμό ουσιών που οξειδώνονται έχουν επιτευχθεί όρια ανίχνευσης της τάξης του 1 pmol. Όμως το πρακτικό όριο ανίχνευσης για ουσίες που ανάγονται εύκολα είναι 10 φορές μεγαλύτερο λόγω των προβλημάτων που δημιουργεί το οξυγόνο το διαλυμένο μέσα στο υγρό που αναλύεται, αλλά και λόγω της σταθερότητας του ηλεκτροδίου. Γενικά θα μπορούσαμε να πούμε ότι η απόδοση του ηλεκτροχημικού ανιχνευτή ποικίλλει και εξαρτάται τόσο από την ουσία που αναλύεται όσο κι από τις χρωματογραφικές συνθήκες. Αφ' ότου οι ηλεκτροχημικοί ανιχνευτές άρχισαν να διατίθενται στο εμπόριο γύρω στα 1974, η LC-EC άρχισε να εξελίσσεται

ραγδαία και σήμερα αποτελεί μια από τις πιο σημαντικές τεχνικές στον προσδιορισμό ιχνοποσοτήτων ηλεκτροενεργών ουσιών μεγάλου βιολογικού ενδιαφέροντος σε πολύπλοκα δείγματα. Η υγρή χρωματογραφία και η υδροδυναμική ηλεκτροχημεία είναι δυο αρκετά συμβατές τεχνολογίες που σε συνδυασμό στην LC-EC δίνουν πολλά πλεονεκτήματα στην ιχνοανάλυση πολλών ουσιών.

6.7.1.1. ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ LC-EC

Τα κύρια πλεονεκτήματα της LC-EC είναι :

1. Εκλεκτικότητα της ανίχνευσης που μπορεί να ποικίλλει με αλλαγή των ηλεκτροχημικών συνθηκών. Αποτέλεσμα της εκλεκτικότητας της ηλεκτροχημικής ανίχνευσης είναι συχνά η απλούστευση της επεξεργασίας του δείγματος που αναλύεται, δεδομένου ότι η παρουσία προσμίξεων στο δείγμα μπορεί να επηρεάζει την επιθυμητή ανίχνευση.
2. Μεγάλη ευαισθησία (χαμηλά όρια ανίχνευσης) σε συνδυασμό με καλή ακρίβεια ακόμη και σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις της ουσίας που αναλύεται.
3. Χαμηλό κόστος σε σχέση με τις φασματοσκοπικές μεθόδους ανίχνευσης που πολλές φορές χρησιμοποιούνται στην HPLC. Ας σημειωθεί επιπλέον ότι οι κλασσικές φασματοσκοπικές τεχνικές ανίχνευσης δεν παρουσιάζουν ούτε την εκλεκτικότητα ούτε την ευαισθησία της ηλεκτροχημικής ανίχνευσης. Προφανώς η LC-EC προσφέρεται κυρίως για την ανίχνευση ουσιών που παρουσιάζουν ηλεκτροδιακές αντιδράσεις πολύ γρήγορες, οπότε τα ηλεκτροχημικά ρεύματα (σήματα) που παίρνονται ακόμα και σε χαμηλά δυναμικά του ηλεκτροδίου εργασίας είναι μεγάλα, ενώ το βασικό ρεύμα και ο θόρυβος είναι χαμηλός στα χαμηλά αυτά δυναμικά, όπου ακόμη πολύ λίγες ουσίες παρεμποδίζουν ηλεκτροχημικά.

6.7.1.2. ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ LC-EC

Όμως όπως κάθε τεχνική έτσι και η HPLC με ηλεκτροχημική ανίχνευση έχει και τα μειονεκτήματά της. Το πιο σοβαρό, που παρουσιάζεται σε όλες τις μεθόδους που βασίζονται σε ηλεκτροδιακές δράσεις, οφείλεται στο γεγονός ότι ο ηλεκτροχημικός ανιχνευτής (δηλαδή το ηλεκτρόδιο εργασίας) βρίσκεται σε συνεχή επαφή με το διάλυμα που αναλύεται. Συνεπώς, οι ετερογενείς αντιδράσεις μεταφοράς φορτίου των ουσιών που αναλύονται επηρεάζονται ισχυρά από φαινόμενα της διπλοστοιβάδας, που προκαλούνται από την προσρόφηση των ουσιών πάνω στο ηλεκτρόδιο, από αλλαγές στο μέγεθος και στην κατανομή της ηλεκτροδιακής επιφανειακής ενέργειας, από αλλαγές στις καταλυτικές επιδράσεις των ενεργών θέσεων στην ηλεκτροδιακή επιφάνεια κ.α. Συνεπώς δεν μπορούν να υπάρχουν γενικές οδηγίες για τη διατήρηση της ηλεκτροδιακής επιφάνειας σε μια σταθερή ενεργό κατάσταση ή για την επανεργοποίηση της παθητικοποιημένης ηλεκτροδιακής επιφάνειας. Δηλαδή, οι ευνοϊκές συνθήκες για κάθε ηλεκτροχημική μέτρηση πρέπει να βρίσκονται ειδικά για κάθε ιδιαίτερη περίπτωση και αυτό απαιτεί μια βασική γνώση της ηλεκτροχημείας και κάποια εμπειρία. Από την άποψη αυτή η ηλεκτροχημική ανίχνευση μειονεκτεί σε σχέση με τις κλασσικές φασματοσκοπικές μεθόδους ανίχνευσης, όπου κανείς μπορεί

να παίρνει μετρήσεις με επιτυχία ακόμη και αν αγνοεί το μηχανισμό στον οποίο υπόκειται η μέτρηση. Ένα άλλο μειονέκτημα της LC-EC είναι η εξάρτηση του ηλεκτροχημικού σήματος από την ταχύτητα ροής του εκλουστικού ή της κινητής φάσης, γεγονός που κάνει την ηλεκτροχημική ανίχνευση ευαίσθητη στις διακυμάνσεις του ρυθμού άντλησης. Ακόμη η επιλογή της σύστασης της κινητής φάσης είναι κατά κάποιο τρόπο περιορισμένη, δεδομένου ότι η ηλεκτροχημική ανίχνευση σαν ηλεκτροχημική μέτρηση απαιτεί ηλεκτρικά αγώγιμη κινητή φάση. Το ηλεκτροχημικό σήμα επίσης εξαρτάται από τη σύσταση του υγρού που ρέει, γι' αυτό και η χρήση της βαθμωτής έκλουσης είναι πιο δύσκολη από ότι με μερικές άλλες τεχνικές ανίχνευσης, αν και όχι αδύνατη. Τέλος το ηλεκτροχημικό σήμα εξαρτάται από τη θερμοκρασία αλλά όχι τόσο καθοριστικά ώστε να είναι απαραίτητος ο έλεγχος της θερμοκρασίας σε συνηθισμένες αναλύσεις.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Προσδιορίστηκε η αντιοξειδωτική προστασία του δέρματος μυών (nM ανά mg επιφανείας δέρματος) με τη μέτρηση των υδρόφιλων αντιοξειδωτικών ασκορβικού, ουρικού οξέος και γλουταθειόνης (δια της μεθόδου της υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης σε σύνδεση με ηλεκτροχημικό ανιχνευτή) σε δέρμα υγιές και σε δέρμα φλεγμαίνον. Επίσης με παρόμοια πειραματική πορεία δοκιμάστηκε η μέθοδος stripping του δέρματος πλάτης μυός, δηλαδή η διαδοχική εφαρμογή και αφαίρεση δύο scotch και η ανίχνευση των τριών αντιοξειδωτικών μορίων που προαναφέρθηκαν από την επιδερμική στοιβάδα stratum corneum, η οποία αποκολλάται από το δέρμα μένοντας πάνω στο scotch που αφαιρείται.

1.1 ΥΛΙΚΑ

1.1.1. Αντιδραστήρια

1. Μονοχλωροοξικό οξύ της Sigma Chemical Company, Sigma Aldrich
2. CH_3COONa και $\text{Na}_2\text{EDTA} \times 2\text{H}_2\text{O}$ της Sigma Chemical Company, Sigma Aldrich
3. Q12 Ion Pair Coctail της Regis Technologies, Inc USA.
4. NaOH της Mallinckrodt Baker B.V.
5. MeOH HPLC grade
6. Αιθανόλη HPLC grade
7. H_2O HPLC grade
8. BHT της Sigma Chemical Company, Sigma Aldrich
9. Γλουταθειόνη, ασκορβικό και ουρικό οξύ της Sigma Aldrich, Product of United Kingdom

Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των κινητών φάσεων ήταν βαθμού καθαρότητας HPLC της Fisher Chemical.

1.1.2. Συσκευές

Το σύστημα της HPLC αποτελείται από μία SP 8800 ternary HPLC pump (μοντέλο της Spectra Physics), ένα 20 μl injection loop, μία C-18 Hypersil Hypurity TM Elite 5u στήλη '4,6 mm x 25 cm' και έναν αμπερομετρικό ηλεκτροχημικό ανιχνευτή 840-EC της Jasco. Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα Clarity HPLC Data System.

Η διάλυση των αλάτων για την παρασκευή των κινητών φάσεων έγινε σε μαγνητικό αναδευτήρα BK MCDEL 620 και το λουτρό υπερήχων που χρησιμοποιήθηκε για την απαέρωση τους ήταν BRANSON 5200. Οι ζυγίσεις των αντιδραστηρίων και των δερμάτων πραγματοποιήθηκαν σε ζυγό College B154. Τέλος χρησιμοποιήθηκε Vortex (MS1 Minishaker IKA®) για την ανάδευση των εκχυλισμάτων και φυγόκεντρος 202 MK της Sigma για τη φυγοκέντρωση των δειγμάτων.

Οι ακτινοβολήσεις των μυών έγιναν με ειδική για δερματολογικές εφαρμογές λυχνία ξένου (Universal Arc Lamp Housing 66021, Xenon Lamp 1000 W, Oriel Instruments),

η οποία είναι συνδεδεμένη με κατάλληλο τροφοδοτικό (68820 Universal Power Supply, Oriel Instruments).



Εικόνα 17: Φυγόκεντρος



Εικόνα 18: Λουτρό Υπερήχων



Εικόνα 19: Ζυγός



Εικόνα 20: Μαγνητικός Αναδευτήρας



Εικόνα 21: Σύστημα HPLC



Εικόνα 22: Σύστημα διήθησης κινητών φάσεων

1.2 ΜΕΘΟΔΟΙ

1.2.1. Προετοιμασία των Προτύπων Διαλυμάτων

- ✓ Ουρικού & ασκορβικού οξέος

Ζυγίζονται 0,001761g ασκορβικού και 0,001681g ουρικού οξέος αντίστοιχα και τίθενται σε κωνικές φιάλες των 100 ml σε κινητή φάση. Παρασκευάζονται έτσι μητρικά διαλύματα συγκέντρωσης των 100 μ M. Από τα παραπάνω μητρικά με

κατάλληλες αραιώσεις και διαλύτη αραιώσης την κινητή φάση παρασκευάζονται πρότυπα διαλύματα ασκορβικού και ουρικού οξέος συγκεντρώσεων : 10 μM , 5 μM , 1 μM , 0.5 μM , 0.05 μM .

$M_{\text{rascorbic acid}} = 176,1$

$M_{\text{uric acid}} = 168,1$

✓ Γλουταθειόνης

Ζυγίζονται 0,01536 g GSH και τίθενται σε κωνική φιάλη των 50 ml σε κινητή φάση. Παρασκευάζεται έτσι μητρικό διάλυμα συγκέντρωσης των 1 mM. Από το παραπάνω μητρικό με κατάλληλες αραιώσεις και διαλύτη αραιώσης την κινητή φάση παρασκευάζονται πρότυπα διαλύματα γλουταθειόνης συγκεντρώσεων : 250 μM , 200 μM , 160 μM , 130 μM , 100 μM , 80 μM , 60 μM , 50 μM , 30 μM , 20 μM , 10 μM .

$M_{\text{gsh}} = 307,32$

Τα πρότυπα διαλύματα δύνανται να φυλάσσονται για μία εβδομάδα στους -75°C ή -20°C .

1.2.2. Παρασκευή κινητών φάσεων

Για τον προσδιορισμό του ουρικού και ασκορβικού οξέος χρησιμοποιήθηκε κοινή κινητή φάση η οποία παρασκευάστηκε ως εξής:

1. Διαλύονται 50 ml 800 mM (3,281 gr) οξικού νατρίου σε 900 ml νερό σε μαγνητικό αναδευτήρα.
2. Προστίθενται 0,2010 g Na_2EDTA .
3. Προστίθενται στη συνέχεια 50 ml MeOH και 3 ml Q12 ion pair cocktail.
4. Αραιώνεται η κινητή έως 1 l με 50 ml νερού.
5. Ακολουθεί διήθηση αυτής υπό κενό.
6. Τοποθετείται η κινητή φάση στους υπερήχους για 15 λεπτά.

Για τον προσδιορισμό της γλουταθειόνης παρασκευάστηκε διαφορετική κινητή φάση ως εξής:

1. Διαλύονται 9,4 g monchloroacetic acid σε 950 ml νερό και 40 ml μεθανόλη σε μαγνητικό αναδευτήρα.
2. Το pH διαλύματος ρυθμίστηκε σε 3-3.5 με καυστικό νάτριο (20-30 ταμπλέτες NaOH ή περίπου 2,2 gr NaOH). Το αρχικό pH ήταν ίσο με 2.
3. Αραιώνεται η κινητή έως 1 l με νερό.
4. Ακολουθεί διήθηση αυτής υπό κενό (φιλτράρισμα).
5. Τοποθετείται η κινητή φάση στους υπερήχους για 15 λεπτά.

1.2.3. Προετοιμασία ρυθμιστικών διαλυμάτων για την επεξεργασία των δειγμάτων

Ρυθμιστικό διάλυμα 90 % MeOH / 10 % EDTA

Διαλύονται 0,01861 gr EDTA σε 50 ml $\text{H}_2\text{O}_{\text{HPLC}}$. Από αυτό το διάλυμα 10 ml αναμιγνύονται με 90 ml MeOH.

Ρυθμιστικό διάλυμα BHT

Διαλύονται 0,01 gr BHT σε 1 ml αιθανόλης.
Ρυθμιστικό διάλυμα 10 mM Desferal
Διαλύονται 0,00328 gr Desferal σε 50 ml H₂O_{HPLC}.

1.2.4. Επεξεργασία δειγμάτων

α) για ιστό δέρματος

1. Ζυγίζεται ποσότητα παγωμένου ιστού δέρματος πλάτης άτριχου μυός βάρους 2-20 mg.
2. Το δέρμα κόβεται σε μικρά τεμάχια και τοποθετείται σε υάλινο ειδικό σωλήνα έως ομογενοποίησής με προσθήκη
 - a) 300 μl 90 % MeOH/1 mM Na₂EDTAx2H₂O
 - b) 10 μl 10 mg/ml BHT σε αιθανόλη_{HPLC} προς αποφυγή αυτό-οξειδωσής και
 - c) 1,5 μl 10 mM Desferal σε H₂O_{HPLC}
3. Ομογενοποιείται το δέρμα για 5 λεπτά.
4. Το περιεχόμενο μεταφέρεται σε erpendorf και φυλάσσεται σε πάγο χωρίς να εκτίθεται στο φως.
5. Ακολουθεί φυγοκέντρωση του δείγματος για 7 λεπτά στις 5000 στροφές και στους 4°C.
6. 200 μl του υπερκείμενου μεταφέρονται σε σκουρόχρωμο φιαλίδιο.
7. Αραιώνονται 50 μl του υπερκείμενου με κινητή φάση
 - a) 1:1 για το ασκορβικό και ουρικό οξύ και
 - b) 1:5 για τη γλουταθειόνη
8. Ένεση στην HPLC.

β) για stripping δέρματος

1. Σε πλάτη άτριχου μυός εφαρμόστηκαν δύο scotch με τρεις πιέσεις το καθένα και η αφαίρεση τους γίνεται με μία και γρήγορη κίνηση.
2. Τοποθετούνται αντιδιαμετρικά με λαβίδα τα δύο αυτά scotch μέσα σε γυάλινο φιαλίδιο και προστίθενται:
 - i. 0,5 ml H₂O_{HPLC}
 - ii. 200 μl 90 % MeOH/1 mM Na₂EDTAx2H₂O
 - iii. 75 μl 10 mg/ml BHT σε αιθανόλη_{HPLC} προς αποφυγή αυτό-οξειδωσής
 - iv. 1,5 μl 10 mM Desferal σε H₂O_{HPLC}
3. Έγινε ανάδευση του φιαλιδίου στο Vortex στις 2500 στροφές για 1 min.
4. Ακολουθεί φυγοκέντρωση του δείγματος για 7 min. στις 10.000 στροφές στους 4°C.
5. 200 μl του υπερκείμενου μεταφέρονται σε σκουρόχρωμο φιαλίδιο
6. Ένεση στην HPLC.

1.3 HPLC ΑΝΑΛΥΣΗ

Η κινητή αποτελούταν από μεθανόλη και νερό περιέχουσα τα προαναφερθέντα άλατα. Ο ρυθμός ροής ήταν ίσος με 1,2 ml/min και ο ενυόμενος όγκος ίσος με 20 μ l.

Η ρύθμιση του ανιχνευτή επιτεύχθηκε σε τάση 600 mV, Range 16, Response : STD, Oxidation. Η στήλη μας ήταν ανάστροφης φάσης, τα χαρακτηριστικά της οποίας θα αναφερθούν παρακάτω, και ο χρόνος ροής (run time) για τις αναλύσεις ουρικού και ασκορβικού οξέος ήταν περίπου 6 λεπτά και για της γλουταθειόνης περίπου 3 λεπτά.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των αντιοξειδωτικών μορίων βασίστηκε στο εμβαδόν των κορυφών των χρωματογραφημάτων. Για τον υπολογισμό των αλλαγών της ευαισθησίας του ηλεκτροχημικού ανιχνευτή συχνά ενέθηκαν πρότυπα διαλύματα ουρικού, ασκορβικού οξέος και γλουταθειόνης γνωστών συγκεντρώσεων κατά διαστήματα στη διάρκεια των ενέσεων των δειγμάτων.

1.4 ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΚΑΜΠΥΛΩΝ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

✓ Για ουρικό & ασκορβικό οξύ

Ενέθηκαν πρότυπα διαλύματα ασκορβικού και ουρικού οξέος συγκεντρώσεων : 10 μ M, 5 μ M, 1 μ M, 0.5 μ M, 0.05 μ M. Κάθε συγκέντρωση έδινε μία κορυφή στο χρωματογράφημα, η οποία αντιστοιχούσε σε συγκεκριμένη ένδειξη σήματος του ανιχνευτή. Κατόπιν ολοκλήρωσης των κορυφών λήφθηκαν τα εξής δεδομένα:

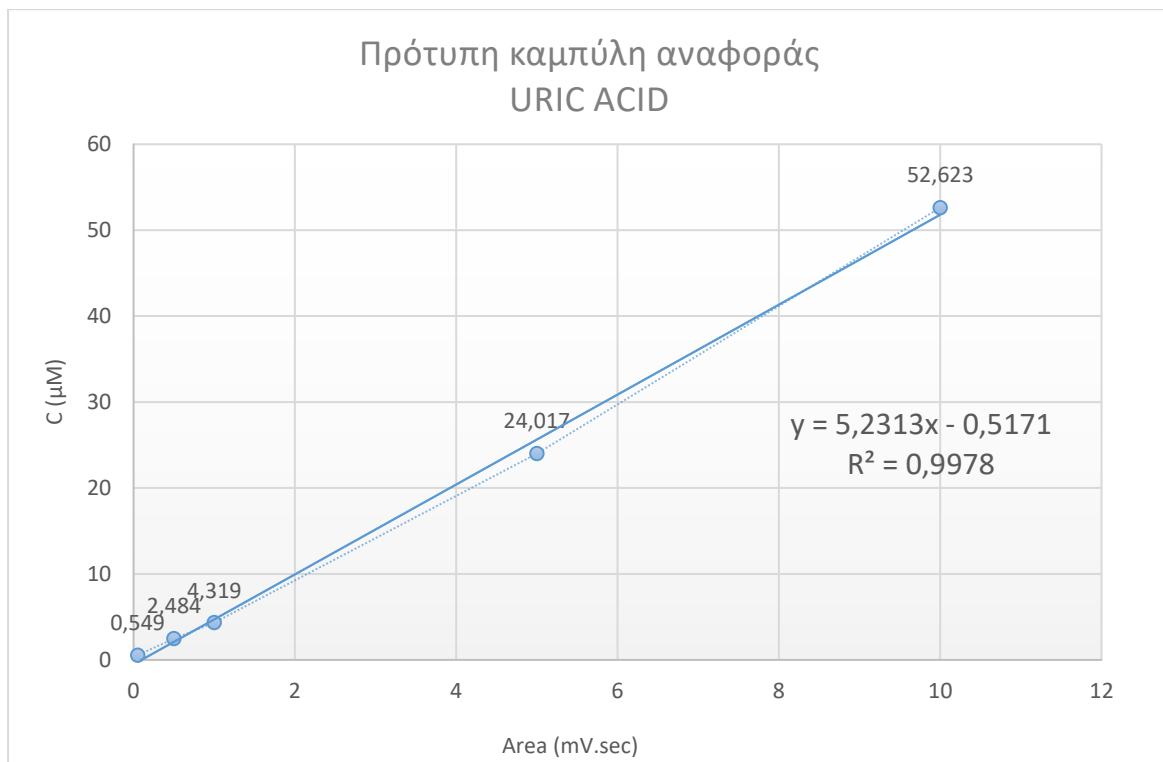
Πίνακας 1: Δεδομένα πρότυπων διαλυμάτων ουρικού οξέος

C ουρικού οξέος (μ M)	Area (mV.sec)
10	52,623
5	24,017
1	4,319
0,5	2,484
0,05	0,549

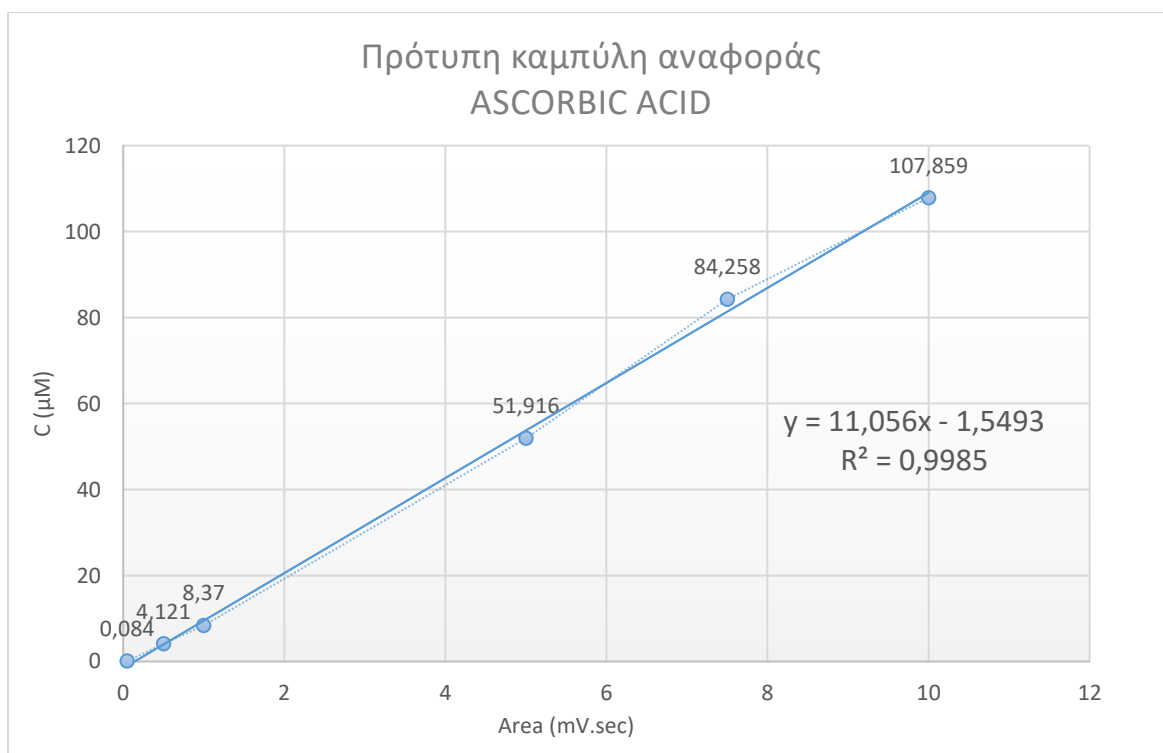
Πίνακας 2: Δεδομένα πρότυπων διαλυμάτων ασκορβικού οξέος

C ασκορβικού οξέος (μ M)	Area (mV.sec)
10	107,859
7,5	84,258
5	51,916
1	8,37
0,5	4,121
0,05	0,084

Από τα δεδομένα των παραπάνω πινάκων κατασκευάζονται οι πρότυπες καμπύλες αναφοράς για το ουρικό και ασκορβικό οξύ αντίστοιχα.



Διάγραμμα 1: Πρότυπη καμπύλη αναφοράς ουρικού οξέος



Διάγραμμα 2: Πρότυπη καμπύλη αναφοράς ασκορβικού οξέος

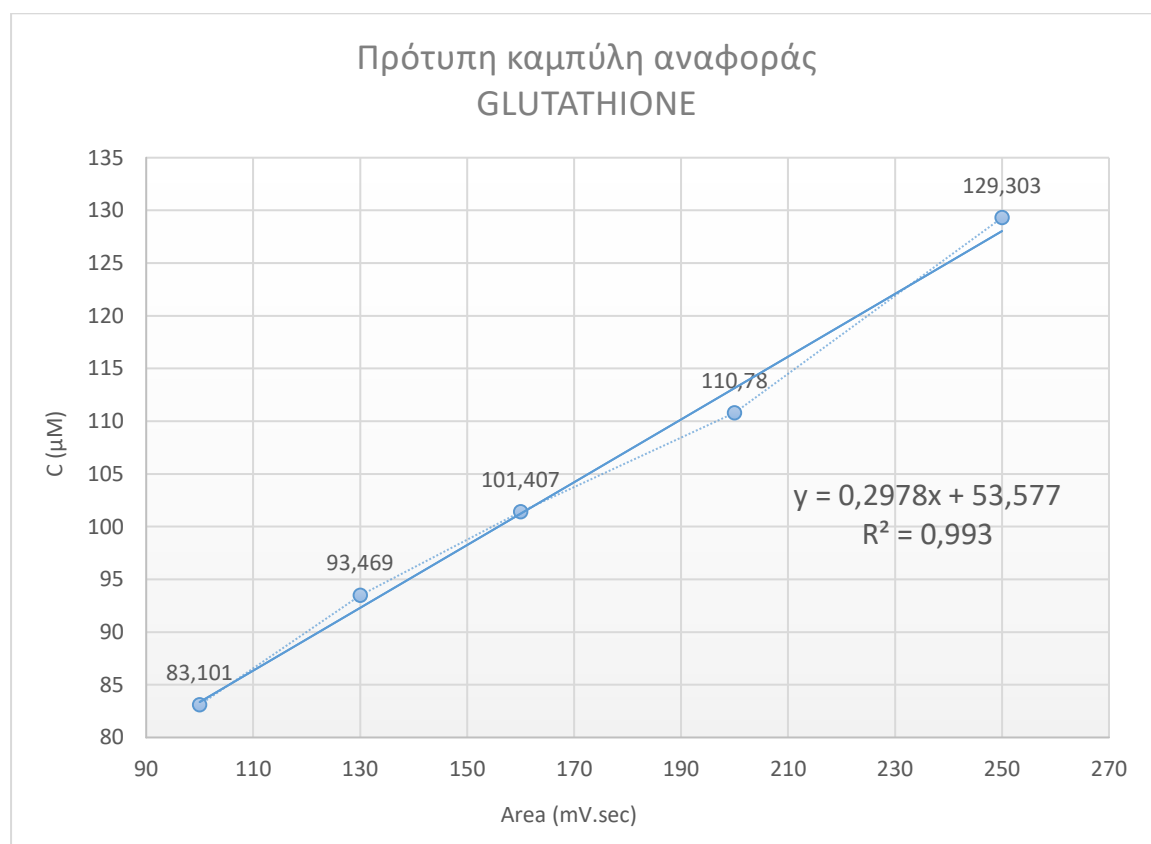
✓ Για γλουταθειόνη

Ενίνονται ομοίως πρότυπα διαλύματα γλουταθειόνης συγκεντρώσεων : 250μM, 200 μM, 160 μM, 130 μM, 100 μM, 80 μM, 60 μM, 50 μM, 30 μM, 20 μM, 10 μM και λαμβάνονται τα εξής δεδομένα:

Πίνακας 3: Δεδομένα πρότυπων διαλυμάτων γλουταθειόνης

C γλουταθειόνης (μM)	Area (mV.sec)
100	83,101
130	93,469
160	101,407
200	110,78
250	129,303

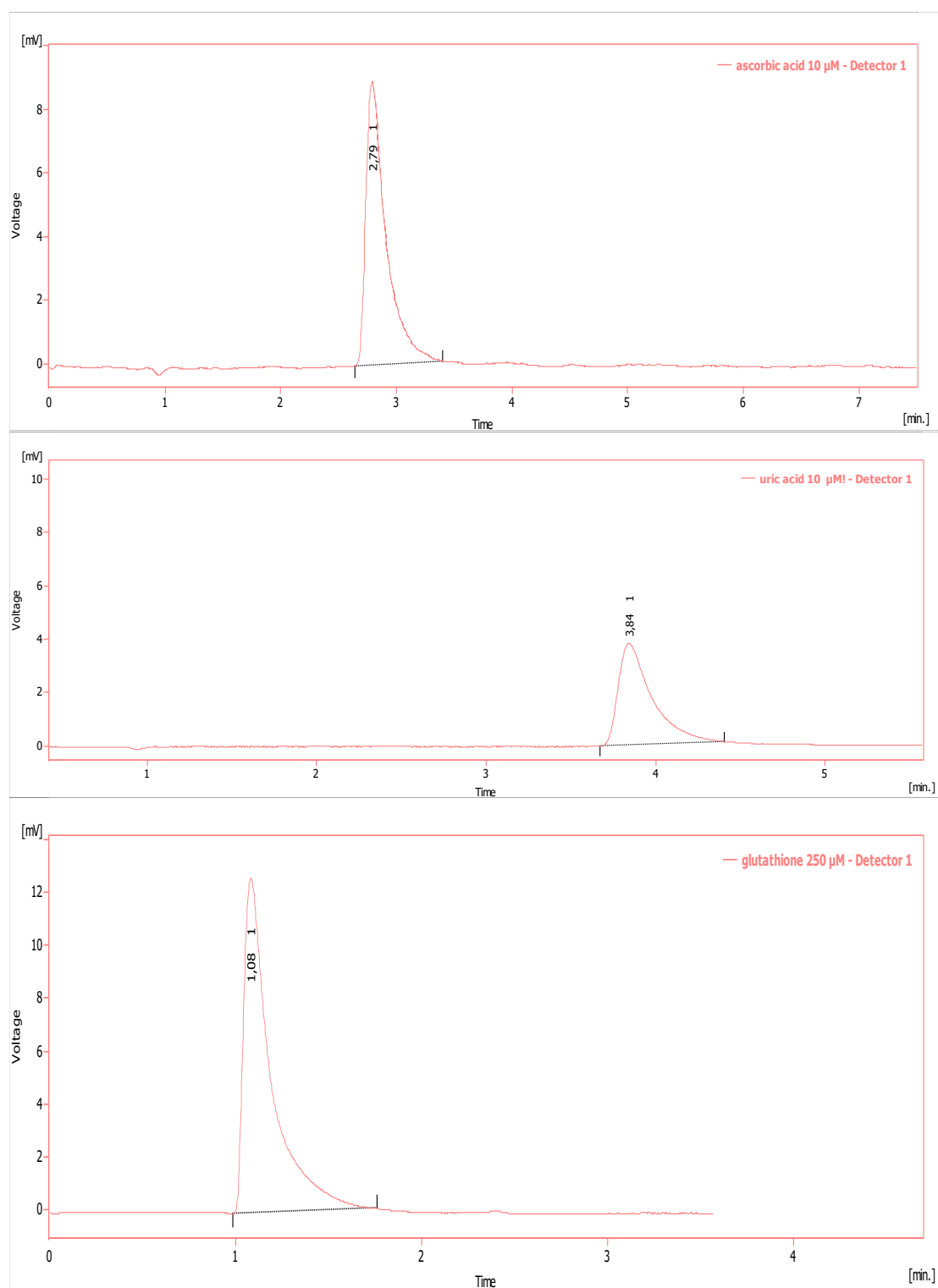
Από τα δεδομένα του παραπάνω πίνακα κατασκευάζεται η πρότυπη καμπύλη αναφοράς για τη γλουταθειόνη.



Διάγραμμα 3: Πρότυπη καμπύλη αναφοράς γλουταθειόνης

Κατά την επεξεργασία των δειγμάτων και την πορεία της λιπιδικής εκχύλισης τα αντιοξειδωτικά εξάγονται ποσοτικά και μπορούν να προσδιοριστούν οι συγκεντρώσεις τους στους ιστούς με σύγκριση των ενδείξεων των κορυφών των χρωματογραφημάτων τους και αυτών των πρότυπων δειγμάτων των αντιοξειδωτικών ουσιών γνωστών συγκεντρώσεων, μέσω των πρότυπων καμπυλών αναφοράς.

Ενδεικτικά παρουσιάζονται κάποια από τα χρωματογραφήματα των πρότυπων διαλυμάτων των μελετηθέντων μορίων.



Εικόνα 23 a,b,c: Χρωματογραφήματα πρότυπων διαλυμάτων ασκορβικού, ουρικού οξέος και γλυταθειόνης (10, 10, 250 μM)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΝΕΩΝ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΩΝ- ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΜΟΡΙΩΝ

Εξετάστηκε η αντιοξειδωτική δράση νέων φαρμακομορίων (παράγωγα γνωστών αντιοξειδωτικών ή μη-στεροειδών αντιφλεγμονωδών μορίων) που έχουν σχεδιαστεί και αναπτυχθεί ως πολυλειτουργικά αντιοξειδωτικά-αντιφλεγμονώδη μόρια. Τα μόρια, που σχεδιάστηκαν, συντέθηκαν και μελετήθηκαν στο εργαστήριο Φαρμακοχημείας της Α. Κουρουνάκη. Η μελέτη αυτή περιλαμβάνει ένα ζωικό πρότυπο ήπιας φλεγμονής (επαγόμενο από UV ακτινοβολία) που χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της επίδρασης αντιφλεγμονωδών και αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων ουσιών στο δέρμα μετά από τοπική εφαρμογή. Οι ενώσεις υπό εξέταση έχουν αξιολογηθεί ως προς την οξεία αντιφλεγμονώδη δράση τους μέσω της εκτίμησης της ικανότητάς τους να βοηθήσουν στην γρήγορη επούλωση τραυμάτων και εγκαυμάτων (επαγόμενων από UV ακτινοβολία) σε φυσιολογικό δέρμα και θα αξιολογηθούν στην παρούσα έρευνα ως προς την αντιοξειδωτική δράση τους μελετώντας την επίδραση τους στην αντιοξειδωτική κατάσταση των ιστών και των stripping δερμάτων μυών.

2.Α. Πειραματική Διαδικασία

Για τη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκαν 48 αρσενικοί άτριχοι μύες, τύπου SKH - 1, βάρους 30–35 gr και ηλικίας 8-10 εβδομάδων. Μετά από επταήμερο εγκλιματισμό των πειραματόζωων στο χώρο πειραματισμού το κάτω μέρος της ράχης των μυών (εμβαδό 4 cm²) θα ακτινοβοληθεί άπαξ με υπεριώδη ακτινοβολία ισχύος στη UVA περιοχή του φάσματος ίση με 6 mW/cm² και στη UVB φάσματος ίση με 6 mW/cm² με σκοπό την πρόκληση ερυθρήματος και φλεγμονής. Ο χρόνος ακτινοβολίας θα είναι ίσος με 15 sec, έτσι ώστε τελικά η συνολική ενέργεια που θα δεχθεί κάθε μυς να είναι ίση με 2,5 μέσες ερυθματώδεις δόσεις (2,5 MED).

Οι μύες μετά την ακτινοβολία χωρίστηκαν σε 8 ομάδες των 6:

1. Ομάδα χωρίς επάλειψη μετά από πρόκληση φλεγμονής (μάρτυρες),
2. Ομάδα επάλειψης με έκδοχο → PEG600:PEG400 3:1 μετά από πρόκληση φλεγμονής (φορέας),
3. Ομάδα επάλειψης με σκεύασμα τολφαιναμικού οξέος 1 %,
4. Ομάδα επάλειψης με σκεύασμα τολφαιναμικού οξέος 0,1 %,
5. Ομάδα επάλειψης με σκεύασμα αιθυλεστέρα κυστεΐνης 1 %,
6. Ομάδα επάλειψης με σκεύασμα αιθυλεστέρα κυστεΐνης 0,1 %,
7. Ομάδα αγωγής με ένωση AK1 1% παράγωγο τολφαιναμικού οξέος και αιθυλεστέρα κυστεΐνης,
8. Ομάδα αγωγής με ένωση AK1 0,1% παράγωγο τολφαιναμικού οξέος και αιθυλεστέρα κυστεΐνης.

Οι επαλείψεις γίνονταν δύο φορές τη μέρα για 2 εβδομάδες .

Μετά το πέρας του πειράματος εφαρμόστηκαν δύο scotch με τρεις πιέσεις το καθένα στο σημείο ακτινοβολίας των μυών, η αφαίρεση των οποίων έγινε με μία και γρήγορη κίνηση (stripping δέρματος). Δύο scotch με τρεις πιέσεις το καθένα

εφαρμόστηκαν και προτού ακτινοβοληθούν οι μύες (φάση 1). Έπειτα οι μύες θυσιάζονται και λαμβάνεται από κάθε μυ ιστός δέρματος ίσος με 2-20 mg από την ακτινοβολημένη περιοχή. Ακολουθεί επεξεργασία των ιστών και των stripping των δερμάτων με τις προαναφερθέντες διαδικασίες και ανάλυση αυτών με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης συνδεδεμένη με ηλεκτροχημικό ανιχνευτή.

2.B. Αποτελέσματα - Συζήτηση αποτελεσμάτων

Μετά την επεξεργασία των δειγμάτων το περιεχόμενο φυλάσσεται σε πάγο, προστατευμένο από το φως και ακολουθεί ένεση στην HPLC. Από τα χρωματογραφήματα που λήφθηκαν μπορούν να προσδιοριστούν οι συγκεντρώσεις των αντιοξειδωτικών μορίων που μελετώνται στους ιστούς και στην επιφάνεια της κεράτινης στοιβάδας (strippings) με σύγκριση των ενδείξεων των κορυφών των χρωματογραφημάτων τους και αυτών των πρότυπων δειγμάτων των αντιοξειδωτικών ουσιών γνωστών συγκεντρώσεων, μέσω των πρότυπων καμπυλών αναφοράς.

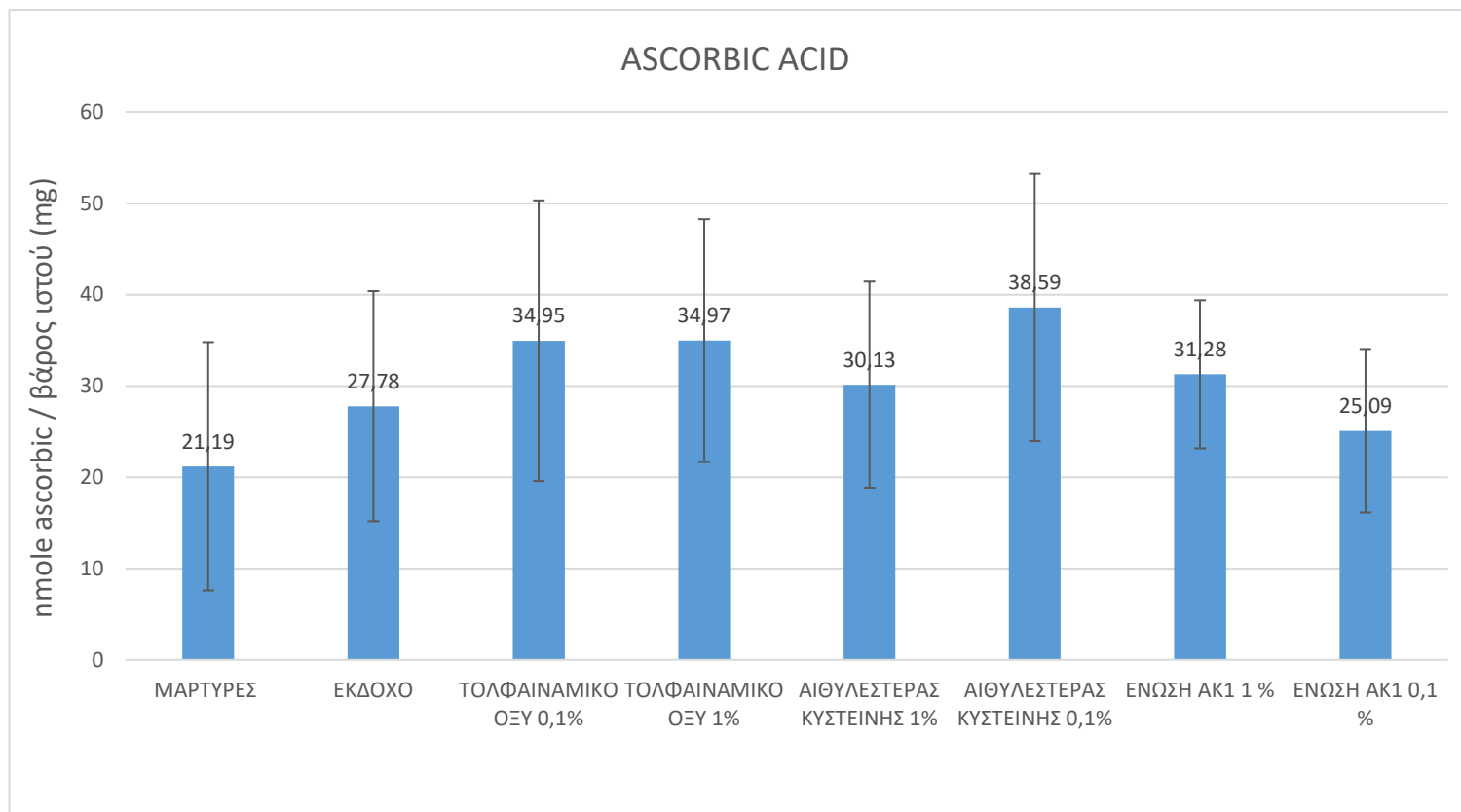
Προκύπτουν έτσι τα παρακάτω αποτελέσματα:

α) για τους ιστούς των δερμάτων

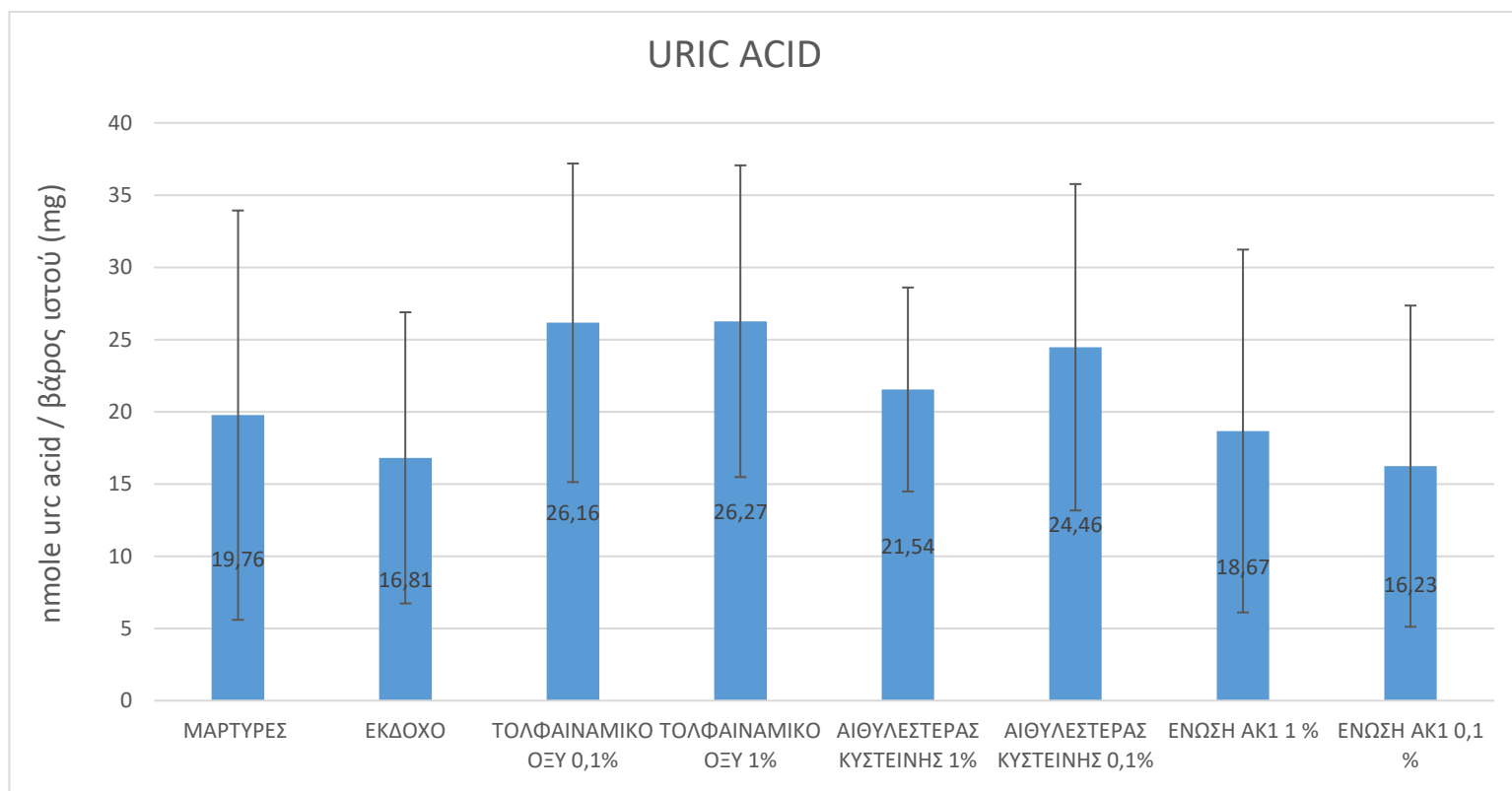
Πίνακας 4: Αποτελέσματα συγκεντρώσεων ασκορβικού, ουρικού οξέος και γλουταθειόνης

	Ascorbic acid <i>nmole ascorbic / βάρος ιστού (mg)</i>	Uric acid <i>nmole uric / βάρος ιστού (mg)</i>	gsh <i>nmole gsh / βάρος ιστού (mg)</i>
MARTYPEΣ	21,19 ± 13,6	19,76 ± 14,17	0,99 ± 0,16
ΕΚΔΟΧΟ	27,78 ± 12,6	16,81 ± 10,08	1,00 ± 0,22
ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 0,1%	34,95 ± 15,37	26,16 ± 11,03	0,94 ± 0,05
ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 1%	34,97 ± 13,29	26,27 ± 10,79	0,97 ± 0,12
ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 1%	30,13 ± 11,29	21,54 ± 7,06	1,03 ± 0,16
ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 0,1%	38,59 ± 14,63	24,46 ± 11,3	1,02 ± 0,17
ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 1 %	31,28 ± 8,11	18,67 ± 12,56	0,99 ± 0,15
ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 0,1 %	25,09 ± 8,96	16,23 ± 11,12	1,03 ± 0,16

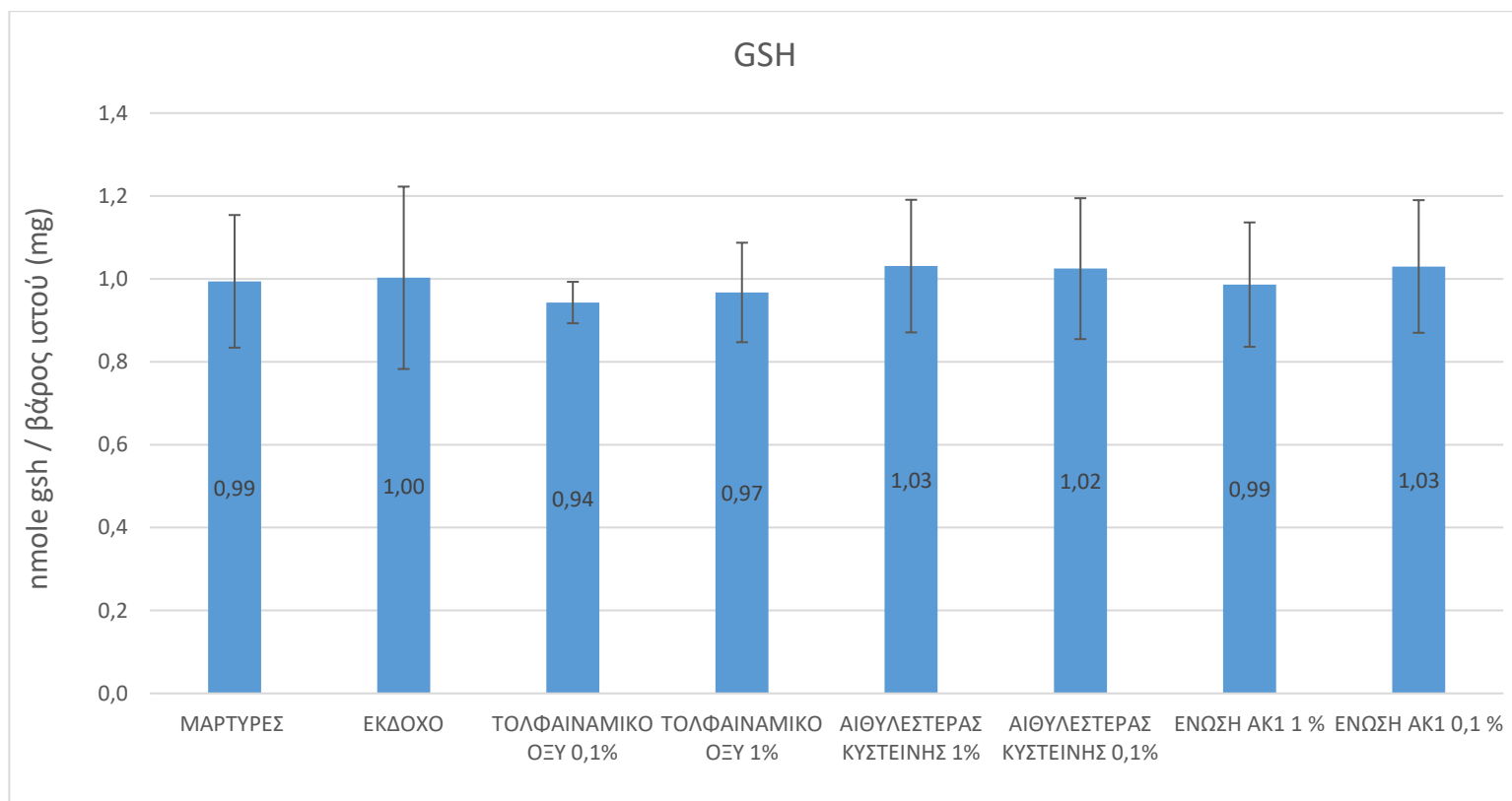
Με βάση τα δεδομένα του παραπάνω πίνακα κατασκευάζονται τα κάτωθι διαγράμματα, τα οποία απεικονίζουν τη συγκέντρωση κάθε αντιοξειδωτικού μορίου σε κάθε ομάδα.



Διάγραμμα 4: Συγκέντρωση ασκορβικού οξέος σε κάθε ομάδα (στους ιστούς δερμάτων)



Διάγραμμα 5: Συγκέντρωση ουρικού οξέος σε κάθε ομάδα (στους ιστούς δερμάτων)



Διάγραμμα 6: Συγκέντρωση γλουταθειόνης σε κάθε ομάδα (στους ιστούς δερμάτων)

Τη χαμηλότερη συγκέντρωση αντιοξειδωτικών παρουσιάζουν η ομάδα των μαρτύρων, του φορέα, καθώς επίσης και η ομάδα που ακολούθησε αγωγή με ένωση ΑΚ1 1 και 0,1 % παράγωγο τολφαιναμικού οξέος και αιθυλεστέρα κυστεΐνης. Όσον αφορά το τολφαιναμικό οξύ η περιεκτικότητα αυτού δεν έπαιξε σημαντικό ρόλο στην αντιοξειδωτική κατάσταση των δερμάτων. Η ομάδα που ακολούθησε επάλειψη με το συγκεκριμένο αντιφλεγμονώδες μόριο έδωσε την υψηλότερη συγκέντρωση ουρικού οξέος και στη συνέχεια υψηλή συγκέντρωση έδωσε η ομάδα με τον αιθυλεστέρα κυστεΐνης 0,1 %. Σε υψηλότερη περιεκτικότητα 1% πιθανολογείται ότι λειτουργούσε ως προοξειδωτικός παράγοντας. Υψηλότερη συγκέντρωση ασκορβικού οξέος και γλουταθειόνης έδωσε η ομάδα που ακολούθησε αγωγή με σκεύασμα που περιείχε αιθυλεστέρα κυστεΐνης 0,1 % και μετά ακολουθεί το τολφαιναμικό οξύ. Επίσης οι τιμές των συγκεντρώσεων της γλουταθειόνης ήταν αρκετά κοντινές για όλες τις ομάδες.

β) για τα stripping των δερμάτων

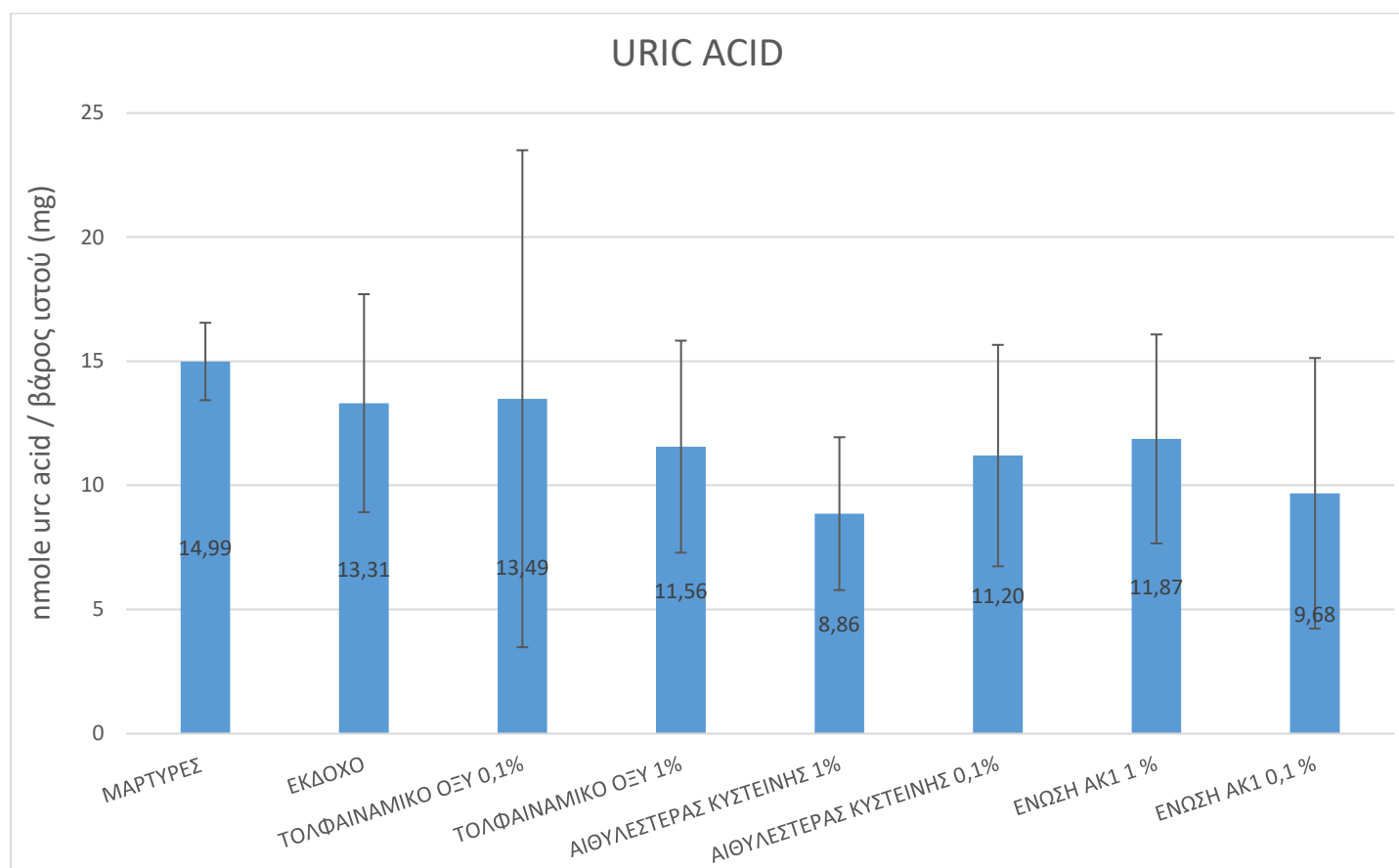
Φάση 1 (φυσιολογικοί μύες)

Πίνακας 5: Αποτελέσματα συγκεντρώσεων ουρικού οξέος και γλουταθειόνης

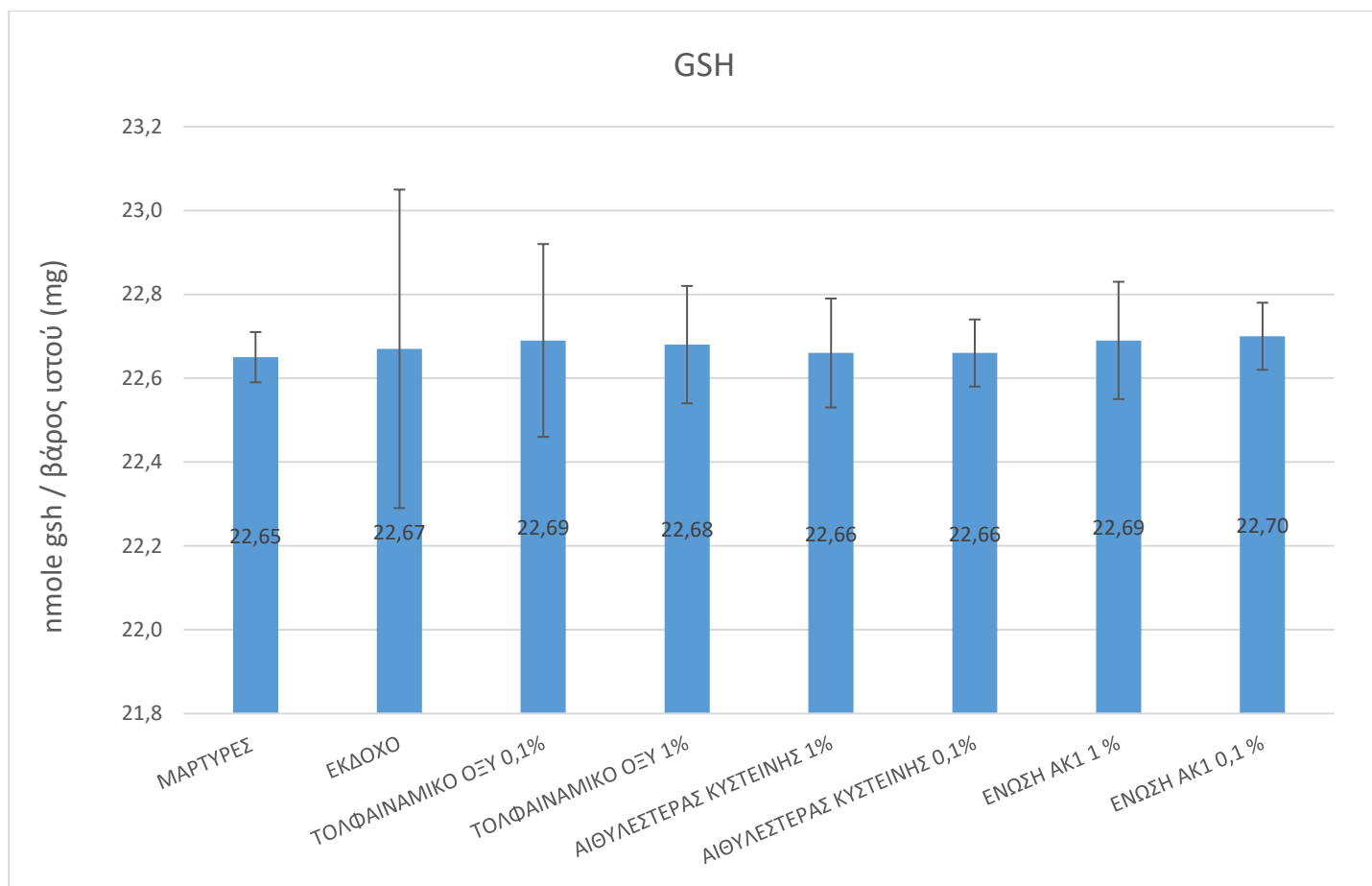
	Uric acid nmole uric / βάρος ιστού (mg)	gsh nmole gsh / βάρος ιστού (mg)
ΜΑΡΤΥΡΕΣ	14,99 ± 1,56	22,65 ± 0,06
ΕΚΔΟΧΟ	13,31 ± 4,39	22,67 ± 0,38

ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 0,1%	13,49 ± 10,01	22,69 ± 0,23
ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 1%	11,56 ± 4,27	22,68 ± 0,14
ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 1%	8,86 ± 3,08	22,66 ± 0,13
ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 0,1%	11,20 ± 4,46	22,66 ± 0,08
ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 1 %	11,87 ± 4,21	22,69 ± 0,14
ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 0,1 %	9,68 ± 5,45	22,70 ± 0,08

Με βάση τα δεδομένα του παραπάνω πίνακα κατασκευάζονται τα κάτωθι διαγράμματα, τα οποία απεικονίζουν τη συγκέντρωση κάθε αντιοξειδωτικού μορίου σε κάθε ομάδα.



Διάγραμμα 7: Συγκέντρωση ουρικού οξέος σε κάθε ομάδα (στα stripping δερμάτων)



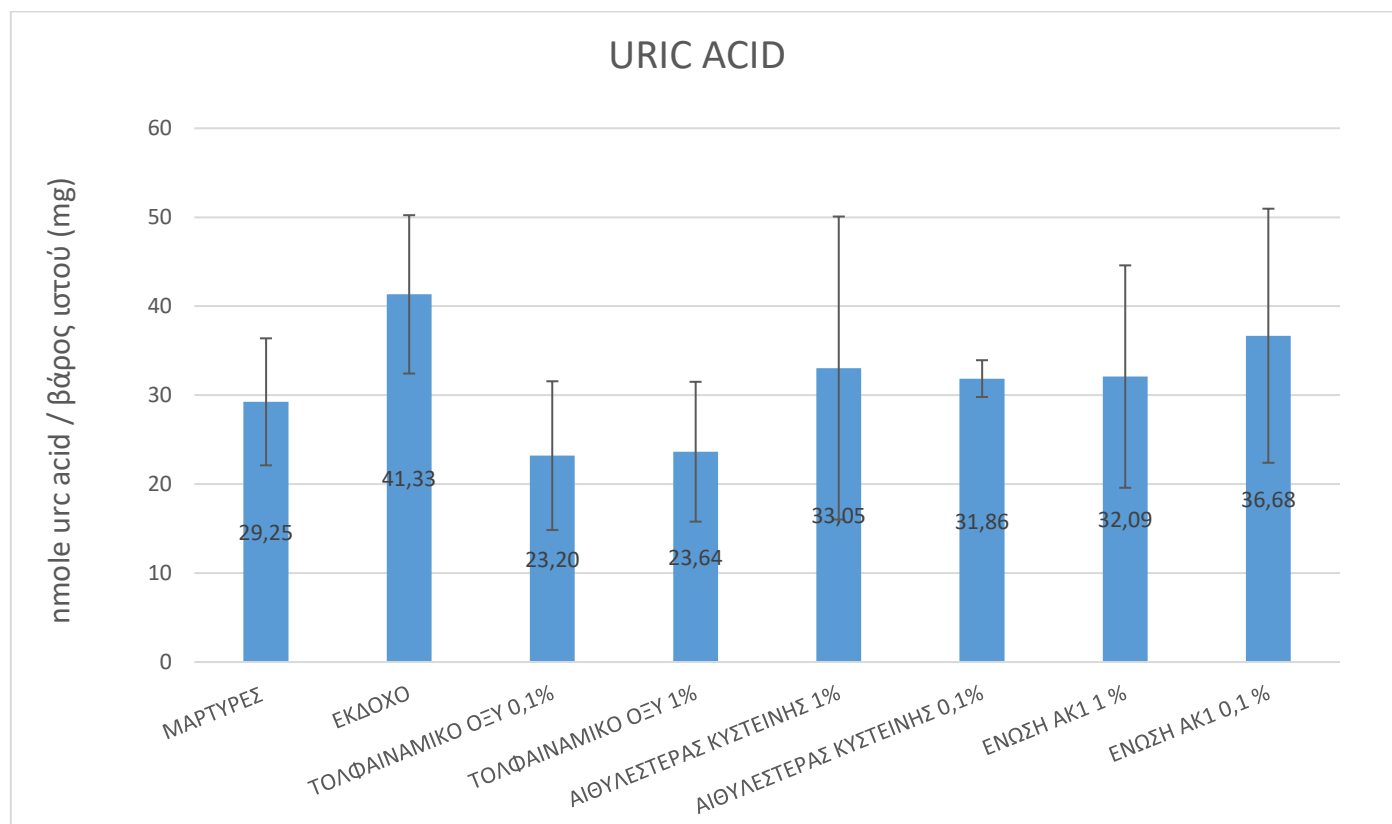
Διάγραμμα 8 : Συγκέντρωση γλουταθειόνης σε κάθε ομάδα (στα stripping δερμάτων)

Φάση 2 (ακτινοβολημένοι)

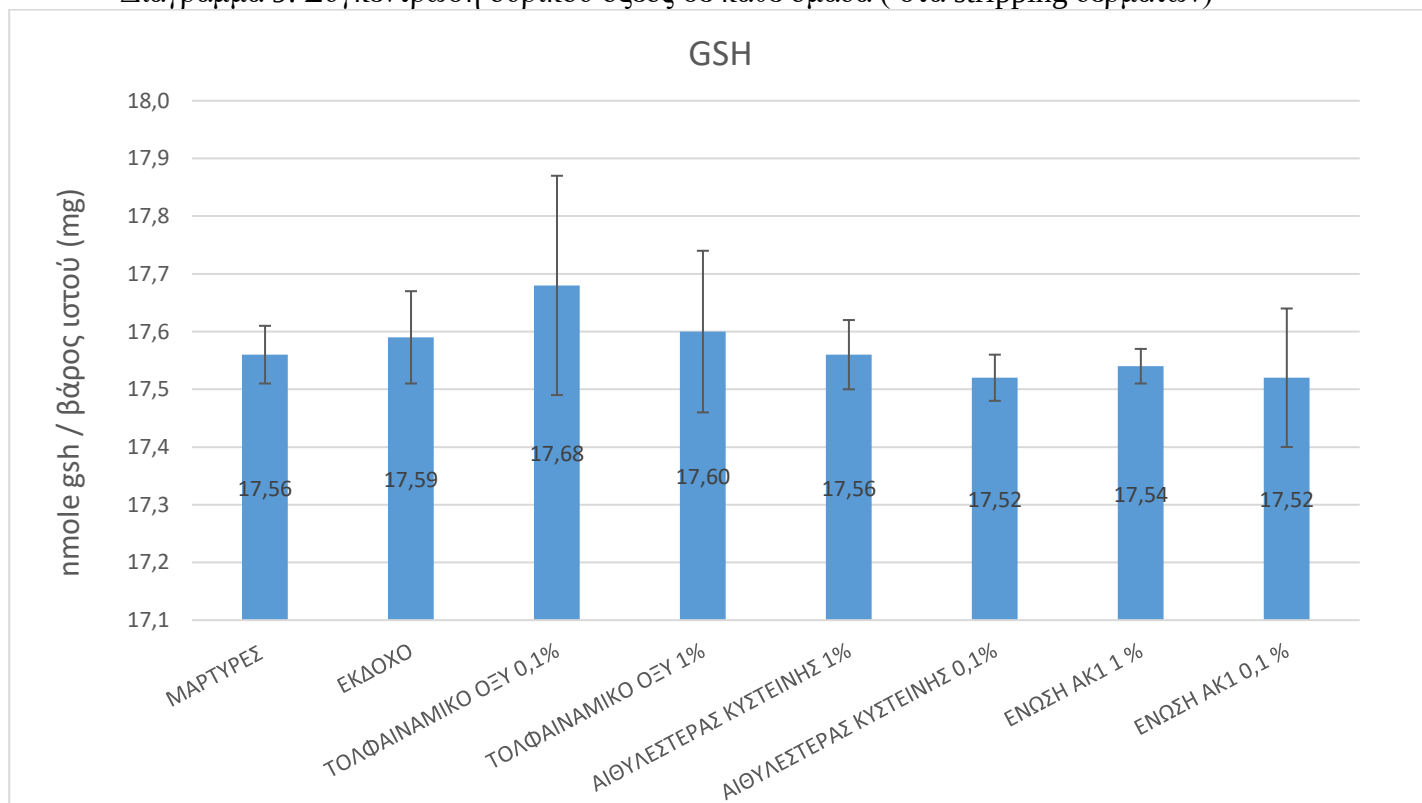
Πίνακας 6: Αποτελέσματα συγκεντρώσεων ουρικού οξέος και γλουταθειόνης

	Uric acid nmole uric / βάρος ιστού (mg)	gsh nmole gsh / βάρος ιστού (mg)
ΜΑΡΤΥΡΕΣ	29,25 ± 7,14	17,56 ± 0,05
ΕΚΔΟΧΟ	41,33 ± 8,9	17,59 ± 0,08
ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 0,1%	23,20 ± 8,36	17,68 ± 0,19
ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 1%	23,64 ± 7,86	17,60 ± 0,14
ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 1%	33,05 ± 17,03	17,56 ± 0,06
ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 0,1%	31,86 ± 2,07	17,52 ± 0,04
ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 1 %	32,09 ± 12,5	17,54 ± 0,03
ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 0,1 %	36,68 ± 14,28	17,52 ± 0,12

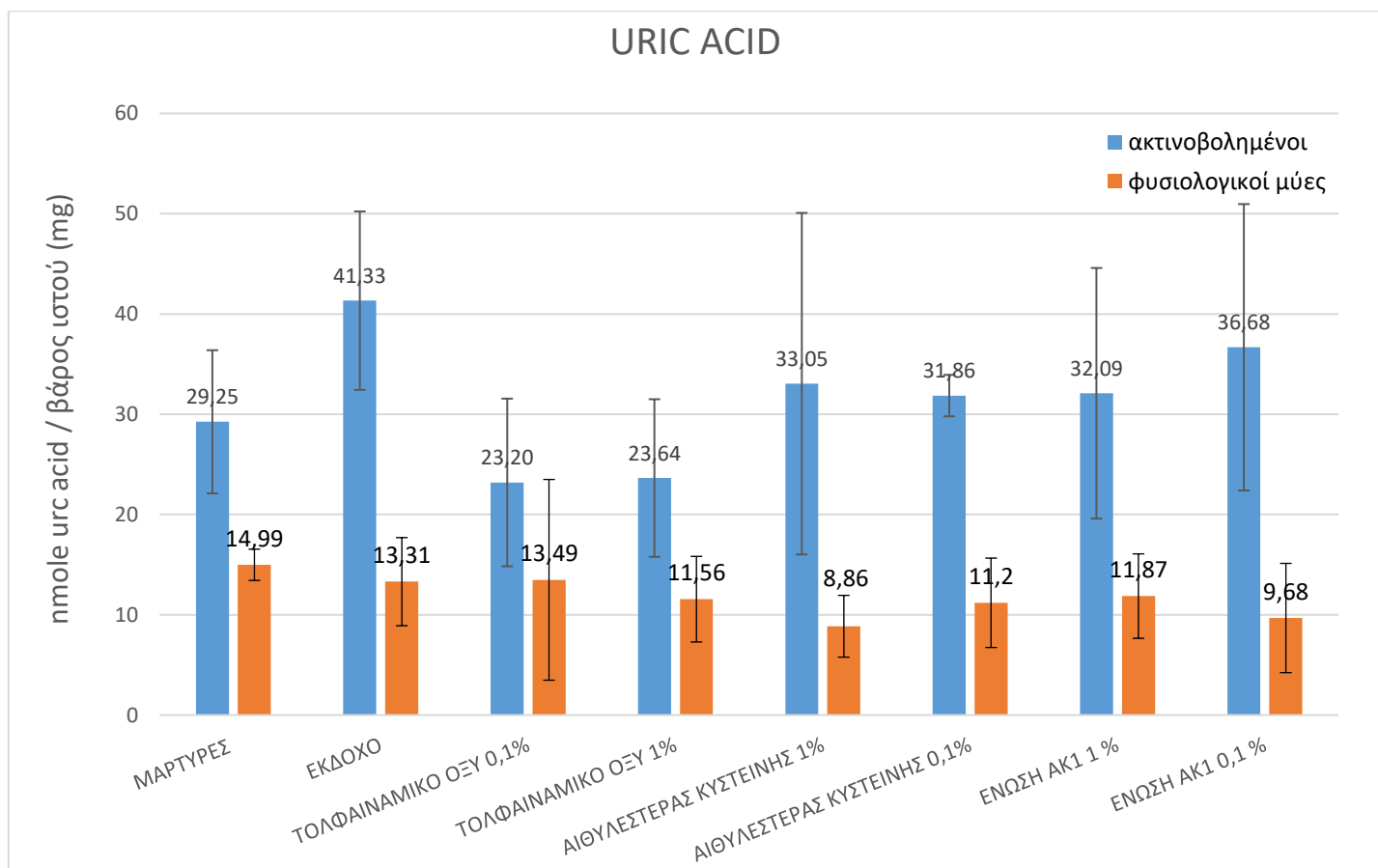
Με βάση τα δεδομένα του παραπάνω πίνακα κατασκευάζονται τα κάτωθι διαγράμματα, τα οποία απεικονίζουν τη συγκέντρωση κάθε αντιοξειδωτικού μορίου σε κάθε ομάδα.



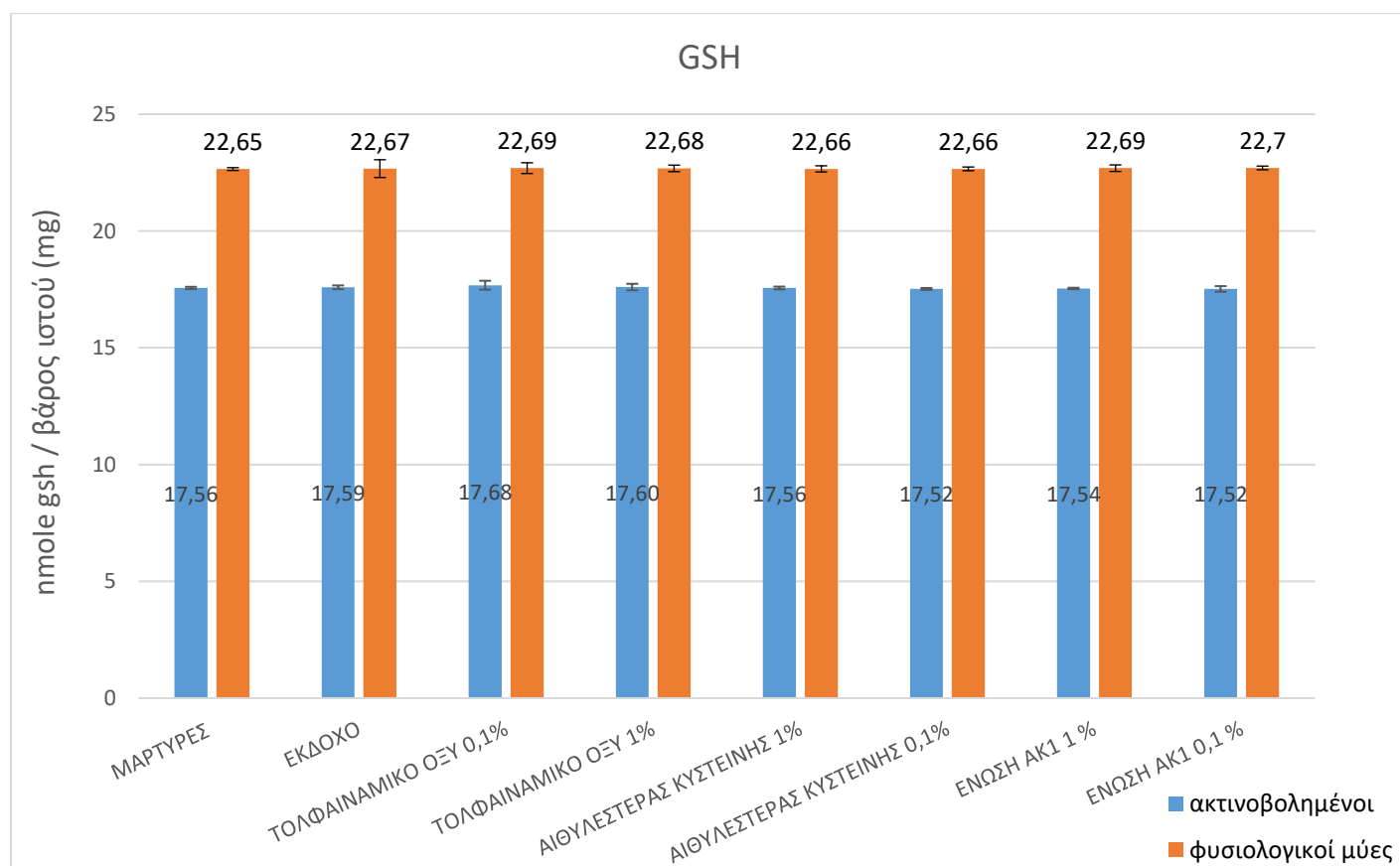
Διάγραμμα 9: Συγκέντρωση ουρικού οξέος σε κάθε ομάδα (στα stripping δερμάτων)



Διάγραμμα 10: Συγκέντρωση γλουταθειόνης σε κάθε ομάδα (στα stripping δερμάτων)



Διάγραμμα 11: Σύγκριση αποτελεσμάτων ουρικού οξέος μεταξύ των δύο φάσεων



Διάγραμμα 12: Σύγκριση αποτελεσμάτων γλουταθειόνης μεταξύ των δύο φάσεων

Η υπερβολική έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία επηρεάζει τα επίπεδα αντιοξειδωτικών ενζύμων, συγκεκριμένα τα μειώνει, οδηγώντας έτσι σε μια κατάσταση οξειδωτικού στρες. Αναμένεται έτσι η συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών μορίων στην φάση 1 όπου δεν είχαν ακτινοβοληθεί τα ζώα να είναι υψηλότερη σε σχέση με τη φάση 2. Ωστόσο αυτή τη συμπεριφορά ακολουθεί μόνο η γλουταθειόνη, ενώ το ουρικό οξύ όχι. Επίσης αναμένεται η συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών να είναι υψηλότερη στην επιδερμίδα. Συγκρίνοντας λοιπόν τα αποτελέσματα από τα stripping και τους ιστούς των δερμάτων παρατηρείται ότι η συγκέντρωση της γλουταθειόνης στην επιδερμίδα είναι έως και 20 φορές υψηλότερη και του ουρικού οξέος έως και 2 φορές, σε σχέση με τη δερμίδα.

Σε αντίθεση με τους ιστούς των δερμάτων μυών, στα stripping αυτών δεν ανιχνεύθηκε ασκορβικό οξύ, με εξαίρεση ορισμένα stripping των δερμάτων των μυών που έδωσαν κορυφή που αντιστοιχούσε στο ασκορβικό οξύ. Η μέση τιμή συγκέντρωσης ασκορβικού οξέος σε αυτά τα stripping είναι η εξής:

Ομάδα:	nmole ascorbic acid /mg ιστού	Φάση 2
Εκδόχων	-	32.23
Cys 1%	-	19.82
Cys 0,1 %	21.76	15.80
AK1 0,1 %	-	16.30
Tolf 0,1 %	5.27	13.59
Tolf 1 %	6.73	-

Τέλος τα stripping των δερμάτων έδωσαν αντίθετα αποτελέσματα από τα δέρματα. Πιο συγκεκριμένα την υψηλότερη κατά σειρά συγκέντρωση ουρικού οξέος έδωσε η ομάδα που ακολούθησε επάλειψη με την ένωση AK1 0.1 %, ακολουθεί η ομάδα του εκδόχου – φορέα και ο αιθυλεστέρας κυστεΐνης. Χαμηλότερη συγκέντρωση έδωσε η ομάδα που ακολούθησε αγωγή με τολφαιναμικό οξύ. Ίδια τιμή συγκέντρωσης γλουταθειόνης έδωσαν όλες οι ομάδες, με ελαφρώς υψηλότερη η ομάδα τολφαιναμικού οξέος 1 %.

2.Γ. Στατιστική Επεξεργασία

Τα παραπάνω αποτελέσματα επεξεργάστηκαν στατιστικά με τη στατιστική μέθοδο Analysis Of Variance – ANOVA, single factor, με την οποία η μεταβλητότητα που υπάρχει σ' ένα σύνολο δεδομένων διασπάται στις επιμέρους συνιστώσες της με στόχο την κατανόηση της σημαντικότητας των διαφορετικών πηγών προέλευσής της.

Για $p_{\text{value}} < 0,05 = p_{\text{critical}}$ συμπεραίνεται ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων μου και άρα αυτά προέρχονται από διαφορετικό πληθυσμό. Προκειμένου να βρεθεί η πηγή προέλευσης αυτής της διαφοράς εφαρμόζεται κριτήριο t-test για όλους τους δυνατούς συνδυασμούς μεταξύ των ομάδων για two tailed distribution και two sample unequal variance.

α) για τους ιστούς των δερμάτων

Όσον αφορά τα αποτελέσματα ασκορβικού, ουρικού οξέος και γλουταθειόνης αυτά δεν διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους καθώς η τιμή του συντελεστή p βρέθηκε ίση με 0.29, 0.62 και 0.98 αντίστοιχα.

β) για τα stripping των δερμάτων

Όπως και στους ιστούς των δερμάτων έτσι και στα stripping αυτών τα αποτελέσματα και για τις τρεις αντιοξειδωτικές ουσίες δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά, γιατί $p > 0,05$.

	P	
	Φάση 1	Φάση 2
Uric acid	0,55	0,11
gsh	0,99	0,15

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΜΕΛΕΤΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΩΝ ΛΙΠΙΔΙΩΝ ΑΠΟ ΧΕΛΙ

Οι τρεις τύποι των ωμέγα-3 λιπαρών οξέων που εμπλέκονται στην ανθρώπινη φυσιολογία είναι το α-λινολενικό οξύ (ALA) (που βρίσκεται στο φυτικά έλαια), το εικοσαπεντανοϊκό οξύ (EPA), και δοκοσαεξαενοϊκό οξύ (DHA) (και τα δύο βρίσκονται συνήθως σε θαλάσσια έλαια). [117,118]

Τα θαλάσσια ω-3 λιπαρά οξέα μειώνουν την κυτταρική επιφανειακή έκφραση των μορίων προσκόλλησης και την παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών και μεταβολιτών της COX-2. Δεδομένου ότι η πρόσληψη θαλάσσιων ω-3 λιπαρών οξέων μειώνει το αραχιδονικό οξύ (ARA) στα φωσφολιπίδια των μεμβρανών των κυττάρων που εμπλέκονται στη φλεγμονή, αναμένεται ότι η παραγωγή των μεσολαβητών που προέρχονται από το ARA θα μειωθεί λόγω του μειωμένου ποσού του διαθέσιμου υποστρώματος. Επιπλέον, το EPA έχει δείχθει ότι αναστέλλει το μεταβολισμό του ARA και μειώνει την έκφραση του γονιδίου της COX-2. [119,120]

Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι τα EPA και DHA μπορούν να δράσουν ως καταστολείς της φλεγμονώδους σηματοδότησης μέσω του NF-κΒ: ενεργοποίηση της PPAR-γ, η οποία αλληλεπιδρά φυσιολογικά με τον NF-κΒ εμποδίζοντας την πυρηνική του μετατόπιση, και δράση μέσω της GPR120 η οποία εκκινεί έναν αντι-φλεγμονώδη καταρράκτη σηματοδότησης που αναστέλλει τη σηματοδότηση που οδηγεί στην ενεργοποίηση του NFκΒ. Το EPA χορηγούμενο τοπικά έχει δείχθει ότι αναστέλλει τη UV-επαγόμενη έκφραση της COX - 2, την πάχυνση της επιδερμίδας και την έκφραση των μεταλλοπρωτεϊνών μήτρας στο ανθρώπινο δέρμα, προτείνοντας έτσι μια συνολικά προστατευτική επίδραση με μηχανισμούς διαφορετικούς από αυτούς που χειρίζονται άμεσα τα λιπαρά οξέα των κυτταρικών μεμβρανών. Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες μήτρας (MMPs) είναι πρωτεάσες που είναι σε θέση να αποδομούν πρωτεΐνες εξωκυτταρικής μήτρας και πολλές MMPs συνδέονται με τη βλάβη ιστού που παρατηρείται σε φλεγμονώδεις καταστάσεις. Η σύνθεσή τους ρυθμίζεται από πολλούς παράγοντες, όπως φλεγμονώδεις κυτοκίνες και εικοσανοειδή. Πολυάριθμες μελέτες in vitro έδειξαν ότι η θαλάσσια ω-3 λιπαρά οξέα μείωσαν τα επίπεδα mRNA ή πρωτεΐνης των διαφόρων MMPs σε καρκινικά κύτταρα, μυοκύτταρα, ινοβλάστες, κερατινοκύτταρα, μακροφάγα και χονδροκύτταρα. Τοπική εφαρμογή DHA προστατεύει έναντι του UVB-επαγόμενου οξειδωτικού στρες και της φλεγμονής μέσω απενεργοποίησης του NFκΒ και με προς τα κάτω ρύθμιση της αντίθετης σηματοδότησης της MSK b1, που παρέχει μια μηχανιστική βάση των αντιφλεγμονωδών δράσεων του DHA in vivo σε δέρμα ποντικού. [120,121,122]

Εξετάστηκε η αποτελεσματικότητα λιπαρών συστατικών – ελαϊκών εκχυλισμάτων από το χέλι σε δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις: 10 & 20 % ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση. Πιο συγκεκριμένα θα διερευνηθεί αν τα συγκεκριμένα λιπαρά μπορούν να θεραπεύσουν ήπια φλεγμονή που δημιουργεί η υπερϊώδης ακτινοβολία παρατηρώντας την επίδραση τους στην αντιοξειδωτική κατάσταση των δερμάτων μυών.

3.A. Πειραματική διαδικασία

Χρησιμοποιήθηκαν 36 θηλυκοί άτριχοι μύες τύπου SKH-2, εκ των οποίων τα 6 ήταν 4 μηνών και τα υπόλοιπα 2 – 3 μηνών. Το κάτω μέρος της ράχης των μυών (εμβαδόν 4 cm²) ακτινοβολήθηκε άπαξ με υπερϊώδη ακτινοβολία ισχύος στη UVA περιοχή του

φάσματος ίση με 6 mW/cm^2 και στη UVB φάματος ίση με 6 mW/cm^2 . Ο χρόνος ακτινοβολήσης θα είναι ίσος με 15 sec., έτσι ώστε τελικά η συνολική ενέργεια που θα δεχτεί κάθε μυς να είναι ίση με 2,5 μέσες ερυθρηματώδεις δόσεις (2,5 MED). Οι μύες μετά την ακτινοβολήση χωρίστηκαν σε 4 ομάδες των 9 :

- i. την ομάδα ελέγχου (μάρτυρες),
- ii. την ομάδα που δεχόταν επάλειψη με το φορέα PEG 600 : PEG 1000 $\rightarrow$ 65:35,
- iii. την ομάδα που δεχόταν επάλειψη με σκεύασμα από χέλι περιεκτικότητας 10 % (PEG 600 : PEG 1000 : χέλι $\rightarrow$ 60:30:10) και
- iv. την ομάδα που δεχόταν επάλειψη με σκεύασμα από χέλι περιεκτικότητας 20 % (PEG 600 : PEG 1000 : χέλι $\rightarrow$ 55:25:20).

Οι επαλείψεις γίνονταν καθημερινά μία με δύο φορές την ημέρα.

Μετά το πέρας του πειράματος οι μύες θυσιάζονται και λαμβάνεται από κάθε μυ ιστός δέρματος ίσος με 2-20 mg από την ακτινοβολημένη περιοχή. Ακολουθεί επεξεργασία των δερμάτων με την προαναφερθέντα διαδικασία και ανάλυση αυτών με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης συνδεδεμένη με ηλεκτροχημικό ανιχνευτή.

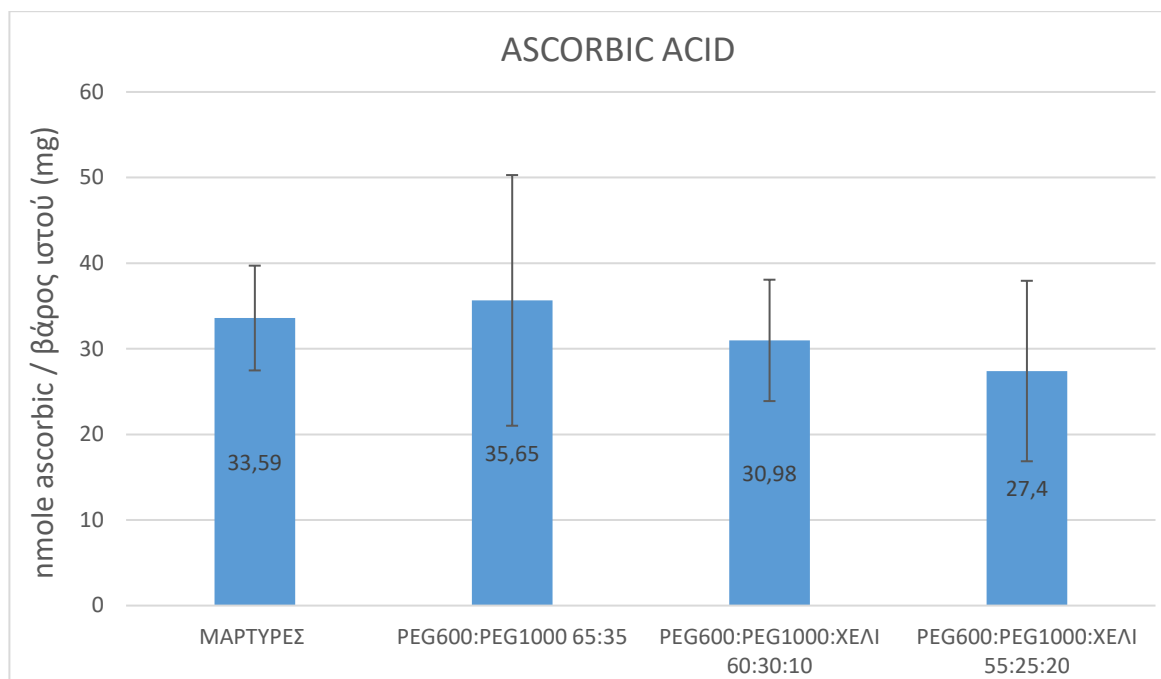
3.B. Αποτελέσματα- Συζήτηση αποτελεσμάτων

Μετά την επεξεργασία των δειγμάτων το περιεχόμενο φυλάσσεται σε πάγο, προστατευμένο από το φως και ακολουθεί ένεση στην HPLC. Από τα χρωματογραφήματα που λήφθηκαν μπορούν να προσδιοριστούν οι συγκεντρώσεις των αντιοξειδωτικών μορίων που μελετώνται στους ιστούς με σύγκριση των ενδείξεων των κορυφών των χρωματογραφημάτων τους και αυτών των πρότυπων δειγμάτων των αντιοξειδωτικών ουσιών γνωστών συγκεντρώσεων, μέσω των πρότυπων καμπυλών αναφοράς. Προκύπτουν έτσι τα παρακάτω αποτελέσματα:

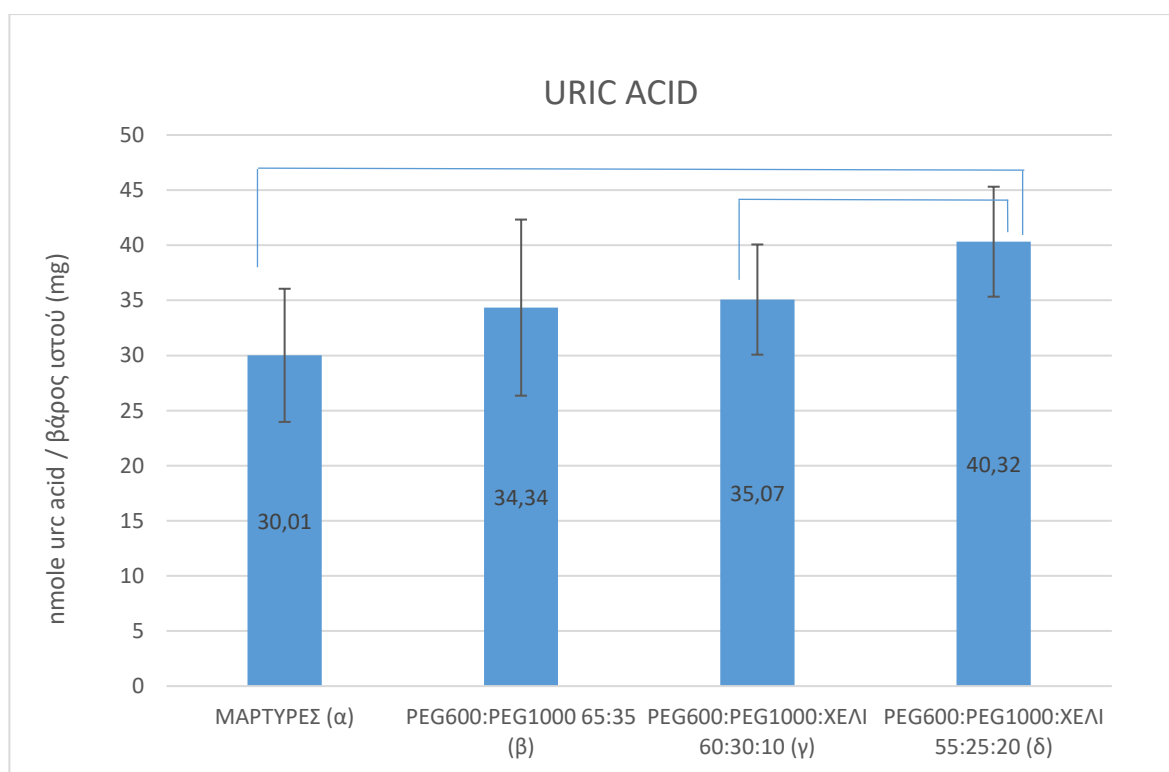
Πίνακας 7: Αποτελέσματα συγκεντρώσεων ασκορβικού, ουρικού οξέος και γλουταθειόνης

	Ascorbic acid <i>nmole ascorbic / βάρος ιστού (mg)</i>	Uric acid <i>nmole uric / βάρος ιστού (mg)</i>	gsh <i>nmole gsh / βάρος ιστού (mg)</i>
<i>MAPTYPES</i>	$33,59 \pm 6,12$	$30,01 \pm 6,04$	$0,93 \pm 0,05$
<i>PEG600:PEG1000 65:35</i>	$35,65 \pm 14,64$	$34,34 \pm 7,99$	$0,94 \pm 0,17$
<i>PEG600:PEG1000: XEAI 60:30:10</i>	$30,98 \pm 7,09$	$35,07 \pm 5$	$0,93 \pm 0,14$
<i>PEG600:PEG1000: XEAI 55:25:20</i>	$27,4 \pm 10,54$	$40,32 \pm 4,99$	$0,97 \pm 0,16$

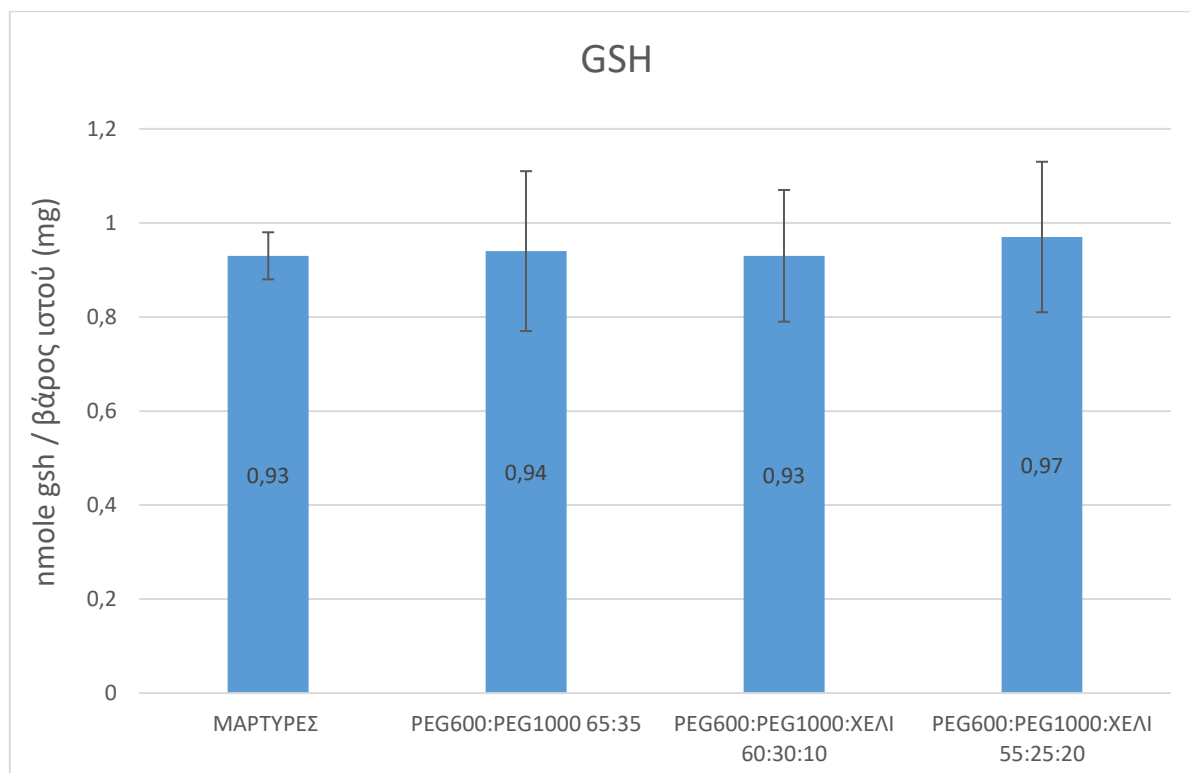
Με βάση τα δεδομένα του παραπάνω πίνακα κατασκευάζονται τα κάτωθι διαγράμματα, τα οποία απεικονίζουν τη συγκέντρωση κάθε αντιοξειδωτικού μορίου τόσο στην ομάδα μαρτύρων όσο και στις υπόλοιπες ομάδες που δέχονταν επάλειψη.



Διάγραμμα 13: Συγκέντρωση ασκορβικού οξέος σε κάθε ομάδα



Διάγραμμα 14: Συγκέντρωση ουρικού οξέος σε κάθε ομάδα



Διάγραμμα 15: Συγκέντρωση γλουταθειόνης σε κάθε ομάδα

Όπως προαναφέρθηκε τα λιπαρά οξέα μπορούν να δράσουν ως καταστολείς της φλεγμονώδους σηματοδότησης ενισχύοντας έτσι και την αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού. Έτσι αναμένεται η συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών να είναι υψηλότερη στις ομάδες που έγινε επάλειψη με χέλι σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες και επίσης αναμένεται να είναι υψηλότερη η συγκέντρωση αυτών στους ιστούς στην ομάδα όπου η περιεκτικότητα σε χέλι ήταν υψηλότερη. Από τα παραπάνω διαγράμματα συνάγεται το συμπέρασμα ότι το ουρικό οξύ και η γλουταθειόνη παρουσιάζουν την αναμενόμενη συμπεριφορά. Βέβαια η συγκέντρωση της γλουταθειόνης δεν μεταβάλλεται αρκετά μεταξύ των ομάδων. Τέλος το ασκορβικό οξύ παρουσιάζει απόκλιση από τα αναμενόμενα αποτελέσματα, καθώς παρατηρείται υψηλότερη συγκέντρωση αυτού στην ομάδα που έγινε επάλειψη με το φορέα και χαμηλότερη στην ομάδα που έγινε επάλειψη με το σκεύασμα από χέλι 20 %.

3.Γ. Στατιστική Επεξεργασία

Τα παραπάνω αποτελέσματα επεξεργάστηκαν στατιστικά με τη στατιστική μέθοδο ANalysis Of VAriance – ANOVA, single factor, με την οποία η μεταβλητότητα που υπάρχει σ' ένα σύνολο δεδομένων διασπάται στις επιμέρους συνιστώσες της με στόχο την κατανόηση της σημαντικότητας των διαφορετικών πηγών προέλευσής της.

Για $p_{value} < 0,05 = p_{critical}$ συμπεραίνεται ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων μου και άρα αυτά προέρχονται από διαφορετικό πληθυσμό. Προκειμένου να βρεθεί η πηγή προέλευσης αυτής της διαφοράς εφαρμόζεται κριτήριο t-test για όλους τους δυνατούς συνδυασμούς μεταξύ των ομάδων για two tailed distribution και two sample unequal variance

Όσον αφορά τα αποτελέσματα ασκορβικού οξέος και γλουταθειόνης αυτά δεν διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους καθώς η τιμή του συντελεστή p βρέθηκε ίση με 0,36 και 0,82 αντίστοιχα.

Στατιστικά σημαντική διαφορά υπήρξε στα αποτελέσματα ουρικού οξέος, $p = 0,01$. Σύμφωνα με το t-test στατιστικά σημαντική διαφορά υπήρξε μεταξύ της ομάδας των μαρτύρων και της ομάδας που δέχθηκε επάλειψη με χέλι 20 % ($p = 0,001$) και μεταξύ των ομάδων που δέχθηκαν επάλειψη με χέλι σε διαφορετικές περιεκτικότητες ($p = 0,04$).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΚΑΙ ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΩΝ ΜΕ ΤΡΕΤΙΝΟΪΝΗ, ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ, ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΟ ΑΥΞΗΤΙΚΟ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΚΑΙ ΣΑΛΙΚΥΛΙΚΟ ΟΞΥ ΣΤΗ ΦΩΤΟΓΗΡΑΝΣΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ.

Έχει αποδειχθεί ότι ο ήλιος συμβάλει στην πρόκληση γήρανσης και δερματικού καρκίνου. Μικρές δόσεις ακτινοβολίας δημιουργούν ρυτίδες. Μακροχρόνιες επαναληπτικές εκθέσεις στο ηλιακό φως είναι υπεύθυνες για τη φωτογήρανση. Επομένως η φωτογήρανση είναι η υπέρθεση της χρόνιας υπερώδης επαγόμενης βλάβης στην ενδογενή γήρανση και προκαλεί στους ηλιακά συσχετιζόμενους αλλαγές στην εμφάνιση του δέρματος. Πυροδοτείται από τη σηματοδότηση υποδοχέα που ενεργοποιεί μιτοχονδριακή βλάβη, πρωτεϊνική οξειδωση και βλάβες του DNA που βασίζονται στα τελομερή. Οι UV-A και UV-B ακτινοβολίες προκαλούν βλάβες στο δέρμα και οδηγούν στο σχηματισμό ρυτίδων. Ελαττώνουν την ανοσολογική αντίδραση στις λοιμώξεις και συμμετέχουν στη διαδικασία δημιουργίας νεοπλασιών. Ακόμα και μικρά ποσά ακτινοβολίας μπορούν να επιταχύνουν τη διαδικασία της γήρανσης. Καταστρέφονται οι κολλαγόνες ίνες και συσσωρεύονται ανώμαλες ελαστικές ίνες. Το αποτέλεσμα είναι η συσσώρευση ενζύμων, των μεταλλοπρωτεϊνών, τα οποία κάνουν οξειδώσεις. Έτσι, ελεύθερες ρίζες παράγονται σε μεγάλα ποσά και καταστρέφουν τα υγιή κύτταρα και το γενετικό τους υλικό. Η οξειδωση συμμετέχει στη δημιουργία ρυτίδων, ενεργοποιώντας τις ειδικές μεταλλοπρωτεϊνάσες που καταστρέφουν το συνδετικό ιστό. Αυτά έχουν ως αποτέλεσμα ένα φωτογηρασμένο δέρμα να εμφανίζει μεταβλητό επιδερμικό πάχος, δερμική ελάστωση και μειωμένο κολλαγόνο. Οι βραχυπρόθεσμες επιδράσεις της UV ακτινοβολίας είναι το ερύθημα, η επιδερμική υπερπλασία και η μελάγχρωση, καθώς και η ανοσοκαταστολή. Οι μακροπρόθεσμες επιδράσεις της UV ακτινοβολίας είναι η φωτογήρανση, η ανοσοκαταστολή, αλλά και οι γενετικές μεταλλάξεις και η καρκινογένεση. [123]

Το δέρμα μας όπως έχει αναφερθεί είναι εξοπλισμένο με ενζυμικούς καθώς και μη ενζυμικούς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς, οι οποίοι παρέχουν προστασία από τις ROS που παράγονται κατά τη διάρκεια φυσιολογικού κυτταρικού μεταβολισμού. Η υπερβολική έκθεση στην υπερώδη ακτινοβολία επηρεάζει τα επίπεδα αντιοξειδωτικών ενζύμων, συγκεκριμένα τα μειώνει, οδηγώντας έτσι σε μια κατάσταση οξειδωτικού στρες. Επανειλημμένες εκθέσεις σε UV δόσεις προτού επανέλθει η αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού έχουν τη δυνατότητα να οδηγήσουν σε αυξημένη βλάβη των ιστών.

✓ Πρόληψη και θεραπεία

- i. Τα αντηλιακά είναι η πρώτη γραμμή άμυνας κατά της ακτινοβολίας UV, καθώς προστατεύουν από την απορρόφηση ή την ανάκλαση της ακτινοβολίας στην επιφάνεια του δέρματος.
- ii. Επειδή η φωτογήρανση οφείλεται, τουλάχιστον εν μέρει, στην επαγόμενη βλάβη του DNA από την UV ακτινοβολία, η ενίσχυση της κυτταρικής ικανότητας επιδιόρθωσης του DNA θα μείωνε πιθανώς τη φωτογήρανση.
- iii. Το δέρμα περιέχει πολλά αντιοξειδωτικά ένζυμα, ενζυμικά και μη. Ωστόσο η αποτελεσματικότητα του δερματικού αντιοξειδωτικού δικτύου τείνει να μειώνεται με την ηλικία. Έτσι η προσθήκη διαφόρων αντιοξειδωτικών (α-

τοκοφερόλη, βιταμίνη C, φλαβονοειδή, πολυφαινόλων κ.ά.) κρίνεται απαραίτητη και ιδιαίτερα αποτελεσματική για την προστασία έναντι της UV ακτινοβολίας.

- iv. Έρευνες έχουν δείξει ότι μια δίαιτα χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά παρέχει προστασία και αναστέλλει την ανάπτυξη των ακτινικών κερατώσεων. Ωστόσο, ορισμένα λίπη φαίνεται να δρουν προστατευτικά έναντι της UV-επαγόμενης βλάβης. Για παράδειγμα, το εικοσαπεντανοϊκό οξύ (EPA) και τα ωμέγα-3 λιπαρά οξέα αναστέλλουν την ανάπτυξη του καρκίνου του δέρματος.
- v. Οι ωσμολύτες, οργανικές διαλυμένες ουσίες, παίζουν σημαντικό ρόλο στην προστασία του κυττάρου έναντι επιβλαβών παραγόντων όπως ROS. Για παράδειγμα η τοπική εφαρμογή του βακτηριακού ωσμολύτη ectoin μειώνει την ελάττωση των κυττάρων Langerhans μετά από έκθεση σε UVB ακτινοβολία και εμποδίζει το σχηματισμό ηλιακού εγκαύματος στα κύτταρα.
- vi. Μελέτες έχουν δείξει επίσης ότι η τοπική εφαρμογή ρετινοειδών, όπως η τρετινοΐνη, μπορεί να βελτιώσει αλλαγές στο δέρμα προκαλούμενες από τη φωτογήρανση. Επίσης εξίσου σημαντική είναι η θεραπεία με α-υδροξυ οξέα. Πιο συγκεκριμένα τοπική θεραπεία φωτογηρασμένου δέρματος με ΑΗΑ έχει επιφέρει βελτίωση ρυτίδων, τραχύτητας και δυσμελάγχρωσης μέσα σε λίγους μήνες της ημερήσιας εφαρμογής.
- vii. Η τοπική θεραπεία με οιστρογόνα μπορεί επίσης να οδηγήσει σε σημαντική αύξηση του κολλαγόνου, της σφριγηλότητας και της ελαστικότητας καθώς και το βάθος των ρυτίδων. Τέλος η τοπική εφαρμογή ενός συνδυασμού παραγόντων ανάπτυξης και κυτοκινών έχει αξιολογηθεί σε μια πιλοτική μελέτη για την επίδρασή της επί φωτογερασμένο δέρμα και έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα. [124,125]

Στην προκειμένη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν σκευάσματα γαλακτικού και σαλικυλικού οξέος, τρετινοΐνης και επιδερμικού αυξητικού παράγοντα για να μελετηθεί η επίδραση τους στη φωτογήρανση του δέρματος μυνών, ως προς την αντιοξειδωτική τους δράση.

Οι συγκεκριμένες ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν παρουσιάζουν κάποιες από τις παρακάτω ιδιότητες. [125,126,127]

✓ **Γαλακτικό οξύ** → ανήκει στα α-υδροξυοξέα και προέρχεται από το ξινόγαλα

Μηχανισμός δράσης:

- ο Στην επιδερμίδα παρεμποδίζουν το σχηματισμό ιονικών δεσμών και δεσμοσωμάτων μέσω αναστολής τρανσφερασών και κινασών με αποτέλεσμα την εξασθένιση της συνοχής των κερατινοκυττάρων και την πρόκληση απολέπισης και λέπτυνσης την κεράτινης στιβάδας.
- ο Στο χόριο αλληλεπιδρούν με υποδοχείς των ινοβλαστών και διεγείρουν την παραγωγή κολλαγόνου, ελαστίνης και πρωτεογλυκανών.

Τελικό αποτέλεσμα : αναδιοργάνωση επιδερμίδας-απομάκρυνση περίσσειας μελανίνης και αύξηση πάχους του χορίου.

✓ **Σαλικυλικό οξύ**: υδροξυοξύ και ισχυρά λιπόφιλο μόριο

Έχει κερατολυτική, φαγεσωρολυτική και αντιβακτηριακή δράση.

✓ **Ρετινοϊκό οξύ:** παράγωγο της βιταμίνης Α

Λιπόφιλο μόριο που διαπερνά εύκολα την κυτταρική μεμβράνη. Εντός του κυττάρου συνδέεται με πυρηνικούς υποδοχείς και στη συνέχεια με ειδικές αλληλουχίες DNA με αποτέλεσμα την τροποποίηση έκφρασης γονιδίων που ρυθμίζουν την κυτταρική διαφοροποίηση και πολλαπλασιασμό.

✓ **Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας:** Πολυπεπτίδιο που αποτελείται από 53 αμινοξέα με 3 δισουλφιδικούς δεσμούς στο μόριο να καθορίζουν την ενεργότητα του. Μερικές από τις δράσεις του είναι οι εξής :

- 1) Αναγέννηση επιδερμικών κυττάρων προωθώντας τον πολλαπλασιασμό των κερατινοκυττάρων και τη μετανάστευση τους.
- 2) Διέγερση παραγωγής πρωτεϊνών όπως ινωδονεκτίνη.
- 3) Αύξηση κινητικότητας των ινοβλαστών.
- 4) Αγγειογένεση.
- 5) Αύξηση έκφρασης της κερατίνης K6 και K16.

Μελετήθηκε της επίδρασης σκευασμάτων με τρετινοΐνη (0.05%), γαλακτικό οξύ (10%), επιδερμικό αυξητικό παράγοντα (3,3%) και σαλικυλικό οξύ (3%) στη φωτογήρανση του δέρματος. Πιο συγκεκριμένα θα διερευνηθεί αν τα παραπάνω σκευάσματα μπορούν να μειώσουν την φωτογήρανση του δέρματος που δημιουργεί η υπεριώδης ακτινοβολία παρατηρώντας την επίδραση τους στην αντιοξειδωτική κατάσταση των ιστών και stripping δερμάτων μυών.

4.A. Πειραματική διαδικασία

Στη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκαν 50 θηλυκοί άτριχοι μύες, τύπου SKH - 2 ηλικίας 2 μηνών. Μετά από επταήμερο εγκλιματισμό των πειραματόζων στο χώρο πειραματισμού το δέρμα τους εκτείνεται επί 3 φορές την εβδομάδα σε υπεριώδη ακτινοβολία (UVA-UVB) στο κάτω μέρος της ράχης για 1 μήνα (με ισχύ στη UVA περιοχή του φάσματος ίση με 5 mW/cm² και στη UVB περιοχή του φάσματος ίση με 5,5 mW/cm² UVB). Αυξάνοντας τη δόση της ακτινοβολίας, την 1^η εβδομάδα χρησιμοποιήθηκε δόση ακτινοβολίας ίση με 0,5 MED, την 2^η εβδομάδα δόση ακτινοβολίας ίση με 1 MED, την 3^η εβδομάδα οι μύες ακτινοβολήθηκαν με δόση ίση με 1,5 MED και την 4^η με δόση ίση με 2 MED. Η ακτινοβολήση διήρκεσε 4 εβδομάδες και γινόταν 3 φορές εβδομαδιαίως.

Οι μύες μετά την ακτινοβολήση χωρίστηκαν σε 5 ομάδες των 10 :

- 1) Στην 1^η ομάδα έγιναν επαλείψεις με σκεύασμα που αποτελείται μόνο απ'τα έκδοχα (βάση κρέμας εμπορίου και υαλουρονικό οξύ),
- 2) Στην 2^η ομάδα με σκεύασμα με έκδοχα σε συνδυασμό με τον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα σε περιεκτικότητα 3,3 %,
- 3) Στην 3^η ομάδα με σκεύασμα που αποτελείται από έκδοχα και σαλικυλικό οξύ 3 %,
- 4) Στην 4^η ομάδα με σκεύασμα που αποτελείται από τα έκδοχα σε συνδυασμό με τρετινοΐνη 0,05 % και
- 5) Στην 5^η ομάδα χορηγείται σκεύασμα με έκδοχα και γαλακτικό οξύ 10 %.

Οι επαλείψεις γίνονταν μία φορά τη μέρα για 3 με 4 εβδομάδες .

Μετά το πέρας του πειράματος εφαρμόστηκαν δύο scotch με τρεις πιέσεις το καθένα στο σημείο ακτινοβολήσης των μυών, η αφαίρεση των οποίων έγινε με μία και γρήγορη κίνηση (stripping δέρματος). Έπειτα οι μύες θυσιάζονται και λαμβάνεται από κάθε μυ ιστός δέρματος ίσος με 2-20 mg από την ακτινοβολημένη περιοχή. Ακολουθεί επεξεργασία των ιστών και των stripping των δερμάτων με τις προαναφερθέντες διαδικασίες και ανάλυση αυτών με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης συνδεδεμένη με ηλεκτροχημικό ανιχνευτή.

4.B. Αποτελέσματα- Συζήτηση αποτελεσμάτων

Μετά την επεξεργασία των δειγμάτων το περιεχόμενο φυλάσσεται σε πάγο, προστατευμένο από το φως και ακολουθεί ένεση στην HPLC. Από τα χρωματογραφήματα που λήφθηκαν μπορούν να προσδιοριστούν οι συγκεντρώσεις των αντιοξειδωτικών μορίων που μελετώνται στους ιστούς και στην επιφάνεια της κεράτινης στοιβάδας (strippings) με σύγκριση των ενδείξεων των κορυφών των χρωματογραφημάτων τους και αυτών των πρότυπων δειγμάτων των αντιοξειδωτικών ουσιών γνωστών συγκεντρώσεων, μέσω των πρότυπων καμπυλών αναφοράς.

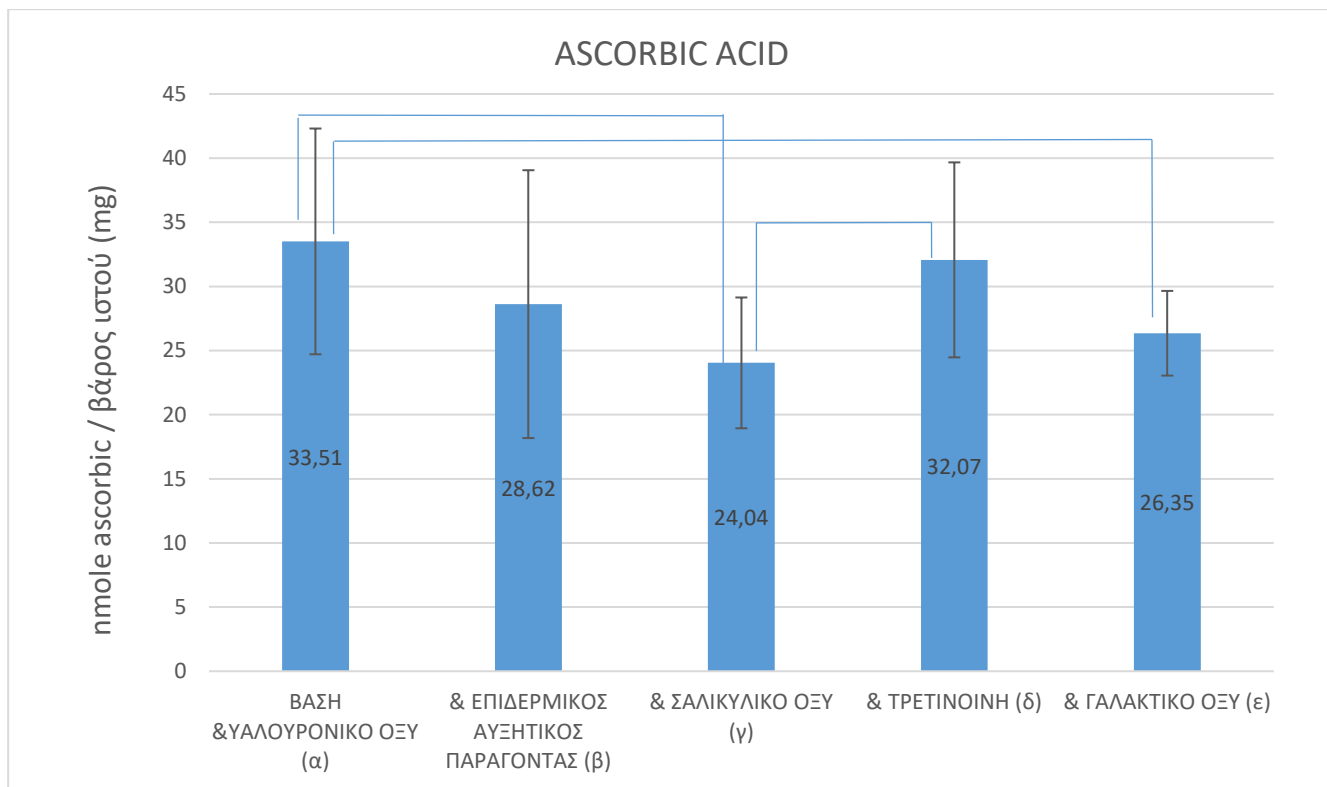
Προκύπτουν έτσι τα παρακάτω αποτελέσματα:

α) για τους ιστούς των δερμάτων

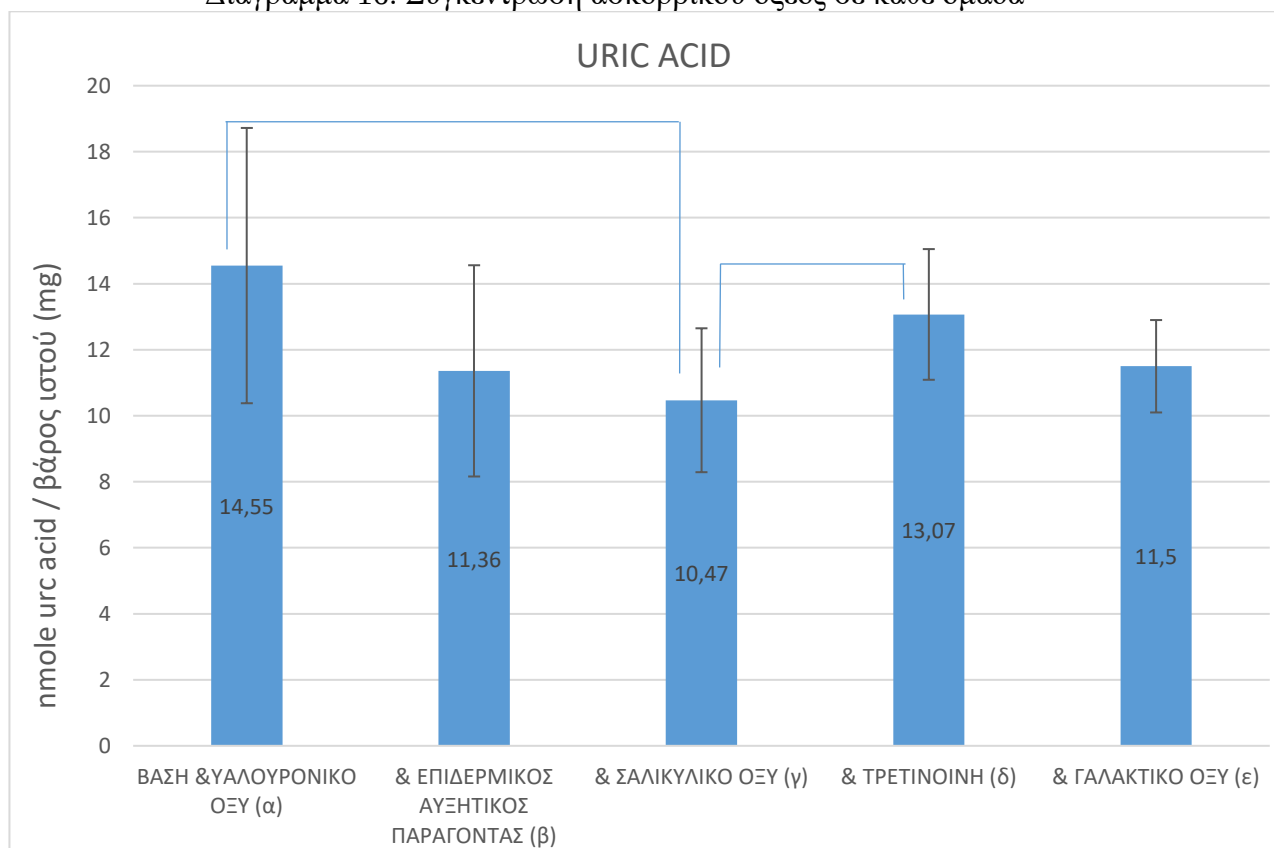
Πίνακας 8: Αποτελέσματα συγκεντρώσεων ασκορβικού, ουρικού οξέος και γλουταθειόνης

	Ascorbic acid <i>nmole ascorbic / βάρος ιστού (mg)</i>	Uric acid <i>nmole uric / βάρος ιστού (mg)</i>	gsh <i>nmole gsh / βάρος ιστού (mg)</i>
ΒΑΣΗ &ΥΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟ ΟΞΥ	33,51 ± 8,8	14,55 ± 4,17	0,96 ± 0,14
& ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΟΣ ΑΥΞΗΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	28,62 ± 10,44	11,36 ± 3,2	0,95 ± 0,05
& ΣΑΛΙΚΥΛΙΚΟ ΟΞΥ	24,04 ± 5,1	10,47 ± 2,18	0,98 ± 0,13
& ΤΡΕΤΙΝΟΙΝΗ	32,07 ± 7,6	13,07 ± 1,98	1,03 ± 0,09
& ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ	26,35 ± 3,3	11,5 ± 1,4	0,97 ± 0,03

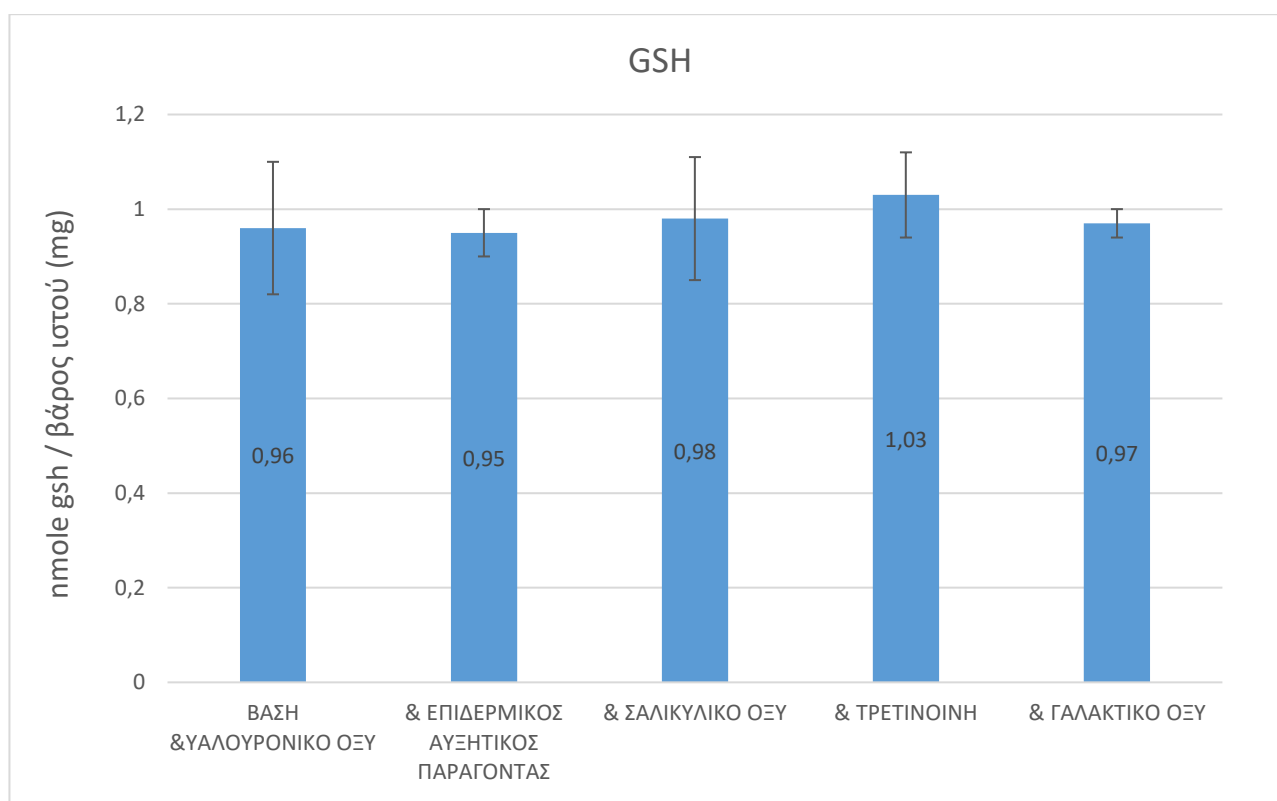
Με βάση τα δεδομένα του παραπάνω πίνακα κατασκευάζονται τα κάτωθι διαγράμματα, τα οποία απεικονίζουν τη συγκέντρωση των μελετηθέντων μορίων στην κάθε ομάδα.



Διάγραμμα 16: Συγκέντρωση ασκορβικού οξέος σε κάθε ομάδα



Διάγραμμα 17: Συγκέντρωση ουρικού οξέος σε κάθε ομάδα



Διάγραμμα 18: Συγκέντρωση γλουταθειόνης σε κάθε ομάδα

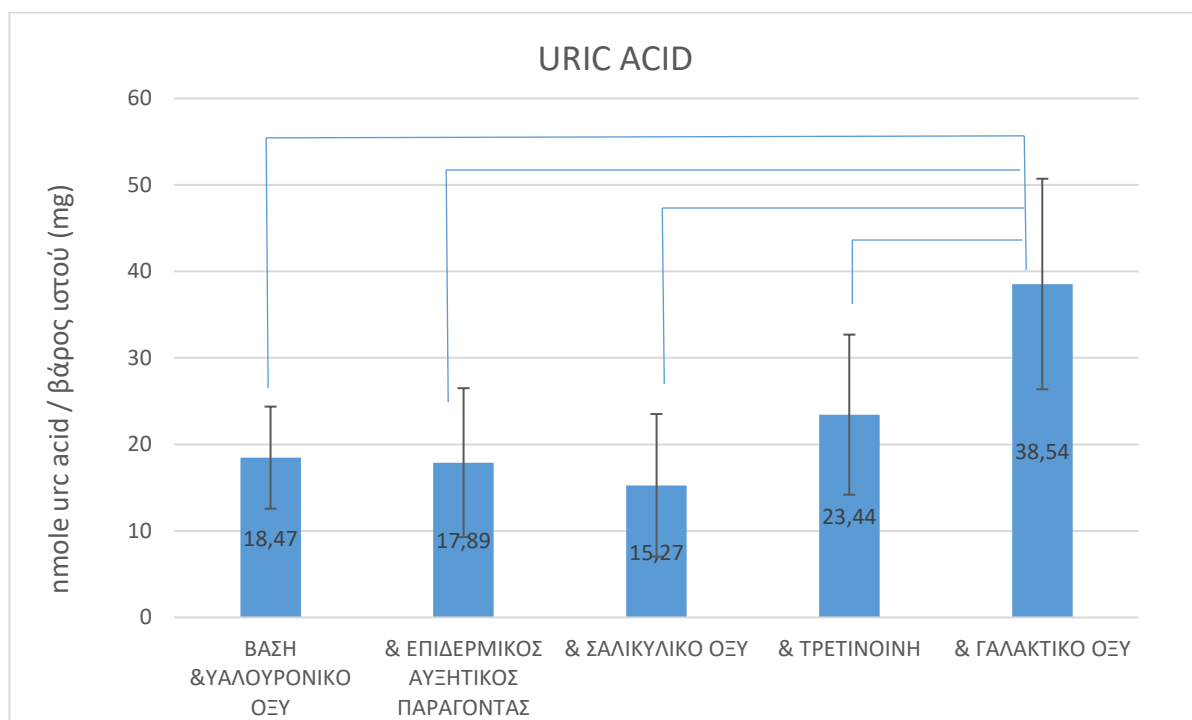
Όπως προαναφέρθηκε η υπερβολική έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία μειώνει τα επίπεδα αντιοξειδωτικών ενζύμων οδηγώντας έτσι σε μια κατάσταση οξειδωτικού στρες. Επανεπιλημμένες εκθέσεις σε UV δόσεις προτού επανέλθει η αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού έχουν τη δυνατότητα να οδηγήσουν σε αυξημένη βλάβη των ιστών. Παρατηρήθηκε ότι τα σκευάσματα που χρησιμοποιήθηκαν έπαιξαν σημαντικό ρόλο έναντι της φωτογήρανσης. Αναμένεται μετά την επάλειψη των παραπάνω σκευασμάτων η αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού να επανέλθει σε πιο σύντομο χρονικό διάστημα. Η ομάδα στην οποία έγινε επάλειψη με σκεύασμα τρετινοΐνης, η οποία ανήκει στην κατηγορία των ρετινοειδών, παρουσιάζει την υψηλότερη συγκέντρωση τόσο ασκορβικού όσο και ουρικού οξέος. Ακολουθούν οι ομάδες που έγινε επάλειψη με σκεύασμα γαλακτικού οξέος και επιδερμικού αυξητικού παράγοντα και για τα δύο αντιοξειδωτικά. Την χαμηλότερη συγκέντρωση των δύο αντιοξειδωτικών έδωσε η ομάδα στην οποία έγινε επάλειψη με σαλικυλικό οξύ, μιας και η ομάδα με το φορέα έδωσε καλύτερα αποτελέσματα. Σχετικά με τη γλουταθειόνη, η συγκέντρωση αυτής είναι πρακτικά σταθερή για όλες τις ομάδες, με εξαίρεση την ομάδα που έγινε επάλειψη με τρετινοΐνη στην οποία είναι ελαφρώς υψηλότερη.

β) για τα stripping των δερμάτων

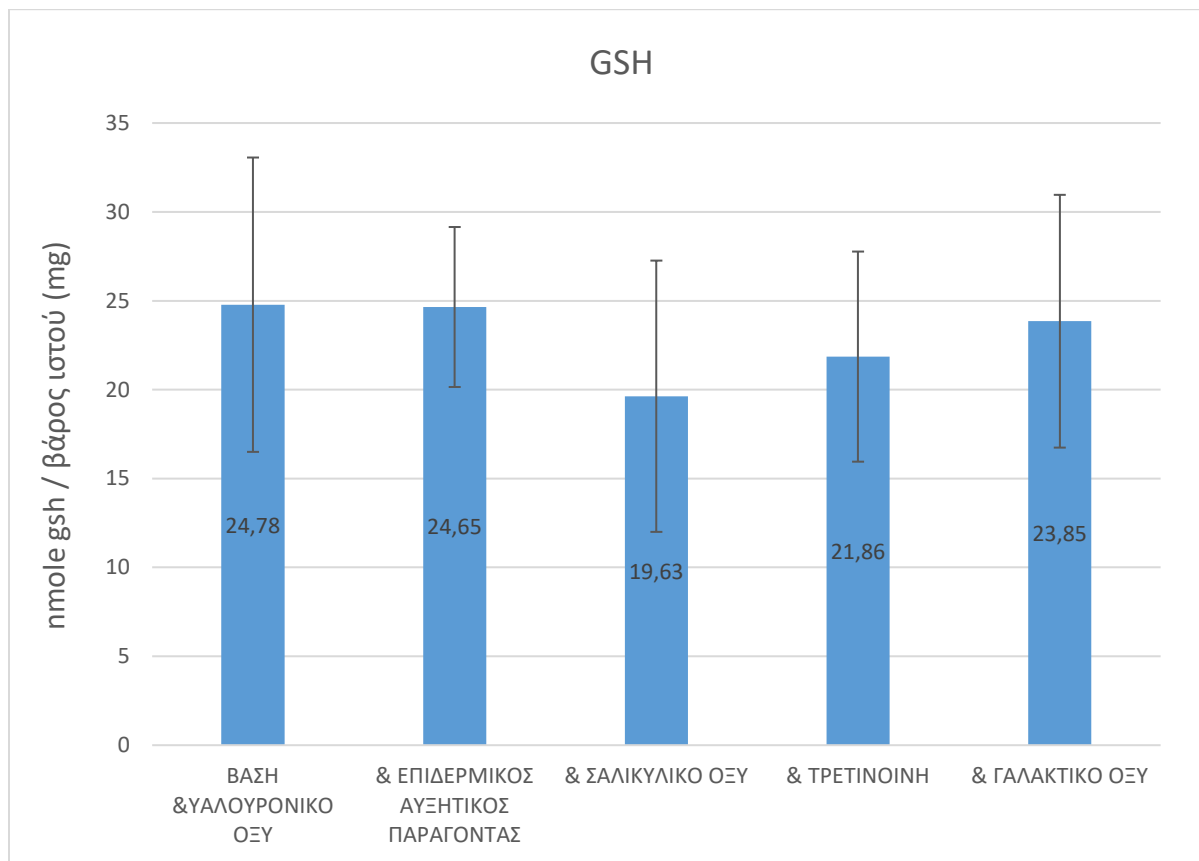
Πίνακας 9 : Αποτελέσματα συγκεντρώσεων ουρικού οξέος και γλουταθειόνης

	Uric acid	gsh
	<i>nmole uric / βάρος ιστού (mg)</i>	<i>nmole gsh / βάρος ιστού (mg)</i>
ΒΑΣΗ & ΥΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟ ΟΞΥ	18,47 ± 5,9	24,78 ± 8,28
& ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΟΣ ΑΥΞΗΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	17,89 ± 8,61	24,65 ± 4,5
& ΣΑΛΙΚΥΛΙΚΟ ΟΞΥ	15,27 ± 8,24	19,63 ± 7,63
& ΤΡΕΤΙΝΟΙΝΗ	23,44 ± 9,25	21,86 ± 5,91
& ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ	38,54 ± 12,17	23,85 ± 7,11

Με βάση τα δεδομένα του παραπάνω πίνακα κατασκευάζονται τα παρακάτω διαγράμματα, τα οποία απεικονίζουν τη συγκέντρωση κάθε αντιοξειδωτικού μορίου σε κάθε ομάδα.



Διάγραμμα 19: Συγκέντρωση ουρικού οξέος σε κάθε ομάδα



Διάγραμμα 20: Συγκέντρωση γλουταθειόνης σε κάθε ομάδα

Σε αντίθεση με τους ιστούς των δερμάτων μυών, στα stripping αυτών δεν ανιχνεύθηκε ασκορβικό οξύ, με εξαίρεση δύο stripping των δερμάτων των μυών ένα από την ομάδα που έγινε επάλειψη με επιδερμικό αυξητικό παράγοντα κι ένα από αυτήν με τρετινοΐνη. Στην πρώτη ομάδα $C_{\text{ascorbic acid}} = 0,0175 \text{ nmole/mg}$ και στη δεύτερη ομάδα $C_{\text{ascorbic acid}} = 6,4975 \text{ nmole/mg}$. Σχετικά με το ουρικό οξύ υψηλότερη συγκέντρωση παρουσίασε στην ομάδα που έγινε επάλειψη με γαλακτικό οξύ κι έπειτα σε αυτήν με τρετινοΐνη και χαμηλότερη στην ίδια ομάδα όπου έδωσε και στα δέρματα (σαλικυλικό οξύ). Η συγκέντρωση της γλουταθειόνης παραμένει σταθερή πρακτικά και στα stripping των δερμάτων, με ελαφρώς χαμηλότερη στην ομάδα που ακολούθησε θεραπεία με σκεύασμα σαλικυλικού οξέος.

Με εξαίρεση το ασκορβικό οξύ, παρατηρείται όπως είναι και αναμενόμενο η συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών να είναι υψηλότερη στην επιδερμίδα σε σχέση με τη δερμίδα. Πιο συγκεκριμένα η συγκέντρωση της γλουταθειόνης είναι έως και 20 φορές πιο υψηλή στην επιδερμίδα συγκριτικά με τη δερμίδα και του ουρικού οξέος περίπου δύο φορές πιο ψηλή.

4.Γ. Στατιστική Επεξεργασία

Τα παραπάνω αποτελέσματα επεξεργάστηκαν στατιστικά με τη στατιστική μέθοδο ANalysis Of VAriance – ANOVA, single factor, με την οποία η μεταβλητότητα που υπάρχει σ' ένα σύνολο δεδομένων διασπάται στις επιμέρους συνιστώσες της με στόχο την κατανόηση της σημαντικότητας των διαφορετικών πηγών προέλευσής της.

Για $p_{\text{value}} < 0,05 = p_{\text{critical}}$ συμπεραίνεται ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων μου και άρα αυτά προέρχονται από διαφορετικό πληθυσμό. Προκειμένου να βρεθεί η πηγή προέλευσης αυτής της διαφοράς εφαρμόζεται κριτήριο t-test για όλους τους δυνατούς συνδυασμούς μεταξύ των ομάδων για two tailed distribution και two sample unequal variance.

α) για τους ιστούς των δερμάτων

Όσον αφορά τα αποτελέσματα γλουταθειόνης αυτά δεν διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους καθώς η τιμή του συντελεστή p βρέθηκε ίση με 0,61.

Στατιστικά σημαντική διαφορά υπήρξε στα αποτελέσματα και ουρικού και ασκορβικού οξέος. Για το ασκορβικό οξύ $p = 0,037$ και για το ουρικό οξύ $p = 0,01$.

Σύμφωνα με το t-test στατιστικά σημαντική διαφορά όσον αφορά το ασκορβικό οξύ υπήρξε μεταξύ:

- i. της ομάδας που δέχθηκε επάλειψη με τα έκδοχα και της ομάδας που δέχθηκε επάλειψη με έκδοχα και σαλικυλικό οξύ ($p = 0,01$),
- ii. της ομάδας που δέχθηκε επάλειψη με τα έκδοχα και της ομάδας που δέχθηκε επάλειψη με έκδοχα και γαλακτικό οξύ ($p = 0,03$) και
- iii. της ομάδας που δέχθηκε επάλειψη με σαλικυλικό οξύ και της ομάδας που δέχθηκε επάλειψη με τρετινοΐνη ($p = 0,01$),

Όσον αφορά το ουρικό οξύ υπήρξε μεταξύ:

- i. της ομάδας που δέχθηκε επάλειψη με τα έκδοχα και της ομάδας που δέχθηκε επάλειψη με έκδοχα και σαλικυλικό οξύ ($p = 0,02$) και
- ii. της ομάδας που δέχθηκε επάλειψη με σαλικυλικό οξύ και αυτής που δέχθηκε επάλειψη με τρετινοΐνη ($p = 0,01$).

β) για τα stripping των δερμάτων

Όσον αφορά τα αποτελέσματα γλουταθειόνης όπως συνέβη και στους ιστούς των δερμάτων ούτε και στα stripping διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους καθώς η τιμή του συντελεστή p βρέθηκε ίση με 0,9.

Στατιστικά σημαντική διαφορά υπήρξε στα αποτελέσματα ουρικού οξέος, $p = 0,00001$. Σύμφωνα με το t-test στατιστικά σημαντική διαφορά όσον αφορά το ουρικό οξύ υπήρξε μεταξύ:

- i. της ομάδας που δέχθηκε επάλειψη με έκδοχα και της ομάδας που δέχθηκε επάλειψη με έκδοχα και γαλακτικό οξύ ($p = 0,0003$) και
- ii. της ομάδας που δέχθηκε επάλειψη με έκδοχα και επιδερμικό αυξητικό παράγοντα και της ομάδας που δέχθηκε επάλειψη με έκδοχα και γαλακτικό οξύ ($p = 0,000068$),
- iii. της ομάδας που δέχθηκε επάλειψη με έκδοχα και τρετινοΐνη και της ομάδας που δέχθηκε επάλειψη με έκδοχα και γαλακτικό οξύ ($p = 0,0007$) και
- iv. της ομάδας που δέχθηκε επάλειψη με έκδοχα και σαλικυλικό οξύ και της ομάδας που δέχθηκε επάλειψη με έκδοχα και γαλακτικό οξύ ($p = 0,0002$).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΜΕΛΕΤΗ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΜΕΛΙΣΣΟΚΟΜΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΚΑΙ ΠΑΡΑΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΗΛΙΑΚΟΥ ΕΓΚΑΥΜΑΤΟΣ 2^{ου} ΒΑΘΜΟΥ.

Τα εγκαύματα είναι ιστικές βλάβες (κακώσεις του δέρματος) που προκαλούνται από την εφαρμογή θερμότητας, χημικών ουσιών, ηλεκτρικού ρεύματος ή ακτινοβολίας στο σώμα (επίδραση υψηλής θερμοκρασίας, ανώτερης από αυτήν του σώματος). Η έκταση της βλάβης (βάθος του εγκαύματος) είναι αποτέλεσμα της έντασης της θερμότητας και της διάρκειας της έκθεσης.

Ανάλογα με το βάθος και την έκταση του εγκαύματος διακρίνονται σε:

1. Επιπολή (επιφανειακά) ή πρώτου βαθμού :

Η βλάβη εντοπίζεται στα επιφανειακότερα στρώματα της επιδερμίδας, δηλαδή στις επιπολείς στιβάδες του δέρματος (επιθήλιο). Εκδηλώνονται με σημεία ελαφράς φλεγμονής, λόγω της τοπικής αγγειοδιαστολής και χαρακτηρίζονται από ερυθρότητα, οίδημα της περιοχής και ευαισθησία. Είναι ιδιαίτερα επώδυνα και υποχωρούν αυτόματα σε 2-3 μέρες, οπότε παρατηρείται και απολέπιση (ξεφλούδισμα) του δέρματος. Συνήθως επουλώνονται μέσα σε 1-2 βδομάδες, με απόπτωση των εξωτερικών στιβάδων της επιδερμίδας και χωρίς ουλή.

2. Μερικού πάχους ή δευτέρου βαθμού:

Η βλάβη προσβάλλει το δέρμα βαθύτερα, επιθήλιο και μικρό ή μεγάλο μέρος του χορίου. Ο ερεθισμός των νευρικών απολήξεων δημιουργεί έντονο πόνο, ενώ ταυτόχρονα αναπτύσσεται υποδόριο οίδημα και σχηματίζονται φυσαλίδες που περιέχουν ορώδες υγρό. Το δέρμα μπορεί να είναι ροζ και υγρό ή μείγμα κόκκινου και λευκωπού. Η επούλωση αυτών των εγκαυμάτων απαιτεί δύο ή τρεις εβδομάδες, αν αντιμετωπιστούν σωστά και ο σχηματισμός ουλής εξαρτάται από το βάθος της δερματικής βλάβης.

3. Ολικού πάχους ή τρίτου βαθμού :

Η βλάβη αφορά όλο το πάχος του δέρματος (επιδερμίδα, χόριο και υποδόριος ιστός). Έχει καταργηθεί σχεδόν η αισθητικότητα (πόνος), λόγω καταστροφής των νευρικών απολήξεων και η εγκαυματική επιφάνεια παρουσιάζεται ξηρή, ωχρή ή ακόμα και απανθρακωμένη. Η επούλωση γίνεται με πολύ αργό ρυθμό, σχηματίζεται πάντα ουλή (σκληρή ρικνωτική) και μπορεί να απαιτηθεί η μεταμόσχευση δέρματος. Αν οι βλάβες επεκτείνονται στο υποδόριο και έχουν προσβληθεί υποκείμενοι ιστοί, όπως μύες, οστά και σπλάγχνα, αυτά τα εγκαύματα θεωρούνται πολύ σοβαρά ή τετάρτου βαθμού.

Ο εγκαυματίας εξ' αιτίας της καταστροφής του δέρματός του, εκτίθεται σε άμεσο κίνδυνο λόγω της μεγάλης απώλειας πλάσματος και της ελεύθερης εισόδου μικροβίων στον οργανισμό. [i]

Μέλισσα: ο ιπτάμενος θεραπευτής

Δικαίως η μέλισσα έχει χαρακτηριστεί ως ο ιπτάμενος θεραπευτής, καθώς τα προϊόντα των μελισσών προσφέρονται για τη θεραπεία περισσότερων από 500 συμπτωμάτων, ασθενειών ή συνδρόμων.

Το κερί βρήκε φαρμακευτική χρήση στη χρόνια μαστίτιδα, το έκζεμα, την επούλωση εγκαυμάτων, πληγών και ελκών, τη δερματίτιδα, την θυλακίτιδα, τα σπυριά του δέρματος, την τερηδόνα και την ουλίτιδα. Επίσης, χρησιμοποιείται στη θεραπεία της αρθρίτιδας, στις ωτίτιδες, στις φλεγμονές τις ρινικής περιοχής στις δερματοπάθειες και το βρογχικό άσθμα. Φαίνεται επίσης να έχει ισχυρές αντιμικροβιακές ιδιότητες κατά ορισμένων βακτηριδίων, όπως η σαλμονέλα. Στην κοσμητολογία χρησιμοποιείται μέσα σε κρέμες προσώπου, αλοιφές και lip balm, καθώς βοηθάει στη φροντίδα του ταλαιπωρημένου από τον ήλιο, τη σκόνη και τη ρύπανση δέρματος, προστατεύοντάς το από την πρόωγη γήρανση. Έχει αντισηπτικές, αντιφλεγμονώδεις, μαλακτικές και επουλωτικές ιδιότητες και βοηθά το δέρμα να αποκτήσει απαλή και ελαστική δομή. [j,k]

Ο βασιλικός πολτός είναι πλούσια πηγή πρωτεϊνών, αμινοξέων, λιπιδίων, βιταμινών και μεταλλικών στοιχείων. Αυτό που δίνει εκπληκτικές ιδιότητες στο βασιλικό πολτό είναι η αφθονία σε βιταμίνες του συμπλέγματος Β που είναι καθοριστικό για την καλή λειτουργία όχι μόνο του νευρικού μας συστήματος αλλά και ολόκληρου του οργανισμού. Σε μικρότερες ποσότητες περιέχονται οι βιταμίνες C, D, A, E. Τα κυριότερα μεταλλικά στοιχεία που περιέχει είναι K, Ca, Na, Zn, Fe, Cu και Mn. Βοηθάει στο καρδιαγγειακό, κυκλοφορικό, ουρητικό και νευρικό σύστημα. Είναι πολύ ευεργετικός σε δερματολογικά προβλήματα, επουλώνει τις ιστικές καταστροφές, έχει αντιμικροβιακή δράση, συμβάλλει στην ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος και δρα κατά φλεγμονών, ελκών και εκζεμάτων. Μελέτες δείχνουν ότι ο βασιλικός πολτός αυξάνει την περιεκτικότητα υγρασίας στο δέρμα, ενισχύοντας την ενυδάτωσή του.

Εργαστηριακές και κλινικές έρευνες σε όλο τον κόσμο έχουν δείξει ότι ο βασιλικός πολτός έχει θετικά αποτελέσματα στην καταπολέμηση των παρακάτω παθήσεων και παθολογικών καταστάσεων: δερματικές παθήσεις, στομαχικές διαταραχές, σάκχαρο, κλιμακτήριος, αϋπνίες, σεξουαλικά προβλήματα, οφθαλμολογικές παθήσεις, καρδιαγγειακές παθήσεις, καθυστέρηση ανάπτυξης, υπερκόπωση, δυσκοιλιότητα, ουρολοιμώξεις, αιμορροΐδες, αρτηριακή πίεση, αρτηριοσκλήρωση, αρθριτικά, ρευματισμούς και νευρασθένειες. [l]

Η ισχυρή αντιοξειδωτική ικανότητα του βασιλικού πολτού είναι από τα βασικότερα γνωρίσματά του. Διαθέτοντας πολλά αντιοξειδωτικά συστατικά μπορεί να συμβάλλει στη μείωση της δράσης των ελευθέρων ριζών που δημιουργούν σειρά προβλημάτων στον οργανισμό, όπως οι μεταβολές στις μεμβράνες των κυττάρων. Μία επιπλέον ιδιότητα του βασιλικού πολτού είναι η ενίσχυση του ανοσοποιητικού καθώς βοηθά στη ρύθμισή του, ενώ συνδράμει στην άμυνα απέναντι στις επιθέσεις από εξωτερικούς

μικροοργανισμούς, καθώς και από τις επιθέσεις που κάνει ο οργανισμός σε κύτταρα του ίδιου. [m,n]

Αξιολογήθηκε η δράση των προϊόντων και παραπροϊόντων της μέλισσας στις διαφορετικές φάσεις του εγκαύματος και στην επούλωση αυτού, μελετώντας την επίδραση τους στην αντιοξειδωτική κατάσταση των δερμάτων μυών. Τα προϊόντα θα δοκιμαστούν ως έχουν, χωρίς καμία επεξεργασία ή προσθήκη εκδόχων για την μορφοποίηση τους (με σκοπό τον περιορισμό των επιπλέον μεταβλητών) με τη χρήση επιδέσμων.

5.A. Πειραματική διαδικασία

Χρησιμοποιήθηκαν 26 άτριχοι θηλυκοί μύες τύπου SKH-1 και ηλικίας 8-10 εβδομάδων. Τα πειραματόζωα φυλάσσονταν κατά μικρές ομάδες, λάμβαναν ελεύθερα τροφή και νερό και υπήρξε ειδική μέριμνα για τις συνθήκες καθαριότητας. Στον χώρο υπήρχαν ελεγχόμενες συνθήκες φωτός, θερμοκρασίας και υγρασίας, σύμφωνα με τις ανάγκες των πειραματόζωων. Το κάτω μέρος της ράχης των μυών σε κυκλικό σχήμα με διάμετρο 2cm (εμβαδό 3,14 cm²) ακτινοβολήθηκε άπαξ με υπεριώδη ακτινοβολία ισχύος στη UVA περιοχή του φάσματος ίση με 6 mW/cm² και στη UVB φάσματος ίση με 6 mW/cm² με σκοπό την πρόκληση ερυθρήματος και φλεγμονής. Ο χρόνος ακτινοβολήσης ήταν ίσος με 17,5 sec, έτσι ώστε τελικά η συνολική ενέργεια που θα δεχθεί κάθε μυς να είναι ίση με 3,5 μέσες ερυθματώδεις δόσεις (3,5 MED). Η υπεριώδης ακτινοβολία επιφέρει δερματική αλλοίωση για την αντιμετώπιση της οποίας δε χρειάζεται χορήγηση αναλγητικών ή άλλων σκευασμάτων πλην του μελετηθέντος. Αμέσως μετά την ακτινοβολήση οι μύες χωρίστηκαν σε 4 ομάδες (6 μύες η καθεμία):

1. Ομάδα μαρτύρων, με καθαρή γάζα
2. Ομάδα με το βασιλικό πολτό
3. Ομάδα με τον κηρό
4. Ομάδα με τα κουκούλια

Στις 4 ομάδες των μυών, αμέσως μετά την ακτινοβολήση πραγματοποιήθηκε καθημερινή αλλαγή επιδέσμων για το χρονικό διάστημα των 14 ημερών, το οποίο ήταν η περίοδος επούλωσης. Για την ομάδα των μαρτύρων πάνω στον επίδεσμο είναι τοποθετημένη καθαρή γάζα, για την ομάδα του κηρού είναι μία λεπτή στρώση κηρού, για την ομάδα με το βασιλικό πολτό είναι τοποθετημένη μία γάζα εμποτισμένη με το προϊόν και για την ομάδα με τα κουκούλια είναι τοποθετημένη μία στρώση από κουκούλια.

Μετά το πέρας του πειράματος οι μύες θυσιάζονται και λαμβάνεται από κάθε μυ ιστός δέρματος ίσος με 2-20 mg από την ακτινοβολημένη περιοχή. Ακολουθεί επεξεργασία των δερμάτων με την προαναφερθέντα διαδικασία και ανάλυση αυτών με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης συνδεδεμένη με ηλεκτροχημικό ανιχνευτή.

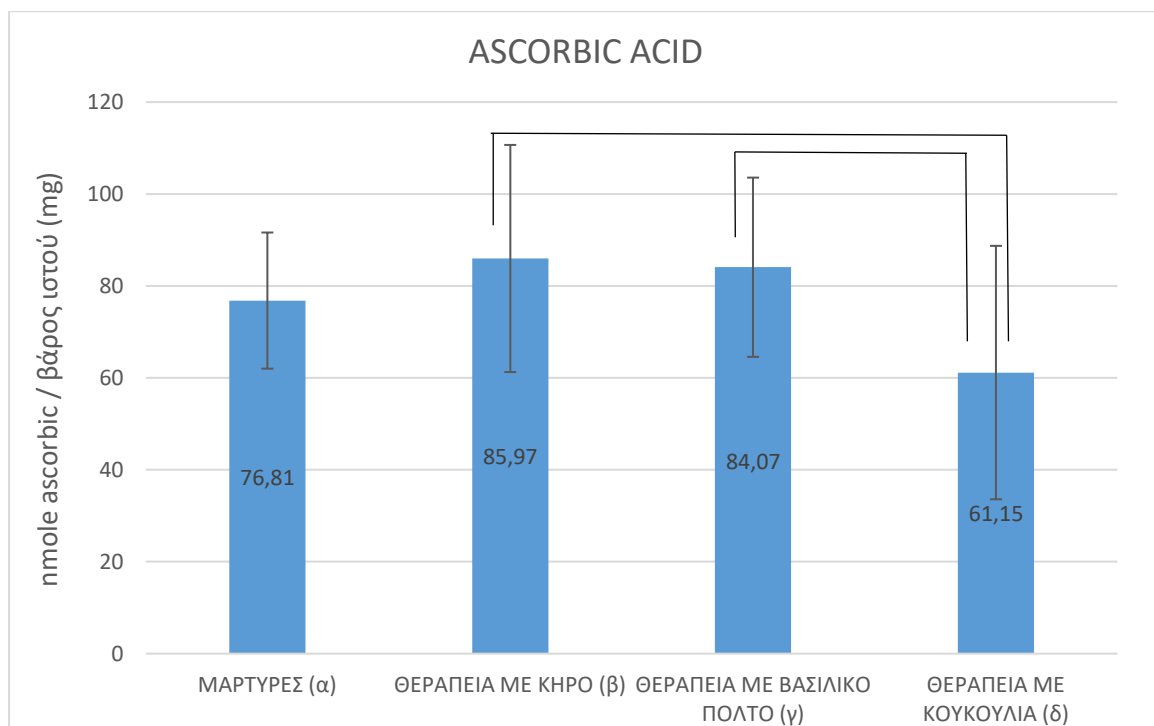
5.B. Αποτελέσματα- Συζήτηση αποτελεσμάτων

Μετά την επεξεργασία των δειγμάτων το περιεχόμενο φυλάσσεται σε πάγο, προστατευμένο από το φως και ακολουθεί ένεση στην HPLC. Από τα χρωματογραφήματα που λήφθηκαν μπορούν να προσδιοριστούν οι συγκεντρώσεις των αντιοξειδωτικών μορίων που μελετώνται στους ιστούς με σύγκριση των ενδείξεων των κορυφών των χρωματογραφημάτων τους και αυτών των πρότυπων δειγμάτων των αντιοξειδωτικών ουσιών γνωστών συγκεντρώσεων, μέσω των πρότυπων καμπυλών αναφοράς. Προκύπτουν έτσι τα παρακάτω αποτελέσματα:

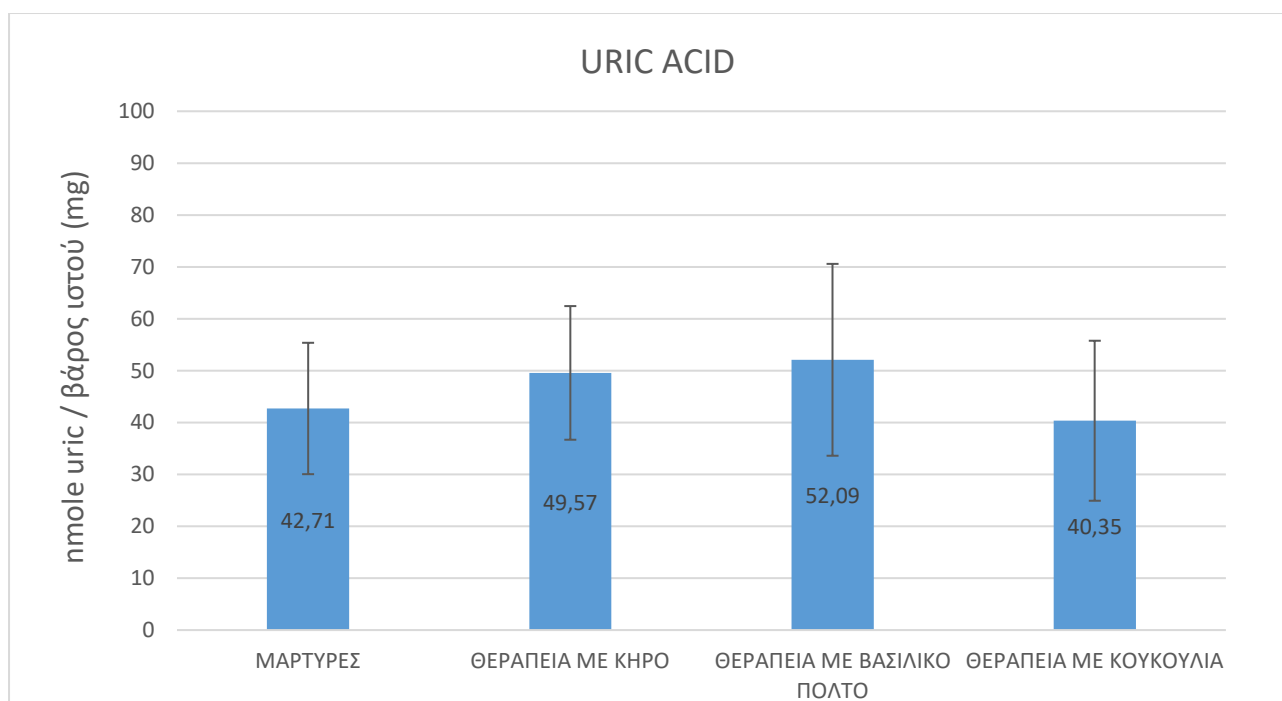
Πίνακας 10: Αποτελέσματα συγκεντρώσεων ασκορβικού, ουρικού οξέος και γλουταθειόνης

	Ascorbic acid	Uric acid	gsh
	nmole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)
ΜΑΡΤΥΡΕΣ (α)	76,81 ± 14,81	42,71 ± 12,66	1,08 ± 0,09
ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΚΗΡΟ (β)	85,97 ± 24,71	49,57 ± 12,88	1,25 ± 0,23
ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΒΑΣΙΛΙΚΟ ΠΟΛΤΟ (γ)	84,07 ± 19,5	52,09 ± 18,49	1,18 ± 0,13
ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΚΟΥΚΟΥΛΙΑ (δ)	61,15 ± 27,57	40,35 ± 15,42	0,97 ± 0,12

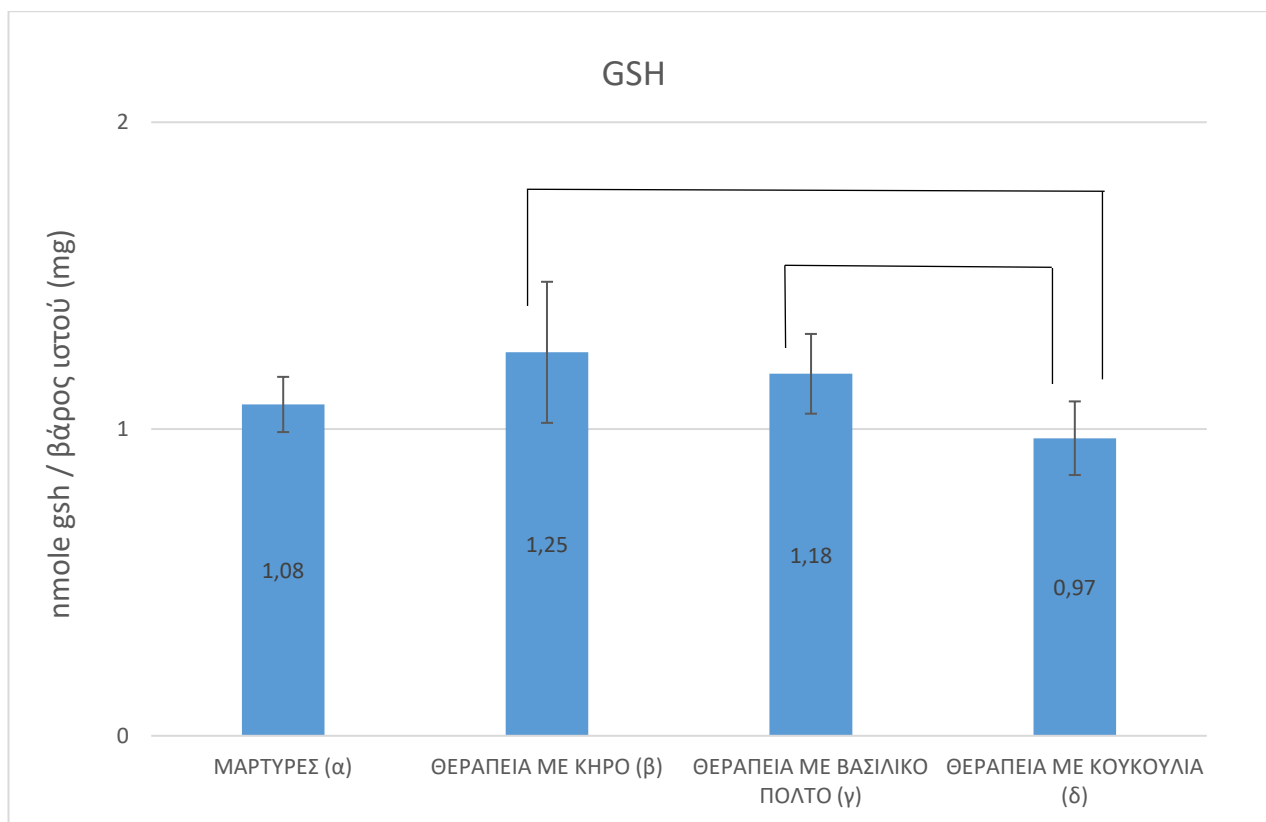
Με βάση τα δεδομένα του παραπάνω πίνακα κατασκευάζονται τα κάτωθι διαγράμματα, τα οποία απεικονίζουν τη συγκέντρωση κάθε αντιοξειδωτικού μορίου τόσο στην ομάδα μαρτύρων όσο και στις υπόλοιπες ομάδες που δέχονταν επάλειψη.



Διάγραμμα 21: Συγκέντρωση ασκορβικού οξέος σε κάθε ομάδα



Διάγραμμα 22: Συγκέντρωση ουρικού οξέος σε κάθε ομάδα



Διάγραμμα 23: Συγκέντρωση γλουταθειόνης σε κάθε ομάδα

Όπως προαναφέρθηκε τα προϊόντα μέλισσας μπορούν να δράσουν ως επουλωτικοί παράγοντες έναντι εκζεμάτων αλλά και άλλων δερματικών παθήσεων ενισχύοντας έτσι και την αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού. Συγκεκριμένα ο βασιλικός πολτός διαθέτει πολλά αντιοξειδωτικά συστατικά και μπορεί έτσι να συμβάλλει στη μείωση της δράσης των ελευθέρων ριζών που δημιουργούν σειρά προβλημάτων στον οργανισμό, στην αναγέννηση των κατεστραμμένων κυττάρων και βοηθά τοπικά στην αντισηψία και ανάπλαση. Επομένως αναμένεται η συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών να είναι υψηλότερη στις ομάδες που έγινε επάλειψη με προϊόντα μελισσών σε σχέση με την ομάδα των μαρτύρων. Από τα παραπάνω διαγράμματα συνάγεται το συμπέρασμα ότι ο βασιλικός πολτός και στη συνέχεια ο κηρός μελισσών έδωσαν τις καλύτερες τιμές συγκεντρώσεων και για τα τρία αντιοξειδωτικά μόρια που μελετώνται, με μικρές αποκλίσεις το ένα προϊόν από το άλλο. Το αντιοξειδωτικό status όμως της ομάδας που δέχθηκε επάλειψη με κουκούλια ήταν αρκετά χαμηλό σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ομάδες.

5.Γ. Στατιστική Επεξεργασία

Τα παραπάνω αποτελέσματα επεξεργάστηκαν στατιστικά με τη στατιστική μέθοδο ANalysis Of VAriance – ANOVA, single factor, με την οποία η μεταβλητότητα που υπάρχει σ' ένα σύνολο δεδομένων διασπάται στις επιμέρους συνιστώσες της με στόχο την κατανόηση της σημαντικότητας των διαφορετικών πηγών προέλευσής της.

Για $p_{\text{value}} < 0,05 = p_{\text{critical}}$ συμπεραίνεται ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων μου και άρα αυτά προέρχονται από διαφορετικό

πληθυσμό. Προκειμένου να βρεθεί η πηγή προέλευσης αυτής της διαφοράς εφαρμόζεται κριτήριο t-test για όλους τους δυνατούς συνδυασμούς μεταξύ των ομάδων για two tailed distribution και two sample unequal variance.

Όσον αφορά τα αποτελέσματα ουρικού οξέος αυτά δεν διέφεραν στατιστικά μεταξύ τους καθώς η τιμή του συντελεστή p βρέθηκε ίση με 0,41.

Στατιστικά σημαντική διαφορά υπήρξε στα αποτελέσματα ασκορβικού οξέος και γλουταθειόνης, $p = 0,04$ και $p = 0,029$ αντίστοιχα. Σύμφωνα με το t-test στατιστικά σημαντική διαφορά όσον αφορά το ασκορβικό οξύ υπήρξε μεταξύ των ομάδων που δέχθηκαν επάλειψη με κηρό και κουκούλια ($p = 0,03$) και μεταξύ των ομάδων που δέχθηκαν επάλειψη με βασιλικό ποτό και κουκούλια ($p = 0,04$). Όσον αφορά τη γλουταθειόνη υπήρξε μεταξύ των ομάδων που δέχθηκαν επάλειψη με κηρό και κουκούλια ($p = 0,02$) και μεταξύ των ομάδων που δέχθηκαν επάλειψη με βασιλικό ποτό και κουκούλια ($p = 0,03$).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟ ΚΑΙ ΔΙΑΒΗΤΙΚΟ ΔΕΡΜΑ

Ο διαβήτης επηρεάζει κάθε μέρος του σώματος, συμπεριλαμβανομένου και του δέρματος. Ένα ποσοστό της τάξεως του 33% των ατόμων με διαβήτη εμφανίζουν μια διαταραχή του δέρματος που προκαλείται ή επηρεάζεται από το διαβήτη κάποια στιγμή στη ζωή τους. Τα δερματικά σημάδια του σακχαρώδους διαβήτη συνήθως εμφανίζονται αφού η πρωτοπαθής νόσος έχει αναπτυχθεί, αλλά μπορεί να εμφανιστούν ταυτόχρονα με την έναρξή του, ή ακόμα και να προηγηθούν αυτού μέχρι και πολλά έτη. Αν και οι μηχανισμοί προκλήσεως των σχετιζόμενων με το Σακχαρώδη Διαβήτη (Σ.Δ) δερματοπαθειών είναι σχεδόν άγνωστοι, φαίνεται ότι η παθογένεση σχετίζεται με την υπεργλυκαιμία και τη σχετική ή πλήρη ανεπάρκεια ινσουλίνης άμεσα ή μέσω βλάβης των αγγείων και του νευρικού και ανοσολογικού συστήματος. Η υπεργλυκαιμία προκαλεί μη ενζυματική γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών και του κολλαγόνου και σχηματισμό μη διασπώμενων τελικών προϊόντων γλυκοζυλίωσης. Τα προϊόντα αυτά είναι υπεύθυνα για την ελάττωση της διαλυτότητας στα οξέα καθώς και την ελάττωση της ενζυματικής πέψεως του κολλαγόνου του δέρματος. Η πάχυνση του δέρματος και η περιορισμένη κινητικότητα των αρθρώσεων στους διαβητικούς οφείλονται στη συσσώρευση τελικών προϊόντων γλυκοζυλίωσης. Μικροαγγειακές διαταραχές περιλαμβάνουν την αύξηση της διαβατότητας του τοιχώματος των αγγείων, την μειωμένη απάντηση των αγγείων στη συμπαθητική νεύρωση, καθώς και τη μειωμένη απάντηση στο stress από υποξαιμία και θερμικά ερεθίσματα. Από κοινού με την αρτηριοσκλήρυνση των μεγάλων αγγείων η μικροαγγειοπάθεια συμβάλλει στη δημιουργία των διαβητικών ελκών. Η απώλεια της αισθητικής νευρώσεως του δέρματος στο Σ.Δ. καθιστά επιρρεπείς τους ασθενείς αυτούς σε τραυματισμούς, λοιμώξεις, ελκώσεις των κάτω άκρων, οι οποίες δύσκολα επουλώνονται και μερικές φορές καθιστούν αναγκαίο τον ακρωτηριασμό του άκρου. Η υπεργλυκαιμία και η κετοξέωση ελαττώνουν τη χημειοταξία, την ικανότητα φαγοκυτταρώσεως και τη βακτηριοκτόνο ικανότητα των λευκών αιμοσφαιρίων. [128,129,130]

Οι δερματικές εκδηλώσεις του διαβήτη ταξινομούνται σε τέσσερις κατηγορίες:

1. Δερματικές βλάβες με ισχυρή ως αδύνατη συσχέτιση με τον διαβήτη (λιποειδική νεκροβίωση, διαβητική δερματοπάθεια, διαβητικές πομφόλυγες, κίτρινο δέρμα, εξανθηματικά ξανθώματα, διατρητικές διαταραχές, μελανίζουσα ακάνθωση, πάχυνση του δέρματος, ξηροδερμία, ομαλός λειχήνας κ.ά.),
2. Δερματικές λοιμώξεις (βακτηριακές, μυκητιασικές),
3. Δερματικές εκδηλώσεις των διαβητικών επιπλοκών (όπως νευροπαθητικά έλκη των ποδιών, διαβητικός γευστικός ιδρώτας), και
4. Δερματικές αντιδράσεις στην θεραπεία του διαβήτη (ινσουλίνη ή από του στόματος αντιδιαβητικοί παράγοντες). [128,129,130,ο]

➤ Σχέση οξειδωτικού στρες και διαβήτη

Αυξανόμενα στοιχεία σε πειραματικές και κλινικές μελέτες δείχνουν ότι υπάρχει στενή σχέση μεταξύ της υπεργλυκαιμίας, του οξειδωτικού στρες και των διαβητικών επιπλοκών. Και στους δύο τύπους διαβήτη, οι διαβητικές επιπλοκές στα όργανα-στόχους προέρχονται από χρόνιες αυξήσεις της γλυκόζης. Υψηλά επίπεδα γλυκόζης στο αίμα καθορίζουν την υπερπαραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) από την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων των μιτοχονδρίων. Η παθογόνος επίδραση της υψηλής γλυκόζης, ενδεχομένως σε συνδυασμό με τα λιπαρά οξέα, μεσολαβείται σε σημαντικό βαθμό από την αυξημένη παραγωγή των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) και των δραστικών μορφών αζώτου (RNS) και το επακόλουθο οξειδωτικό στρες. Οι ROS και RNS οξειδώνουν άμεσα και βλάπτουν το DNA, τις πρωτεΐνες και τα λιπίδια και οδηγούν ακόμη και σε αυξημένη αντίσταση στην ινσουλίνη. Εκτός από την ικανότητά τους να προκαλούν άμεση βλάβη στα μακρομόρια, οι ROS και RNS προκαλούν έμμεσα βλάβη τους ιστούς, ενεργοποιώντας μια σειρά οδών ευαίσθητων στο κυτταρικό στρες. Αυτά τα μονοπάτια περιλαμβάνουν τον πυρηνικό παράγοντα NF-Κβ, την μιτογονο-ενεργοποιημένη πρωτεϊνική κινάση p38, τις NH₂-τερματικές κινάσες Jun / τις ενεργοποιούμενες από το στρες πρωτεϊνικές κινάσες, τις εξοζαμίνες, και άλλα. Επιπλέον, υπάρχουν ενδείξεις ότι στο διαβήτη τύπου 2, η ενεργοποίηση των ίδιων οδών με την αύξηση των επιπέδων της γλυκόζης και των ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFA) οδηγεί τόσο στην αντίσταση στην ινσουλίνη όσο και στη μειωμένη έκκριση ινσουλίνης. Ως εκ τούτου, συμπεραίνουμε εδώ ότι η ενεργοποίηση των 30 οδών του στρες που προκαλείται από την υπεργλυκαιμία και ενδεχομένως από τα ελεύθερα λιπαρά οξέα, παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη όχι μόνο των μεταγενέστερων επιπλοκών στους τύπου 1 και τύπου 2 διαβήτη, αλλά και στην αντίσταση στην ινσουλίνη και στη μειωμένη έκκριση ινσουλίνης στο διαβήτη τύπου 2. Υπάρχει ανάγκη να διερευνηθεί η σχέση μεταξύ των ελεύθερων ριζών, του διαβήτη και των επιπλοκών του και να φωτιστούν οι μηχανισμοί, με τους οποίους το αυξημένο οξειδωτικό στρες επιταχύνει την ανάπτυξη των διαβητικών επιπλοκών, σε μια προσπάθεια να επεκταθούν οι επιλογές θεραπείας. [131,132,133]

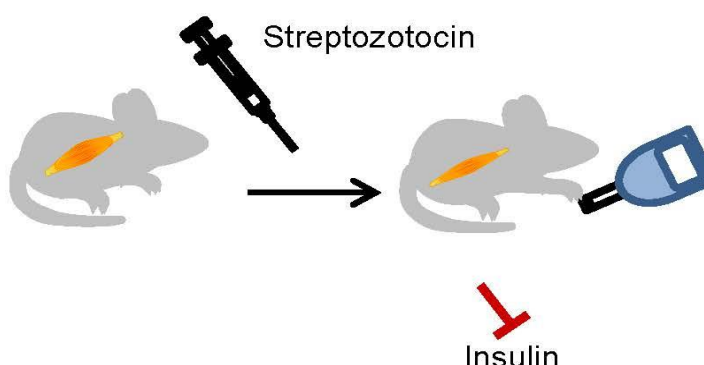
Αξιολογήθηκε η επίδραση της υπερϊώδους ακτινοβολίας σε φυσιολογικό και διαβητικό δέρμα μετά από 3 και 5 μήνες ακτινοβολήσης σε σχέση με την αντιοξειδωτική κατάσταση, η οποία θα προσδιοριστεί σε stripping δερμάτων μυών.

6.A. Πειραματική διαδικασία

Χρησιμοποιήθηκαν 28 αρσενικοί άτριχοι μύες, τύπου SKH – hr2 ηλικίας 2 έως 3 μηνών. Μετά από επτάήμερο εγκλιματισμό των πειραματόζωων στο χώρο πειραματισμού τα πειραματόζωα χωρίζονται σε 4 ομάδες:

- Φυσιολογικοί-Μάρτυρες,
- Φυσιολογικοί που θα ακτινοβοληθούν,
- Διαβητικοί με δόση 30 mg/kg στρεπτοζοτοκίνης και
- Διαβητικοί με δόση 30 mg/kg στρεπτοζοτοκίνης που θα ακτινοβοληθούν.

Προκλήθηκε ‘ήπιος’ διαβήτης (σε φυσιολογικούς αρχικά μύες) μετά από ενέσεις στρεπτοζοτοκίνης, δόσης 30 mg/kg, για 5 συνεχόμενες ημέρες.



Εικόνα 24: Πρόκληση διαβήτη σε φυσιολογικό δέρμα

Η ακτινοβολήση των δύο ομάδων γινόταν 3 φορές την εβδομάδα με αυξανόμενη δόση ακτινοβολίας έτσι ώστε η τελική δόση της ακτινοβολίας να είναι ίση με 3,5 ερυθματώδεις δόσεις (MED).

Μετά από 3 και 5 μήνες ακτινοβολήσης εφαρμόστηκαν δύο scotch με τρεις πιέσεις το καθένα στο σημείο ακτινοβολήσης των μυών, η αφαίρεση των οποίων έγινε με μία και γρήγορη κίνηση (stripping δέρματος). Ακολουθεί επεξεργασία των stripping των δερμάτων με τις προαναφερθέντες διαδικασίες και ανάλυση αυτών με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης συνδεδεμένη με ηλεκτροχημικό ανιχνευτή.

6.B. Αποτελέσματα- Συζήτηση αποτελεσμάτων

Μετά την επεξεργασία των δειγμάτων το περιεχόμενο φυλάσσεται σε πάγο, προστατευμένο από το φως και ακολουθεί ένεση στην HPLC. Από τα χρωματογραφήματα που λήφθηκαν μπορούν να προσδιοριστούν οι συγκεντρώσεις των αντιοξειδωτικών μορίων που μελετώνται στην επιφάνεια της κεράτινης στοιβάδας (strippings) με σύγκριση των ενδείξεων των κορυφών των χρωματογραφημάτων τους και αυτών των πρότυπων δειγμάτων των αντιοξειδωτικών ουσιών γνωστών συγκεντρώσεων, μέσω των πρότυπων καμπυλών αναφοράς.

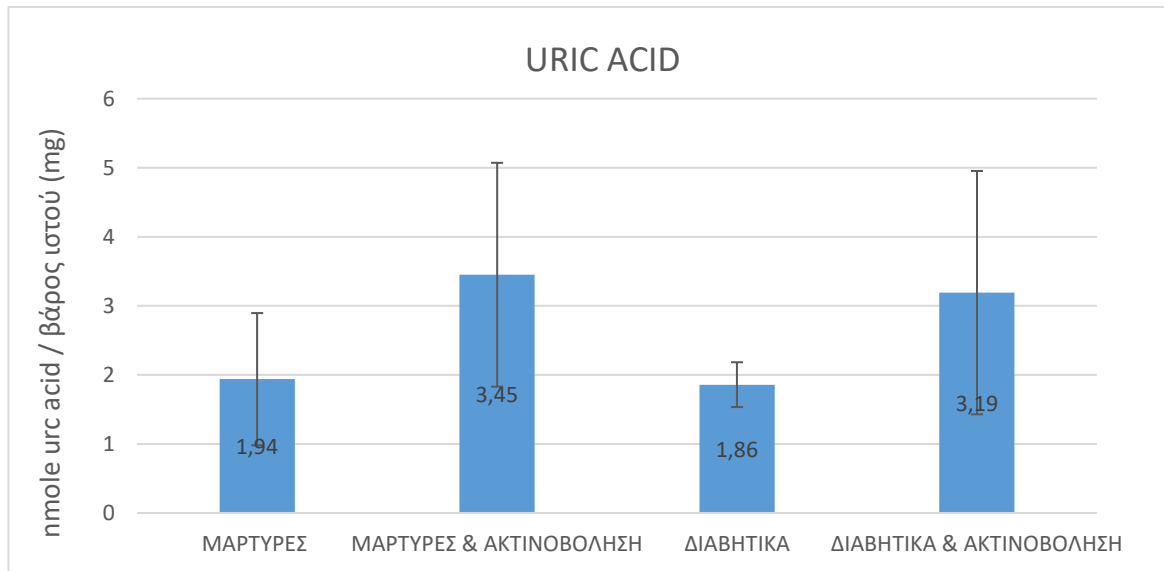
Προκύπτουν έτσι τα παρακάτω αποτελέσματα μετά από 3 και 5 μήνες ακτινοβολήσης:

Πίνακας 11: Αποτελέσματα συγκεντρώσεων ουρικού οξέος και γλουταθειόνης μετά από 3 μήνες ακτινοβολήσης σε φυσιολογικό και διαβητικό δέρμα

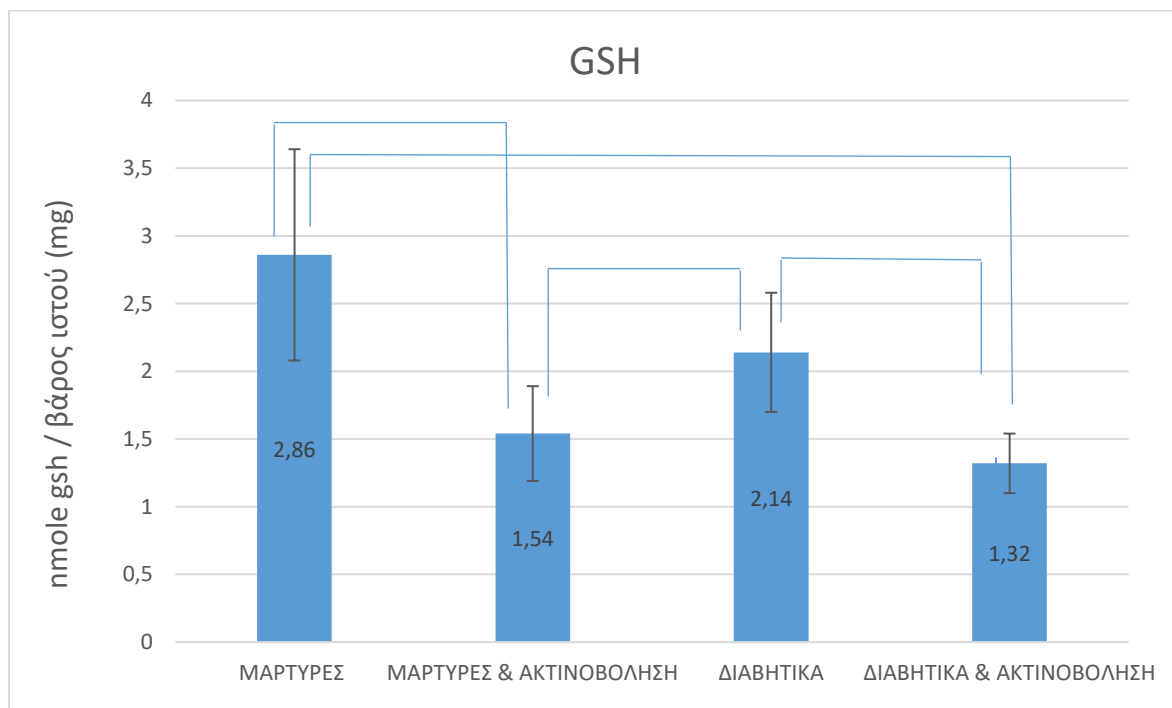
	Uric acid	gsh
	<i>nmole uric / βάρος ιστού (mg)</i>	<i>nmole gsh / βάρος ιστού (mg)</i>
ΜΑΡΤΥΡΕΣ	1,94 ± 0,96	2,86 ± 0,78

ΜΑΡΤΥΡΕΣ & ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΣΗ	3,45 ± 1,62	1,54 ± 0,35
ΔΙΑΒΗΤΙΚΑ	1,86 ± 0,32	2,14 ± 0,44
ΔΙΑΒΗΤΙΚΑ & ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΣΗ	3,19 ± 1,76	1,32 ± 0,22

Με βάση τα δεδομένα του πίνακα 11 κατασκευάζονται τα αντίστοιχα διαγράμματα, τα οποία απεικονίζουν τη συγκέντρωση κάθε αντιοξειδωτικού μορίου σε κάθε ομάδα.



Διάγραμμα 24: Συγκέντρωση ουρικού οξέος σε φυσιολογικό και διαβητικό δέρμα (μετά από 3 μήνες ακτινοβολήσης)

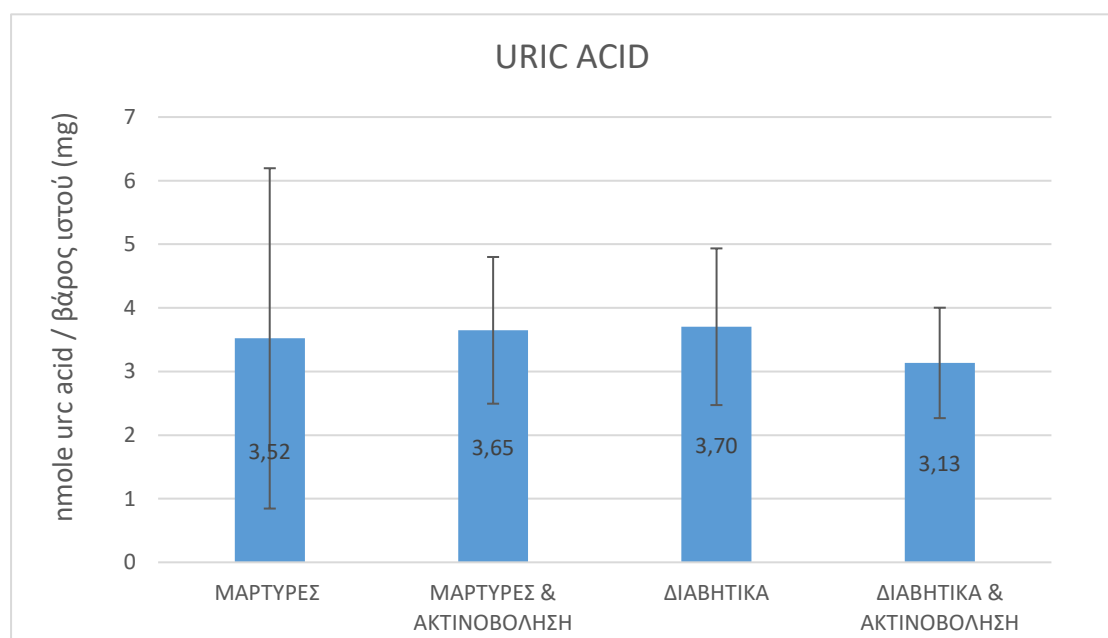


Διάγραμμα 25: Συγκέντρωση γλουταθειόνης σε φυσιολογικό και διαβητικό δέρμα (μετά από 3 μήνες ακτινοβολήσης)

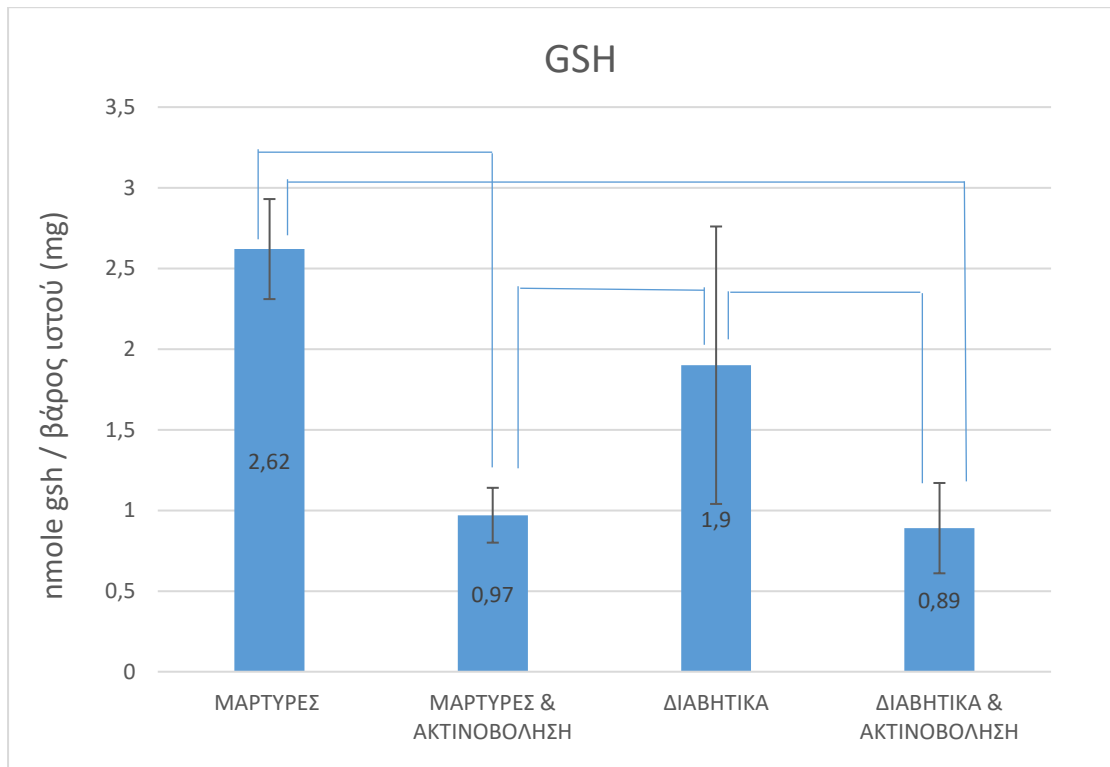
Πίνακας 12: Αποτελέσματα συγκεντρώσεων ουρικού οξέος και γλουταθειόνης μετά από 5 μήνες ακτινοβολήσης σε φυσιολογικό και διαβητικό δέρμα

	Uric acid	gsh
	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)
MARTYΡΕΣ	3,52 ± 2,68	2,62 ± 0,31
MARTYΡΕΣ & ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΣΗ	3,65 ± 1,15	0,97 ± 0,17
ΔΙΑΒΗΤΙΚΑ	3,70 ± 1,23	1,9 ± 0,86
ΔΙΑΒΗΤΙΚΑ & ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΣΗ	3,13 ± 0,87	0,89 ± 0,28

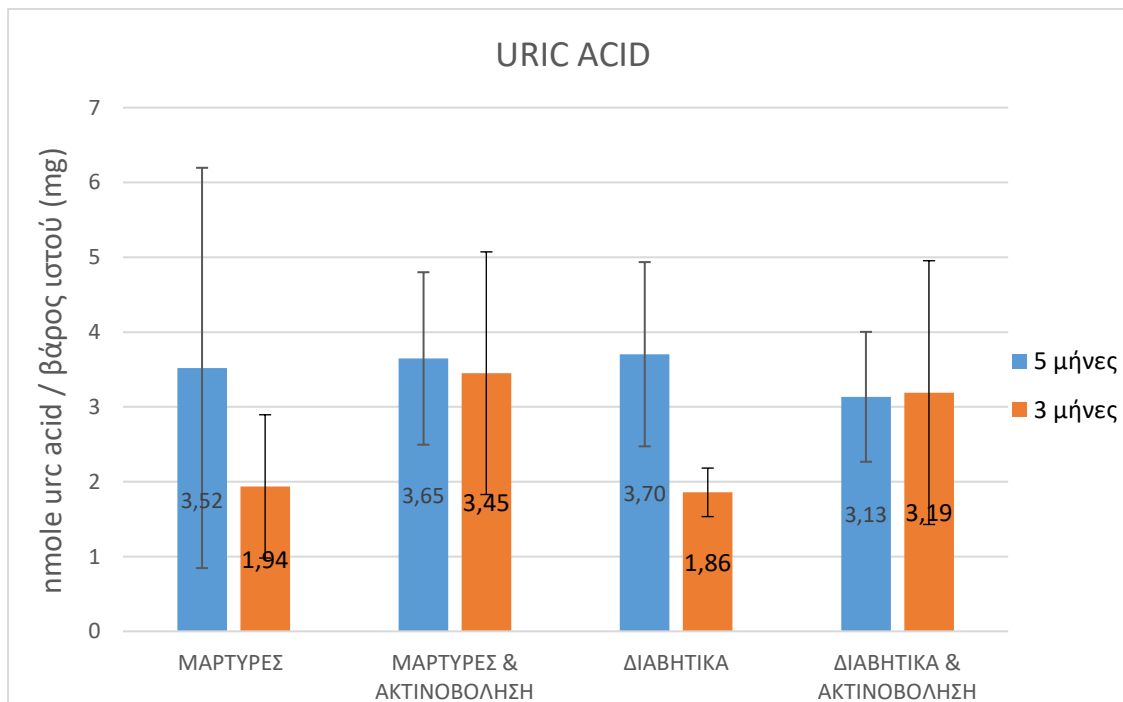
Με βάση τα δεδομένα του πίνακα 12 κατασκευάζονται τα παρακάτω διαγράμματα, τα οποία απεικονίζουν τη συγκέντρωση κάθε αντιοξειδωτικού μορίου σε κάθε ομάδα.



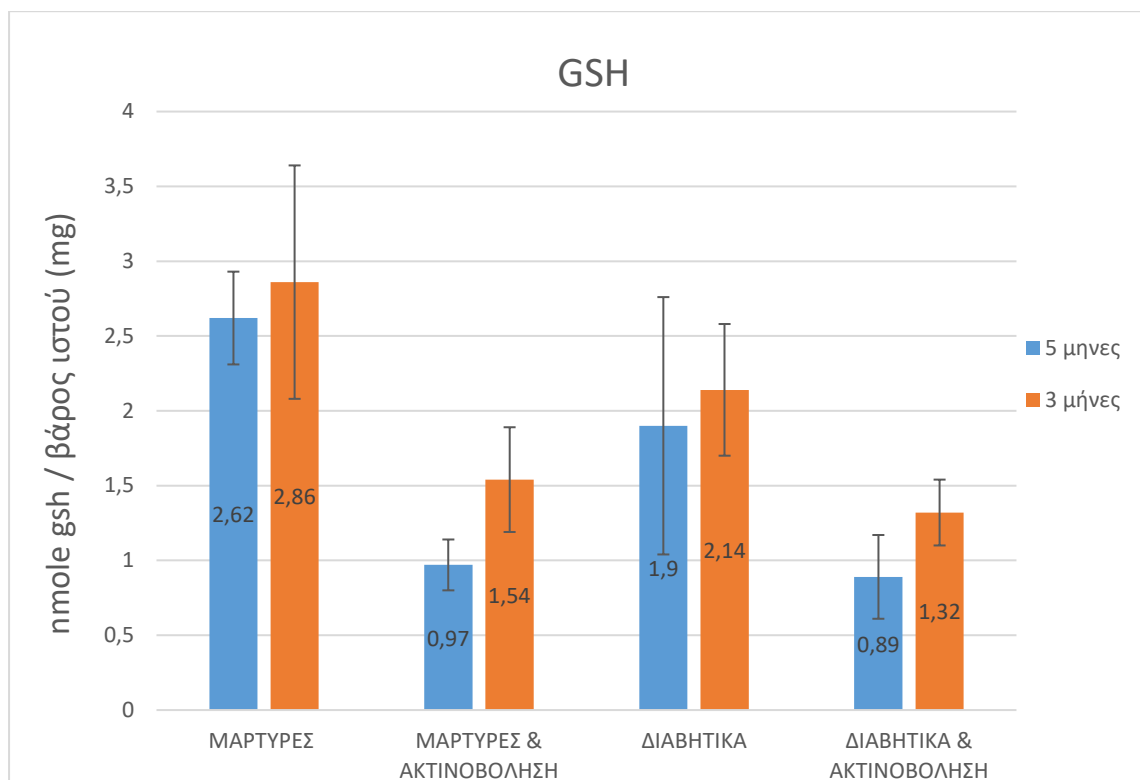
Διάγραμμα 26: Συγκέντρωση ουρικού οξέος σε φυσιολογικό και διαβητικό δέρμα (μετά από 5 μήνες ακτινοβολήσης)



Διάγραμμα 27: Συγκέντρωση γλουταθειόνης σε φυσιολογικό και διαβητικό δέρμα (μετά από 5 μήνες ακτινοβολήσης)



Διάγραμμα 28: Σύγκριση της συγκέντρωσης ουρικού οξέος σε φυσιολογικό και διαβητικό δέρμα (μετά από 3 και 5 μήνες ακτινοβολήσης)



Διάγραμμα 29: Σύγκριση της συγκέντρωσης γλουταθειόνης σε φυσιολογικό και διαβητικό δέρμα (μετά από 3 και 5 μήνες ακτινοβολήσης)

Από τα παραπάνω αποτελέσματα παρατηρείται ότι στο διαβητικό δέρμα λόγω υψηλών επιπέδων γλυκόζης γίνεται υπερπαραγωγή ROS με αποτέλεσμα η συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών στο διαβητικό δέρμα να είναι χαμηλότερη σε σχέση με το φυσιολογικό ανεξαρτήτως ακτινοβολήσης. Επιπλέον παρατηρείται ότι οι μύες που ακτινοβολήθηκαν παρουσίαζαν πιο υψηλές συγκεντρώσεις ουρικού οξέος στην κεράτινη στιβάδα, ως άμεση αντίδραση του οργανισμού να ενισχύσει την αντιοξειδωτική του άμυνα έναντι της ακτινοβολίας ακόμα και μετά από 5 μήνες ακτινοβολήσης. Αντιθέτως οι συγκεντρώσεις της γλουταθειόνης σε ακτινοβολημένους μύες ήταν πιο χαμηλή, καθώς έκθεση στη UV ακτινοβολία οδηγεί σε μείωση των αντιοξειδωτικών. Συγκεκριμένα στους ακτινοβολημένους μύες η συγκέντρωση της γλουταθειόνης, τόσο στο διαβητικό όσο και στο φυσιολογικό δέρμα, ήταν σχεδόν δύο φορές πιο χαμηλή μετά από 5 μήνες ακτινοβολήσης σε σχέση με τη συγκέντρωση αυτής μετά από 3 μήνες έκθεσης σε ακτινοβολία. Όσον αφορά το ουρικό οξύ, στους ακτινοβολημένους μύες δεν υπήρξαν σημαντικές μεταβολές με το πέρασμα του χρόνου, αλλά η συγκέντρωση του ήταν ελαφρώς πιο υψηλή μετά από 5 μήνες ακτινοβολίας.

6.Γ. Στατιστική Επεξεργασία

Τα παραπάνω αποτελέσματα επεξεργάστηκαν στατιστικά με τη στατιστική μέθοδο ANalysis Of VAriance – ANOVA, single factor, με την οποία η μεταβλητότητα που υπάρχει σ' ένα σύνολο δεδομένων διασπάται στις επιμέρους συνιστώσες της με στόχο την κατανόηση της σημαντικότητας των διαφορετικών πηγών προέλευσής της.

Για $p_{\text{value}} < 0,05 = p_{\text{critical}}$ συμπεραίνεται ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων μου και άρα αυτά προέρχονται από διαφορετικό πληθυσμό. Προκειμένου να βρεθεί η πηγή προέλευσης αυτής της διαφοράς

εφαρμόζεται κριτήριο t-test για όλους τους δυνατούς συνδυασμούς μεταξύ των ομάδων για two tailed distribution και two sample unequal variance.

Όσον αφορά τα αποτελέσματα ουρικού οξέος αυτά δε διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους καθόλη τη διάρκεια της ακτινοβολήσης καθώς η τιμή του συντελεστή p βρέθηκε ίση με 0,0588 και 0,92 μετά από 3 και 5 μήνες ακτινοβολήσης αντίστοιχα.

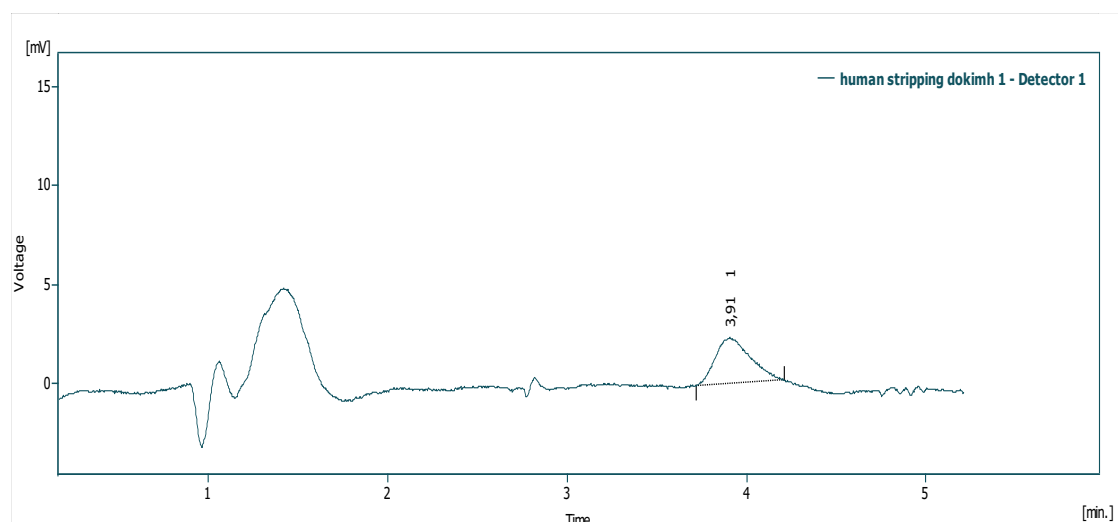
Στατιστικά σημαντική διαφορά υπήρξε στα αποτελέσματα γλουταθειόνης όπου η τιμή του p ισούται με $2,18 \cdot 10^{-5}$ και $1,3 \cdot 10^{-5}$ μετά από 3 και 5 μήνες αντίστοιχα. Σύμφωνα με το t-test στατιστικά σημαντική διαφορά υπήρξε μεταξύ:

- i. της ομάδας των μαρτύρων και των μαρτύρων που ακτινοβολήθηκαν [$p = 0,0033$ (3 μήνες) και $p = 4,63 \cdot 10^{-5}$ (5 μήνες)],
- ii. της ομάδας των μαρτύρων και των διαβητικών μυών που ακτινοβολήθηκαν [$p = 0,0016$ (3 μήνες) και $p = 8,46 \cdot 10^{-6}$ (5 μήνες)],
- iii. της ομάδας των διαβητικών και των διαβητικών μυών που ακτινοβολήθηκαν [$p = 0,0016$ (3 μήνες) και $p = 0,03$ (5 μήνες)] και
- iv. της ομάδας των διαβητικών και των μαρτύρων που ακτινοβολήθηκαν [$p = 0,01$ (3 μήνες) και $p = 0,04$ (5 μήνες)].

Στα πλαίσια της συγκεκριμένης μελέτης παρασκευάστηκαν και πρότυπα διαλύματα κυστεΐνης για προσδιορισμό αυτής. Η κυστεΐνη, ένα από τα τρία αμινοξέα από τα οποία αποτελείται το μόριο της γλουταθειόνης, έδωσε κορυφές στον ίδιο χρόνο έκλουσης που έδινε και η γλουταθειόνη με αποτέλεσμα ο προσδιορισμός της να μην είναι εύκολος λόγω αλληλοεπικάλυψης των κορυφών τους.

Προκαταρκτική εξέταση των υδρόφιλων αντιοξειδωτικών στην κεράτινη στοιβάδα του ανθρώπου

Τέλος στη διάρκεια της έρευνας αυτής εφαρμόστηκαν δύο stripping με τρεις πιέσεις το καθένα στην περιοχή της άνω παλάμης μου και η διαδικασία που ακολουθήθηκε για την επεξεργασία των δύο stripping ήταν η ίδια που πραγματοποιήθηκε και στους μύες. Ακολούθησαν τρεις ενέσεις στην HPLC και λήφθηκαν τα χρωματογραφήματα τους, χωρίς όμως να γίνει κάποιος ποσοτικός προσδιορισμός. Στόχος της ενέργειας αυτής είναι να δοθεί η ευκαιρία για εύρεση υγιών εθελοντών και μελέτη του ανθρώπινου δέρματος. Παρακάτω παρουσιάζεται ενδεικτικά ένα από τα χρωματογραφήματα που λήφθηκαν, αποδεικνύοντας ότι η μέθοδος stripping μυών μπορεί να προσομοιωθεί και στον άνθρωπο και να δώσει αποτελέσματα. Ωστόσο η έρευνα αυτή χρήζει περαιτέρω μελέτη.



Εικόνα 25: Χρωματογράφημα ουρικού οξέος σε ανθρώπινο δέρμα

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Διεξήχθησαν τα εξής συμπεράσματα:

- 1) Έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία μειώνει τα επίπεδα αντιοξειδωτικών μορίων. Επανειλημμένες εκθέσεις σε UV δόσεις προτού επανέλθει η αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού έχουν τη δυνατότητα να οδηγήσουν σε αυξημένη βλάβη των ιστών.
- 2) Η συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών στην επιδερμίδα είναι μεγαλύτερη απ'ότι στη δερμίδα. Πιο συγκεκριμένα τα αποτελέσματα stripping για τη γλουταθειόνη έδωσαν έως και 20 φορές μεγαλύτερη συγκέντρωση σε σχέση με τους ιστούς των δερμάτων. Για το ουρικό οξύ η συγκέντρωση στην επιδερμίδα ήταν σχεδόν διπλάσια.
- 3) Με τη μέθοδο stripping σε ελάχιστες περιπτώσεις μετρήθηκε ασκορβικό οξύ. Ακόμη και σε αυτές τις περιπτώσεις η συγκέντρωση του ήταν αρκετά μικρή. Αυτό συμβαίνει διότι οξειδώνεται γρήγορα παρουσία φωτός, αέρα, ιχών χαλκού και σιδήρου κάτι το οποίο καθιστά δύσκολη τη μέτρηση του στην κεράτινη στιβάδα και απαιτεί ιδιαίτερο χειρισμό.
- 4) Τόσο ο αιθυλεστέρας κυστεΐνης όσο και το τολφαιναμικό οξύ αποτέλεσαν ικανά μόρια για την επούλωση των φλεγμονών που προκλήθηκαν στα πειραματόζωα, ενισχύοντας και την αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού. Ο αιθυλεστέρας κυστεΐνης στις περισσότερες περιπτώσεις έδωσε πιο υψηλές συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικών σε περιεκτικότητα 0,1%.
- 5) Συγκρίνοντας τους ιστούς των δερμάτων με τα stripping παρατηρείται ότι το τολφαιναμικό οξύ συνδυασμένο με δύο μόρια κυστεΐνης έδωσε υψηλότερη συγκέντρωση αντιοξειδωτικών στην κεράτινη στιβάδα.
- 6) Τα λιπαρά οξέα, και συγκεκριμένα στην παρούσα μελέτη τα ελαϊκά εκχυλίσματα από χέλι πλούσια σε ω3 λιπαρά οξέα, ενισχύουν σημαντικά την αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού.
- 7) Η τοπική εφαρμογή ρετινοειδών, όπως η τρετινοΐνη, μπορεί να βελτιώσει αλλαγές στο δέρμα προκαλούμενες από τη φωτογήρανση. Η αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού ήταν πιο ενισχυμένη στους μύες που δέχθηκαν αγωγή με σκεύασμα τρετινοΐνης (τόσο στην επιδερμίδα όσο και στο κυρίως δέρμα) και ακολουθούν οι μύες στους οποίους έγινε επάλειψη με σκεύασμα γαλακτικού οξέος και επιδερμικού αυξητικού παράγοντα.
- 8) Το σαλικυλικό οξύ έδωσε τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικών και δεν κρίθηκε τόσο αποτελεσματικό ως προς την αντιοξειδωτική του ικανότητα. Ωστόσο παρουσιάζει κερατολυτική, φαγεσωρολυτική και αντιβακτηριακή δράση.
- 9) Από τα προϊόντα και παραπροϊόντα μέλισσας που αξιολογήθηκαν ο βασιλικός πολτός εμφάνισε την ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση ενισχύοντας επίσης την άμυνα του οργανισμού και επουλώνοντας πιο γρήγορα τη φλεγμονή που προκλήθηκε από το ηλιακό έγκαυμα. Λιγότερο ικανοποιητική αντιοξειδωτική ικανότητα έδωσε η ομάδα μυών που ακολούθησε θεραπεία με κουκούλια.
- 10) Το διαβητικό δέρμα είναι πιο ευαίσθητο στην υπεριώδη ακτινοβολία. Λόγω υψηλών επιπέδων γλυκόζης γίνεται υπερπαραγωγή ROS με αποτέλεσμα η συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών στο διαβητικό δέρμα να είναι χαμηλότερη σε σχέση με το φυσιολογικό ανεξάρτητα με το αν θα εκτεθεί στην ακτινοβολία.

- 11) Η γλουταθειόνη τόσο σε φυσιολογικό ακτινοβολημένο όσο και διαβητικό ακτινοβολημένο δέρμα ακολουθεί την αναμενόμενη συμπεριφορά, δηλαδή μείωση της συγκέντρωσης της διότι έκθεση στη UV ακτινοβολία οδηγεί σε μείωση των αντιοξειδωτικών. Αντιθέτως το ουρικό οξύ παρουσιάζει υψηλότερες συγκεντρώσεις και στα δύο είδη δέρματος.

ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ

Η παρούσα μελέτη αποτελεί μια πρώτη έρευνα για τη σημασία των υδρόφιλων αντιοξειδωτικών μορίων στο δέρμα και τη μεταβολή τους σχετικά με διαφορετικές παθολογικές καταστάσεις. Μελλοντικοί στόχοι αποτελούν:

- Ολοκλήρωση μετρήσεων οξειδωτικού stress.
- Μελέτη της σημασίας των λιπόφιλων αντιοξειδωτικών (α-τοκοφερόλη, β καροτένιο και Q10) στο δέρμα μύων στις αντίστοιχες καταστάσεις που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία και συσχέτιση αυτών με τα υδρόφιλα αντιοξειδωτικά.
- Εφαρμογή της μελέτης μετρήσεως των υδρόφιλων και λιπόφιλων αντιοξειδωτικών στην κεράτινη στοιβάδα του ανθρώπου.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ-ΔΙΑΔΙΚΤΥΑΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Παπαϊωάννου, Θ.Γ. (2010). «Κοσμητολογία, Συστατικά-Παρασκευή-Χρήση Καλλυντικών», Αθήνα, 1-8
2. Van den Bergh, B.A., Elastic liquid state vesicles as a tool for topical drug delivery, University of Leiden: Leiden, p. 156 – 162, 1999
3. Bryant, R. & Nix, D. (2012). Acute & chronic wounds, current management concept, Missouri : ELSEVIER MOSBY, 179-86
4. Freinkel, R. K. & Woodley, D.T. (2001). The biology of the skin. New York : The Parthenon Publishing, 56-63
5. Márcio Lorencinia, b, Carla A. Brohema, Gustavo C. Dieamanta, Nilson I.T. Zanchinb, c, Howard I. Maibachd (2014). Active ingredients against human epidermal aging ELSEVIER PUBLISHING, 278-81
6. Junqueira L.C., Carneiro, J, Γενική επιμέλεια-πρόλογος Κίττας Χρήστος, (2004). Βασική Ιστολογία (τόμος 2), Αθήνα : Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, 156-68
7. Menon G.K., New insights into skin structure: scratching the surface, Adv Drug Deliv Rev., 54, p. 3-17, 2002
8. Christophers E., Schubert C. and Goos M., The epidermis, in Pharmacology of the skin I, M.W. Greaves et al. (eds)., Springer – Verlag Berlin, 1989
9. A. E. Read, D. W. Barritt, R. Langton Hewer, Σύγχρονη Παθολογία, Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας, Αθήνα 1993.
10. A. Guyton, M.D. Φυσιολογία του Ανθρώπου, Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας, Αθήνα 1990.
11. L. Helmut. Εγχειρίδιο Ανατομικής του Ανθρώπου με έγχρωμο άτλαντα, τόμος 2, Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας, Αθήνα 1985.
12. Χατζημπούγιας Ι., Στοιχεία ανατομικής του ανθρώπου, 2000
13. A. MacDonald, A. Forsyth. Nutritional deficiencies and the skin. Clin Exp Dermatol 2005; 30(4): 388-90
14. J. Reichrath. Vitamin D and the skin: an ancient friend, revisited. Exp Dermatol 2007; 16(7): 618-25.
15. P.G. Sator. Skin treatments and dermatological procedures to promote youthful skin. Clin Interv Aging 2006; 1(1): 51-6.
16. T. Ruzicka. Z Hautkr [Nutrition and atopic eczema]. 1987
17. Μπαλτόπουλος, Ι.Γ., (2009). Πρώτες Βοήθειες & Πρακτική Θεραπευτική Συνήθων Καταστάσεων. Αθήνα : εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, 87-89

18. Παπαϊωάννου Θ.Γ. & Ράλλης, Χ.Μ. (2008). Έλεγχος και αξιολόγηση καλλυντικών προϊόντων, , Αθήνα, 147-49
19. Μουλοπούλου-Καρακίτσου Κ. Μαθαίνω να φροντίζω το δέρμα μου. Εκδόσεις BHTA medical arts. Αθήνα 2001
20. Μουλοπούλου-Καρακίτσου Κ, Ρηγόπουλος Δ, Στρατηγός Ι.Δ. Καλλυντικά. Συστατικά και εφαρμογές. Εκδόσεις BHTA medical arts, 2^η έκδοση. Αθήνα 1998
21. Afaq F, Mukhtar H. (2002) Photochemoprevention by botanical antioxidants. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 15, 297–306.
22. Trautinger F. (2001) Mechanisms of photodamage of the skin and its functional consequences for skin ageing. *Clin Exp Dermatol* 26, 573–7.
23. Van der Leun JC. (2004) The ozone layer. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 20, 159–62.
24. Afaq F, Mukhtar H. (2002) Photochemoprevention by botanical antioxidants. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 15, 297–306.
25. Trautinger F. (2001) Mechanisms of photodamage of the skin and its functional consequences for skin ageing. *Clin Exp Dermatol* 26, 573–7.
26. De Gruijl RR. (2002) Photocarcinogenesis : UVA vs. UVB radiation. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 15, 316-20
27. Svobodova A., Walterova D., Vostalova J., (2006). Ultraviolet light induced alteration to the skin *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2006 Jul;150(1):25-38
28. M.Ya. Akhalayaa, G.V. Maksimova, A.B. Rubina, J. Lademannb, M.E. Darvinb, (2014). Molecular action mechanisms of solar infrared radiation and heat on human skin *Ageing Res Rev.* 2014 Apr 15;16C:1-11
29. Krutmann J., (2000). Ultraviolet A radiation-induced biological effects in human skin: relevance for photoaging and photodermatosis *J Dermatol Sci.* 2000 Mar;23 Suppl 1:S22-6
30. Clydesdale GJ, Dandie GW, Muller HK. (2001) Ultraviolet light induced injury: Immunological and inflammatory effects. *Immunol Cell Biol* 79, 547–68.
31. Clydesdale GJ, Dandie GW, Muller HK. (2001) Ultraviolet light induced injury: Immunological and inflammatory effects. *Immunol Cell Biol* 79, 547–68.
32. Afaq F, Mukhtar H. (2001) Effects of solar radiation on cutaneous detoxification pathways. *J Photochem Photobiol B* 63, 61–69.

33. Skin Aging, Gilchrest A.B., Krutmann J., (2006). Skin aging. Berlin Q Springer publishing, 222-225
34. Brannon H., (2014). Effects of Sun on the Skin, Cellular Skin Changes Caused by UV Radiation, 108-11
35. Schwarz T. (2005). Mechanisms of UV-induced immunosuppression. Keio J Med. 2005 Dec;54(4):165-171
36. Α.Ι. Στρατηγός, Χ. Αντωνίου (2002). Οι φωτοχημικές βλάβες του DNA και ο ρόλος τους στις βιολογικές επιδράσεις της υπεριώδους ακτινοβολίας στο δέρμα. Αρχεία ελληνικής ιατρικής, 19(2): 141-152
37. Grossman d, Leffel D. (1997). The molecular basis of non-melanoma skin cancer. A new understanding. Arch Dermatol, 88-90
38. Sarasin A. (1999) The molecular pathways of ultraviolet-induced carcinogenesis. Mutat Res. 1999 Jul 16;428(1-2):5-10
39. Ibuki Y, Akaike M, Toyooka T, Mori T, Nakayama T, Goto R. Hydrogen peroxide is critical for UV-induced apoptosis inhibition. Redox Rep. 2006;11(2):53-60.
40. Gerson S.L., Lattime E.C., (2002) Gene Therapy of Cancer. Elsevier publishing, 250-53
41. Perry Robins, MD Deborah S. Sarnoff, MD David J. Leffell, MD (2013). Basal Cell Carcinoma (BCC) Skin Cancer Foundation
42. Βέρρος Δ.Κ. Η βλαπτική επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας στο δέρμα . Τρίπολη
43. Βαλαβανίδης ΑΘ. Ελεύθερες Ρίζες και ο Ρόλος τους στα Βιολογικά Συστήματα. Εκδόσεις BHTA medical arts. Αθήνα 2006
44. Halliwell,B.(2001). Free radicals and other reactive species in disease.InJ.Wiley & Sons (Ed.), Encyclopedia of life sciences. Nature Publishing Group
45. Halliwell,B., & Gutteridge, J. M.C. (1999). Free radicals in biology and medicine (3rd ed.). Oxford Science Publications (Chapter 2).
46. Koren, H.S. (1995). Association between criteria air pollutants and asthma. Environ. Health Perspect. 103, 235-242.
47. Victoria, K. (1994). Review oh the genotoxicity of nitrogen oxides. Mutat. Res. 317, 43-55.
48. Obata, T., Yamanaka, Y., Kinemuchi, H., Oreland, L. (2001). Release of dopamine by perfusion with 1-methyl-4-phenylpyridinium ion (MPP(+)) into the striatum is associated with hydroxyl free radical generation. Brain Res. 906, 170-175.

49. Jones, D.P., Carlson, J.L., Mody, V.C., Cai, J., Lynn, M.J., Sternberg, P. (2000). Redox state of glutathione in human plasma. *Free Radic. Biol. Med.* 28, 625-635.
50. Ames, B.n., Cathcart, R., Schwiers, E., Hochstein, P. (1981). Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 78, 6858-6862.
51. Rimbach G, Hohler D, Fischer A, Roy, S., Virgili, F., Pallauf, J., Packer, L. (1999). Methods to assess free radicals and oxidative stress in biological systems. *Arch. Tierernahr.* 52, 203-222.
52. Linnane, A.W., Zhang, C., Yarovaya, N., Kopsidas, G., Kovalenko, S., Papakostopoulos, P., Eastwood, H., Graves, S., Richardson, M. (2002). Human aging and global function of coenzyme Q10. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 959, 396-411.
53. Jenkins, R.R. (1988). Free radical chemistry: relationship to exercise. *Sports Med.* 5, 156-170
54. Finaud, J., Lac, G., Filaire, E. (2006). Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med.* 36 (4), 327-358.
55. Golden, T.R., Hinerfeld, D.A., Melov, S. (2002). Oxidative stress and aging: beyond correlation. *Aging Cell.* 1, 117-123.
56. Cooper, C.E., Vollaard, N.B.J., Choueiri, T., Wilson, M.T. (2002). Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem. Soc. Trans.* 30, 2280-2285.
57. Devasagayam, T.P.A., Boloor, K.K., Ramsarma, T. (2003). Methods for estimating lipid peroxidation: Analysis of merits and demerits (minireview). *Indian J. Bioche. Biophys.* 40, 300-308.
58. Radak, Z., Kaneko, T., Tahara, S., Nakamoto, H., Ohno, H., Sasvari, M., nyakas, C., Goto, S. (1999). The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins, and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. *Free Radic. Biol. Med.* 27, 69-74.
59. Szweda, P.A., friguet, B., Szweda, L.I. (2002). Proteolysis, free radicals and aging. *Free Radic. Biol. Med.* 33, 29-36.
60. Leeuwenburgh, C., Hansen, P.A. Holloszy, J.O., Heinecke, J.W. (1999). Hydroxyl radical generation during exercise increases mitochondrial protein oxidation and levels of urinary dityrosine. *Free Radic. Biol. Med.* 27, 186-192.
61. Davies, K.J., Quintanilha, A.T., Brooks, G.A., Packer, L. (1982). Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 107, 1198-1205.

62. Helbock, H.J., Beckman, K.B., Ames, B.N. (1999). 8-Hydroxydeoxyguanosine and 8-hydroxyguanine as biomarkers of oxidative DNA damage. *Methods Enzymol.* 300,156-166.
63. Beckman, K.B., Ames, B.N. (1997). Oxidative decay of DNA. *J. Biol. Chem.* 272, 19633-19636.
64. Sies, H., Summer, K.H. (1975). Hydroperoxide-metabolizing systems in rat liver. *Eur. J.Biochem.* 57, 503-512.
65. Ashton, T., Rowlands, C.C., Jones, E., Young, I.S., Jackson, S.K., Davies, B., Peters, J.R. Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* 77, 498-502.
66. Ashton, T., Young, I.S., Peters, J.R., Jones, E., Jackson, S.K., Davies, B., Rowlands, C.C. (1999). Electron spin resonance spectroscopy, exercise, and oxidative stress: an ascorbic acid intervention study. *J. Appl. Physiol.* 87, 2032-2036.
- Aw, T.Y. (2003) Cellular redox: a modulator of intestinal epithelial cell proliferation
67. Stadtman, E.R., Levine, R.L. (2000). Protein oxidation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 899, 191-208.
68. Dizdaroglu, M., Jaruga, P., Birincioglu, M., Rodriguez, H. (2002). Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Radic. Biol. Med.* 32, 1102-1115.
69. Prior, R.L., Cao, G. (1999). In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radic. Biol. Med.* 1999; 27,1173-1181.
70. Svensson, M.B., Ekblom, B., Cotgreave, I.A., Norman, B., Sjoberg, B., Ekblom, O., Sjodin, B., Sjodin, A. (2002). Adaptive stress response of glutathione and uric acid metabolism in man following controlled exercise and diet. *Acta Physiol. Scand.* 176, 43-56.
71. Marklund, N., Ostman, B., Nalmo, I., Persson, L., Hillered, L. (2000). Hypoxanthine, uric acid and allantoin as indicators of in vivo free radical reactions. Description of an HPLC method and human brain microdialysis data. *Acta Neurochir.* 142, 1135-1141.
72. Booth, F.W., Gordon, S.E., Carlson, C.J., Hamilton, M.T. (2000). Waging war on modern chronic diseases: primary prevention through exercise biology. *J. Appl. Physiol.* 88(2),774-787.
73. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB, Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked, *Free Radic Biol Med*, 2010, 49, 1603-1616

74. Sanlioglu S, Williams CM, Samavati L, Butler NS, Wang G, McCray PB Jr, Ritchie TC, Hunninghake GW, Zandi E, Engelhardt JF, Lipopolysaccharide induces Rac1-dependent reactive oxygen species formation and coordinates tumor necrosis factor- α secretion through IKK regulation of NF- κ B, *J Biol Chem*, 2001, 276, 30188–30198.
75. Schulze-Osthoff K, Bauer MK, Vogt M, Wesselborg S, Oxidative stress and signal transduction, *Int J Vitam Nutr Res*, 1997, 67, 336–342
76. Federico A, Morgillo F, Tuccillo C, Ciardiello F, Loguercio C, Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis, *Int J Cancer*, 2007, 121, 2381–2386
77. Selye H, *Stress in Health and Disease*. Reading (Mass.): Butterworths, 1976.
78. Κουρουνάκης ΠΝ, Φαρμακοχημεία του στρες της ζωής. Στρες βιολογικό και οξειδωτικό, στο «Επιστήμη και Κοινωνία» Ειδικές μορφωτικές εκδηλώσεις, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών. Αθήνα, 2000, σελ 21-77
79. Νικολάου Καλλιακμάνη . «Το οξειδωτικό stress (O.S.) και η κλινική σημασία του», 2009.
80. Dekkers, J.C., van Doormen, L.J., Kemper, H.C. (1996). The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage. *Sports Med*. 21,213-238.
81. Powers, S.K., Lennon, S.L. (2000). Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc. Nutr. Soc.* 58, 1025-1033.
82. Antunes, F., Han, D., Cadenas, E. (2002). Relative contributions of heart mitochondria glutathione peroxidase and catalase to H₂O₂ detoxification in in vivo conditions. *Free Radic. Biol. Med.* 33, 1260-1267.
83. Brigelius-Flohe, R. (2006). Glutathione peroxidases and redox-regulated transcription factors. *Biol. Chem.* 387, 1329–1335.
84. Culotta, V.C., Yang, M., O'Halloran, T.V. (2006). Activation of superoxide dismutases: putting the metal to the pedal. *Biochim. Biophys. Acta* 1763, 747–758.
85. Coombes, J.S., Powers, S.K., Rowell, B., Hamilton, K.L., Dodd, S.L., Shanely, R.A., Sen, C.K., Packer, L. (2001). Effects of vitamin E and alpha-lipoic acid on skeletal muscle contractile properties. *J. Appl. Physiol.* 90, 1424-1430.
86. Crane, F.L. (2001). Biochemical functions of coenzyme Q10. *J. Am. Coll. Nutr.* 20, 591-598.
87. Evans, W.J. (2000). Vitamin E, vitamin C, and exercise. *Am. J. Clin. Nutr.* 72, 647-652.
88. Fuchs, J. (1995). *Oxidative Injury in Dermatology*. New York: Springer-Verlag, 1992.

89. Wedworth, S.M., Lynch, S. (1995). Dietary flavonoids in arterosclerosis prevention. *Ann. Pharmacother.* 29, 627-628.
90. Karen E. Burke; Interaction of vitamins C and E as better cosmeceuticals; *Dermatologic Therapy*, Vol. 20, 2007, 319-320
91. Palmer, F.M., Nieman, D.C., Henson, D.A., McAnulty, L., Swick, N.S., Utter, A.C., Vinci, D.M., Morrow, J.D. (2003). Influence of vitamin C supplementation on oxidative and salivary Ig A changes following an ultramarathon. *Eur. J. Appl. Physiol.* 89, 100-107.
92. Ames, B.n., Cathcart, R., Schwiers, E., Hochstein, P. (1981). Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 78, 6858-6862.
93. Grootveld, M., Halliwell, B. (1987). Measurement of allantoin and uric acid in human body fluids. A potential index of free-radical reactions in vivo *Biochem. J.* 243, 803-808.
94. Hooper, D.C., Scott, G.S., Zborek, A., Mikheeva, T., Kean, R.B., Koprowski, H., Spitsin, S.V. (2000). Uric acid, a peroxynitrite scavenger, inhibits CNS inflammation, blood-CNS barrier permeability changes, and tissue damage in a mouse model of multiple sclerosis. *FASEB J.* 14, 691-698.
95. Sevanian, A., Davies, K.J., Hochstein, P. (1991). Serum urate as an antioxidant for ascorbic acid. *Am. J. Clin. Nutr.* 54, 1129S-1134S.
96. Aurelia Magdalena Pisochi, Ameta Pop The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review (2015), 55-74
97. Svensson, M.B., Ekblom, B., Cotgreave, I.A., Norman, B., Sjoberg, B., Ekblom, O., Sjodin, B., Sjodin, A. (2002). Adaptive stress response of glutathione and uric acid metabolism in man following controlled exercise and diet. *Acta Physiol. Scand.* 176, 43-56.
98. Wayner, D.D., Burton, G.W., Ingold, K.U., Barclay, L.R., Locke, S.J. (1987). The relative contributions of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total peroxyl radicaltrapping antioxidant activity of human blood plasma. *Biochim. Biophys. Acta.* 924, 408-419.
99. Aw, T.Y. (2003) Cellular redox: a modulator of intestinal epithelial cell proliferation. *News Physiol. Sci.* 18, 201–204.
100. Lu, S.C. (2000). Regulation of glutathione synthesis. *Curr. Top. Cell Regul.* 36, 95-116
101. Meister, A., Anderson, M.E. (1983). Glutathione. *Annu. Rev. Biochem.* 52, 711-760.

102. Townsend, D.M., Tew, K.D., Tapiero, H. (2003) The importance of glutathione in human disease. *Biomed. Pharmacother.* 57, 145–155.
103. Yasuko Shindo, Eric Witt, Lester Packer (1994) Enzymic and non enzymic antioxidants in epidermis and dermis of human skins, 122-124
104. Andreson ME: Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. *Methods Enzymol* 113:548-552,1985
105. Isabella Squellerio, Donatela Caruso et al., (2012) Direct glutathione quantification in human blood by LC-MS/MS: Comparison with HPLC with Electrochemical Detector. 111-118
106. Anna Pastore, Giorgio Federici, Enrico Bertini, Fiorella Piemonte, (2003), 19-39 Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification
107. David Perett and Susan R. Rudge (1985) The determination of thiols and related compounds using high-performance liquid chromatography, 3-27
108. Stefan Udo Weber, Jens J. Thiele, Carroll E. Cross, and Lester Packer (1999) Vitamin C, Uric acid and glutathione gradients in murine stratum corneum and their susceptibility to ozone exposure, 1128-1132
109. Manabu Kitazawa et al. Interactions between Vitamin E homologues and ascorbate free radicals in murine skin homogenates irradiated with ultraviolet light (1997), 355-365
110. Philip W. Wasco, William O. Hartzell, and Mark Levine (1989), Ascorbic acid analysis using high performance liquid chromatography with coulometric electrochemical detection. 276-282
111. Kuldeep R Dhariwal, William O Hartzell and Mark Levine (1991). Ascorbic acid and dehydroascorbic acid measurement in human plasma and serum 54:712-716.
112. Παπαδογιάννης Ι., Ενόργανη Χημική Ανάλυση
113. Gerber F., Krummen M., Potgieter H., Roth A., Siffrin C., C. Spöndlin, «Practical aspects of fast reversed-phase high-performance liquid chromatography using 3 µm particle packed columns and monolithic columns in pharmaceutical development and production working under current good manufacturing practice» *Journal of Chromatography A*, 1036, 127-133, 2004
114. Robards K., Haddad P., Jackson E., «Principles and practice of modern chromatographic methods», London: Elsevier, 1994
115. L.A. Cole, J.G. Dorsey, K.E. Dill, *Anal. Chem.* 64 (1992) 1324
116. Σημειώσεις για την Ηλεκτροχημική Ανίχνευση στην HPLC, Α. Παππά-Λουϊζη

117. Bachem A: Time factors of erythema and pigmentation, produced by ultraviolet rays of different wavelengths. *J Invest Dermatol* 25:215–218, 1955
118. Gange RW: Acute effects of ultraviolet radiation in the skin. In: Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, Freedberg IM, Austen KF (eds.). *Dermatology in General Medicine*, 3rd ed. McGraw-Hill, New York, 1987, pp 1451–1457
119. Calder, P.C. (2015) ‘Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance’, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1851(4), pp. 469–484. doi: 10.1016/j.bbalip.2014.08.010.
120. P.C. Calder, Omega-3 polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: nutrition or pharmacology? *Br. J. Clin. Pharmacol.* 75 (2013) 645–662
121. Kim, H.H., Cho, S., Lee, S., Kim, K.H., Cho, K.H., Eun, H.C., Chung, J.H., 2006. Photoprotective and anti-skin-aging effects of eicosapentaenoic acid in human skin *n vivo*. *J. Lipid Res.* 47, 921–930
122. Rahman, M.M., Kundu, J.K., Shin, J.-W., Na, H.-K. and Surh, Y.-J. (2011) ‘Docosahexaenoic acid inhibits UVB-Induced activation of NF-κB and expression of COX- 2 and NOX-4 in HR-1 hairless mouse skin by blocking MSK1 signaling’, *PLoS ONE*, 6(11), p. e28065
123. Χρ.Ναούμ, «Φυσιοπαθολογικοί μηχανισμοί της φωτογήρανσης», *Ελληνική Δερματοχειρουργική Τόμος 4 (2)*, Σελίδες 161-164, 2007
124. Jessica H. Rabe, MD, Adam J. Mamelak, MD, Patrick J. S. McElgunn, MD, Warwick L. Morison, MD, and Daniel N. Sauder, MD Baltimore, Maryland (2006) *Photoaging: Mechanisms and repair* 55:1-19
125. M. Yaar and B.A. Gilchrest *Photoageing: mechanism, prevention and therapy* (2007) 874-887
126. Marcia Ramos-e-Silva, Livia Ribeiro Celestino, Stella Ramos-e-Silva, Ana Paula Fuccida-Costa Anti-aging cosmetics: Facts and controversies ***Clinics in Dermatology***, Volume 31, Issue 6, Pages 750-758
127. Ruža Pandel, Borut Poljšak, Aleksandar Godic, and Raja Dahmane. *Skin Photoaging and the Role of Antioxidants in Its Prevention*, Volume 2013 (2013), Article ID 930164, 11 pages
128. *Uncomplicated Guide To Diabetes Complications*, 3rd Edition. Edited by Marvin E. Levin, MD, and Michael A. Pfeifer, MD, MS, CDE, FACE
129. *Necrobiosis lipoidica*. In Fitzpatrick’s *Dermatology in General Medicine* 6th ed, 2003.

130. Κ. Β. Νούτσης, «Δερματικές Εκδηλώσεις στον Σακχαρώδη Διαβήτη », Νοσοκομειακά Χρονικά, τόμος 68, Συμπλήρωμα, 2006.
131. Piconi Ludovica , Ouagliaro Lisa, Ceriello Antonio, “Oxidative stress in diabetes”, Refdoc, 2003.
132. Joseph L. Evans, Ira D. Goldfine, Betty A. Maddux and Gerold M. Grodsky, “Are Oxidative Stress–Activated Signaling Pathways Mediators of Insulin Resistance and β -Cell Dysfunction?”, Diabetes, 2003
133. C. Maritim, R. A. Sanders, J. B. Watkins III, “Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review” J Biochem Mol Toxicol. 2003;17(1):24-38.

Διαδικτυακές αναφορές

- a. <http://physiology.pharyngula.org/lectures/skin>
- b. <http://panacea.med.uoa.gr/topic.aspx?id=737>
- c. www.el.wikipedia.gr
- d. www.ergonpl.gr
- e. http://emed.med.uoa.gr/application/syllabus_I/aimopiisi/glossary.htm
- f. <http://www.physics4u.gr/articles/uv1.html>
- g. www.forumakademi.or
- h. History of HPLC, www.pharm.uky.edu
- i. <http://iatroi-ergasias.gr/egkaumata-pantazi/>
- j. https://oliviart-gr.blogspot.gr/2012/10/blog-post_29.html,
- k. <https://mountathos-eshop.com>
- l. <http://enallaktikidrasi.com/2013/12/afieroma-sti-melissotherapeia>
- m. http://www.superfoods.gr/blog_post
- n. http://meligrabovas.blogspot.gr/2014/01/blog-post_12.html
- o. <http://diabetes.webmd.com/guide/skin-problems>

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΜΟΡΙΩΝ ΣΤΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ ΚΑΙ ΣΤΑ STRIPPING ΔΕΡΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΥΤΩΝ

Μελέτη αντιοξειδωτικής δράσης εκχυλισμάτων λιπιδίων από χέλι

	<i>MARTYPEΣ</i>	C ascorbic acid (μmole/L)	mole ascorbic at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	nmole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	
I1	169,526	1872,730	5,83355E-07	19,9	2,93143E-08	29,3143	
I2	206,523	2281,769	7,10771E-07	18,9	3,76069E-08	37,6069	
I3	153,18	1692,009	5,27061E-07	19,6	2,68909E-08	26,8909	
I4	270,212	2985,915	9,30112E-07	20,8	4,47169E-08	44,7169	
I5	201,431	2225,472	6,93234E-07	20,1	3,44893E-08	34,4893	
I6	169,778	1875,516	5,84223E-07	20,3	2,87795E-08	28,7795	
I7	234,572	2591,879	8,0737E-07	20,8	3,88159E-08	38,8159	
I8	202,88	2241,492	6,98225E-07	20,1	3,47375E-08	34,7375	
I9	145,126	1602,964	4,99323E-07	18,5	2,69904E-08	26,9904	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
						33,59	6,12
	<i>PEG600:PEG1000 65:35</i>	C ascorbic acid (μmole/L)	mole ascorbic at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	nmole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	
II1	207,592	2293,588	7,14453E-07	19,5	3,66386E-08	36,6386	
II2	138,281	1527,285	4,75749E-07	21	2,26547E-08	22,6547	
II3*	72,054	1590,159	4,95335E-07	21,2	2,33648E-08	23,3648	
II4	120,059	1325,823	4,12994E-07	22	1,87724E-08	18,7724	
II5	211,987	2342,179	7,29589E-07	19	3,83994E-08	38,3994	
II6	304,333	3363,156	1,04762E-06	15,4	6,80275E-08	68,0275	
II7	268,787	2970,160	9,25205E-07	21,6	4,28336E-08	42,8336	
II8	204,836	2263,118	7,04961E-07	20,4	3,45569E-08	34,5569	
II9	223,697	2471,645	7,69917E-07	21,6	3,56443E-08	35,6443	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
						35,65	14,64
	<i>PEG600:PEG1000:XEAI 60:30:</i>	C ascorbic acid (μmole/L)	mole ascorbic at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	nmole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	
III1	220,166	2432,606	7,57757E-07	19,2	3,94665E-08	39,4665	
III2	157,373	1738,367	5,41501E-07	19,3	2,80571E-08	28,0571	
III3	226,803	2505,985	7,80614E-07	22,1	3,53219E-08	35,3219	
III4*	54,421	1200,259	3,73881E-07	22	1,69946E-08	16,9946	
III5	187,959	2076,525	6,46838E-07	19	3,40441E-08	34,0441	
III6	146,948	1623,108	5,05598E-07	15,4	3,2831E-08	32,8310	
III7	162,452	1794,520	5,58993E-07	21,6	2,58793E-08	25,8793	
III8	164,003	1811,668	5,64335E-07	20,4	2,76635E-08	27,6635	
III9	241,775	2671,515	8,32177E-07	21,6	3,85267E-08	38,5267	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
						30,98	7,09
	<i>PEG600:PEG1000:XEAI 55:25:</i>	C ascorbic acid (μmole/L)	mole ascorbic at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	nmole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	
IV1	144,111	1591,742	4,95828E-07	15,8	3,13815E-08	31,3815	
IV2	143,602	1586,114	4,94075E-07	16	3,08797E-08	30,8797	
IV3	126,519	1397,245	4,35242E-07	21,9	1,98741E-08	19,8741	
IV4	125,362	1384,453	4,31257E-07	20,8	2,07335E-08	20,7335	
IV5	187,539	2071,882	6,45391E-07	20	3,22696E-08	32,2696	
IV6	109,402	1207,999	3,76292E-07	20,6	1,82666E-08	18,2666	
IV7	240,935	2662,228	8,29284E-07	18,2	4,55651E-08	45,5651	
IV8	206,903	2285,970	7,1208E-07	19,8	3,59636E-08	35,9636	
IV9*	35,269	776,770	2,41964E-07	20,8	1,16329E-08	11,6329	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
						27,40	10,54

	<i>MAPTYPEΣ</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
I1	387,242	2025,262	6,30869E-07	19,9	3,1702E-08	31,7020	
I2	290,577	1519,578	4,73349E-07	18,9	2,50449E-08	25,0449	
I3	256,415	1340,867	4,1768E-07	19,6	2,13102E-08	21,3102	
I4	402,981	2107,597	6,56517E-07	20,8	3,15633E-08	31,5633	
I5	375,633	1964,532	6,11952E-07	20,1	3,04454E-08	30,4454	
I6	291,548	1524,658	4,74931E-07	20,3	2,33956E-08	23,3956	
I7	474,358	2480,992	7,72829E-07	20,8	3,71552E-08	37,1552	
I8	368,617	1927,829	6,00519E-07	20,1	2,98766E-08	29,8766	
I9	449,240	2349,592	7,31898E-07	18,5	3,95621E-08	39,5621	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
						30,01	6,04
	<i>PEG600:PEG1000 65:35</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
II1	345,945	1809,225	5,63574E-07	19,5	2,89012E-08	28,9012	
II2	330,05	1726,073	5,37672E-07	21	2,56034E-08	25,6034	
II3*	217,157	2270,993	7,07414E-07	21,2	3,33686E-08	33,3686	
II4	490,71	2566,534	7,99475E-07	22	3,63398E-08	36,3398	
II5	381,77	1996,636	6,21952E-07	19	3,27343E-08	32,7343	
II6	506,027	2646,662	8,24435E-07	15,4	5,35348E-08	53,5348	
II7	398,702	2085,213	6,49544E-07	21,6	3,00715E-08	30,0715	
II8	399,263	2088,147	6,50458E-07	20,4	3,18852E-08	31,8852	
II9	485,416	2538,840	7,90849E-07	21,6	3,66134E-08	36,6134	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
						34,34	7,99
	<i>PEG600:PEG1000:XEAI 60:30:1</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
III1	331,87	1735,594	5,40638E-07	19,2	2,81582E-08	28,1582	
III2	439,036	2296,212	7,1527E-07	19,3	3,70606E-08	37,0606	
III3	535,149	2799,008	8,71891E-07	22,1	3,94521E-08	39,4521	
III4*	240,689	2517,199	7,84107E-07	22	3,56412E-08	35,6412	
III5	489,812	2561,836	7,98012E-07	19	4,20006E-08	42,0006	
III6	348,078	1820,383	5,67049E-07	15,4	3,68214E-08	36,8214	
III7	366,622	1917,393	5,97268E-07	21,6	2,76513E-08	27,6513	
III8	389,359	2036,337	6,34319E-07	20,4	3,10941E-08	31,0941	
III9	500,166	2616,001	8,14884E-07	21,6	3,77261E-08	37,7261	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
						35,07	5,00
	<i>PEG600:PEG1000:XEAI 55:25:20</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
IV1	426,848	2232,453	6,95409E-07	15,8	4,40132E-08	44,0132	
IV2	423,222	2213,484	6,895E-07	16	4,30938E-08	43,0938	
IV3	468,177	2448,657	7,62757E-07	21,9	3,48291E-08	34,8291	
IV4	448,397	2345,182	7,30524E-07	20,8	3,51214E-08	35,1214	
IV5	507,018	2651,846	8,2605E-07	20	4,13025E-08	41,3025	
IV6	606,303	3171,236	9,8784E-07	20,6	4,79534E-08	47,9534	
IV7	441,087	2306,941	7,18612E-07	18,2	3,94842E-08	39,4842	
IV8	532,223	2783,701	8,67123E-07	~ 137 19,8	4,37941E-08	43,7941	
IV9*	212,724	2224,612	6,92967E-07	20,8	3,33157E-08	33,3157	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
						40,32	4,99

	<i>MAPTYPEΣ</i>	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
I1	16,244	58,414	1,81961E-08	19,9	9,14377E-10	0,9144	
I2	7,347	55,765	1,73708E-08	18,9	9,19089E-10	0,9191	
I3	27,643	61,809	1,92535E-08	19,6	9,82323E-10	0,9823	
I4	34,241	63,774	1,98656E-08	20,8	9,55077E-10	0,9551	
I5	23,136	60,467	1,88354E-08	20,1	9,37087E-10	0,9371	
I6	19,798	59,473	1,85258E-08	20,3	9,12601E-10	0,9126	
I7	20,762	59,760	1,86152E-08	20,8	8,94962E-10	0,8950	
I8	16,819	58,586	1,82494E-08	20,1	9,07933E-10	0,9079	
I9	15,211	58,107	1,81003E-08	18,5	9,78393E-10	0,9784	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
						0,93	0,03
	<i>PEG600:PEG1000 65:35</i>	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
II1	25,775	61,253	1,90802E-08	19,5	9,78474E-10	0,9785	
II2	8,325	56,056	1,74615E-08	21	8,315E-10	0,8315	
II3	21,842	60,082	1,87154E-08	21,2	8,82802E-10	0,8828	
II4	17,973	58,929	1,83565E-08	22	8,34386E-10	0,8344	
II5	31,634	62,998	1,96238E-08	19	1,03283E-09	1,0328	
II6	27,725	61,834	1,92611E-08	15,4	1,25072E-09	1,2507	
II7	23,051	60,442	1,88276E-08	21,6	8,71646E-10	0,8716	
II8	6,413	55,487	1,72841E-08	20,4	8,47262E-10	0,8473	
II9	37,613	64,778	2,01784E-08	21,6	9,34185E-10	0,9342	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
						0,94	0,14
	<i>PEG600:PEG1000:XEAI 60:30:10</i>	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
III1	8,158	56,006	1,7446E-08	19,2	9,08646E-10	0,9086	
III2	10,827	56,801	1,76936E-08	19,3	9,16767E-10	0,9168	
III3	22,323	60,225	1,876E-08	22,1	8,4887E-10	0,8489	
III4	20,92	59,807	1,86299E-08	22	8,46812E-10	0,8468	
III5	28,408	62,037	1,93245E-08	19	1,01708E-09	1,0171	
III6	15,381	58,157	1,8116E-08	15,4	1,17637E-09	1,1764	
III7	16,503	58,492	1,82201E-08	21,6	8,43525E-10	0,8435	
III8	12,543	57,312	1,78528E-08	20,4	8,75136E-10	0,8751	
III9	28,496	62,063	1,93327E-08	21,6	8,9503E-10	0,8950	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
						0,93	0,11
	<i>PEG600:PEG1000:XEAI 55:25:20</i>	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
IV1	17,693	58,846	1,83305E-08	15,8	1,16016E-09	1,1602	
IV2	18,795	59,174	1,84327E-08	16	1,15205E-09	1,1520	
IV3	14,813	57,988	1,80634E-08	21,9	8,24811E-10	0,8248	
IV4	20,129	59,571	1,85565E-08	20,8	8,92139E-10	0,8921	
IV5	6,69	55,569	1,73098E-08	20	8,65492E-10	0,8655	
IV6	18,099	58,967	1,83682E-08	20,6	8,91659E-10	0,8917	
IV7	26,109	61,352	1,91112E-08	~ 18,8 ~	1,05007E-09	1,0501	
IV8	22,109	60,161	1,87402E-08	19,8	9,46473E-10	0,9465	
IV9	27,839	61,867	1,92717E-08	20,8	9,26525E-10	0,9265	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
						0,97	0,12

Anova: Single Factor	ASCORBIC ACID					
SUMMARY						
<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>		
MAPTYPEΣ	9	302,3416939	33,59352154	37,40437		
PEG600:PEG1000 65:35	9	320,8923016	35,65470018	214,2862		
PEG600:PEG1000:XEAI 60:30:10	9	278,7846404	30,97607116	50,22412		
PEG600:PEG1000:XEAI 55:25:20	9	246,566427	27,39626967	111,0102		
ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	342,9262289	3	114,308743	1,107308	0,36052	2,9011
Within Groups	3303,398838	32	103,2312137			
Total	3646,325067	35				
Anova: Single Factor	URIC ACID					
SUMMARY						
<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>		
MAPTYPEΣ	9	270,0551821	30,00613135	36,48345		
PEG600:PEG1000 65:35	9	309,0521171	34,33912413	63,91029		
PEG600:PEG1000:XEAI 60:30:10	9	315,6056585	35,06729539	25,03322		
PEG600:PEG1000:XEAI 55:25:20	9	362,9073082	40,32303425	24,94649		
ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	483,2750202	3	161,0916734	4,28511	0,0119	2,90112
Within Groups	1202,987543	32	37,59336071			
Total	1686,262563	35				
Anova: Single Factor	GSH					
SUMMARY						
<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>		
MAPTYPEΣ	9	8,401840876	0,933537875	0,001003		
PEG600:PEG1000 65:35	9	8,463807189	0,940423021	0,018269		
PEG600:PEG1000:XEAI 60:30:10	9	8,328232351	0,92535915	0,011741		
PEG600:PEG1000:XEAI 55:25:20	9	8,709372847	0,967708094	0,015289		
ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	0,00910514	3	0,003035047	0,262196	0,85209	2,90111958
Within Groups	0,37041593	32	0,011575498			
Total	0,37952107	35				

Μελέτη αντιοξειδωτικής δράσης μελισσοκομικών προϊόντων και παραπροϊόντων
στη θεραπεία ηλιακού εγκαύματος 2^ο βαθμού.

	<i>ΜΑΡΤΥΡΕΣ</i>	☐ ascorbic acid (μmole/L	mole ascorbic at 0,3115 ml	βάρος ιστού (g)	mole ascorbic / βάρος ιστού (g)	mole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	
A1 Δ1	509,873	5635,607	1,75549E-06	0,023	7,63257E-05	76,3257	
A1 Δ2	431,523	4769,369	1,48566E-06	0,0219	6,78383E-05	67,8383	
A2 Δ1	405,057	4476,761	1,39451E-06	0,0201	6,93787E-05	69,3787	
A2 Δ2	504,153	5572,366	1,73579E-06	0,0209	8,30523E-05	83,0523	
A3 Δ1	475,424	5254,738	1,63685E-06	0,0205	7,98464E-05	79,8464	
A3 Δ2	324,208	3582,894	1,11607E-06	0,0196	5,69424E-05	56,9424	
B1 Δ1	512,17	5661,002	1,7634E-06	0,0204	8,64413E-05	86,4413	
B1 Δ2	344,5	3807,243	1,18596E-06	0,0183	6,48063E-05	64,8063	
B2 Δ1	401,592	4438,452	1,38258E-06	0,0201	6,8785E-05	68,7850	
B2 Δ2	354,232	3914,840	1,21947E-06	0,0207	5,89117E-05	58,9117	
B3 Δ1	597,632	6605,870	2,05773E-06	0,0181	0,000113687	113,6867	
B3 Δ2	437,305	4833,295	1,50557E-06	0,0187	8,05118E-05	80,5118	
Γ1 Δ1	501,575	5543,864	1,72691E-06	0,0229	7,54111E-05	75,4111	
Γ1 Δ2	629,638	6959,728	2,16796E-06	0,0232	9,34464E-05	93,4464	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
	456,365	5044,017	1,57121E-06			76,81	14,81
		0,005044					
	<i>ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΚΗΡΟ</i>	☐ ascorbic acid (μmole/L	mole ascorbic at 0,3115 ml	βάρος ιστού (g)	mole ascorbic / βάρος ιστού (g)	mole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	
Γ2 Δ1	556,232	6148,152	1,91515E-06	0,0185	0,000103522	103,5216	
Γ2 Δ2	516,784	5712,015	1,77929E-06	0,0181	9,83035E-05	98,3035	
B5 Δ1	649,522	7179,566	2,23643E-06	0,0148	0,00015111	151,1105	
B5 Δ2	382,224	4224,319	1,31588E-06	0,0158	8,32833E-05	83,2833	
A4 Δ1	400,375	4424,997	1,37839E-06	0,0215	6,4111E-05	64,1110	
A4 Δ2	419,667	4638,289	1,44483E-06	0,0205	7,04794E-05	70,4794	
A5 Δ1	552,973	6112,120	1,90393E-06	0,0221	8,61505E-05	86,1505	
A5 Δ2	484,208	5351,854	1,6671E-06	0,0227	7,34406E-05	73,4406	
B4 Δ1	481,551	5322,479	1,65795E-06	0,024	6,90813E-05	69,0813	
B4 Δ2	660,416	7300,010	2,27395E-06	0,0243	9,35783E-05	93,5783	
Γ3 Δ1	317,853	3512,633	1,09419E-06	0,0187	5,85126E-05	58,5126	
Γ3 Δ2	434,669	4804,151	1,49649E-06	0,0187	8,00264E-05	80,0264	
							ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
						85,97	24,71
	<i>ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΒΑΣΙΛΙΚΟ ΠΟΛΑΤΟ</i>	☐ ascorbic acid (μmole/L	mole ascorbic at 0,3115 ml	βάρος ιστού (g)	mole ascorbic / βάρος ιστού (g)	mole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	
Γ4 Δ1	547,664	6053,424	1,88564E-06	0,0193	9,77016E-05	97,7016	
Γ4 Δ2	497,878	5502,990	1,71418E-06	0,0187	9,16675E-05	91,6675	
A7 Δ1	531,923	5879,391	1,83143E-06	0,0208	8,80495E-05	88,0495	
A7 Δ2	742,241	8204,667	2,55575E-06	0,0203	0,000125899	125,8992	
A6 Δ1	317,027	3503,501	1,09134E-06	0,0178	6,13113E-05	61,3113	
Γ5 Δ1	483,705	5346,293	1,66537E-06	0,0215	7,74591E-05	77,4591	
Γ5 Δ2	410,766	4539,880	1,41417E-06	0,0234	6,04347E-05	60,4347	
Γ6 Δ1	343,213	3793,014	1,18152E-06	0,0181	6,52776E-05	65,2776	
Γ6 Δ2	474,396	5243,373	1,63331E-06	0,0187	8,73428E-05	87,3428	
Γ7 Δ1	527,518	5830,690	1,81626E-06	0,019	9,55926E-05	95,5926	
Γ7 Δ2	413,07	4565,353	1,42211E-06	0,0192	7,40681E-05	74,0681	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
						84,07	19,30
	<i>ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΚΟΥΚΟΥΛΙΑ</i>	☐ ascorbic acid (μmole/L	mole ascorbic at 0,3115 ml	βάρος ιστού (g)	mole ascorbic / βάρος ιστού (g)	mole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	
Γ9 Δ1	545,416	6028,570	1,8779E-06	0,0217	8,65391E-05	86,5391	
Γ9 Δ2	511,761	5656,480	1,76199E-06	0,0213	8,27227E-05	82,7227	
Γ10 Δ1	517,782	5723,048	1,78273E-06	0,0189	9,43243E-05	94,3243	
Γ10 Δ2	498,159	5506,097	1,71515E-06	0,0208	8,24591E-05	82,4591	
A8 Δ1	127,617	1409,384	4,39023E-07	0,02	2,19512E-05	21,9512	
A8 Δ2	287,381	3175,735	9,89241E-07	0,027	3,66386E-05	36,6386	
A10 Δ1	508,537	5620,836	1,75089E-06	0,0218	8,03161E-05	80,3161	
A10 Δ2	489,055	5405,443	1,6838E-06	0,021	8,01807E-05	80,1807	
A9 Δ2	301,658	3333,582	1,03841E-06	0,0247	4,20409E-05	42,0409	
Γ8 Δ1	310,317	3429,315	1,06823E-06	0,027	3,95641E-05	39,5641	
Γ8 Δ2	170,375	1882,117	5,86279E-07	0,0226	2,59416E-05	25,9416	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
						61,15	27,57

~ 141 ~

	<i>MARTYPEΣ</i>	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (g)	mole gsh / βάρος ιστού (g)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
A1 Δ1	92,67	81,174	2,52857E-08	0,023	1,09938E-06	1,0994	
A2 Δ1	69,791	74,361	2,31634E-08	0,0201	1,15241E-06	1,1524	
A2 Δ2	60,148	71,489	2,22688E-08	0,0209	1,0655E-06	1,0655	
B1 Δ1	55,924	70,231	2,1877E-08	0,0204	1,0724E-06	1,0724	
B2 Δ1	59,067	71,167	2,21686E-08	0,0201	1,10291E-06	1,1029	
B3 Δ1	56,788	70,488	2,19572E-08	0,0181	1,2131E-06	1,2131	
Γ1 Δ1	59,217	71,212	2,21825E-08	0,0229	9,68667E-07	0,9687	
Γ1 Δ2	52,881	69,325	2,15947E-08	0,0232	9,30807E-07	0,9308	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
						1,08	0,09
	<i>ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΚΗΡΟ</i>	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (g)	mole gsh / βάρος ιστού (g)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
Γ2 Δ1	80,263	77,479	2,41348E-08	0,0185	1,30458E-06	1,3046	
B5 Δ1	80,397	77,519	2,41472E-08	0,0148	1,63157E-06	1,6316	
B5 Δ2	62,564	72,209	2,2493E-08	0,0158	1,42361E-06	1,4236	
A4 Δ2	80,637	77,591	2,41695E-08	0,0205	1,179E-06	1,1790	
A5 Δ1	75,867	76,170	2,3727E-08	0,0221	1,07362E-06	1,0736	
B4 Δ1	59,808	71,388	2,22373E-08	0,024	9,26554E-07	0,9266	
Γ3 Δ1	65,253	73,009	2,27424E-08	0,0187	1,21617E-06	1,2162	
							ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
						1,25	0,23
	<i>ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΒΑΣΙΛΙΚΟ ΠΟΛΤΟ</i>	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (g)	mole gsh / βάρος ιστού (g)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
A7 Δ1	69,436	74,255	2,31304E-08	0,0208	1,11204E-06	1,1120	
A6 Δ1	17,281	58,723	1,82923E-08	0,0178	1,02766E-06	1,0277	
Γ5 Δ1	80,682	77,604	2,41737E-08	0,0215	1,12436E-06	1,1244	
Γ6 Δ1	73,57	75,486	2,35139E-08	0,0181	1,29911E-06	1,2991	
Γ7 Δ1	94,709	81,781	2,54749E-08	0,019	1,34078E-06	1,3408	
							ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
						1,18	0,13
	<i>ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΚΟΥΚΟΥΛΙΑ</i>	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (g)	mole gsh / βάρος ιστού (g)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
Γ9 Δ1	70,219	74,488	2,32031E-08	0,0217	1,06927E-06	1,0693	
Γ9 Δ2	66,237	73,302	2,28337E-08	0,0213	1,072E-06	1,0720	
Γ10 Δ2	41,602	65,966	2,05484E-08	0,0208	9,87905E-07	0,9879	
A8 Δ1	24,666	60,923	1,89774E-08	0,02	9,48868E-07	0,9489	
A8 Δ2	48,793	68,108	2,12155E-08	0,027	7,85759E-07	0,7858	
A10 Δ1	60,658	71,641	2,23162E-08	0,0218	1,02368E-06		
Γ8 Δ1	45,452	67,113	2,09056E-08	0,027	7,74281E-07		ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
						0,97	0,12

Anova: Single Factor	ASCORBIC ACID					
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
ΜΑΡΤΥΡΕΣ	14	1075,383963	76,81314019	219,4441		
ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΚΗΡΟ	12	1031,598841	85,96657009	610,7103		
ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΒΑΣΙΛΙΚΟ ΠΟΛΤΟ	11	924,8039912	84,07309011	372,6028		
ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΚΟΥΚΟΥΛΙΑ	11	672,6784223	61,15258384	760,221		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	4276,649697	3	1425,549899	3,001327	0,040519	2,816466
Within Groups	20898,82355	44	474,9732625			
Total	25175,47324	47				

a/b	0,28
a/c	0,32
a/d	0,11
b/c	0,84
b/d	0,03
c/d	0,04

Anova: Single Factor	URIC ACID					
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
ΜΑΡΤΥΡΕΣ	14	597,8968011	42,70691437	160,326615		
ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΚΗΡΟ	12	594,8703039	49,57252533	165,8066956		
ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΒΑΣΙΛΙΚΟ ΠΟΛΤΟ	12	613,9279129	51,16065941	321,1464223		
ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΚΟΥΚΟΥΛΙΑ	11	573,0056129	52,09141935	341,8257188		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	710,2629654	3	236,7543218	0,981117669	0,410128	2,811544
Within Groups	10858,98748	45	241,3108329			
Total	11569,25044	48				

Anova: Single Factor	GSH					
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
ΜΑΡΤΥΡΕΣ	8	8,6051752	1,0756469	0,008376		
ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΚΗΡΟ	7	8,755106756	1,250729537	0,053437		
ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΒΑΣΙΛΙΚΟ ΠΟΛΤΟ	5	5,903951091	1,180790218	0,01774		
ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΚΟΥΚΟΥΛΙΑ	5	4,863803907	0,972760781	0,013733		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	0,261587514	3	0,087195838	3,624937	0,02982	3,072467
Within Groups	0,505143299	21	0,024054443			
Total	0,766730813	24				

a/b	0,10
a/c	0,17
a/d	0,14
b/c	0,52
b/d	0,02
c/d	0,03

Επίδραση και σύγκριση σκευασμάτων με τρετινοΐνη, γαλακτικό οξύ, επιδερμικό
αυξητικό παράγοντα και σαλικυλικό οξύ στη φωτογήρανση του δέρματος

• Ιστοί δερμάτων

	<i>ΒΑΣΗ & ΥΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟ ΟΞΥ</i>	C ascorbic acid (μmole/L)	mole ascorbic at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	nmole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	
1,1	195,471	2159,578	6,72709E-07	20	3,36354E-08	33,6354	
1,2	271,202	2996,860	9,33522E-07	19,4	4,81197E-08	48,1197	
1,3	253,417	2800,229	8,72271E-07	18,4	4,74061E-08	47,4061	
1,4	194,682	2150,855	6,69991E-07	20,1	3,33329E-08	33,3329	
1,5	140,497	1551,786	4,83381E-07	15,9	3,04013E-08	30,4013	
1,6	176,857	1953,782	6,08603E-07	20,1	3,02788E-08	30,2788	
1,7	187,303	2069,273	6,44578E-07	18,9	3,41047E-08	34,1047	
1,8	173,608	1917,861	5,97414E-07	19,8	3,01724E-08	30,1724	
1,9	105,162	1161,122	3,61689E-07	20,2	1,79054E-08	17,9054	
1,10,	168,304	1859,220	5,79147E-07	19,5	2,96998E-08	29,6998	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
average	186,650	2062,056	6,42331E-07			33,51	8,80
	<i>& ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΟΣ ΑΥΞΗΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ</i>	C ascorbic acid (μmole/L)	mole ascorbic at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	nmole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	
2,1	113,596	1254,368	3,90736E-07	19	2,0565E-08	20,5650	
2,2	88,249	974,132	3,03442E-07	19,4	1,56413E-08	15,6413	
2,3	187,599	2072,545	6,45598E-07	19,5	3,31076E-08	33,1076	
2,4	174,694	1929,868	6,01154E-07	18,8	3,19763E-08	31,9763	
2,5	219,986	2430,616	7,57137E-07	19	3,98493E-08	39,8493	
2,6	204,78	2262,498	7,04768E-07	20,2	3,48895E-08	34,8895	
2,8	179,659	1984,761	6,18253E-07	19,1	3,23693E-08	32,3693	
2,9	194,339	2147,063	6,6881E-07	17,3	3,86595E-08	38,6595	
2,10,	62,237	686,543	2,13858E-07	20,3	1,05349E-08	10,5349	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
average	158,349	1749,155	5,44862E-07			28,62	10,44
	<i>& ΣΑΛΙΚΥΛΙΚΟ ΟΞΥ</i>	C ascorbic acid (μmole/L)	mole ascorbic at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	nmole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	
3,1	147,314	1627,154	5,06859E-07	19,2	2,63989E-08	26,3989	
3,2	90,363	997,504	3,10723E-07	16,9	1,83859E-08	18,3859	
3,3	135,657	1498,274	4,66713E-07	19,9	2,34529E-08	23,4529	
3,4	147,076	1624,523	5,06039E-07	20	2,53019E-08	25,3019	
3,5	81,515	899,681	2,8025E-07	19,8	1,41541E-08	14,1541	
3,6	129,397	1429,064	4,45153E-07	19,7	2,25966E-08	22,5966	
3,7	146,054	1613,224	5,02519E-07	19,6	2,56387E-08	25,6387	
3,8	155,713	1720,014	5,35784E-07	18,8	2,84992E-08	28,4992	
3,9	135,869	1500,618	4,67443E-07	20,3	2,30267E-08	23,0267	
3,10,	148,268	1637,702	5,10144E-07	15,5	3,29125E-08	32,9125	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
average	131,723	1454,776	4,84981E-07			24,04	5,18
	<i>& TPETINOINH</i>	C ascorbic acid (μmole/L)	mole ascorbic at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	nmole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	
4,1	169,869	1876,522	5,84537E-07	19,5	2,99762E-08	29,9762	
4,2	103,71	1145,068	3,56689E-07	17	2,09817E-08	20,9817	
4,3	201,591	2227,241	6,93786E-07	19,4	3,57621E-08	35,7621	
4,4	208,491	2303,527	7,17549E-07	18,1	3,96436E-08	39,6436	
4,5	175,67	1940,658	6,04515E-07	17,1	3,53518E-08	35,3518	
4,6	111,393	1230,012	3,83149E-07	19,8	1,93509E-08	19,3509	
4,7	188,248	2079,721	6,47833E-07	17,3	3,7447E-08	37,4470	
4,8	208,491	2303,527	7,17549E-07	17,7	4,05395E-08	40,5395	
4,9	212,069	2343,086	7,29871E-07	20,5	3,56035E-08	35,6035	
4,10,	136,93	1512,349	4,71097E-07	18,1	2,60274E-08	26,0274	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
average	171,646	1896,171	5,90657E-07			32,07	7,60
	<i>& ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ</i>	C ascorbic acid (μmole/L)	mole ascorbic at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	nmole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	
5,1	109,07	1204,329	3,75148E-07	15	2,50099E-08	25,0099	
5,2	111,289	1228,862	3,8279E-07	18,9	2,02535E-08	20,2535	
5,3	185,993	2054,789	6,40067E-07	20,1	3,18441E-08	31,8441	
5,4	145,639	1608,635	5,0109E-07	18,5	2,70859E-08	27,0859	
5,5	145,49	1606,988	5,00577E-07	19,6	2,55396E-08	25,5396	
5,6	110,083	1215,528	3,78637E-07	17	2,22728E-08	22,2728	
5,7	153,836	1699,262	5,2932E-07	19,2	2,75687E-08	27,5687	
5,8	159,365	1760,390	5,48362E-07	19,6	2,79776E-08	27,9776	
5,9	160,66	1774,708	5,52821E-07	19,1	2,89435E-08	28,9435	
5,10,	152,805	1687,863	5,25769E-07	19,5	2,69625E-08	26,9625	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
average	143,423	1584,135	5,1343E-07			26,35	3,30

	<i>ΒΑΣΗ & ΥΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟ ΟΞΥ</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
1,1	154,261	806,468	2,51215E-07	20	1,25607E-08	12,5607	
1,2	271,998	1422,386	4,43073E-07	19,4	2,28388E-08	22,8388	
1,3	232,526	1215,896	3,78752E-07	18,4	2,05843E-08	20,5843	
1,4	194,235	1015,584	3,16355E-07	20,1	1,5739E-08	15,7390	
1,5	140,102	732,398	2,28142E-07	15,9	1,43486E-08	14,3486	
1,6	143,646	750,938	2,33917E-07	20,1	1,16377E-08	11,6377	
1,7	167,722	876,887	2,7315E-07	18,9	1,44524E-08	14,4524	
1,8	128,283	670,570	2,08882E-07	19,8	1,05496E-08	10,5496	
1,9	130,534	682,345	2,12551E-07	20,2	1,05223E-08	10,5223	ΓΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
1,10,	147,472	770,953	2,40152E-07	19,5	1,23155E-08	12,3155	4,17
	171,078	894,443				14,55	
	<i>& ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΟΣ ΑΥΣΗΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
2,1	135,698	709,360	2,20966E-07	19	1,16298E-08	11,6298	
2,2	120,364	629,143	1,95978E-07	19,4	1,0102E-08	10,1020	
2,3	136,474	713,419	2,2223E-07	19,5	1,13964E-08	11,3964	
2,4	110,619	578,164	1,80098E-07	18,8	9,57969E-09	9,5797	
2,5	177,348	927,243	2,88836E-07	19	1,52019E-08	15,2019	
2,6	161,91	846,483	2,63679E-07	20,2	1,30534E-08	13,0534	
2,8	138,06	721,716	2,24815E-07	19,1	1,17704E-08	11,7704	
2,9	158,824	830,339	2,58651E-07	17,3	1,49509E-08	14,9509	
2,10,	56,707	296,134	9,22458E-08	20,3	4,54413E-09	4,5441	ΓΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
	132,889	694,667				11,36	3,20
	<i>& ΣΑΛΙΚΥΛΙΚΟ ΟΞΥ</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
3,1	119,814	626,266	1,95082E-07	19,2	1,01605E-08	10,1605	
3,2	84,801	443,102	1,38026E-07	16,9	8,16724E-09	8,1672	
3,3	143,813	751,812	2,34189E-07	19,9	1,17683E-08	11,7683	
3,4	140,956	736,866	2,29534E-07	20	1,14767E-08	11,4767	
3,5	92,966	485,816	1,51332E-07	19,8	7,64301E-09	7,6430	
3,6	129,006	674,352	2,10061E-07	19,7	1,0663E-08	10,6630	
3,7	103,229	539,505	1,68056E-07	19,6	8,57427E-09	8,5743	
3,8	149,308	780,558	2,43144E-07	18,8	1,29332E-08	12,9332	
3,9	112,766	589,396	1,83597E-07	20,3	9,04418E-09	9,0442	ΓΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
3,10,	136,304	712,530	2,21953E-07	15,5	1,43196E-08	14,3196	2,18
	121,296					10,47	
	<i>& ΤΡΕΤΙΝΟΙΝΗ</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
4,1	152,387	796,665	2,48161E-07	19,5	1,27262E-08	12,7262	
4,2	101,621	531,093	1,65435E-07	17	9,7315E-09	9,7315	
4,3	189,664	991,672	3,08906E-07	19,4	1,5923E-08	15,9230	
4,4	143,78	751,639	2,34136E-07	18,1	1,29357E-08	12,9357	
4,5	164,51	860,084	2,67916E-07	17,1	1,56676E-08	15,6676	
4,6	128,85	673,536	2,09806E-07	19,8	1,05963E-08	10,5963	
4,7	131,293	686,316	2,13787E-07	17,3	1,23577E-08	12,3577	
4,8	143,78	751,639	2,34136E-07	17,7	1,3228E-08	13,2280	
4,9	183,998	962,032	2,99673E-07	20,5	1,46182E-08	14,6182	ΓΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
4,10,	133,393	697,302	2,34136E-07	18,1	1,29357E-08	12,9357	1,98
	147,328					13,07	
	<i>& ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
5,1	111,379	582,140	1,81337E-07	15	1,20891E-08	12,0891	
5,2	104,482	546,060	1,70098E-07	18,9	8,99987E-09	8,9999	
5,3	136,021	711,050	2,21492E-07	20,1	1,10195E-08	11,0195	
5,4	122,089	638,167	1,98789E-07	18,5	1,07454E-08	10,7454	
5,5	126,931	663,497	2,06679E-07	19,6	1,05449E-08	10,5449	
5,6	124,299	649,728	2,0239E-07	17	1,19053E-08	11,9053	
5,7	156,081	815,989	2,54181E-07	19,2	1,32386E-08	13,2386	
5,8	147,067	768,834	2,39492E-07	19,6	1,2219E-08	12,2190	
5,9	160,532	839,274	2,61434E-07	19,1	1,36876E-08	13,6876	ΓΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
5,10,	135,546	708,565	2,06679E-07	19,5	1,05989E-08	10,5989	1,40
	132,443					11,50	

	<i>ΒΑΣΗ & ΥΑΛΟΥΠΟΝΙΚΟ ΟΞΥ</i>	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
1,5	30,49	62,657	1,95176E-08	15,9	1,22752E-09	1,2275	
1,6	22,584	60,303	1,87842E-08	20,1	9,34539E-10	0,9345	
1,7	13,821	57,693	1,79713E-08	18,9	9,50864E-10	0,9509	
1,8	2,707	54,383	1,69403E-08	19,8	8,55573E-10	0,8556	
1,9	1,214	53,939	1,68019E-08	20,2	8,31775E-10	0,8318	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
1,10,	25,896	61,289	1,90915E-08	19,5	9,7905E-10	0,9790	0,14
average	16,119					0,96	
	<i>& ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΟΣ ΑΥΣΗΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ</i>	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
2,1	22,97	60,417	1,882E-08	19	9,90528E-10	0,9905	
2,4	3,498	54,619	1,70137E-08	18,8	9,04985E-10	0,9050	
2,5	2,194	54,230	1,68928E-08	19	8,89093E-10	0,8891	
2,6	31,779	63,041	1,96372E-08	20,2	9,72139E-10	0,9721	
2,8	26,452	61,454	1,9143E-08	19,1	1,00225E-09	1,0023	
2,9	9,25	56,332	1,75473E-08	17,3	1,0143E-09	1,0143	
2,10,	17,539	58,800	1,83162E-08	20,3	9,02278E-10	0,9023	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
average	16,240					0,95	0,05
	<i>& ΣΑΛΙΚΥΛΙΚΟ ΟΞΥ</i>	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
3,1	13,717	57,662	1,79617E-08	19,2	9,35505E-10	0,9355	
3,4	18,748	59,160	1,84284E-08	20	9,21419E-10	0,9214	
3,5	3,702	54,679	1,70327E-08	19,8	8,60235E-10	0,8602	
3,6	22,461	60,266	1,87728E-08	19,7	9,52935E-10	0,9529	
3,8	16,525	58,498	1,82222E-08	18,8	9,69264E-10	0,9693	
3,9	29,053	62,229	1,93843E-08	20,3	9,54893E-10	0,9549	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
3,10,	32,468	63,246	1,97011E-08	15,5	1,27104E-09	1,2710	0,13
average	19,525					0,98	
	<i>& TPETINOINΗ</i>	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
4,1	38,779	65,125	2,02866E-08	19,5	1,04034E-09	1,0403	
4,2	20,832	59,781	1,86217E-08	17	1,09539E-09	1,0954	
4,3	30,18	62,565	1,94889E-08	19,4	1,00458E-09	1,0046	
4,4	1,995	54,171	1,68743E-08	18,1	9,32282E-10	0,9323	
4,5	25,34	61,123	1,90399E-08	17,1	1,11344E-09	1,1134	
4,6	11,318	56,948	1,77391E-08	19,8	8,95916E-10	0,8959	
4,7	33,635	63,594	1,98094E-08	17,3	1,14505E-09	1,1451	
average	23,154					1,03	0,09
	<i>& ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ</i>	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
5,2	11,07	56,874	1,77161E-08	18,9	9,37362E-10	0,9374	
5,7	16,623	58,527	1,82313E-08	19,2	9,49545E-10	0,9495	
5,8	23,423	60,552	1,88621E-08	19,6	9,6235E-10	0,9624	
5,9	27,57	61,787	1,92468E-08	19,1	1,00768E-09	1,0077	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
5,10,	23,631	60,614	1,88814E-08	19,5	9,68275E-10	0,9683	0,03
average	20,463					0,97	

Anova: Single Factor	ASCORBIC ACID					
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
ΒΑΣΗ & ΥΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟ ΟΞΥ	10	335,0564999	33,50564999	77,35647589		
& ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΟΣ ΑΥΞΗΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	9	257,5927312	28,62141457	109,0069888		
& ΣΑΛΙΚΥΛΙΚΟ ΟΞΥ	10	240,3674978	24,03674978	26,83035865		
& ΤΡΕΤΙΝΟΙΝΗ	10	320,6837288	32,06837288	57,83462536		
& ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ	10	263,4582577	26,34582577	10,9118977		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	614,9316856	4	153,7329214	2,785411053	0,038	2,5837
Within Groups	2428,456129	44	55,19218475			
Total	3043,387814	48				

α/β	0,29
α/γ	0,01
α/δ	0,70
α/ε	0,03
β/γ	0,26
β/δ	0,43
β/ε	0,55
γ/δ	0,01
γ/ε	0,25
δ/ε	0,05

Anova: Single Factor	URIC ACID					
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
ΒΑΣΗ & ΥΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟ ΟΞΥ	10	145,5489782	14,55489782	17,35984869		
& ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΟΣ ΑΥΞΗΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	9	102,228606	11,35873401	10,24667017		
& ΣΑΛΙΚΥΛΙΚΟ ΟΞΥ	10	104,7499242	10,47499242	4,737715518		
& ΤΡΕΤΙΝΟΙΝΗ	10	130,7197719	13,07197719	3,915057693		
& ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ	10	115,048138	11,5048138	1,956848424		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	104,0127768	4	26,00319421	3,428664564	0,0159	2,5837
Within Groups	333,6985942	44	7,58405896			
Total	437,7113711	48				

α/β	0,08
α/γ	0,02
α/δ	0,33
α/ε	0,06
β/γ	0,50
β/δ	0,19
β/ε	0,90
γ/δ	0,01
γ/ε	0,23
δ/ε	0,06

Anova: Single Factor	GSH					
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
ΒΑΣΗ & ΥΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟ ΟΞΥ	6	5,779325121	0,963220853	0,019989619		
& ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΟΣ ΑΥΞΗΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	7	6,675572176	0,953653168	0,002819508		
& ΣΑΛΙΚΥΛΙΚΟ ΟΞΥ	7	6,865291587	0,980755941	0,0176556		
& ΤΡΕΤΙΝΟΙΝΗ	7	7,227005122	1,032429303	0,008785817		
& ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ	6	5,793490284	0,965581714	0,000570211		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	0,027041458	4	0,006760364	0,680007939	0,6116	2,7141
Within Groups	0,278364699	28	0,009941596			
Total	0,305406157	32				

- Stripping δερμάτων

	<i>ΒΑΣΗ & ΥΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟ ΟΞΥ</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
1,1	7,403	38,210	1,19025E-08	0,6	1,98375E-08	19,8375	
1,2	7,22	37,253	1,16043E-08	0,7	1,65775E-08	16,5775	
1,3	15,261	79,318	2,47075E-08	1	2,47075E-08	24,7075	
1,4	10,604	54,956	1,71187E-08	1	1,71187E-08	17,1187	
1,5	8,389	43,368	1,35092E-08	0,9	1,50102E-08	15,0102	
1,6	9,519	49,280	1,53506E-08	0,8	1,91883E-08	19,1883	
1,7	6,423	33,084	1,03055E-08	0,6	1,71759E-08	17,1759	
1,9	3,473	17,651	5,49835E-09	0,7	7,85479E-09	7,8548	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
1,10,	7,155	36,913	1,14984E-08	0,4	2,87459E-08	28,7459	5,90
average	8,383	43,337				18,47	
	<i>& ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΟΣ ΑΥΣΗΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
2,2	10,999	57,022	1,77623E-08	0,6	2,96039E-08	29,6039	
2,3	6,832	35,223	1,0972E-08	1	1,0972E-08	10,9720	
2,4	10,701	55,463	1,72767E-08	0,6	2,87946E-08	28,7946	
2,6	7,962	41,135	1,28134E-08	0,7	1,83049E-08	18,3049	
2,7	2,611	13,142	4,09368E-09	0,7	5,84811E-09	5,8481	
2,8	9,93	51,430	1,60204E-08	0,9	1,78004E-08	17,8004	
2,9	5,826	29,960	9,33268E-09	0,9	1,03696E-08	10,3696	
2,10,	9,318	48,228	1,50231E-08	0,7	2,14615E-08	21,4615	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
average	8,022	41,450				17,89	8,61
	<i>& ΣΑΛΙΚΥΛΙΚΟ ΟΞΥ</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
3,1	3,341	16,961	5,28325E-09	0,5	1,05665E-08	10,5665	
3,2	7,406	38,226	1,19074E-08	0,9	1,32304E-08	13,2304	
3,3	5,845	30,060	9,36364E-09	0,6	1,56061E-08	15,6061	
3,5	8,757	45,293	1,41089E-08	1,1	1,28263E-08	12,8263	
3,6	3,087	15,632	4,86934E-09	1	4,86934E-09	4,8693	
3,7	15,691	81,567	2,54082E-08	1	2,54082E-08	25,4082	
3,8	11,338	58,795	1,83148E-08	0,9	2,03497E-08	20,3497	
3,9	2,927	14,795	4,60862E-09	0,8	5,76077E-09	5,7608	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
3,10,	8,948	46,293	1,44201E-08	0,5	2,88403E-08	28,8403	8,24
average	7,482					15,27	
	<i>& TPETINOINH</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
4,2	4,239	21,658	6,74659E-09	0,7	9,63798E-09	9,6380	
4,3	3,101	15,705	4,89216E-09	0,5	9,78432E-09	9,7843	
4,4	8,149	42,113	1,31181E-08	0,6	2,18635E-08	21,8635	
4,5	15,38	79,940	2,49014E-08	0,9	2,76682E-08	27,6682	
4,6	19,567	101,844	3,17243E-08	0,8	3,96554E-08	39,6554	
4,7	14,93	77,586	2,41681E-08	1	2,41681E-08	24,1681	
4,8	12,424	64,477	2,00845E-08	0,8	2,51056E-08	25,1056	
4,9	18,808	97,873	3,04875E-08	1,2	2,54062E-08	25,4062	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
4,10,	10,208	52,884	2,21263E-08	0,8	2,76578E-08	27,6578	9,25
average	11,867					23,44	
	<i>& ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
5,1	21,286	110,836	3,45255E-08	0,8	4,31569E-08	43,1569	
5,2	14,81	76,958	2,39726E-08	0,6	3,99543E-08	39,9543	
5,3	14,416	74,897	2,33305E-08	1,1	2,12096E-08	21,2096	
5,4	19,622	102,131	3,1814E-08	0,7	4,54485E-08	45,4485	
5,5	15,222	79,114	2,46439E-08	0,5	4,92879E-08	49,2879	
5,6	15,521	80,678	2,51312E-08	0,9	2,79235E-08	27,9235	
5,7	18,442	95,959	2,98911E-08	0,6	4,98185E-08	49,8185	
5,8	17,763	92,406	2,87846E-08	1	2,87846E-08	28,7846	
5,9	20,665	107,588	3,35136E-08	0,6	5,5856E-08	55,8560	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
5,10,	13,249	68,792	2,87846E-08	1,2	2,39872E-08	23,9872	12,17
average	17,100					38,54	

	ΒΑΣΗ & ΥΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟ ΟΞΥ	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
1,1	10,06	56,573	1,76224E-08	0,6	2,9371E-08	29,3707	
1,2	12,363	57,259	1,78361E-08	0,7	2,5480E-08	25,4801	
1,3	15,048	58,058	1,80852E-08	1	1,8085E-08	18,0852	
1,4	5,972	55,355	1,72432E-08	1	1,7243E-08	17,2432	
1,5	7,474	55,803	1,73826E-08	0,9	1,9314E-08	19,3140	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
1,6	7,118	55,697	1,73495E-08	0,8	2,1687E-08	21,6869	8,28
1,7	12,740	57,371	1,78711E-08	0,6	2,9785E-08	29,7851	
1,9	7,106	55,693	1,73484E-08	0,7	2,4783E-08	24,7835	
1,10,	9,402	56,377	1,75614E-08	0,4	4,3904E-08	43,9035	
						24,78	
	& ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΟΣ ΑΥΞΗΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
2,2	7,942	55,942	1,7426E-08	0,6	2,90433E-08	29,0433	
2,3	9,346	56,360	1,75562E-08	1	1,75562E-08	17,5562	
2,4	13,328	57,546	1,79256E-08	0,6	2,9876E-08	29,8760	
2,6	7,255	55,738	1,73622E-08	0,7	2,48032E-08	24,8032	
2,7	5,016	55,071	1,71545E-08	0,7	2,45065E-08	24,5065	
2,8	10,667	56,754	1,76788E-08	0,9	1,96431E-08	19,6431	
2,9	12,283	57,235	1,78287E-08	0,9	1,98096E-08	19,8096	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
2,10,	14,285	57,831	1,80144E-08	0,7	2,57348E-08	25,7348	4,50
						24,65	
	& ΣΑΛΙΚΥΛΙΚΟ ΟΞΥ	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
3,1	9,958	56,542	1,7613E-08	0,5	3,5226E-08	35,2260	
3,2	4,513	54,921	1,71079E-08	0,9	1,90088E-08	19,0088	
3,3	11,325	56,950	1,77398E-08	0,6	2,95663E-08	29,5663	
3,5	10,527	56,712	1,76658E-08	1,1	1,60598E-08	16,0598	
3,6	8,333	56,059	1,74622E-08	1	1,74622E-08	17,4622	
3,7	9,169	56,308	1,75398E-08	1	1,75398E-08	17,5398	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
3,8	10,555	56,720	1,76684E-08	0,9	1,96315E-08	19,6315	7,63
3,9	9,241	56,329	1,75465E-08	0,8	2,19331E-08	21,9331	
3,10,	7,36	55,769	1,7372E-08	0,5	3,4744E-08	34,7440	
						19,63	
	& ΤΡΕΤΙΝΟΙΝΗ	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
4,2	7,124	55,699	1,73501E-08	0,7	2,47858E-08	24,7858	
4,3	4,849	55,021	1,71391E-08	0,5	3,42781E-08	34,2781	
4,4	8,044	55,973	1,74354E-08	0,6	2,90591E-08	29,0591	
4,5	4,787	55,003	1,71333E-08	0,9	1,9037E-08	19,0370	
4,6	8,593	56,136	1,74864E-08	0,8	2,1858E-08	21,8580	
4,7	8,02	55,965	1,74332E-08	1	1,74332E-08	17,4332	
4,8	6,775	55,595	1,73177E-08	0,8	2,16471E-08	21,6471	
4,9	10,573	56,726	1,767E-08	1,2	1,4725E-08	14,7250	5,91
4,10,	9,33	56,355	1,75547E-08	0,8	2,19434E-08	21,9434	
						21,86	
	& ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
5,1	11,568	57,022	1,77623E-08	0,8	2,22029E-08	22,2029	
5,2	8,613	56,142	1,74882E-08	0,6	2,9147E-08	29,1470	
5,3	10,822	56,800	1,76931E-08	1,1	1,60847E-08	16,0847	
5,4	12,497	57,299	1,78485E-08	0,7	2,54979E-08	25,4979	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ
5,5	14,597	57,924	1,80433E-08	0,5	3,60866E-08	36,0866	7,11
5,6	6,218	55,429	1,7266E-08	0,9	1,91845E-08	19,1845	
5,7	10,305	56,646	1,76452E-08	0,6	2,94086E-08	29,4086	
5,8	10,51	56,707	1,76642E-08	1	1,76642E-08	17,6642	
5,9	14,103	57,777	1,79975E-08	0,6	2,99958E-08	29,9958	
5,10,	10,607	56,736	1,76732E-08	1,2	1,47277E-08	14,7277	
						23,85	

Anova: Single Factor	URIC ACID					
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
ΒΑΣΗ & ΥΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟ ΟΞΥ	9	166,216204	18,46846711	34,82760261		
& ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΟΣ ΑΥΞΗΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ	8	143,1550133	17,89437666	74,06889374		
& ΣΑΛΙΚΥΛΙΚΟ ΟΞΥ	9	137,4575604	15,27306226	67,96319503		
& ΤΡΕΤΙΝΟΙΝΗ	9	210,9472366	23,43858184	85,65458409		
& ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ	10	385,4268459	38,54268459	148,1791018		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	3346,688696	4	836,672174	9,961399247	1,08845E-05	2,606
Within Groups	3359,657226	40	83,99143064			
Total	6706,345922	44				

α/β	0,88
α/γ	0,36
α/δ	0,20
α/ϵ	0,0003
β/γ	0,53
β/δ	0,22
β/ϵ	0,0006825
γ/δ	0,07
γ/ϵ	0,0002
δ/ϵ	0,007

Anova: Single Factor	GSH					
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
29,3707473	8	200,2814583	25,03518228	75,97114696		
29,04328791	7	161,9294326	23,13277609	18,53978316		
35,22597277	8	175,9454927	21,99318658	44,28429732		
24,7858446	8	179,9809114	22,49761392	40,18702519		
22,20292194	9	217,797022	24,19966911	56,45340033		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	49,9929544	4	12,4982386	0,259459017	0,90189	2,641465
Within Groups	1685,963188	35	48,1703768			
Total	1735,956142	39				

Η επίδραση της ακτινοβολίας σε φυσιολογικό και διαβητικό δέρμα

- Stripping δερμάτων μετά από 3 μήνες ακτινοβολήσης

	<i>MARTYPEΣ</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
1,1	9,053	46,842	1,45912E-08	8	1,8239E-09	1,8239	
5,2	8,467	43,776	1,36363E-08	8	1,70454E-09	1,7045	
6,1	7,040	36,311	1,1311E-08	5	2,26219E-09	2,2622	
8,1	1,750	8,638	2,69064E-09	4	6,72659E-10	0,6727	
8,2	7,691	39,717	1,23718E-08	7	1,7674E-09	1,7674	
8,3	16,483	85,710	2,66988E-08	7	3,81411E-09	3,8141	
9,4	6,621	34,119	1,06282E-08	7	1,51831E-09	1,5183	T.A
						1,94	0,96
	<i>MARTYPEΣ & ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΣΗ</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
1,2	26,16	136,334	4,2468E-08	15	2,8312E-09	2,8312	
5,5	34,876	181,930	5,66711E-08	12	4,72259E-09	4,7226	
6,2	23,08	120,221	3,74489E-08	12	3,12074E-09	3,1207	
7,2	36,089	188,275	5,86478E-08	9	6,51642E-09	6,5164	
8,6	17,278	89,869	2,79943E-08	11	2,54494E-09	2,5449	
8,7	18,735	97,491	3,03685E-08	17	1,78638E-09	1,7864	
8,8	14,624	75,985	2,36695E-08	9	2,62994E-09	2,6299	T.A
						3,45	1,62
	<i>ΔΙΑΒΗΤΙΚΑ</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
2.1	7,734	39,942	1,24419E-08	7	1,77741E-09	1,7774	
5,7	18,605	96,811	3,01567E-08	14	2,15405E-09	2,1541	
6,7	10,033	51,969	1,61882E-08	8	2,02352E-09	2,0235	
6,8	5,902	30,358	9,45653E-09	8	1,18207E-09	1,1821	
7,4	11,352	58,869	1,83376E-08	9	2,03751E-09	2,0375	
8.10	9,086	47,014	1,4645E-08	8	1,83063E-09	1,8306	
9,3	8,699	44,990	1,40144E-08	7	2,00205E-09	2,0021	T.A
						1,86	0,32
	<i>ΔΙΑΒΗΤΙΚΑ & ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΣΗ</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
1,3	2,114	10,542	3,28379E-09	11	2,98527E-10	0,2985	
5,6	38,574	201,275	6,26972E-08	13	4,82286E-09	4,8229	
6,3	27,348	142,548	4,44039E-08	18	2,46688E-09	2,4669	
8,4	25,1	130,789	4,07406E-08	13	3,13389E-09	3,1339	
8,5	20,525	106,855	3,32854E-08	16	2,08034E-09	2,0803	
8,9	35,356	184,441	5,74533E-08	14	4,10381E-09	4,1038	
9,5	36,756	191,765	5,97347E-08	11	5,43042E-09	5,4304	T.A
						3,19	1,76

	<i>MAPTYPES</i>	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
1,1	13,004	57,450	1,78955E-08	8	2,23694E-09	2,2369	
5,2	11,321	56,948	1,77394E-08	8	2,21743E-09	2,2174	
6,1	15,304	58,135	1,81089E-08	5	3,62178E-09	3,6218	
8,1	4,553	54,933	1,71116E-08	4	4,2779E-09	4,2779	
8,2	13,138	57,489	1,7908E-08	7	2,55828E-09	2,5583	
8,3	11,350	56,957	1,77421E-08	7	2,53459E-09	2,5346	
9,4	12,030	57,160	1,78052E-08	7	2,5436E-09	2,5436	T.A.
						2,86	0,78
	<i>MAPTYPES & AKTINOBOΛΗΣΗ</i>	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
1,2	10,346	56,658	1,7649E-08	15	1,1766E-09	1,1766	
5,5	14,258	57,823	1,80119E-08	12	1,50099E-09	1,5010	
6,2	10,2	56,615	1,76354E-08	12	1,46962E-09	1,4696	
7,2	8,567	56,128	1,7484E-08	9	1,94266E-09	1,9427	
8,6	13,327	57,546	1,79255E-08	11	1,62959E-09	1,6296	
8,7	12,419	57,275	1,78413E-08	17	1,04949E-09	1,0495	
8,8	11,912	57,124	1,77942E-08	9	1,97714E-09	1,9771	T.A.
						1,54	0,35
	<i>ΔΙΑΒΗΤΙΚΑ</i>	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
2.1	13,048	57,463	1,78996E-08	7	2,55709E-09	2,5571	
5,7	10,83	56,802	1,76939E-08	14	1,26385E-09	1,2638	
6,7	11,818	57,096	1,77855E-08	8	2,22319E-09	2,2232	
6,8	10,559	56,721	1,76687E-08	8	2,20859E-09	2,2086	
7,4	11,467	56,992	1,7753E-08	9	1,97255E-09	1,9726	
8.10	10,495	56,702	1,76628E-08	8	2,20785E-09	2,2079	
9,3	11,362	56,961	1,77432E-08	7	2,53475E-09	2,5347	T.A.
						2,14	0,44
	<i>ΔΙΑΒΗΤΙΚΑ & AKTINOBOΛΗΣΗ</i>	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
1,3	4,615	54,951	1,71173E-08	11	1,55612E-09	1,5561	
5,6	9,39	56,373	1,75603E-08	13	1,35079E-09	1,3508	
6,3	9,318	56,352	1,75536E-08	18	9,75201E-10	0,9752	
8,4	12,398	57,269	1,78393E-08	13	1,37226E-09	1,3723	
8,5	11,815	57,096	1,77853E-08	16	1,11158E-09	1,1116	
8,9	11,007	56,855	1,77103E-08	14	1,26502E-09	1,2650	
9,5	9,815	56,500	1,75997E-08	11	1,59997E-09	1,6000	T.A.
						1,32	0,22

Anova: Single Factor	URIC ACID					
SUMMARY						
<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>		
MARTYPEΣ	7	13,56311813	1,937588305	0,9165		
MARTYPEΣ & AKTINOBOΛHΣH	7	24,15221069	3,450315813	2,6288		
ΔΙΑΒΗΤΙΚΑ	7	13,0072387	1,858176957	0,1054		
ΔΙΑΒΗΤΙΚΑ & AKTINOBOΛHΣH	7	22,33673206	3,190961724	3,1065		
ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	14,42714266	3	4,809047552	2,8468	0,0588	3,0088
Within Groups	40,54266964	24	1,689277901			
Total	54,96981229	27				

Anova: Single Factor	GSH					
SUMMARY						
<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>		
MARTYPEΣ	7	19,99052082	2,855788688	0,6148		
MARTYPEΣ & AKTINOBOΛHΣH	7	10,74608665	1,535155236	0,1234		
ΔΙΑΒΗΤΙΚΑ	7	14,96787063	2,138267233	0,1903		
ΔΙΑΒΗΤΙΚΑ & AKTINOBOΛHΣH	7	9,230945481	1,318706497	0,0505		
ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	9,981659367	3	3,327219789	13,595	2,18366E-05	3,0088
Within Groups	5,873816848	24	0,244742369			
Total	15,85547621	27				

a/b	0,003
a/c	0,062
a/d	0,002
b/c	0,015
b/d	0,199
c/d	0,002

- **Stripping δερμάτων μετά από 5 μήνες ακτινοβολήσης**

	<i>MAPTYPES</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
1,1	16,166	84,052	2,61822E-08	7	3,74032E-09	3,7403	
5,2	20,763	108,100	3,36733E-08	6	5,61221E-09	5,6122	
6,1	4,484	22,940	7,14583E-09	7	1,02083E-09	1,0208	
8,1	13,779	71,565	2,22925E-08	7	3,18464E-09	3,1846	
8,2	30,702	160,094	4,98694E-08	6	8,31156E-09	8,3116	
8,3	7,008	36,144	1,12588E-08	7	1,6084E-09	1,6084	
9,4	5,825	29,955	9,33105E-09	8	1,16638E-09	1,1664	T.A.
						3,52	2,68
	<i>MAPTYPES & AKTINOBOΛHΣH</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
1,2	21,384	111,349	3,46852E-08	16	2,16783E-09	2,1678	
5,5	45,396	236,963	7,3814E-08	17	4,342E-09	4,3420	
6,2	54,536	284,777	8,87081E-08	16	5,54425E-09	5,5443	
7,2	37,37	194,977	6,07352E-08	18	3,37418E-09	3,3742	
8,6	38,46	200,679	6,25114E-08	15	4,16743E-09	4,1674	
8,7	50,71	264,762	8,24734E-08	24	3,43639E-09	3,4364	
8,8	33,837	176,494	5,4978E-08	22	2,499E-09	2,4990	T.A.
						3,65	1,15
	<i>ΔΙΑΒΗΤΙΚΑ</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
2,2	35,281	184,048	5,73311E-08	15	3,82207E-09	3,8221	
6,7	14,291	74,243	2,31268E-08	5	4,62536E-09	4,6254	
6,8	11,863	61,542	1,91703E-08	14	1,36931E-09	1,3693	
7,4	19,897	103,570	3,22621E-08	9	3,58468E-09	3,5847	
8.10	29,36	153,074	4,76825E-08	10	4,76825E-09	4,7683	
9,3	24,975	130,135	4,05369E-08	10	4,05369E-09	4,0537	T.A.
						3,70	1,23
	<i>ΔΙΑΒΗΤΙΚΑ & AKTINOBOΛHΣH</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
1,3	34,312	178,979	5,5752E-08	12	4,646E-09	4,6460	
5,6	28,221	147,115	4,58265E-08	18	2,54591E-09	2,5459	
6,3	44,533	232,448	7,24077E-08	28	2,58599E-09	2,5860	
8,4	43,648	227,819	7,09655E-08	22	3,22571E-09	3,2257	
8,5	39,628	206,789	6,44147E-08	27	2,38573E-09	2,3857	
8,9	46,481	242,639	7,5582E-08	19	3,978E-09	3,9780	
9,5	33,303	173,701	5,41078E-08	21	2,57656E-09	2,5766	T.A.
						3,13	0,87

	<i>ΜΑΡΤΥΡΕΣ</i>	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
5,2	9,501	56,406	1,75706E-08	6	2,92843E-09	2,9284	
6,1	12,283	57,235	1,78287E-08	7	2,54695E-09	2,5470	
8,1	9,417	56,381	1,75628E-08	7	2,50897E-09	2,5090	
8,2	9,924	56,532	1,76098E-08	6	2,93497E-09	2,9350	
9,4	9,527	56,414	1,7573E-08	8	2,19663E-09	2,1966	T.A.
						2,62	0,31
	<i>ΜΑΡΤΥΡΕΣ & ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΣΗ</i>	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
1,2	10,11	56,588	1,76271E-08	16	1,10169E-09	1,1017	
5,5	7,915	55,934	1,74235E-08	17	1,02491E-09	1,0249	
7,2	8,86	56,216	1,75111E-08	18	9,72841E-10	0,9728	
8,6	8,634	56,148	1,74902E-08	15	1,16601E-09	1,1660	
8,7	7,18	55,715	1,73553E-08	24	7,23137E-10	0,7231	
8,8	15,046	58,058	1,8085E-08	22	8,22044E-10	0,8220	T.A.
						0,97	0,17
	<i>ΔΙΑΒΗΤΙΚΑ</i>	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
2.1	9,077	56,280	1,75313E-08	15	1,16875E-09	1,1688	
6,7	10,686	56,759	1,76805E-08	5	3,5361E-09	3,5361	
6,8	10,033	56,565	1,76199E-08	14	1,25857E-09	1,2586	
7,4	9,85	56,510	1,7603E-08	9	1,95589E-09	1,9559	
8.10	6,51	55,516	1,72931E-08	10	1,72931E-09	1,7293	
9,3	10,608	56,736	1,76733E-08	10	1,76733E-09	1,7673	T.A.
						1,90	0,86
	<i>ΔΙΑΒΗΤΙΚΑ & ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΣΗ</i>	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
1,3	8,899	56,227	1,75147E-08	12	1,45956E-09	1,4596	
5,6	9,198	56,316	1,75425E-08	18	9,74583E-10	0,9746	
6,3	8,259	56,037	1,74554E-08	28	6,23406E-10	0,6234	
8,4	8,666	56,158	1,74931E-08	22	7,95142E-10	0,7951	
8,5	8,479	56,102	1,74758E-08	27	6,47251E-10	0,6473	
8,9	8,393	56,076	1,74678E-08	19	9,19358E-10	0,9194	
9,5	11,152	56,898	1,77237E-08	21	8,43988E-10	0,8440	T.A.
						0,89	0,28

Anova: Single Factor	URIC ACID					
SUMMARY						
<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>		
MARTYPEΣ	7	24,64434748	3,520621069	7,1562		
MARTYPEΣ & AKTINOBOΛHΣH	7	25,53107597	3,647296567	1,3297		
ΔΙΑΒΗΤΙΚΑ	6	22,22336106	3,70389351	1,5166		
ΔΙΑΒΗΤΙΚΑ & AKTINOBOΛHΣH	7	21,94390678	3,134843826	0,754		
ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	1,33674263	3	0,445580877	0,1626	0,9204	3,028
Within Groups	63,02157201	23	2,740068348			
Total	64,35831464	26				

Anova: Single Factor	GSH					
SUMMARY						
<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>		
MARTYPEΣ	5	13,11595339	2,623190677	0,0978		
MARTYPEΣ & AKTINOBOΛHΣH	6	5,810635614	0,968439269	0,0283		
ΔΙΑΒΗΤΙΚΑ	6	11,41594896	1,90265816	0,7346		
ΔΙΑΒΗΤΙΚΑ & AKTINOBOΛHΣH	7	6,263291522	0,894755932	0,0789		
ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	11,524879	3	3,841626234	16,421	1,28048E-05	3,0984
Within Groups	4,6789869	20	0,233949347			
Total	16,203866	23				

a/b	4,6E-05
a/c	1,0E-01
a/d	8,5E-06
b/c	4,4E-02
b/d	5,7E-01
c/d	3,3E-02

**Μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης νέων παραγώγων αντιφλεγμονωδών-
αντιοξειδωτικών μορίων**

- Για ιστούς δερμάτων

	MAPTYPES	C ascorbic acid (μmole/L)	mole ascorbic at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	nmole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	
7,1	112,135	1238,215	3,85704E-07	16,4	2,35185E-08	23,5185	
7,2	62,509	689,550	2,14795E-07	17,9	1,19997E-08	11,9997	
7,5	229,812	2539,252	7,90977E-07	22	3,59535E-08	35,9535	
4,1	43,461	478,956	1,49195E-07	20,5	7,27779E-09	7,2778	
4,2*	133,423	2947,151	9,18037E-07	23,8	3,8573E-08	38,5730	
4,5	44,922	495,108	1,54226E-07	15,7	9,82333E-09	9,8233	T.A.
						21,19	13,66
	EKAIOXO	C ascorbic acid (μmole/L)	mole ascorbic at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	nmole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	
3,5*	130,129	2874,314	8,95349E-07	20	4,47674E-08	44,7674	
3,6	102,194	1128,308	3,51468E-07	15	2,34312E-08	23,4312	
3,7	122,054	1347,880	4,19865E-07	22,3	1,8828E-08	18,8280	
7,3	236,499	2613,184	8,14007E-07	19	4,28425E-08	42,8425	
7,8	108,719	1200,448	3,7394E-07	22	1,69973E-08	16,9973	
7,9	118,6	1309,692	4,07969E-07	20,6	1,98043E-08	19,8043	T.A.
						27,78	12,60
	ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 0,1%	C ascorbic acid (μmole/L)	mole ascorbic at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	nmole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	
2,1	291,041	3216,200	1,00185E-06	23,3	4,29977E-08	42,9977	
2,2	384,894	4253,839	1,32507E-06	22,4	5,91549E-08	59,1549	
2,3	194,211	2145,648	6,68369E-07	18,3	3,65229E-08	36,5229	
6,4	116,903	1290,930	4,02125E-07	19,9	2,02073E-08	20,2073	
6,5	113,336	1251,494	3,8984E-07	22,4	1,74036E-08	17,4036	
6,7	220,233	2433,347	7,57988E-07	22,7	3,33915E-08	33,3915	T.A.
						34,95	15,37
	ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 1%	C ascorbic acid (μmole/L)	mole ascorbic at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	nmole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	
2,4	276,642	3057,005	9,52257E-07	22,4	4,24511E-08	42,5115	
2,5	265,958	2938,882	9,15462E-07	16,6	5,51483E-08	55,1483	
2,6	210,914	2330,316	7,25893E-07	18,1	4,01046E-08	40,1046	
6,1	167,194	1846,948	5,75324E-07	22,9	2,51233E-08	25,1233	
6,2	135,345	1494,825	4,65638E-07	17	2,73905E-08	27,3905	
6,3	112,91	1246,784	3,88373E-07	19,9	1,95162E-08	19,5162	T.A.
						34,97	13,29
	ΑΙΘΥΛΑΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 1%	C ascorbic acid (μmole/L)	mole ascorbic at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	nmole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	
5,3	249,144	2752,987	8,57555E-07	20,2	4,24532E-08	42,4532	
5,4	270,273	2986,589	9,30322E-07	21,5	4,32708E-08	43,2708	
5,6	195,888	2164,188	6,74145E-07	19,7	3,42205E-08	34,2205	
9,1	91,186	1006,603	3,13557E-07	14,8	2,11863E-08	21,1863	
9,2	84,12	928,481	2,89222E-07	15,8	1,83052E-08	18,3052	
9,5	107,473	1186,672	3,69648E-07	17,3	2,1367E-08	21,3670	T.A.
						30,13	11,29
	ΑΙΘΥΛΑΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 0,1%	C ascorbic acid (μmole/L)	mole ascorbic at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	nmole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	
1,3	99,455	1098,025	3,42035E-07	16	2,13772E-08	21,3772	
1,4	118,421	1307,713	4,07353E-07	15,4	2,64515E-08	26,4515	
1,6	222,091	2453,889	7,64386E-07	21,1	3,62268E-08	36,2268	
5,7	221,629	2448,781	7,62795E-07	20,8	3,66728E-08	36,6728	
5,8	217,77	2406,116	7,49505E-07	14,9	5,03024E-08	50,3024	
5,9	316,312	3495,596	1,08888E-06	18	6,04932E-08	60,4932	T.A.
						38,59	14,63
	ΕΝΩΣΗ ΑΚΙ 1 %	C ascorbic acid (μmole/L)	mole ascorbic at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	nmole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	
8,1	170,144	1879,563	5,85484E-07	22	2,66129E-08	26,6129	
8,2*	121,756	2689,170	8,37676E-07	21,7	3,86026E-08	38,6026	
11,1	254,055	2807,283	8,74469E-07	20,7	4,22449E-08	42,2449	
11,2	202,685	2239,336	6,97553E-07	21	3,32168E-08	33,2168	
11,3	114,006	1258,901	3,92148E-07	18,3	2,14288E-08	21,4288	
11,4	116,662	1288,266	4,01295E-07	15,7	2,55602E-08	25,5602	T.A.
						31,28	8,11
	ΕΝΩΣΗ ΑΚΙ 0,1 %	C ascorbic acid (μmole/L)	mole ascorbic at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	nmole ascorbic / βάρος ιστού (mg)	
1,1	166,794	1842,525	5,73947E-07	23	2,49542E-08	24,9542	
1,2	114,57	1265,137	3,9409E-07	17,2	2,29122E-08	22,9122	
10,5	96,237	1062,447	3,30952E-07	21,3	1,55377E-08	15,5377	
10,6	112,208	1239,022	3,85955E-07	20	1,92978E-08	19,2978	
10,7	119,19	1316,215	4,10001E-07	15,6	2,62821E-08	26,2821	
10,8	235,289	2599,806	8,0984E-07	19,5	4,15302E-08	41,5302	T.A.
						25,09	8,96

	ΜΑΡΤΥΡΕΣ	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
7,1	86,895	454,057	1,41439E-07	16,4	8,62431E-09	8,6243	
7,2	52,219	272,656	8,49324E-08	17,9	4,74483E-09	4,7448	
7,5	270,808	1416,161	4,41134E-07	22	2,00515E-08	20,0515	
4,1	277,037	1448,747	4,51285E-07	20,5	2,20139E-08	22,0139	
4,2*	329,952	3451,122	1,07502E-06	23,8	4,51691E-08	45,1691	
4,5	173,360	906,381	2,82338E-07	15,7	1,79833E-08	17,9833	T.A.
	222,084	1161,271	3,61736E-07			19,76	14,17
	ΕΚΔΟΧΟ	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
3,5	357,848	1871,493	5,8297E-07	20	2,91485E-08	29,1485	
3,6	154,988	810,272	2,524E-07	15	1,68266E-08	16,8266	
3,7	163,412	854,340	2,66127E-07	22,3	1,19339E-08	11,9339	
7,3	335,268	1753,370	5,46175E-07	19	2,8746E-08	28,7460	
7,8	89,535	467,867	1,45741E-07	22	6,62458E-09	6,6246	
7,9	95,746	500,359	1,55862E-07	20,6	7,56611E-09	7,5661	T.A.
	159,200	832,306	2,59263E-07			16,81	10,08
	ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 0,1%	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
2,1	503,22	2631,978	8,19861E-07	23,3	3,51872E-08	35,1872	
2,2	496,352	2596,049	8,08669E-07	22,4	3,61013E-08	36,1013	
2,3	363,229	1899,643	5,91739E-07	18,3	3,23354E-08	32,3354	
6,4	149,801	783,137	2,43947E-07	19,9	1,22587E-08	12,2587	
6,5	144,475	755,275	2,35268E-07	22,4	1,0503E-08	10,5030	
6,7	425,999	2228,011	6,94026E-07	22,7	3,05738E-08	30,5738	T.A.
	394,614	2063,827	6,42882E-07			26,16	11,63
	ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 1%	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
2,4	492,115	2573,884	8,01765E-07	22,4	3,57931E-08	35,7931	
2,5	428,039	2238,683	6,9735E-07	16,6	4,2009E-08	42,0090	
2,6	304,485	1592,335	4,96012E-07	18,1	2,7404E-08	27,4040	
6,1	276,444	1445,644	4,50318E-07	22,9	1,96646E-08	19,6646	
6,2	158,631	829,329	2,58336E-07	17	1,51962E-08	15,1962	
6,3	214,281	1120,451	3,49021E-07	19,9	1,75387E-08	17,5387	T.A.
	290,465	1518,990	4,73165E-07			26,27	10,79
	ΑΙΟΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 1%	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
5,3	392,096	2050,655	6,38779E-07	20,2	3,16227E-08	31,6227	
5,4	354,481	1853,879	5,77483E-07	21,5	2,68597E-08	26,8597	
5,6	294,936	1542,382	4,80452E-07	19,7	2,43884E-08	24,3884	
9,1	142,14	743,060	2,31463E-07	14,8	1,56394E-08	15,6394	
9,2	148,868	778,256	2,42427E-07	15,8	1,53435E-08	15,3435	
9,5	163,564	855,135	2,66375E-07	17,3	1,53974E-08	15,3974	T.A.
	229,250	1198,758	3,73413E-07			21,54	7,06
	ΑΙΟΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 0,1%	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
1,3	75,196	392,856	1,22375E-07	16	7,64841E-09	7,6484	
1,4	155,714	814,070	2,53583E-07	15,4	1,64664E-08	16,4664	
1,6	387,877	2028,584	6,31904E-07	21,1	2,99481E-08	29,9481	
5,7	282,971	1479,789	4,60954E-07	20,8	2,21613E-08	22,1613	
5,8	353,177	1847,058	5,75358E-07	14,9	3,86147E-08	38,6147	
5,9	353,013	1846,200	5,75091E-07	18	3,19495E-08	31,9495	T.A.
	317,992	1662,994	5,18023E-07			24,46	11,30
	ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 1 %	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
8,1	241,622	1263,480	3,93574E-07	22	1,78897E-08	17,8897	
8,2*	262,101	2741,224	8,53891E-07	21,7	3,93498E-08	39,3498	
11,1	350,869	1834,984	5,71597E-07	20,7	2,76134E-08	27,6134	
11,2	135,764	709,705	2,21073E-07	21	1,05273E-08	10,5273	
11,3	92,865	485,288	1,51167E-07	18,3	8,2605E-09	8,2605	
11,4	80,729	421,801	1,31391E-07	15,7	8,36884E-09	8,3688	T.A.
	188,693	986,593	3,07324E-07			18,67	12,56
	ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 0,1 %	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
1,1	141,186	738,069	2,29909E-07	23	9,99602E-09	9,9960	
1,2	90,082	470,729	1,46632E-07	17,2	8,52512E-09	8,5251	
10,5	132,729	693,828	2,16127E-07	21,3	1,01468E-08	10,1468	
10,6	156,415	817,737	2,54725E-07	20	1,27362E-08	12,7362	
10,7	173,737	908,353	2,82952E-07	15,6	1,8138E-08	18,1380	
10,8	452,982	2369,168	7,37996E-07	19,5	3,78459E-08	37,8459	T.A.
	148,801	777,903	2,42317E-07			16,23	11,12

	ΜΑΡΤΥΡΕΣ	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
7,1	17,057	58,657	1,82715E-08	16,4	1,11412E-09	1,1141	
7,2	8,559	56,126	1,74832E-08	17,9	9,76716E-10	0,9767	
7,5	4,665	54,966	1,7122E-08	22	7,78272E-10	0,7783	
4,1	21,046	59,844	1,86416E-08	20,5	9,09344E-10	0,9093	
4,5	21,848	60,083	1,8716E-08	15,7	1,1921E-09	1,1921	
	ΕΚΔΟΧΟ	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
3,5	16,376	58,454	1,82084E-08	20	9,10418E-10	0,9104	
3,6	46,553	67,440	2,10077E-08	15	1,40051E-09	1,4005	
3,7	25,143	61,065	1,90216E-08	22,3	8,52987E-10	0,8530	
7,3	10,88	56,817	1,76985E-08	19	9,31501E-10	0,9315	
7,9	23,888	60,691	1,89052E-08	20,6	9,17728E-10	0,9177	
	ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 0,1%	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
2,2	32,474	63,248	1,97017E-08	22,4	8,79539E-10	0,8795	
2,3	12,811	57,392	1,78776E-08	18,3	9,7692E-10	0,9769	
6,4	33,357	63,511	1,97836E-08	19,9	9,9415E-10	0,9942	
6,5	42,496	66,232	2,06314E-08	22,4	9,21043E-10	0,9210	
	ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 1%	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
2,4	25,296	61,110	1,90358E-08	22,4	8,49813E-10	0,8498	
2,5	7,49	55,808	1,7384E-08	16,6	1,04723E-09	1,0472	
2,6	14,167	57,796	1,80034E-08	18,1	9,94665E-10	0,9947	
6,1	24,212	60,787	1,89353E-08	22,9	8,26867E-10	0,8269	
6,2	28,216	61,980	1,93067E-08	17	1,13569E-09	1,1357	
6,3	23,755	60,651	1,88929E-08	19,9	9,4939E-10	0,9494	
	ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 1%	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
5,3	27,865	61,875	1,92741E-08	20,2	9,54165E-10	0,9542	
5,4	10,406	56,676	1,76545E-08	21,5	8,21142E-10	0,8211	
5,6	15,488	58,189	1,8126E-08	19,7	9,201E-10	0,9201	
9,1	2,33	54,271	1,69054E-08	14,8	1,14226E-09	1,1423	
9,2	36,793	64,534	2,01023E-08	15,8	1,2723E-09	1,2723	
9,5	20,6	59,712	1,86002E-08	17,3	1,07516E-09	1,0752	
	ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 0,1%	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
1,3	24,731	60,942	1,89834E-08	16	1,18646E-09	1,1865	
1,6	22,469	60,268	1,87736E-08	21,1	8,89742E-10	0,8897	
5,7	6,922	55,638	1,73314E-08	20,8	8,33238E-10	0,8332	
5,8	15,117	58,079	1,80916E-08	14,9	1,2142E-09	1,2142	
5,9	14,07	57,767	1,79944E-08	18	9,99691E-10	0,9997	T.A.
	15,117	58,079	1,80916E-08			1,02	0,17
	ΕΝΩΣΗ AK1 1 %	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
8,1	43,2	66,442	2,06967E-08	22	9,40758E-10	0,9408	
8,2	29,193	62,271	1,93973E-08	21,7	8,93886E-10	0,8939	
11,1	13,925	57,724	1,7981E-08	20,7	8,68647E-10	0,8686	
11,2	24,597	60,902	1,8971E-08	21	9,03379E-10	0,9034	
11,3	28,537	62,075	1,93365E-08	18,3	1,05664E-09	1,0566	
11,4	32,327	63,204	1,9688E-08	15,7	1,25402E-09	1,2540	T.A.
						0,99	0,15
	ΕΝΩΣΗ AK1 0,1 %	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
1,1	55,117	69,991	2,18021E-08	23	9,47919E-10	0,9479	
1,2	19,487	59,380	1,84969E-08	17,2	1,0754E-09	1,0754	
10,5	29,986	62,507	1,94709E-08	21,3	9,14126E-10	0,9141	
10,6	42,289	66,171	2,06122E-08	20	1,03061E-09	1,0306	
10,7	41,559	65,953	2,05444E-08	15,6	1,31695E-09	1,3170	
10,8	8,187	56,015	1,74487E-08	19,5	8,94805E-10	0,8948	T.A.
						1,03	0,16

Anova: Single Factor	ASCORBIC ACID					
SUMMARY						
<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>		
MARTYPEΣ	6	127,1458746	21,19097911	186,5528249		
ΕΚΔΟΧΟ	6	166,670669	27,77844484	158,8760126		
ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 0,1%	6	209,6779251	34,94632084	236,1544634		
ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 1%	6	209,7944158	34,96573597	176,725379		
ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 1%	6	180,8030132	30,13383554	127,5765727		
ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 0,1%	6	231,5239294	38,58732157	213,9631838		
ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 1 %	6	187,6661923	31,27769872	65,82870624		
ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 0,1 %	6	150,5142015	25,08570025	80,25210181		
ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	1375,412752	7	196,487536	1,261628857	0,293669251	2,249024325
Within Groups	6229,646223	40	155,7411556			
Total	7605,058975	47				

Anova: Single Factor		URIC ACID				
SUMMARY						
<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>		
MARTYPEΣ	6	118,5869499	19,76449165	200,6805058		
ΕΚΔΟΧΟ	6	100,8458197	16,80763662	101,5352993		
ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 0,1%	6	156,9594331	26,15990552	135,2650339		
ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 1%	6	157,6056152	26,26760253	116,4374552		
ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 1%	6	129,2510794	21,54184656	49,80395057		
ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 0,1%	6	146,7883089	24,46471815	127,6754296		
ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 1 %	6	112,0095919	18,66826532	157,8047386		
ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 0,1 %	6	97,38810694	16,23135116	123,6655591		
ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	680,97302	7	97,28186003	0,768367548	0,617	2,24902433
Within Groups	5064,3399	40	126,6084965			
Total	5745,3129	47				

Anova: Single Factor	GSH					
SUMMARY						
<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>		
MARTYPEΣ	5	4,9705485	0,9941097	0,026918831		
ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 0,1%	4	3,771652739	0,942913185	0,002758764		
ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 1%	6	5,803653639	0,967275606	0,01386751		
ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 1%	6	6,185116235	1,030852706	0,026959113		
ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 0,1%	5	5,123332458	1,024666492	0,029393367		
ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 1 %	6	5,917321827	0,986220304	0,021590289		
ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 0,1 %	6	6,179813477	1,029968913	0,024568947		
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	0,03492143	7	0,004988776	0,200714057	0,98321	2,2852
Within Groups	0,869929847	35	0,024855138			
Total	0,904851277	42				

- Στα stripping των δερμάτων (φάση 1)

	<i>MARTYPEΣ</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
7,1	6,937	35,772	1,11431E-08	0,77	1,44716E-08	14,4716	
7,2	5,987	30,803	9,59504E-09	0,77	1,24611E-08	12,4611	
7,5	6,963	35,908	1,11855E-08	0,77	1,45266E-08	14,5266	
4,1	8,115	41,935	1,30627E-08	0,77	1,69646E-08	16,9646	
4,2	7,383	38,106	1,18699E-08	0,77	1,54154E-08	15,4154	
4,5	7,704	39,785	1,2393E-08	0,77	1,60948E-08	16,0948	
	7,173	37,007	1,15277E-08			14,99	1,56
	<i>EΚΔΟΧΟ</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
3,5	5,412	27,795	8,65805E-09	0,77	1,12442E-08	11,2442	
3,7	4,414	22,574	7,03176E-09	0,77	9,13215E-09	9,1322	
7,3	4,556	23,317	7,26315E-09	0,77	9,43267E-09	9,4327	
7,8	9,78	50,645	1,57759E-08	0,77	2,04882E-08	20,4882	
7,9	7,774	40,151	1,2507E-08	0,77	1,62429E-08	16,2429	
	5,412	27,795	8,65805E-09			13,31	4,92
	<i>ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 0,1%</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
2,1	2,788	14,068	4,38211E-09	0,77	5,69105E-09	5,6911	
2,2	2,01	9,998	3,11432E-09	0,77	4,04457E-09	4,0446	
2,3	4,746	24,311	7,57277E-09	0,77	9,83476E-09	9,8348	
6,4	5,316	27,292	8,50161E-09	0,77	1,10411E-08	11,0411	
6,5	9,393	48,621	1,51453E-08	0,77	1,96692E-08	19,6692	
6,7	14,573	75,719	2,35864E-08	0,77	3,06316E-08	30,6316	
	5,031	25,802	8,03719E-09			13,49	10,01
	<i>ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 1%</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
2,4	5,343	27,434	8,54561E-09	0,77	1,10982E-08	11,0982	
2,5	3,908	19,927	6,2072E-09	0,77	8,0613E-09	8,0613	
2,6	4,126	21,067	6,56245E-09	0,77	8,52266E-09	8,5227	
6,1	5,7	29,301	9,12736E-09	0,77	1,18537E-08	11,8537	
6,2	9,436	48,845	1,52154E-08	0,77	1,97602E-08	19,7602	
6,3	4,858	24,897	7,75528E-09	0,77	1,00718E-08	10,0718	
	5,101	26,165	8,15044E-09			11,56	4,27
	<i>ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 1%</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
5,3	4,42	22,605	7,04153E-09	0,77	9,14485E-09	9,1448	
5,4	7,087	36,557	1,13875E-08	0,77	1,4789E-08	14,7890	
5,6	3,349	17,003	5,29629E-09	0,77	6,87829E-09	6,8783	
9,1	3,545	18,028	5,61568E-09	0,77	7,29309E-09	7,2931	
9,2	4,145	21,167	6,59341E-09	0,77	8,56287E-09	8,5629	
9,5	3,16	16,014	4,9883E-09	0,77	6,47831E-09	6,4783	
	3,845	19,597	6,10454E-09			8,86	3,08
	<i>ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 0,1%</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
1,3	2,042	10,165	3,16646E-09	0,77	4,11229E-09	4,1123	
1,4	6,132	31,561	9,83132E-09	0,77	1,2768E-08	12,7680	
1,6	4,685	23,992	7,47336E-09	0,77	9,70567E-09	9,7057	
5,8	6,982	36,008	1,12164E-08	0,77	1,45668E-08	14,5668	
5,9	7,116	36,709	1,14348E-08	0,77	1,48504E-08	14,8504	
	6,132	31,561	9,83132E-09			11,20	4,46
	<i>ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 1 %</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
8,1	3,011	15,234	4,7455E-09	0,77	6,16298E-09	6,1630	
8,2	6,639	34,214	1,06575E-08	0,77	1,38409E-08	13,8409	
11,1	4,491	22,977	7,15723E-09	0,77	9,29511E-09	9,2951	
11,2	8,506	43,980	1,36999E-08	0,77	1,7792E-08	17,7920	
11,3	6,872	35,432	1,10372E-08	0,77	1,4334E-08	14,3340	
11,4	4,714	24,143	7,52062E-09	0,77	9,76704E-09	9,7670	
	5,677	29,178	9,08906E-09			11,87	4,21
	<i>ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 0,1 %</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
1,1	2,246	11,232	3,49889E-09	0,77	4,54402E-09	4,5440	
1,2	3,909	19,932	6,20883E-09	0,77	8,06342E-09	8,0634	
10,5	8,615	44,551	1,38775E-08	0,77	1,80227E-08	18,0227	
10,6	5,747	29,547	9,20395E-09	0,77	1,19532E-08	11,9532	
10,7	2,849	14,387	4,48151E-09	0,77	5,82014E-09	5,8201	
	3,909	19,932	6,20883E-09			9,68	5,45

	MARTYPEΣ	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
7,1	7,465	55,800	1,73817E-08	0,77	2,25737E-08	22,5737	
7,2	7,842	55,912	1,74167E-08	0,77	2,26191E-08	22,6191	
7,5	8,073	55,981	1,74381E-08	0,77	2,26469E-08	22,6469	
4,1	8,158	56,006	1,7446E-08	0,77	2,26572E-08	22,6572	
4,2	8,971	56,249	1,75214E-08	0,77	2,27551E-08	22,7551	
4,5	7,913	55,933	1,74233E-08	0,77	2,26276E-08	22,6276	0,06
						22,65	
	EΚΔΟΧΟ	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
3,5	8,757	56,185	1,75016E-08	0,77	2,27293E-08	22,7293	
3,6	9,2	56,317	1,75427E-08	0,77	2,27827E-08	22,7827	
3,7	9,199	56,316	1,75426E-08	0,77	2,27826E-08	22,7826	
7,3	11,66	57,049	1,77709E-08	0,77	2,30791E-08	23,0791	
7,8	2,171	54,224	1,68906E-08	0,77	2,19359E-08	21,9359	
7,9	8,761	56,186	1,75019E-08	0,77	2,27298E-08	22,7298	
						22,67	0,38
	ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 0,1%	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
2,1	6,58	55,537	1,72996E-08	0,77	2,2467E-08	22,4670	
2,2	7,649	55,855	1,73988E-08	0,77	2,25958E-08	22,5958	
2,3	8,148	56,003	1,74451E-08	0,77	2,2656E-08	22,6560	
6,4	7,795	55,898	1,74123E-08	0,77	2,26134E-08	22,6134	
6,5	8,297	56,048	1,74589E-08	0,77	2,26739E-08	22,6739	
6,7	12,027	57,159	1,78049E-08	0,77	2,31233E-08	23,1233	
						22,69	0,23
	ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 1%	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
2,4	9,493	56,404	1,75699E-08	0,77	2,2818E-08	22,8180	
2,5	7,454	55,797	1,73807E-08	0,77	2,25723E-08	22,5723	
2,6	8,241	56,031	1,74537E-08	0,77	2,26672E-08	22,6672	
6,1	8,432	56,088	1,74714E-08	0,77	2,26902E-08	22,6902	
6,2	9,032	56,267	1,75271E-08	0,77	2,27624E-08	22,7624	
6,3	6,49	55,510	1,72913E-08	0,77	2,24562E-08	22,4562	
						22,66	0,13
	ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 1%	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
5,3	7,452	55,796	1,73805E-08	0,77	2,25721E-08	22,5721	
5,4	9,509	56,409	1,75713E-08	0,77	2,28199E-08	22,8199	
5,6	6,515	55,517	1,72936E-08	0,77	2,24592E-08	22,4592	
9,1	9,77	56,487	1,75955E-08	0,77	2,28514E-08	22,8514	
9,2	7,975	55,952	1,7429E-08	0,77	2,26351E-08	22,6351	
9,3	7,364	55,770	1,73724E-08	0,77	2,25615E-08	22,5615	
						22,65	0,15
	ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 0,1%	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
1,3	8,621	56,144	1,7489E-08	0,77	2,27129E-08	22,7129	
1,4	8,752	56,183	1,75011E-08	0,77	2,27287E-08	22,7287	
1,6	8,839	56,209	1,75092E-08	0,77	2,27392E-08	22,7392	
5,7	7,406	55,783	1,73763E-08	0,77	2,25666E-08	22,5666	
5,8	7,88	55,924	1,74202E-08	0,77	2,26237E-08	22,6237	
5,9	7,578	55,834	1,73922E-08	0,77	2,25873E-08	22,5873	
median	8,251	56,034	1,74546E-08			22,66	0,08
	ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 1 %	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
8,1	7,750	55,885	1,74082E-08	0,77	2,2608E-08	22,6080	
8,2	10,209	56,617	1,76363E-08	0,77	2,29042E-08	22,9042	
11,1	9,460	56,394	1,75668E-08	0,77	2,2814E-08	22,8140	
11,2	7,783	55,895	1,74112E-08	0,77	2,2612E-08	22,6120	
11,3	8,182	56,014	1,74482E-08	0,77	2,266E-08	22,6600	
11,4	7,105	55,693	1,73483E-08	0,77	2,25303E-08	22,5303	
						22,69	0,14
	ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 0,1 %	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
1,1	7,575	55,833	1,73919E-08	0,77	2,25869E-08	22,5869	
1,2	8,297	56,048	1,74589E-08	0,77	2,26739E-08	22,6739	
10,5	8,417	56,084	1,747E-08	0,77	2,26884E-08	22,6884	
10,6	9,516	56,411	1,7572E-08	0,77	2,28208E-08	22,8208	
10,7	8,422	56,085	1,74705E-08	0,77	2,2689E-08	22,6890	
10,8	8,9	56,227	1,75148E-08	0,77	2,27465E-08	22,7465	
						22,70	0,08

- Στα stripping των δερμάτων (φάση 2)

	<i>ΜΑΡΤΥΡΕΣ</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
7,1	19,874	103,450	3,22246E-08	1	3,22246E-08	32,2246	
7,2	10,446	54,129	1,68612E-08	1	1,68612E-08	16,8612	
7,5	19,054	99,160	3,08884E-08	1	3,08884E-08	30,8884	
4,1	23,312	121,435	3,7827E-08	1	3,7827E-08	37,8270	
4,2	19,555	101,781	3,17048E-08	1	3,17048E-08	31,7048	
4,5	16,048	83,435	2,59899E-08	1	2,59899E-08	25,9899	
	19,305	100,471	3,12966E-08			29,25	7,14
	<i>ΕΚΔΟΧΟ</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
3,5	21,34	111,119	3,46135E-08	1	3,46135E-08	34,6135	
3,6	33,092	172,597	5,3764E-08	1	5,3764E-08	53,7640	
3,7	22,236	115,806	3,60736E-08	1	3,60736E-08	36,0736	
7,3	21,741	113,217	3,5267E-08	1	3,5267E-08	35,2670	
7,8	31,866	166,184	5,17662E-08	1	5,17662E-08	51,7662	
7,9	22,51	117,239	3,65201E-08	1	3,65201E-08	36,5201	
	22,373	116,523	3,62968E-08			41,33	8,90
	<i>ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 0,1%</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
2,1	10,561	54,731	1,70486E-08	1	1,70486E-08	17,0486	
2,2	22,065	114,912	3,57949E-08	1	3,57949E-08	35,7949	
2,3	15,486	80,495	2,50741E-08	1	2,50741E-08	25,0741	
6,4	15,951	82,927	2,58319E-08	1	2,58319E-08	25,8319	
6,5	14,937	77,623	2,41795E-08	1	2,41795E-08	24,1795	
6,7	7,029	36,254	1,1293E-08	1	1,1293E-08	11,2930	
	15,212	79,059	2,46268E-08			23,20	8,36
	<i>ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 1%</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
2,4	14,844	77,136	2,4028E-08	1	2,4028E-08	24,0280	
2,6	21,411	111,490	3,47292E-08	1	3,47292E-08	34,7292	
6,1	15,257	79,297	2,4701E-08	1	2,4701E-08	24,7010	
6,2	7,875	40,679	1,26716E-08	1	1,26716E-08	12,6716	
6,3	13,648	70,880	2,2079E-08	1	2,2079E-08	22,0790	
	14,844	77,136	2,4028E-08			23,64	7,86
	<i>ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 1%</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
5,3	6,162	31,718	9,88021E-09	1	9,88021E-09	9,8802	
5,4	13,5	70,105	2,18378E-08	1	2,18378E-08	21,8378	
5,6	17,99	93,594	2,91545E-08	1	2,91545E-08	29,1545	
9,1	20,483	106,636	3,3217E-08	1	3,3217E-08	33,2170	
9,2	29,192	152,195	4,74087E-08	1	4,74087E-08	47,4087	
9,5	34,974	182,442	5,68308E-08	1	5,68308E-08	56,8308	
	19,237	100,115	3,11858E-08			33,05	17,03
	<i>ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 0,1%</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
1,3	17,959	93,432	2,9104E-08	1	2,9104E-08	29,1040	
1,4	19,204	99,945	3,11328E-08	1	3,11328E-08	31,1328	
5,7	20,911	108,875	3,39144E-08	1	3,39144E-08	33,9144	
5,8	19,263	100,253	3,12289E-08	1	3,12289E-08	31,2289	
5,9	20,928	108,964	3,39421E-08	1	3,39421E-08	33,9421	
	8,968	100,253	3,12289E-08			31,86	2,07
	<i>ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 1 %</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
8,1	28,821	150,254	4,68042E-08	1	4,68042E-08	46,8042	
8,2	14,491	75,290	2,34527E-08	1	2,34527E-08	23,4527	
11,1	25,569	133,242	4,15049E-08	1	4,15049E-08	41,5049	
11,2	21,75	113,264	3,52816E-08	1	3,52816E-08	35,2816	
11,3	7,679	39,654	1,23522E-08	1	1,23522E-08	12,3522	
11,4	20,449	106,458	3,31616E-08	1	3,31616E-08	33,1616	
	21,100	109,861	3,42216E-08			32,09	12,50
	<i>ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 0,1 %</i>	C uric acid (μmole/L)	mole uric at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole uric / βάρος ιστού (mg)	nmole uric / βάρος ιστού (mg)	
1,1	27,663	144,196	4,49172E-08	1	4,49172E-08	44,9172	
1,2	37,664	196,515	6,12143E-08	1	6,12143E-08	61,2143	
10,5	20,453	106,479	3,31681E-08	1	3,31681E-08	33,1681	
10,6	13,324	69,185	2,1551E-08	1	2,1551E-08	21,5510	
10,7	19,538	101,692	3,16771E-08	1	3,16771E-08	31,6771	
10,8	17,009	88,462	2,75559E-08	1	2,75559E-08	27,5559	
	22,609					36,68	14,28

	ΜΑΡΤΥΡΕΣ	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
7,1	9,106	56,289	1,7534E-08	1	1,7534E-08	17,5340	
7,2	10,098	56,584	1,7626E-08	1	1,7626E-08	17,6260	
7,5	8,617	56,143	1,74886E-08	1	1,74886E-08	17,4886	
4,1	9,582	56,431	1,75781E-08	1	1,75781E-08	17,5781	
4,2	9,73	56,475	1,75918E-08	1	1,75918E-08	17,5918	
4,5	9,229	56,325	1,75454E-08	1	1,75454E-08	17,5454	0,05
						17,56	
	ΕΚΔΟΧΟ	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
3,5	9,035	56,268	1,75274E-08	1	1,75274E-08	17,5274	
3,6	9,514	56,410	1,75718E-08	1	1,75718E-08	17,5718	
3,7	9,221	56,323	1,75446E-08	1	1,75446E-08	17,5446	
7,3	10,424	56,681	1,76562E-08	1	1,76562E-08	17,6562	
7,8	11,1	56,883	1,77189E-08	1	1,77189E-08	17,7189	
7,9	9,286	56,342	1,75506E-08	1	1,75506E-08	17,5506	
						17,59	0,08
	ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 0,1%	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
2,1	12,037	57,162	1,78058E-08	1	1,78058E-08	17,8058	
2,2	9,556	56,423	1,75757E-08	1	1,75757E-08	17,5757	
2,3	9,326	56,354	1,75544E-08	1	1,75544E-08	17,5544	
6,4	9,186	56,313	1,75414E-08	1	1,75414E-08	17,5414	
6,5	9,953	56,541	1,76125E-08	1	1,76125E-08	17,6125	
6,7	14,202	57,806	1,80067E-08	1	1,80067E-08	18,0067	
						17,68	0,19
	ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 1%	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
2,4	9,136	56,298	1,75367E-08	1	1,75367E-08	17,5367	
2,6	11,219	56,918	1,773E-08	1	1,773E-08	17,7300	
6,1	9,255	56,333	1,75478E-08	1	1,75478E-08	17,5478	
6,2	11,476	56,995	1,77538E-08	1	1,77538E-08	17,7538	
6,3	8,036	55,970	1,74347E-08	1	1,74347E-08	17,4347	
						17,60	0,14
	ΑΙΟΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 1%	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
5,3	8,559	56,126	1,74832E-08	1	1,74832E-08	17,4832	
5,4	9,48	56,400	1,75686E-08	1	1,75686E-08	17,5686	
5,6	9,087	56,283	1,75322E-08	1	1,75322E-08	17,5322	
9,1	9,144	56,300	1,75375E-08	1	1,75375E-08	17,5375	
9,2	10,616	56,738	1,7674E-08	1	1,7674E-08	17,6740	
9,3	9,667	56,456	1,7586E-08	1	1,7586E-08	17,5860	
						17,56	0,06
	ΑΙΟΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 0,1%	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
1,3	9,407	56,378	1,75619E-08	1	1,75619E-08	17,5619	
1,4	8,653	56,154	1,74919E-08	1	1,74919E-08	17,4919	
1,6	9,329	56,355	1,75546E-08	1	1,75546E-08	17,5546	
5,7	9,266	56,336	1,75488E-08	1	1,75488E-08	17,5488	
5,8	8,395	56,077	1,7468E-08	1	1,7468E-08	17,4680	
5,9	8,968	56,248	1,75211E-08	1	1,75211E-08	17,5211	
	9,117	56,292	1,7535E-08			17,52	0,04
	ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 1 %	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
8,1	9,343	56,359	1,75559E-08	1	1,75559E-08	17,5559	
8,2	9,168	56,307	1,75397E-08	1	1,75397E-08	17,5397	
11,1	9,372	56,368	1,75586E-08	1	1,75586E-08	17,5586	
11,2	9,495	56,405	1,757E-08	1	1,757E-08	17,5700	
11,3	8,551	56,123	1,74825E-08	1	1,74825E-08	17,4825	
11,4	9,030	56,266	1,75269E-08	1	1,75269E-08	17,5269	
	,					17,54	0,03
	ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 0,1 %	C gsh (μmole/L)	mole gsh at 0,3115 ml	βάρος ιστού (mg)	mole gsh / βάρος ιστού (mg)	nmole gsh / βάρος ιστού (mg)	
1,1	6,711	55,576	1,73118E-08	1	1,73118E-08	17,3118	
1,2	10,577	56,727	1,76704E-08	1	1,76704E-08	17,6704	
10,5	8,3	56,049	1,74592E-08	1	1,74592E-08	17,4592	
10,6	9,25	56,332	1,75473E-08	1	1,75473E-08	17,5473	
10,7	9,527	56,414	1,7573E-08	1	1,7573E-08	17,5730	
10,8	9,634	56,446	1,75829E-08	1	1,75829E-08	17,5829	
						17,52	0,12

Anova: Single Factor SUMMARY	uric acid	φάση 1				
<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>		
MARTYPEΣ	6	89,93404922	14,9890082	2,435871409		
ΕΚΔΟΧΟ	5	66,54016098	13,3080322	24,22106601		
ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 0,1%	6	80,91226813	13,48537802	100,2831503		
ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 1%	6	69,36785907	11,56130984	18,24479009		
ΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 1%	6	53,14643002	8,857738337	9,475490981		
ΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 0,1%	5	56,00311007	11,20062201	19,89696315		
ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 1 %	6	71,19210849	11,86535142	17,7297809		
ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 0,1 %	5	48,40348166	9,680696333	29,66462313		
ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	165,5449	7	23,64927733	0,844636592	0,558075489	2,269511862
Within Groups	1035,976	37	27,99935209			
Total	1201,521	44				

Anova: Single Factor SUMMARY	gsh	φάση 1				
<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>		
MARTYPEΣ	6	135,8795653	22,64659422	0,003663921		
ΕΚΔΟΧΟ	6	136,0393134	22,6732189	0,147732201		
ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 0,1%	6	136,1294277	22,68823794	0,050711939		
ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 1%	6	135,9663063	22,66105106	0,017125334		
ΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 1%	6	135,8992025	22,64986709	0,023987389		
ΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 0,1%	6	135,9583551	22,65972585	0,005827107		
ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 1 %	6	136,1285843	22,68809739	0,020094487		
ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 0,1 %	6	136,2054465	22,70090775	0,006094022		
ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	0,0165431	7	0,0023633	0,068691492	0,999419351	2,249024325
Within Groups	1,37618201	40	0,03440455			
Total	1,39272511	47				

Anova: Single Factor SUMMARY	φάση 2	uric acid				
<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>		
MARTYPEΣ	6	175,4958746	29,24931244	51,04669623		
ΕΚΔΟΧΟ	6	248,0043292	41,33405487	79,2307891		
ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 0,1%	6	139,2220927	23,20368212	69,92934887		
ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 1%	5	118,2087973	23,64175947	61,74717614		
ΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 1%	6	198,3291285	33,05485476	289,8908311		
ΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 0,1%	5	159,3223426	31,86446852	4,269621659		
ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 1 %	6	192,5572626	32,0928771	156,1327417		
ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 0,1 %	6	220,0836204	36,68060339	203,8557577		
ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	1510,582	7	215,7973605	1,816436661	0,1123427	2,262304029
Within Groups	4514,498	38	118,8025793			
Total	6025,08	45				

Anova:Single Factor SUMMARY	gsh	φάση 2				
<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>		
MARTYPEΣ	6	105,363817	17,5606362	0,002336772		
ΕΚΔΟΧΟ	6	105,5695691	17,5949282	0,005744491		
ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 0,1%	6	106,0964726	17,6827454	0,034589461		
ΤΟΛΦΑΙΝΑΜΙΚΟ ΟΞΥ 1%	5	88,00296509	17,600593	0,018650195		
ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 1%	6	105,3815351	17,5635892	0,004170518		
ΑΙΘΥΛΕΣΤΕΡΑΣ ΚΥΣΤΕΙΝΗΣ 0,1%	6	105,1463766	17,5243961	0,001432006		
ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 1 %	6	105,2336681	17,5389447	0,000995637		
ΕΝΩΣΗ ΑΚ1 0,1 %	6	105,144614	17,5241023	0,015418329		
ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	0,116	7	0,01655457	1,622031722	0,158068	2,255485
Within Groups	0,398	39	0,01020607			
Total	0,514	46				