



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
———ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837———

ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ
«ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ»

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ
ΤΗΝ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ PER OS ΧΟΡΗΓΟΥΜΕΝΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ:
ΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΣΤΟΝ ΚΑΤΩΤΕΡΟ ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΑΥΛΟ ΥΠΕΡΗΛΙΚΩΝ ΚΑΙ Ο
ΦΡΑΓΜΟΣ ΤΟΥ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ ΚΙΡΡΩΤΙΚΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ

Σάρα Σουλεϊμάν

A.M. 160806

Φαρμακοποιός

ΑΘΗΝΑ 2018



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
———ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837———

ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ
ΤΟΜΕΑΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ
«ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ»

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ
ΤΗΝ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ PER OS ΧΟΡΗΓΟΥΜΕΝΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ:
ΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΣΤΟΝ ΚΑΤΩΤΕΡΟ ΕΝΤΕΡΙΚΟ ΑΥΛΟ ΥΠΕΡΗΛΙΚΩΝ ΚΑΙ Ο
ΦΡΑΓΜΟΣ ΤΟΥ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ ΚΙΡΡΩΤΙΚΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ

Σάρα Σουλεϊμάν
Α.Μ. 160806
Φαρμακοποιός

ΑΘΗΝΑ 2018

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Ρέππας Χρήστος, Καθηγητής, Τμήμα Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ (επιβλέπων)

Βαλσαμή Γεωργία, Αναπλ. Καθηγήτρια, Τμήμα Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ

Συμιλλίδου Μοίρα, Αναπλ. Καθηγήτρια, Τμήμα Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το πόνημα αυτό συντάχθηκε στα πλαίσια της διπλωματικής μου εργασίας στον Τομέα της Φαρμακευτικής Τεχνολογίας για την απόκτηση του μεταπτυχιακού διπλώματος ειδίκευσης με τίτλο ‘Βιομηχανική Φαρμακευτική’.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω το Δρ. Γκούμα Κωνσταντίνο, Γαστρεντερολόγο, Διευθυντή της Γαστρεντερολογικής Κλινικής του Νοσοκομείου Ελληνικού Ερυθρού Σταυρού και την εταιρεία Bayer Pharma AG, καθώς χωρίς τη συμβολή τους δε θα ήταν εφικτή η συλλογή δειγμάτων και συνολικά η πραγματοποίηση της μελέτης στους υπερήλικες. Επιπρόσθετα, θα ήθελα να ευχαριστήσω το Δρ. Μανωλακόπουλο Σπήλιο, Ηπατολόγο, Αν. Καθηγητή (Β’ Παθολογική Κλινική, Τμήμα Ιατρικής, ΕΚΠΑ) και το Δρ. Ξηρουχάκη Ηλία, Γαστρεντερολόγο-Ηπατολόγο, για το σχεδιασμό της κλινικής μελέτης και τη συλλογή ούρων κιρρωτικών ασθενών.

Ιδιαίτερα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα Καθηγητή Τμήματος Φαρμακευτικής του ΕΚΠΑ κ.Ρέππα Χρήστο για την εμπιστοσύνη και την καθοδήγησή του. Επιπλέον, θα ήθελα να ξεχωρίσω την Επίκουρη Καθηγήτρια κ.Βερτζώνη Μαρία για την υπομονή, τη συνεργασία, την καθοδήγηση και τις συμβουλές της που αποτέλεσαν πηγή έμπνευσης. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της επιτροπής Αν. Καθηγήτρια Τμήματος Φαρμακευτικής του ΕΚΠΑ κ.Συμιλλίδου Μοίρα και την Αν. Καθηγήτρια Τμήματος Φαρμακευτικής του ΕΚΠΑ κ.Βαλσαμή Γεωργία για τις παρατηρήσεις τους στο τελικό κείμενο. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιστημονική ομάδα με την οποία συνεργάστηκα, τις υποψήφιες διδακτορικές φοιτήτριες Πενταφράγκα Χριστίνα και Statelova Marina και ιδιαιτέρως τη μεταπτυχιακή φοιτήτρια Κωνσταντίνη Χριστίνα.

Αθήνα, Απρίλιος 2018

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα μελέτη είχε δύο στόχους:

Ο πρώτος ήταν ο φυσικοχημικός χαρακτηρισμός των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πέψης σε 8 υγιείς υπερήλικες με βάση ένα διασταυρωτό σχεδιασμό δύο φάσεων. Μετρήθηκαν ο όγκος των περιεχομένου που συλλέχθηκε, το pH, η ρυθμιστική χωρητικότητα, το % υδατικό περιεχόμενο, η ωσμωτικότητα, η συγκέντρωση χολικών οξέων, η συγκέντρωση λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου και η συγκέντρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων και ουδέτερων λιπιδίων. Μετά από τη σύγκριση των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης και αντίστοιχης μελέτης σε ενήλικες (Reppas et al., 2015) προκύπτει ότι στην περιοχή του τελικού ειλεού των υπερηλίκων, κατά τη διαπεπτική περίοδο, παρουσιάζεται αυξημένη ωσμωτικότητα. Στον τελικό ειλέο κατά την περίοδο πέψης, οι υπερήλικες έχουν μειωμένο pH και αυξημένη ολική συγκέντρωση των λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου ενώ, ανεξάρτητα από τις γευματικές συνθήκες, έχουν μειωμένο ολικό όγκο περιεχομένων στον τελικό ειλέο. Όσον αφορά στο περιεχόμενο του τυφλού των υπερηλίκων στη διαπεπτική περίοδο, διαπιστώθηκε χαμηλότερο pH, μειωμένο % υδατικό περιεχόμενο και αυξημένη ωσμωτικότητα σε σχέση με τους ενήλικες. Κατά τη διάρκεια της περιόδου πέψης, οι υπερήλικες έχουν αυξημένη ολική συγκέντρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων και λεκιθίνης ενώ ανεξαρτήτως των δοσολογικών συνθηκών που επικρατούν, το περιεχόμενο του τυφλού στους υπερήλικες έχει αυξημένη ρυθμιστική ικανότητα καθώς και αυξημένη ολική συγκέντρωση λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου και χοληστερόλης.

Ο δεύτερος στόχος ήταν η εκτίμηση των μεταβολών που προκαλούνται στη διαπερατότητα του ανώτερου γαστρεντερικού σωλήνα ασθενών με κίρρωση του ήπατος από τη θεραπεία με προπρανολόλη με δύο κλινικές μελέτες δύο φάσεων. Οι μεταβολές στη διαπερατότητα μελετήθηκαν με βάση τις ποσότητες σουκρόζης, λακτουλόζης, μαννιτόλης και D-ξυλόζης που απεκκρίθηκαν στα ούρα με απλές per os χορηγήσεις τους σε 25 κίρρωτικούς ασθενείς (μαν/λακ/σου) και σε 35 κίρρωτικούς ασθενείς (ξυλ) πριν (Φάση I) και μετά (Φάση II) τη θεραπεία με προπρανολόλη. Σύμφωνα με την παρούσα μελέτη η προπρανολόλη φαίνεται να έχει σημαντική επίδραση στη σύσφιξη των συνάψεων του εντερικού επιθηλίου κίρρωτικών ασθενών.

ABSTRACT

Two were the objectives of this study:

First to complete the physicochemical characterization of the contents of the terminal ileum and cecum in the fasted and in the fed state, of 8 healthy elderly in a two-phase clinical study on a crossover basis. The total volume, pH, buffer capacity, % aqueous portion, osmolality, concentration of bile salts, concentration of short chain fatty acids and concentration of lipids were determined. Statistical analysis of the results of this study when compared to a similar study in healthy adults (Reppas et al., 2015) shows that there is higher osmolality in the fasted state of the terminal ileum. In the fed state of the terminal ileum of the elderly there is lower pH and higher concentration of total short chain fatty acids. Regardless of the dosing conditions, there is lower total volume in the terminal ileum of the elderly. In the fasted state of the cecum of the elderly there is lower pH, lower % aqueous portion and higher osmolality when compared to the results from the clinical study of the adults (Reppas et al., 2015). The same comparison in the fed state of the cecum shows higher total concentration of free fatty acids and lecithin. Regardless of the dosing conditions, in the cecum of the elderly there is higher buffer capacity and higher total concentration of short chain fatty acids and cholesterol.

The second objective was the investigation of the impact of the administration of propranolol on the upper gastrointestinal permeability of cirrhotic patients in two two-phase clinical studies on a crossover basis. This investigation was evaluated by the quantification of sucrose, mannitol, lactulose and D-xylose in urine samples after their per os administration in 25 cirrhotic patients (ma/la/su) and in 35 cirrhotic patients (D-xyl) before (Phase I) and after (Phase II) the initiation of propranolol therapy. According to the present study, propranolol seems to have an impact on the tightening of the junctions of the small lumen of cirrhotic patients.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

A. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	4
A.1 ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΑ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΣΩΛΗΝΑ ΤΩΝ ΥΠΕΡΗΛΙΚΩΝ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΗ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΤΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ.....	4
A.1.1 Το pH στο γαστρεντερικό αυλό των υπερηλίκων	5
A.1.2 Η ρυθμιστική χωρητικότητα των γαστρεντερικών υγρών στους υπερήλικες	7
A.1.3 Ωσμωτικότητα	8
A.1.4 Τα επίπεδα των χολικών οξέων στο γαστρεντερικό αυλό των υπερηλίκων.	8
A.1.5 Η παρουσία των λιπιδίων στο γαστρεντερικό αυλό των υπερηλίκων	9
A.1.6 Το μικροβίωμα του εντερικού αυλού στους υπερήλικες.....	9
A.1.7 Η παρουσία λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου (Short Chain Fatty Acids, SCFAs) στο γαστρεντερικό αυλό των υπερηλίκων	11
A.1.8 Το γαστρεντερικό επιθήλιο στους υπερήλικες	12
A.1.9 Η κινητικότητα του γαστρεντερικού σωλήνα στους υπερήλικες	12
A.2 Ο ΦΡΑΓΜΟΣ ΤΟΥ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ ΚΙΡΡΩΤΙΚΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ.....	13
A.2.1 Τρόποι διαπέρασης του γαστρεντερικού επιθηλίου	14
A.2.2 Εκτίμηση της καλής λειτουργίας του γαστρεντερικού επιθηλίου	15
A.2.3 Ο γαστρεντερικός φραγμός στην κίρρωση του ήπατος.....	19
A.2.4 Η επίδραση της προπρανολόλης στη γαστρεντερική διαπερατότητα των κίρρωτικών ασθενών	20
A.3 ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	21
B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	22
B.1 ΟΡΓΑΝΑ	22
B.2 ΥΛΙΚΑ	23
B.3: ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ ΤΟΥ ΤΕΛΙΚΟΥ ΕΙΛΕΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΤΥΦΛΟΥ ΥΠΕΡΗΛΙΚΩΝ	27
B.3.1 Κλινική Μελέτη	27

B.3.2 Ωσμωτικότητα.....	29
B.3.3 Συγκέντρωση των χολικών οξέων	29
B.3.4 Συγκέντρωση των λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου (SCFAs)	34
B.3.5 Συγκέντρωση ουδέτερων λιπιδίων και ελεύθερων λιπαρών οξέων.....	37
B.4 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΦΡΑΓΜΟΥ ΤΟΥ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ ΣΕ ΚΙΡΡΩΤΙΚΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΠΡΙΝ ΚΑΙ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΤΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΠΡΟΠΡΑΝΟΛΟΛΗΣ	43
B.4.1 Προσδιορισμός σακχάρων στα ούρα	46
B.5 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ.....	49
B.5.1 Δεδομένα φυσικοχημικού χαρακτηρισμού περιβάλλοντος κατώτερου εντέρου	50
B.5.2 Δεδομένα ουρικής απέκκρισης των σακχάρων.....	50
Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ.....	51
Γ.1 ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ ΤΟΥ ΤΕΛΙΚΟΥ ΕΙΛΕΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΤΥΦΛΟΥ ΥΠΕΡΗΛΙΚΩΝ.....	51
Γ.1.1 Ολικός όγκος	51
Γ.1.2 pH.....	53
Γ.1.3 Ρυθμιστική χωρητικότητα	55
Γ.1.4 % Ποσοστό υδατικού περιεχομένου	56
Γ.1.5 Ωσμωτικότητα.....	58
Γ.1.6 Χολικά οξέα	60
Γ.1.7 Λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου (SCFAs)	62
Γ.1.8 Ελεύθερα λιπαρά οξέα και ουδέτερα λιπίδια	64
Γ.1.9 Σχολιασμός.....	70
Γ.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΠΡΑΝΟΛΟΛΗΣ ΣΤΗ ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΑΝΩΤΕΡΟΥ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΒΛΕΝΝΟΓΟΝΟΥ ΚΙΡΡΩΤΙΚΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ	71
Γ.2.1 Επίδραση της προπρανολόλης στη μεταφορά μέσω του γαστροδωδεκαδακτυλικού βλεννογόνου	71

Γ.2.2 Επίδραση της προπρανολόλης στην παθητική μεταφορά στο λεπτό έντερο	71
Γ.2.3 Επίδραση της προπρανολόλης στην παρακυττάρια μεταφορά στο λεπτό έντερο	72
Γ.2.4 Επίδραση της προπρανολόλης στη μεταφορά στο λεπτό έντερο με τη μεσολάβηση φορέα.....	73
Γ.2.5 Σχολιασμός.....	74
Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	75
Δ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	76
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι	81
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ.....	82
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ.....	89
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙV	90
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ V.....	101

A. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A.1 ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΑ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΣΩΛΗΝΑ ΤΩΝ ΥΠΕΡΗΛΙΚΩΝ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΗ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΤΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ

Με βάση τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (Π.Ο.Υ.), υπερήλικες θεωρούνται εκείνοι που έχουν τουλάχιστον 60-65 έτη ζωής (Rémond et al., 2015). Τον Ιανουάριο του 2010, ο πληθυσμός των υπερηλίκων στην Ευρώπη αντιστοιχούσε στο 17.4% του συνολικού πληθυσμού και τις τελευταίες δεκαετίες παρουσιάζει αυξητική τάση. Η Ευρωπαϊκή Επιτροπή και η Ευρωπαϊκή Στατιστική Υπηρεσία αναφέρουν ως αίτια της αύξησης του πληθυσμού των ηλικιωμένων στην Ευρώπη την υπογεννητικότητα και το αυξημένο προσδόκιμο επιβίωσης (Rémond et al., 2015). Οι Forman et al. (1992) κατατάσσουν επιπρόσθετα τους υπερήλικες σε “νέους υπερήλικες” (60-69 ετών), “μεσαία υπερήλικες” (70-79 ετών) και σε “αρκετά υπερήλικες” (80 ετών και άνω). Ο πληθυσμός των ηλικιωμένων είναι ετερογενής και δεν αρκεί μόνο η βιολογική ηλικία για να υποδείξει τις αλλαγές στη φυσιολογία του ανθρώπινου οργανισμού (Rémond et al., 2015). Κάθε οργανισμός γηράσκει με διαφορετικό τρόπο, ο οποίος εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον τρόπο ζωής, τις συννοσηρές καταστάσεις (*comorbidity*) και τα διαφορετικά περιβάλλοντα στα οποία διαβίει (Rémond et al., 2015).

Η γήρανση είναι μία πολυπαραγοντική διαδικασία, η οποία, μεταξύ άλλων, προκαλεί μορφολογικές, λειτουργικές και μοριακές αλλαγές στο γαστρεντερικό σωλήνα που επιδρούν στους μηχανισμούς ομοιόστασης και απορρόφησης και τον καθιστούν πιο ευάλωτο σε παθολογικές καταστάσεις (Merchant et al., 2014). Η γενικότερη έκπτωση των λειτουργιών του γαστρεντερικού συστήματος στους υπερήλικες περιλαμβάνει αλλαγές στη κινητικότητα του γαστρεντερικού αυλού (γαστρική κένωση και εντερική διάβαση), καθώς και μείωση στη διαθέσιμη έκταση επιφάνειας απορρόφησης, στη σπλαχνική αιματική ροή και στην ενεργότητα των ηπατικών ενζύμων (Drozdowski & Thomson, 2006; Mayersohn, 1994; Merchant et al., 2014). Έτσι, φάρμακα με μεγάλο συντελεστή ηπατικής εκχύλισης που υφίστανται εκτεταμένο φαινόμενο πρώτης διόδου αφικνούνται στη γενική κυκλοφορία σε μεγαλύτερες ποσότητες στους ηλικιωμένους σε σχέση με τους ενήλικες π.χ. προπρανολόλη (Mayersohn, 1994). Το 20% περίπου των υπερηλίκων παρουσιάζουν

ανορεξία και ακόμη μεγαλύτερα ποσοστά παρουσιάζουν φαινόμενα δυσαπορρόφησης υδατανθράκων, λιπιδίων, αμινοξέων, μετάλλων και βιταμινών. Επιπλέον, μειώνονται οι γαστρικές και οι εντερικές εκκρίσεις με αποτέλεσμα διαφοροποιήσεις στις τιμές pH και στη σύσταση των ενδοαυλικών περιεχομένων (Wysokiński et al, 2015). Επίσης, αλλαγές στη σωματική άσκηση, στη διατροφή και στο εντερικό μικροβίωμα σε συνδυασμό με αλλαγές στην ηπατική και νεφρική λειτουργία και στην εναπόθεση λίπους στο σώμα έχουν σημαντικές επιδράσεις στη φαρμακοκινητική κάποιων δραστικών ουσιών και η κατανόησή τους είναι απαραίτητη για την επιτυχή χορήγησή τους (Saffrey, 2013; Merchant et al., 2014).

A.1.1 Το pH στο γαστρεντερικό αυλό των υπερηλίκων

Μεταξύ 1920 και 1980, πολλές μελέτες δείχνουν σημαντική μείωση στην έκκριση γαστρικού οξέος με την αύξηση της ηλικίας. Η πλειονότητα αυτών των μελετών δεν έλαβαν υπόψη την ύπαρξη πιθανών γαστρικών ατροφικών βλαβών (Salles, 2007). Επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν αυξημένη ατροφική γαστρίτιδα ανάμεσα στους ηλικιωμένους με ποσοστά 50-70% (Grassi et al., 2011). Μελέτες σε ασθενείς ηλικίας άνω των 80 ετών χωρίς ατροφικό γαστρεντερικό σωλήνα έδειξαν ότι η έκκριση γαστρικού οξέος ήταν σταθερή με την ηλικία (για το 90% των ασθενών). Πιο συγκεκριμένα, επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν αυξημένο επιπολασμό (prevalence) ατροφικής γαστρίτιδας σε ηλικιωμένους άνω των 80 ετών με μειωμένη έκκριση γαστρικού οξέος (Salles, 2007). Η ατροφική γαστρίτιδα οδηγεί σε υπερανάπτυξη του λεπτού εντέρου και φαινόμενα δυσαπορρόφησης (Salles, 2007). Παρόμοια μελέτη που υποστηρίζει ότι η έκκριση υδροχλωρικού οξέος προγενεματικά και μεταγενεματικά είναι μειωμένη επισημαίνει ότι αυτή η αλλαγή δεν παρατηρείται σε άτομα χωρίς ατροφική γαστρίτιδα (Salles, 2007). Επισημαίνεται ότι η βακτηριακή υπερανάπτυξη στο λεπτό έντερο μπορεί να σχετίζεται με γαστρική αχλωρυδρία, αλλά σε κάποιους εθελοντές φαίνεται ότι η βακτηριακή υπερανάπτυξη σχετίζεται και με αλλαγές στην εντερική κινητικότητα (Holt, 2007).

Στο ίδιο μήκος κύματος, μία άλλη μελέτη με αντικείμενο τους υγιείς ηλικιωμένους υποστηρίζει ότι η έκκριση γαστρικού οξέος είτε δεν αλλάζει είτε αυξάνεται. Παρολαυτά, η μόλυνση από το ελικοβακτηρίδιο και η ατροφική γαστρίτιδα συχνά σχετίζονται με μείωση στην έκκριση γαστρικού οξέος και είναι συχνή στις μεγαλύτερες ηλικίες (Rémond et al., 2015). Ωστόσο, γενικά πιστεύεται ότι ο ηλικιωμένος πληθυσμός πάσχει από ατροφική γαστρίτιδα η οποία οδηγεί σε

μειωμένη έκκριση οξέος, βακτηριακή ανάπτυξη, δυσαπορρόφηση θρεπτικών συστατικών και αναιμία (Holt, 2007; Salles, 2007). Έτσι, αν και η πλειοψηφία των υπερηλίκων έχουν παρόμοια παραγωγή γαστρικού οξέος με τους ενήλικες, η ύπαρξη υποχλωρυδρίας (μειωμένη παραγωγή γαστρικού οξέος) ή αχλωρυδρίας (απουσία έκκρισης οξέος) είναι περίπου 10-20% σε ηλικιωμένους άνω των 70 ετών σε σύγκριση με τους νέους (κάτω των 40 ετών) των οποίων το αντίστοιχο ποσοστό είναι λιγότερο από 1% σε έρευνα που διεξήχθη στη Βόρεια Αμερική (Abuhelwa et al., 2017). Σε μία πρόσφατη μελέτη 79 υγιών υπερηλίκων (71 ± 5 ετών), η παρατηρούμενη τιμή γαστρικού pH κατά τη διαπεπτική περίοδο ήταν 1,3 (1,1-1,6) παρόλο που σε 5 αχλωρυδρικούς εθελοντές η αντίστοιχη τιμή ήταν 7,1. Το δωδεκαδακτυλικό pH ήταν επίσης ελαφρώς αυξημένο στους συγκεκριμένους υπερήλικες σε σχέση με τους υγιείς ενήλικες. Η διάμεση τιμή ήταν 6,5 (6,2-6,7) ενώ στους αχλωρυδρικούς εθελοντές ήταν 6,8 (Charman et al., 1997). Μετά τη χορήγηση γεύματος 1000 kcal το μεταγευματικό γαστρικό pH στους υπερήλικες δεν ήταν στατιστικώς διαφορετικό από αυτό που παρατηρήθηκε από τους Dressman et al. (1990) σε υγιείς ενήλικες αν και ο μέσος απαιτούμενος χρόνος για την επαναφορά του pH στην περίοδο πέψης ήταν σημαντικά μεγαλύτερος (Abuhelwa et al., 2017). Το δωδεκαδακτυλικό pH και στις δύο περιόδους δε διέφερε σημαντικά στους υπερήλικες (Abuhelwa et al., 2017).

Δεδομένα για τη διαφοροποίηση του pH στο κατώτερο έντερο των υπερηλίκων είναι σχεδόν ανύπαρκτα. Σε μια μελέτη (Pye et al., 1990) αναφέρονται οι μέσες τιμές (τυπικές αποκλίσεις) των τιμών γαστρεντερικού pH σε υγιείς εθελοντές που κατηγοριοποιούνται σε δύο ηλικιακές ομάδες, κάτω των 40 ετών και άνω των 40 ετών, σύμφωνα με τον Πίνακα Α.1.

Πίνακας Α.1: Μέση τιμή (τυπική απόκλιση) του εντερικού pH σε υγιείς εθελοντές δύο ηλικιακών ομάδων (Pye et al., 1990).

Τμήμα γαστρεντερικού αυλού	Εθελοντές κάτω των 40 ετών	Εθελοντές άνω των 40 ετών
Εγγύς λεπτό έντερο	6.7 (0.6)	6.5 (0.4)
Μέσον λεπτού εντέρου	7.4 (0.4)	7.3 (0.3)
Τελικό λεπτό έντερο	7.5 (0.5)	7.4 (0.5)
Ολική περιοχή λεπτού εντέρου	7.3 (0.3)	7.2 (0.4)
Δεξύ παχύ έντερο	6.4 (0.6)	6.4 (0.4)
Μέσον παχέος εντέρου	6.7 (0.9)	6.6 (0.5)
Αριστερό παχύ έντερο	7.1 (0.7)	6.9 (0.9)
Ολική περιοχή παχέως εντέρου	6.7 (0.7)	6.5 (0.5)

A.1.2 Η ρυθμιστική χωρητικότητα των γαστρεντερικών υγρών στους υπερήλικες

Ως ρυθμιστική χωρητικότητα ορίζεται η αποτελεσματικότητα ενός ρυθμιστικού διαλύματος να αντιστέκεται σε αλλαγές στις τιμές του pH. Συνήθως, εκφράζεται ως η ποσότητα ενός ισχυρού οξέος ή βάσης (σε γραμμοίσοδύναμα) που πρέπει να προστεθεί σε 1 λίτρο διαλύματος για να αλλάξει η τιμή του pH κατά μία μονάδα (www.pharmlabs.unc.edu, τελευταία πρόσβαση 18/04/18).

Η ικανότητα των γαστρεντερικών υγρών να αντιστέκονται στις αλλαγές του pH είναι καθοριστική όσον αφορά στο ρυθμό διάλυσης ιονιζόμενων φαρμάκων (Merchant et al., 2014). Η ρυθμιστική χωρητικότητα καθορίζεται από το pH των υγρών, από τη συγκέντρωση και το pKa της ρυθμιστικής ουσίας και από τη συγκέντρωση του φαρμάκου στο διάλυμα (Hörter & Dressman, 1997; Mudie et al., 2010). Όσο αυξάνεται η ρυθμιστική χωρητικότητα του μέσου διάλυσης τόσο λιγότερο θα αλλάξει το pH του μικροπεριβάλλοντος του διαλυόμενου στερεού (Merchant et al., 2014).

Δεν υπάρχουν δεδομένα για τη ρυθμιστική χωρητικότητα των γαστρεντερικών περιεχομένων σε υπερήλικες. Πειράματα σε αρουραίους έδειξαν ότι η ρυθμιστική χωρητικότητα του υπερκειμένου των γαστρικών υγρών ήταν αυξημένη σε ενήλικες αρουραίους (51 ± 1 mmol/L/ΔpH) σε σχέση με τους ηλικιωμένους (39 ± 1 mmol/L/ΔpH) (Merchant et al., 2014). Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στις τιμές της ρυθμιστικής ικανότητας του ανώτερου λεπτού εντέρου των ενηλίκων και ηλικιωμένων αρουραίων (Merchant et al., 2014). Ωστόσο, στον ειλεό διαπιστώθηκε

μεγαλύτερη ρυθμιστική χωρητικότητα στους ηλικιωμένους αρουραίους (30 ± 2 mmol/L/ Δ pH) σε σχέση με τους ενήλικους (22 ± 2 mmol/L/ Δ pH). Στην περιοχή του τυφλού και του παχέος εντέρου, η ρυθμιστική χωρητικότητα στους ηλικιωμένους αρουραίους είναι μειωμένη σε σχέση με νεαρούς αρουραίους (Merchant et al., 2014).

A.1.3 Ωσμωτικότητα

Η ωσμωτικότητα των περιεχομένων μπορεί να επηρεάσει την απελευθέρωση της δραστικής ουσίας από το φαρμακευτικό προϊόν, την απορρόφηση φαρμάκων χαμηλής διαπερατότητας και τη μεταφορά υδρόφιλων μικρομορίων παρακυττάρια (solvent drag effect) (Mudie et al., 2010). Πιο συγκεκριμένα, η αυξημένη ωσμωτικότητα των εντερικών περιεχομένων μειώνει τον ενδοαυλικό υδατικό όγκο και με αυτόν τον τρόπο μειώνεται η απορρόφηση των ουσιών (Ichijo et al., 2017).

Η διαθέσιμη πληροφορία σχετικά με την ωσμωτικότητα και την επιφανειακή τάση των ανθρώπινων γαστρεντερικών υγρών μεταξύ διαφόρων ηλικιακών ομάδων είναι περιορισμένη. Οι Annaert et al. (2010) βρήκαν ότι η ωσμωτικότητα των υγρών του λεπτού εντέρου υπερηλίκων εθελοντών ηλικίας 62 έως 72 ετών ήταν 215 (37) mOsm/kg και η αντίστοιχη ενηλίκων εθελοντών 18 έως 25 ετών 226 (35) mOsm/kg χωρίς να προκύπτει στατιστικά σημαντική διαφορά (Merchant et al., 2014).

A.1.4 Τα επίπεδα των χολικών οξέων στο γαστρεντερικό αυλό των υπερηλίκων

Η παρουσία των χολικών μπορεί να βελτιώσει την απορρόφηση λιπόφιλων δραστικών ουσιών διευκολύνοντας τη διάλυση της χορηγηθείσας δόσης. Η αύξηση του ρυθμού διάλυσης επιτυγχάνεται με 1) τη μείωση της διεπιφανειακής τάσης μεταξύ του στερεού φαρμάκου και του υγρού μέσου διάλυσης (ενίσχυση της διαβροχής) οδηγώντας σε αύξηση της δρώσας επιφανείας και με 2) την αύξηση της διαλυτοποιητικής δράσης των μικυλλίων. Παρολαυτά, η διαλυτοποίηση του φαρμάκου εντός των μικυλλίων των χολικών αλάτων είναι δυνατό να δημιουργήσει προβλήματα στη πρόσβαση του φαρμάκου στο επιθήλιο, λόγω του μειούμενου ρυθμού διάχυσης των μικυλλίων (Charman et al., 1997).

Μελέτες σε υπερηλικες εθελοντές έχουν δείξει ότι αυτή η ηλικιακή ομάδα έχει αυξημένη έκκριση χοληστερόλης και μειωμένη έκκριση παγκρεατικών υγρών και χολικών αλάτων (Salles, 2007). Άλλη μελέτη όμως υποστηρίζει, ότι οι εκκρίσεις των χολικών δε φαίνεται να επηρεάζονται με την ηλικία των εθελοντών, ωστόσο, μειώνεται η απορρόφησή τους (Rémond et al., 2015).

A.1.5 Η παρουσία των λιπιδίων στο γαστρεντερικό αυλό των υπερηλίκων

Τα λιπίδια είναι το κύριο συστατικό των τροφών που μπορεί να επηρεάσει την απορρόφηση των φαρμάκων. Η πέψη των λιπιδίων μειώνει τη γαστρική κινητικότητα και η παρουσία των προϊόντων της πέψης των λιπιδίων στο ανώτερο λεπτό έντερο επάγει την έκκριση χολικών και παγκρεατικών υγρών και τροποποιεί τη σύσταση των μικυλλίων των χολικών αλάτων (Charman et al., 1997).

Δεν έχουν αναφερθεί ως τώρα σημαντικές αλλαγές στη λιπιδική απορρόφηση με την αύξηση της ανθρώπινης ηλικίας (Drozdowski & Thomson, 2006).

Μία μελέτη έδειξε την ίδια βιοδιαθεσιμότητα του α-λινολενικού σε νεαρούς εθελοντές και σε εθελοντές 45-69 ετών (Rémond et al., 2015). Δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ ηλικίας και απέκκρισης λιπιδίων στα κόπρανα. Όμως η πέψη και η απορρόφηση των λιπιδίων μπορεί να γίνεται πιο αργά στους ηλικιωμένους με αποτέλεσμα να προκαλείται παρατεταμένη αίσθηση πληρότητας μειώνοντας τη γενική πρόσληψη (Salles, 2007).

A.1.6 Το μικροβίωμα του εντερικού αυλού στους υπερήλικες

Ο όρος “μικροβίωμα” έχει αντικαταστήσει τον παλαιότερο όρο “χλωρίδα” διότι ο τελευταίος δεν συμπεριλαμβάνει τους μικροοργανισμούς που υπάρχουν φυσιολογικά στο έντερο και δεν ανήκουν στην κατηγορία των βακτηρίων π.χ. τα αρχαία (*κατηγορία μονοκύτταρων μικροοργανισμών*), τους ιούς και τους μύκητες (Quigley et al., 2013). Η σύνθεση του μικροβιώματος κάθε ανθρώπου είναι μοναδική και θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί εναλλακτικά του δακτυλικού αποτυπώματός του (E.J. Woodmansey, 2007). Η εμφάνιση των διαφορετικών εντεροτύπων στον άνθρωπο φαίνεται να είναι ανεξάρτητη του φύλου, της εθνικότητας και του δείκτη μάζας σώματος (Quigley et al., 2013). Η σύνθεση του μικροβιώματος επηρεάζεται σημαντικά σε περίπτωση ξαφνικής διάρροιας, αντιβιοτικής θεραπείας ή αλλαγών στη διατροφή. Σε γενικές γραμμές όμως διατηρείται σταθερή (Guarner & Malagelada, 2003).

Ο τελικός ειλεός αποτελεί μία μεταβατική περιοχή ανάμεσα στη νήστιδα όπου οι ελάχιστοι μικροοργανισμοί που απαντώνται είναι κυρίως αερόβιοι και στο παχύ έντερο στο οποίο εντοπίζονται κυρίως αναερόβιοι μικροοργανισμοί. Ο αριθμός των μικροβίων μεγαλώνει κατά τη μετάβαση από το λεπτό έντερο στο παχύ έντερο. Η κυριαρχία των αναερόβιων μικροοργανισμών στο παχύ έντερο αναδεικνύει τη

προσαρμοστικότητα των μικροοργανισμών στα χαμηλά επίπεδα οξυγόνου της περιοχής (Quigley et al., 2013).

Τα γένη *bacteroides*, *bifidobacterium*, *eubacterium*, *clostridium*, *peptococcus*, *fusobacterium*, *propionibacterium*, *peptostreptococcus* και *ruminococcus* είναι αναερόβια και είναι τα κυρίαρχα στο ανθρώπινο μικροβίωμα ενώ τα αερόβια, συμπεριλαμβανομένου και των δυνητικά αναερόβιων μικροοργανισμών, όπως είναι τα γένη *escherichia*, *enterobacter*, *enterococcus*, *klebsiella*, *lactobacillus*, *proteus* απαντώνται σε μικρότερο βαθμό (Guarner & Malagelada, 2003; (E.J. Woodmansey, 2007). Τα *bacteroides* και *bifidobacteria* είναι υπεύθυνα κυρίως για την πέψη πολυσακχαριτών στο παχύ έντερο ενώ τα γένη *fusobacterium*, *propionibacterium* και *clostridium* εμφανίζουν πρωτεολυτικό χαρακτήρα (E.J. Woodmansey, 2007).

Παρόλο που το μικροβίωμα δεν αλλοιώνεται σημαντικά κατά την ενήλικη ζωή, έχει βρεθεί ότι επηρεάζεται σημαντικά από αλλαγές στη φυσιολογία του γαστρεντερικού σωλήνα λόγω γήρατος, συννοσηρών καταστάσεων καθώς και αλλαγών στη διατροφή και στο ανοσοποιητικό σύστημα. Έτσι μεταβάλλεται η σύνθεση του μικροβιώματος με σημαντικές επιπτώσεις στην άμυνα του οργανισμού των υπερηλίκων (E.J. Woodmansey, 2007; Quigley et al., 2013; Woodmansey et al., 2004). Η έκπτωση του ανοσοποιητικού μηχανισμού χαρακτηρίζει τη διαδικασία γήρατος και σχετίζεται με τη μεταβολή των ομοιοστατικών μηχανισμών του εντερικού μικροβιώματος (Claesson et al., 2012).

Η μειωμένη αίσθηση της γεύσης και της όσφρησης που περιορίζουν τις διατροφικές επιλογές και η μειωμένη ικανότητα μάσησης λόγω απώλειας τμημάτων της οδοντοστοιχίας και μειωμένης λειτουργίας της γνάθου και των σιελογόνων αδένων οδηγούν στην κακή διατροφή των υπερηλίκων διαμορφώνοντας το μικροβίωμα (Woodmansey et al., 2004). Ακόμη, στην αλλαγή της σύνθεσης του μικροβιώματος επιδρούν η δυσπεψία και η αλλαγή των χρόνων διάβασης από τον αυλό (Claesson et al., 2012).

Άλλος σημαντικός παράγοντας που καθορίζει τη σύνθεση του μικροβιώματος των υπερηλίκων αποτελεί ο τρόπος διαβίωσής τους. Έχει βρεθεί ότι το μικροβίωμα των υπερηλίκων που φιλοξενούνται σε οίκους μακροχρόνιας περίθαλψης είναι μικρότερος σε ποικιλομορφία παρέχοντας μικρότερη υποστήριξη στο ανοσοποιητικό τους σύστημα (Claesson et al., 2012).

Συνηθέστερα, παρατηρείται μείωση σε αριθμό και σε ποικιλία των ειδών των γενών *bacteroides* και *bifidobacteria* με αποτέλεσμα τη μείωση της πέψης σύνθετων υδατανθράκων και της ολικής παραγωγής λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου (E.J. Woodmansey, 2007; Woodmansey et al., 2004). Η μείωση σε *bifidobacteria* μπορεί να οφείλεται σε μειωμένη προσκόλληση στην εντερική βλεννογόνο που οδηγεί σε μειωμένη ανοσολογική απόκριση του εντέρου και κατ'έκταση σε συχνότερη εμφάνιση γαστρεντερικών λοιμώξεων (E.J. Woodmansey, 2007).

Αντίθετα, παρατηρείται αύξηση κάποιων αερόβιων και δυνητικά αναερόβιων μικροοργανισμών και ειδικότερα των γενών *fusobacterium*, *clostridium*, *eubacterium* και *propionibacterium* και *enterobacterium* και *lactobacillus* αντίστοιχα και οδηγώντας σε αύξηση της πρωτεολυτικής δραστηριότητας ειδικά σε υπερήλικες που λαμβάνουν αντιβίωση. Αύξηση παρατηρείται και στον αριθμό των μυκήτων καθώς και στα γένη *streptococci* και *staphylococci* (E.J. Woodmansey, 2007; Woodmansey et al., 2004).

Η αριθμητική αύξηση του γένους *fusobacteria* στους υπερήλικες προκαλεί αυξημένη πρωτεολυτική δραστηριότητα και την παραγωγή τοξικών νιτροενώσεων όπως είναι τα ινδόλια (Woodmansey et al., 2004). Η αύξηση σε *eubacteria* στους ηλικιωμένους πιθανά να οδηγεί στην αυξημένη παραγωγή χολικών αλάτων και την παραγωγή βλαβερών μεταβολιτών. Υπάρχουν ενδείξεις ότι συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος του είδους *Eubacterium aerofaciens* μπορεί να προκαλέσουν την εμφάνιση αρθριτικών προβλημάτων στους ηλικιωμένους (E.J. Woodmansey, 2007). Η αύξηση σε αριθμό και είδη του γένους *clostridia* στους υπερήλικες ειδικά όταν συνυπάρχει με τη λήψη της αντιβίωσης οδηγεί σε ακόμη μεγαλύτερα μεγέθη λακτοβακίλλων και παραγωγή γαλακτικού οξέος (E.J. Woodmansey, 2007).

A.1.7 Η παρουσία λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου (Short Chain Fatty Acids, SCFAs) στο γαστρεντερικό αυλό των υπερηλίκων

Όπως αναμένεται, λόγω των αλλαγών στη διατροφή και στο μικροβίωμα των ηλικιωμένων, αλλάζει και η παραγωγή των βακτηριακών μεταβολιτών. Έτσι, τα επίπεδα των SCFAs είναι μειωμένα στους ηλικιωμένους σε σχέση με τους υγιείς ενήλικες (Salazar et al., 2017). Αυτές οι μεταβολές σχετίζονται με την αλλαγή της σύστασης του μικροβιώματος που είχε κυρίως σακχαρολυτική δραστηριότητα στους ενήλικες (Salazar et al., 2017). Παρολαυτά, οι μελέτες σχετικά με τα SCFAs και το

μικροβίωμα σε δείγματα από το παχύ έντερο είναι περιορισμένες (McOrist et al., 2008).

A.1.8 Το γαστρεντερικό επιθήλιο στους υπερήλικες

Το γαστρεντερικό επιθήλιο υφίσταται συνεχείς αλλαγές κάθε 2-6 μέρες ανάλογα με την περιοχή του γαστρεντερικού αυλού και τη διατροφή. Αν δε ληφθεί υπόψιν ο παράγοντας της διατροφής, η ηλικία δεν επηρεάζει την αρχιτεκτονική του επιθηλίου σε μοντέλα πειραματοζώων (Grassi et al., 2011; Rémond et al., 2015; Salles, 2007).

Η σύγκριση της έκτασης επιφανείας της εντερικής βλεννογόνου υπερηλίκων (60-73 ετών) και ενηλίκων (16-30 ετών) δείχνει πιθανή μείωση της έκτασής της στους υπερήλικες (Mayersohn, 1994). Ωστόσο, αν και παλιότερες μελέτες ανέφεραν ότι στους ηλικιωμένους η επιφάνεια των μικρολαχνών και το ύψος τους είναι μειωμένα σε σχέση με τους υγιείς ενήλικες η προσεκτική εκτίμηση βιοψιών από τη νήστιδα υγιών ηλικιωμένων δείχνουν ότι η ανατομία των επιθηλιακών κυττάρων και η επιφάνειά τους δε διαφέρει από αυτή των ενηλίκων (Holt, 2007). Έτσι, οι ανωμαλίες στην αρχιτεκτονική του εντέρου πιθανότατα προκαλούνται από συννοσηρές καταστάσεις και όχι από την αύξηση της ηλικίας. Η μείωση των δισακχαριδικών ενζύμων της ψυκτροειδούς παρυφής δε συνδέεται με την αύξηση της ηλικίας με την εξαίρεση της μείωσης της λακτάσης (Holt, 2007).

A.1.9 Η κινητικότητα του γαστρεντερικού σωλήνα στους υπερήλικες

Με την αύξηση της ηλικίας και τη συννοσηρότητα υπάρχει αυξημένη συχνότητα σε προβλήματα γαστρεντερικής κινητικότητας και διάβασης. Κοινός παρονομαστής φαίνεται να είναι η έκπτωση του εντερικού νευρικού συστήματος (Phillips & Powley, 2007).

Πειράματα σε ηλικιωμένους αρουραίους δείχνουν μειωμένη γαστρεντερική κινητικότητα, αυξημένους χρόνους παραμονής στο έντερο και μειωμένη παραγωγή κοπράνων (Saffrey, 2013). Έχει περιγραφεί σημαντική μείωση στην περισταλτική κινητικότητα αλλά όχι στη διάρκεια και στη ταχύτητά της, ενώ, αντίθετα, έχει παρατηρηθεί αύξηση στη συχνότητα των συσπάσεων (Salles, 2007).

Δεδομένα για τους ρυθμούς γαστρικής κένωσης στους ηλικιωμένους είναι αντικρουόμενα. Ορισμένες μελέτες δε δείχνουν αλλαγές σε σχέση με τους ενήλικες,

ορισμένες δείχνουν τάση για αυξημένους χρόνους γαστρικής κένωσης στερεών ουσιών και μειωμένους υγρών και άλλες δείχνουν αυξημένους χρόνους γαστρικής κένωσης και για τα υγρά και στερεά γεύματα (Alvis & Hughes, 2016). Η εξαγωγή γενικού συμπεράσματος δεν είναι εύκολη κυρίως λόγω της μεταβλητότητας των δεδομένων και διαφοροποιήσεων στην υγεία των υπερηλίκων μεταξύ των μελετών.

Λίγες μελέτες που αφορούν στην επίδραση της ηλικίας στους χρόνους διάβασης του λεπτού εντέρου ανάμεσα στους ενήλικες και στους υπερήλικες δείχνουν απουσία διαφορών (Metcalf et al., 1987; Mayersohn, 1994; Grassi et al., 2011). Ωστόσο, οι Madsen and Graf (2004) έδειξαν αυξημένους χρόνους διάβασης σε υπερήλικες. Οι χρόνοι διάβασης εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό και από παράγοντες όπως είναι η άσκηση, η πρόσληψη νερού και ινών, η συννοσηρότητα και η χρόνια λήψη φαρμάκων (Rémond et al., 2015).

A.2 Ο ΦΡΑΓΜΟΣ ΤΟΥ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ ΚΙΡΡΩΤΙΚΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ

Το εντερικό επιθήλιο αποτελείται από απλή στιβάδα κυλινδρικών απορροφητικών κυττάρων και λίγων κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος (όπως είναι τα λεμφοκύτταρα και οι ανοσοσφαιρίνες) (Wang et al., 2015). Η λιπιδική διπλοστοιβάδα του τοιχώματος των απορροφητικών κυττάρων διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στο φραγμό διότι τα επιθηλιακά κύτταρα συνδέονται μεταξύ τους με σφιχτές συνάψεις που δημιουργούνται μέσω λιπιδικών και πρωτεϊνικών συνδέσμων και δεσμοσωμάτων αφήνοντας μικρό ελεύθερο χώρο ανάμεσα σε γειτονικά κύτταρα. Έτσι, μειώνεται σημαντικά η διαπέραση υδατοδιαλυτών μορίων (Arrieta, Bistritz, & Meddings, 2006; Kalaitzakis, 2014; Tsiaoussis et al., 2015). Τα απορροφητικά κύτταρα έχουν τη δυνατότητα ενδοκυττάριας απορρόφησης λιπόφιλων μορίων, καθώς και (κυρίως παθητικά) νερού και θρεπτικών συστατικών μέσω διαφόρων συστημάτων μεταφοράς (Aguirre Valadez et al., 2016; Arrieta et al., 2006; Wang et al., 2015).

Η διαπερατότητα μέσω των σφιχτών συνδέσμων αποτελεί μία δυναμική κατάσταση, εξαρτάται από την ακεραιότητα του φραγμού και ρυθμίζεται από πολλούς φυσιολογικούς και παθολογικούς παράγοντες όπως είναι η διαπεπτική κατάσταση ή κατάσταση πέψης, τα χυμικά και νευρικά σήματα, οι φλεγμονώδεις μεσολαβητές, τα μαστοκύτταρα και μία πληθώρα μεταβολιτών των βακτηριακών και

υκών παθογόνων μικροοργανισμών (Arrieta et al., 2006; Wang et al., 2015). Η αποδυνάμωση των σφιχτών συνάψεων ανάμεσα στα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου και επομένως η αυξημένη εντερική διαπερατότητα οδηγεί σε φλεγμονώδεις αντιδράσεις του ανοσοποιητικού και σχετίζεται με διάφορες ασθένειες όπως είναι η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου, η κοιλιοκάκη (celiac disease), το σύνδρομο του ευερέθιστου εντέρου και η κίρρωση του ήπατος (Camilleri et al., 2012; Tsiaoussis et al., 2015; Valle-pinero et al., 2014).

A.2.1 Τρόποι διαπέρασης του γαστρεντερικού επιθηλίου

Το λεπτό έντερο διαθέτει δύο κύριους τρόπους διαπέρασης των διαλυμένων μορίων (Meddings, 1997).

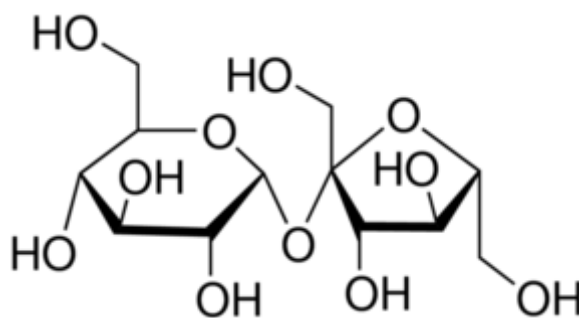
Ο πρώτος τρόπος είναι ο ενδοκυττάριος και περιλαμβάνει στην πραγματικότητα μία ομάδα μηχανισμών διαπέρασης. Οι ενδοκυττάριοι μηχανισμοί διαπέρασης αποτελούνται από 1) την παθητική διάχυση που ευνοεί τα λιπόφιλα μόρια (μέσω της λιπιδικής διπλοστοιβάδας) και τα μικρά μόρια και τους ηλεκτρολύτες (<300Da) [μέσω μη εκλεκτικών μικρών υδατινών πρωτεϊνικών μεταφορέων ή καναλιών της λιπιδικής διπλοστοιβάδας (Aguirre Valadez et al., 2016; Meddings, 1997)], 2) τη μεταφορά με τη μεσολάβηση φορέα που εξυπηρετεί την απορρόφηση θρεπτικών συστατικών, ηλεκτρολυτών αλλά και κάποιων εξωγενών ουσιών όπως είναι ορισμένα φάρμακα και 3) την ενδοκύτωση (Camilleri et al., 2012).

Ο δεύτερος και λιγότερος συχνός τρόπος, αφορά στη διάχυση υδρόφιλων μικρομορίων μορίων (MB<200) και ιόντων ανάμεσα στα γειτονικά επιθηλιακά κύτταρα διαμέσου των σφιχτών συνάψεων που τα συνδέουν (παρακυττάρια) και είναι χαμηλής εκλεκτικότητας (Aguirre Valadez et al., 2016; Meddings, 1997). Οι σφιχτά συνδεδεμένες πρωτεΐνες δεν αντιπροσωπεύουν μία στατική κατάσταση αλλά ρυθμίζονται συνεχώς μέσω ενδοκυττάρων και εξωκυττάρων σημάτων (Camilleri et al., 2012). Η παρακυττάρια οδός δεν περιλαμβάνει την ύπαρξη φορέα και εξαρτάται από την εκατέρωθεν συγκέντρωση της ουσίας, την επιφάνεια του επιθηλίου, το διαθέσιμο χρόνο για διαπέραση και τα χαρακτηριστικά διαπερατότητας του επιθηλίου (Arrieta et al., 2006). Παθολογικές καταστάσεις μπορούν να αυξήσουν την παρακυττάρια μεταφορά. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε χρόνιες ασθένειες του εντέρου αλλά μπορεί να επηρεάσει και άλλα όργανα που σχετίζονται με αυτό (Wang et al., 2015).

A.2.2 Εκτίμηση της καλής λειτουργίας του γαστρεντερικού επιθηλίου

Υπάρχουν πολυάριθμες και αρκετά ευαίσθητες μέθοδοι μέτρησης της γαστρεντερικής διαπερατότητας οι περισσότερες εκ των οποίων όμως είναι τεχνικές επεμβατικές και συχνά ακατάλληλες για την καθημερινή διαγνωστική πρακτική (Valle-pinero et al., 2014). Για το λόγο αυτό, η γαστρεντερική διαπερατότητα συχνά εκτιμάται με τη μη επεμβατική μέθοδο της ποσοτικοποίησης των από του στόματος χορηγούμενων, μη μεταβολιζόμενων, ουσιών-δεικτών στα ούρα (Kalaitzakis, 2014; Norman et al., 2012; Valle-pinero et al., 2014). Οι ουσίες πρέπει να ανιχνεύονται εύκολα στα ούρα, να διαχωρίζονται εύκολα από τα ενδογενή συστατικά και να μην είναι τοξικές (Arrieta et al., 2006). Συνήθως, επιλέγονται υδατοδιαλυτά μόρια μικρά σε μέγεθος που δεν απορροφώνται σε σημαντικό βαθμό (Arrieta et al., 2006; Camilleri et al., 2012). Με αυτόν τον τρόπο διευκολύνεται σημαντικά η μελέτη της εντερικής διαπερατότητας *in vivo* (Wang et al., 2015). Τα περισσότερο χρησιμοποιούμενα μόρια είναι μικρά σακχαριδικά παράγωγα και/ή το ιχνηθετημένο Cr-EDTA επειδή πληρούν τα ανωτέρω κριτήρια και είναι οικονομικά (Arrieta et al., 2006). Συνήθως, η απορρόφησή τους από υγιείς ενήλικες είναι περιορισμένη. Τα περισσότερο χρησιμοποιούμενα μόρια αποικοδομούνται με διάφορους τρόπους σε συγκεκριμένες περιοχές κατά μήκος του γαστρεντερικού αυλού και για το λόγο αυτό το καθένα από αυτά επιτρέπει την εκτίμηση της διαπερατότητας διαφορετικής περιοχής του φραγμού (Arrieta et al., 2006).

Σουκρόζη



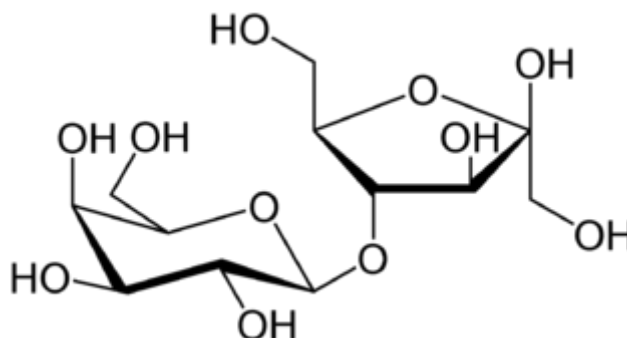
Σχήμα A.1 Μοριακή δομή σουκρόζης (M.B.: 342.3 g/mol)

Η σουκρόζη (Σχήμα A.1) είναι ένας χρήσιμος δείκτης για την εκτίμηση της παρακυντάριας μεταφοράς στο στόμαχο και σε μικρότερο βαθμό στο δωδεκαδάκτυλο (Norman et al., 2012), διότι σε φυσιολογικές συνθήκες το μέγεθος του μορίου και η

υδροφιλία του δεν επιτρέπουν την απορρόφησή του και η σουκρόζη αποικοδομείται ταχέως αφού εγκαταλείψει το στόμαχο (Arrieta et al., 2006; Valle-pinero et al., 2014).

Η αξιοπιστία της εκτίμησης της διαπερατότητας του στομάχου βασίζεται στο γεγονός ότι η υδρόλυση της σουκρόζης στο λεπτό έντερο γίνεται πλήρως και πολύ γρήγορα (Valle-pinero et al., 2014).

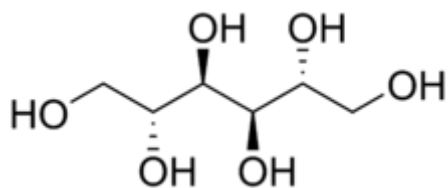
Λακτουλόζη



Σχήμα Α.2 Μοριακή δομή λακτουλόζης (Μ.Β.: 342.3 g/mol)

Η λακτουλόζη (Σχήμα Α.2) δεν υδρολύεται από τα εντερικά ένζυμα και υφίσταται 100% ουρική απέκκριση μέσα σε ένα 24ωρο από την ενδοφλέβια χορήγησή της. Αυτές οι ιδιότητες την καθιστούν χρήσιμη για την εκτίμηση της παρακυττάριας εντερικής διαπερατότητας. Παρολαυτά, η λακτουλόζη είναι υπόστρωμα των βακτηρίων του παχέος εντέρου και αποικοδομείται από αυτά. Έτσι έχει μικρή χρησιμότητα για την εκτίμηση του φραγμού στο παχύ έντερο και έχει καθιερωθεί ως δείκτης για την παρακυττάρια διαπερατότητα του λεπτού εντέρου (Anderson et al., 2004).

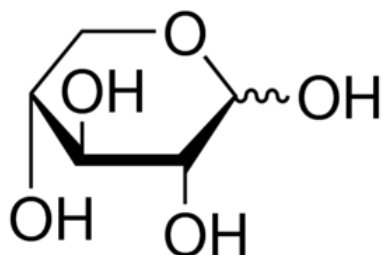
Μαννιτόλη



Σχήμα A.3 Μοριακή δομή μαννιτόλης (M.B.: 182.2 g/mol)

Η μαννιτόλη (Σχήμα A.3) απορροφάται ενδοκυττάρια και παρακυττάρια (Meddings, 1997). Μεγάλο ποσοστό μετά από p.o. χορήγηση απεκκρίνεται στα ούρα (Wang et al., 2015). Το ποσοστό μαννιτόλης που απορροφάται εξαρτάται από την επιφάνεια του εντέρου στην οποία εκτίθεται αλλά και από τη χάλαση των σφιχτών συνάψεων (Meddings, 1997).

D-Ξυλόζη



Σχήμα A.4 Μοριακή δομή D-ξυλόζης (M.B.: 182.2 g/mol)

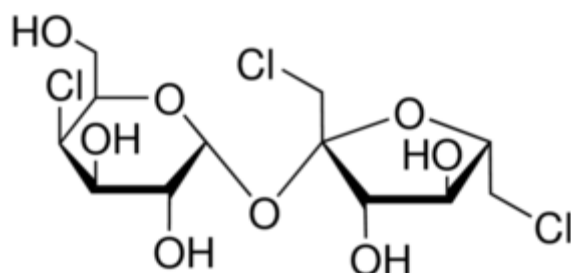
Η D-ξυλόζη (Σχήμα A.4) είναι ανθεκτική στο στομάχο, δεν υπόκειται σε μεταβολισμό από τα εντερικά και ηπατικά ένζυμα αλλά ούτε και σε αποικοδόμηση από τα εντερικά βακτήρια (Ingomar et al., 1964). Επειδή δεν υπόκειται σε μεταβολισμό, δεν επηρεάζεται από διάφορες μεταβολικές αλληλεπιδράσεις που θα μπορούσαν αν περιορίσουν τη χρήση της για τη μέτρηση της εντερικής διαπερατότητας. Δεν εμφανίζεται φυσιολογικά στο αίμα ή στα ούρα (Goldbloom et al., 1965; Shamma'a & Ghazanfar, 1960).

Η D-ξυλόζη παρά το μικρό της μοριακό βάρος που ευνοεί τη διάχυση υποστηρίζεται ότι απορροφάται και με το μηχανισμό της μεσολάβησης φορέα από την εντερική βλεννογόνο πιθανώς μέσω φωσφορυλίωσης του μορίου. Έτσι,

διαφοροποιήσεις σε σχέση με τη μαννιτόλη οφείλονται και σε διαφοροποιήσεις στους μηχανισμούς μεταφοράς με φορείς (Goldbloom et al., 1965; Shamma'a & Ghazanfar, 1960).

Η ουρική απέκκρισή της είναι ανάλογη της συγκέντρωσής της στο πλάσμα. Κατόπιν per os χορήγησης 25 g του μορίου, περίπου τα 7.5 g από αυτά απεκκρίνονται στα ούρα μετά το πέρας των πέντε πρώτων ωρών (Shamma'a & Ghazanfar, 1960).

Σουκραλόζη



Σχήμα A.5 Μοριακή δομή σουκραλόζης (M.B.:397.64 g/mol)

Οι Meddings and Gibbons (1998) έχουν περιγράψει τη χρήση ενός νέου συνθετικού γλυκαντικού, της σουκραλόζης (Σχήμα A.5) για την εκτίμηση της εντερικής διαπερατότητας στους αρουραίους (Anderson et al., 2004). Η σουκραλόζη είναι ένα τεχνητό, τριχλωριωμένο παράγωγο της σουκρόζης και έχει παρόμοιο μοριακό βάρος με τη λακτουλόζη (Anderson et al., 2004; Meddings, 1997). Η σουκραλόζη είναι ανθεκτική στο περιβάλλον του στομάχου και δεν αποικοδομείται ούτε από τα ένζυμα του λεπτού εντέρου αλλά ούτε και από τα βακτήρια του παχέος εντέρου και έτσι μπορεί να βρεθεί σε μεγάλες συγκεντρώσεις στο παχύ έντερο κατόπιν χορήγησής της από το στόμα (Anderson et al., 2004; Camilleri et al., 2012; Meddings, 1997). Έτσι η σουκραλόζη αντιπροσωπεύει τη διαπερατότητα σε όλο το μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα. Σε περιπτώσεις όπου υπάρχει αυξημένη απέκκριση σουκραλόζης με φυσιολογικό λόγο λακτουλόζη/μαννιτόλη συμπεραίνεται αυξημένη καταστροφή στην περιοχή του παχέος εντέρου (Anderson et al., 2004). Για το λόγο αυτό, όταν η σουκραλόζη χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με τη σουκρόζη, τη λακτουλόζη και τη μαννιτόλη μπορεί να εκτιμήσει την καταστροφή της περιοχής στο παχύ έντερο (Meddings, 1997).

A.2.3 Ο γαστρεντερικός φραγμός στην κίρρωση του ήπατος

Οι ασθενείς με κίρρωση του ήπατος αντιμετωπίζουν γαστρεντερικές διαταραχές οι οποίες συμβάλλουν στην περαιτέρω επιπλοκή της ασθένειας και επιδρούν στην γενικότερη ποιότητα της ζωής τους. Οι συνηθέστερες διαταραχές αποτελούνται από κοιλιακό φούσκωμα και πόνο, ερυγές, διάρροια και δυσκοιλιότητα. Η παθοφυσιολογία των συμπτωμάτων συχνά σχετίζεται με την εντερική λειτουργία π.χ. αυξημένη ευαισθησία του στομάχου κατά τη διάταση και αργότερη εντερική διάβαση, την ύπαρξη ασκίτη, την ύπαρξη ψυχολογικών προβλημάτων και τα χαμηλά επίπεδα τεστοστερόνης (Kalaitzakis, 2014).

Σε ασθενείς με προχωρημένη και πεπλεγμένη κίρρωση έχουν παρατηρηθεί δομικές και λειτουργικές διαφορές στο γαστρεντερικό σωλήνα με αποτέλεσμα να παρατηρούνται αυξημένη παρουσία βλέννας, χαλάρωση συνάψεων στο εντερικό επιθήλιο, οίδημα και φλεγμονώδεις αλλαγές στον υποβλεννογόνιο χώρο του εντερικού φραγμού πυροδοτώντας έτσι έναν κυτταρικό μηχανισμό για την αποικοδόμηση του εντερικού φραγμού και την υπερδιαπερατότητα (Bellot, Francés, & Such, 2013; Tsiaoussis et al., 2015; Wang et al., 2015). Η αυξημένη εντερική διαπερατότητα με τη σειρά της μπορεί να προάγει τη μετανάστευση των βακτηρίων ή των προϊόντων τους στην αιματική κυκλοφορία και άρα στα υπόλοιπα μέρη του σώματος (Aguirre Valadez et al., 2016). Έτσι, προκύπτει ότι υπάρχει μία δυναμική σχέση μεταξύ της κίρρωσης του ήπατος, της έκφρασης των πρωτεϊνών των σφιχτών συνάψεων των εντερικών επιθηλιακών κυττάρων και της βακτηριακής μετατόπισης (Tsiaoussis et al., 2015). Η σύνδεση μεταξύ του ήπατος και του γαστρεντερικού αυλού είναι πολύ ισχυρή διότι το ήπαρ συνεχώς εκτίθεται στα θρεπτικά συστατικά, τις τοξίνες και τα αντιγόνα που προέρχονται από την τροφή, τα προϊόντα μεταβολισμού των βακτηρίων και τους μικροοργανισμούς του γαστρεντερικού αυλού (Aguirre Valadez et al., 2016).

Οι κίρρωτικοί ασθενείς αντιμετωπίζουν μεγάλο κίνδυνο ανάπτυξης επιπλοκών που σχετίζονται με βακτηριακές μολύνσεις. Η βακτηριακή μετατόπιση οδηγεί σε συστηματική φλεγμονή και αύξηση της πυλαίας υπέρτασης με αποτέλεσμα την περαιτέρω επιδείνωση της ασθένειας (Aguirre Valadez et al., 2016). Έχει αποδειχθεί ότι η χλωρίδα του εντέρου έχει άμεση επίδραση στη λειτουργία των σφιχτά συνδεδεμένων πρωτεϊνών μέσω της απελευθέρωσης διαλυτών πεπτιδίων ή τοξινών τα οποία είτε αποτελούν στοιχεία της δομής τους είτε είναι προϊόντα του μεταβολισμού

τους. Μεταβολικά προϊόντα των βακτηρίων όπως είναι τα λιπαρά οξέα βραχείας αλυσού π.χ. οξικό και βουτυρικό οξύ ενισχύουν άμεσα τη λειτουργία του φραγμού του εντερικού επιθηλίου. Αντίθετα, κάποιοι μικροοργανισμοί μπορεί να μειώσουν την εντερική διαπερατότητα με άμεση επίδραση στα κύτταρα του ανοσοποιητικού και την απελευθέρωση κυτοκινών (Camilleri et al., 2012).

A.2.4 Η επίδραση της προπρανολόλης στη γαστρεντερική διαπερατότητα των κιρρωτικών ασθενών

Οι μη εκλεκτικοί αδρενεργικοί ανταγωνιστές αποτελούν πρώτη γραμμή στη θεραπεία των κιρρωτικών ασθενών με πυλαία υπέρταση (Giannelli et al., 2014).

Η χορήγηση μη εκλεκτικών αδρενεργικών ανταγωνιστών, και ιδιαίτερα της προπρανολόλης, σε κιρρωτικούς ασθενείς έχουν μελετηθεί και προκύπτει ότι μειώνουν τη γαστρεντερική διαπερατότητα (όπως αξιολογείται με το τριπλό τεστ σακχάρων) και τη βακτηριακή μετάθεση στη συστηματική κυκλοφορία (Reiberger et al., 2013). Οι παράγοντες αυτοί δρουν μέσω αιμοδυναμικών και μη μηχανισμών και τελικά αντιμετωπίζουν την πυλαία υπέρταση και τις επιπλοκές της (Giannelli et al., 2014; Reiberger et al., 2013). Με τη μείωση της πυλαίας υπέρτασης και της συμπαθητικολυτικής τους δράσης μπορούν να μειώσουν την εντερική υπεραίμια και το οίδημα μέσω της αποκατάστασης της εντερικής διάβασης (Giannelli et al., 2014).

Σε πειραματόζωα με πυλαία υπέρταση, η προπρανολόλη μειώνει την εντερική κινητικότητα, την υπέρμετρη αύξηση της εντερικής χλωρίδας και άρα την ανάπτυξη βακτηριακής περιτονίτιδας (Giannelli et al., 2014). Επιπρόσθετα, οι μη εκλεκτικοί αδρενεργικοί ανταγωνιστές έχουν θεραπευτική αξία στον ασκίτη, στη νεφρική δυσλειτουργία, στην ηπατική εγκεφαλοπάθεια, στις επιπλοκές της πυλαίας υπέρτασης και στη γενικότερη επιβίωση (Akhavan Rezayat et al., 2017; Giannelli et al., 2014).

Τα πλεονεκτήματα της χρήσης των μη εκλεκτικών αδρενεργικών ανταγωνιστών περιλαμβάνουν το χαμηλό κόστος τους, την ευκολία χορήγησής τους και το γεγονός ότι δε χρειάζεται ενδοσκοπική παρακολούθηση της θεραπευτικής αγωγής. Παράλληλα, όμως, η χορήγησή τους συχνά περιορίζεται διότι προκαλούν αυξημένα επίπεδα νορεπινεφρίνης και μειωμένα επίπεδα ρενίνης, αγγειοτενσίνης και αλδοστερόνης οδηγώντας σε κατακράτηση άλατος και νερού (Akhavan Rezayat et al., 2017; Giannelli et al., 2014).

A.3 ΣΤΟΧΟΙ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η παρούσα μελέτη είχε δύο στόχους:

1. Τη διερεύνηση του περιβάλλοντος στον αυλό του κατώτερου εντέρου υπερηλίκων. Η διερεύνηση πραγματοποιήθηκε έτσι, ώστε να διαπιστωθεί η σημασία της παρουσίας υπολειμμάτων της τροφής στο περιβάλλον. Συγκεκριμένα, έγινε φυσικοχημικός χαρακτηρισμός των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού περίπου 18h μετά την κατανάλωση γεύματος και περίπου 5 ώρες μετά την κατανάλωση γεύματος πλούσιου σε λιπαρά συνολικής θερμιδικής αξίας 960 kcal. Επιπρόσθετα, για τη μείωση της μεταβλητότητας των δεδομένων, οι χορηγήσεις στους εθελοντές υπερήλικες έγιναν με βάση ένα τυχαιοποιημένο διασταυρωτό σχεδιασμό.

2. α) Την επιβεβαίωση της ευεργετικής επίδρασης της προπρανολόλης σε κιρρωτικούς ασθενείς (Reiberger et al. 2013):

- μέσω της μείωσης της γαστροδωδεκαδακτυλικής διαπερατότητας βλεννογόνου, χρησιμοποιώντας ως δείκτη τη σουκρόζη και

- μέσω της μείωσης της διαπερατότητας του λεπτού εντέρου (μείωση παρακυττάριας μεταφοράς και της ενδοκυττάριας παθητικής μεταφοράς στο λεπτό έντερο, χρησιμοποιώντας ως δείκτες τη λακτουλόζη και τη μαννιτόλη, αντίστοιχα).

β) Τη διερεύνηση της επίδρασης της προπρανολόλης στη μείωση της διαπερατότητας του λεπτού εντέρου σε κιρρωτικούς ασθενείς, μέσω της μείωσης της παρακυττάριας μεταφοράς και της επαναφοράς των μηχανισμών μεταφοράς με τη μεσολάβηση φορέα, χρησιμοποιώντας ως δείκτη D-ξυλόζη.

Οι εν λόγω διερευνήσεις αποτελούν συνέχεια προηγούμενης εργασίας, με βάση την οποία δεν ήταν δυνατή η εξαγωγή χρήσιμων συμπερασμάτων λόγω του περιορισμένου (σε σχέση με τη μεταβλητότητα των δεδομένων) αριθμού ασθενών που είχαν συμπεριληφθεί (Καρατζά Ε., Διπλωματική Εργασία, 2014).

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

B.1 ΟΡΓΑΝΑ

Αναδευτήρας περιδίνησης, MS 3 basic, IKA® Works, Inc. (Wilmington, U.S.A.)

Αναερόβιος θάλαμος, Elektrotek Anaerobic Workstation – AW 500TG Two Gas Version (West Yorkshire, U.K.)

Αναλυτικός ζυγός Kern 770, Kern & Sohn GmbH (Albstadt, Germany)

Θερμοστατούμενη ανακινούμενη διάταξη, Eppendorf Thermomixer comfort, Eppendorf AG (Hamburg, Germany)

Κολονοσκόπιο με δυνατότητα αποθήκευσης εικόνας (CF Q14SL, Exera, Olympus)

Λουτρό υπερήχων, Elmasonic S100H, Elma Schmidbauer GmbH (Singer, Germany)

Μαγνητική πλάκα ανάδευσης, RH basic, IKA® Works, INC. (Wilmington, U.S.A.)

Πεχάμετρο Schott, model CG842 (Mainz, Germany)

Προστήλη Hypersil BDS-C18 (10 mm×4 mm, 5 μm), Thermo Fisher Scientific Inc., (Massachusetts, U.S.A.)

Στήλη NH2P-50 4E (250×4,6mm ID, 5μm) Asahipak (Shodex, SHOWA DENKO K.K., Kanagawa, Japan)

Στήλη BDS C₁₈ (250×4.6 mm ID, 5μm) Hypersil® (ThermoQuest Inc., San Jose, USA)

Στήλη Fortis™ C₁₈ (150×3.0 mm ID, 5 μm) Fortis™, Fortis™ Technologies Ltd (Cheshire, U.K.)

Συσκευή μέτρησης pH (model ER350B, Metrohm Herisay, Switzerland)

Συσκευή μέτρησης ωσμωτικότητας (model Semimicro Osmometer Typ Dig. L.KNAUER GmbH, Berlin, Germany).

Συσκευή περιδίνησης (model MS2 minishaker, IKA® works, INC., Wilmington, USA).

Σύστημα αεριοχρωματογραφίας, Trace GC Ultra, Thermo Electron Corporation ThermoFisher Scientific εξοπλισμένο με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID), Austin, Texas, USA και αυτόματο δειγματολήπτη υγρών (Fisons AS800, UK)

Σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης αποτελούμενο από αντλία Spectra System P4000 (ThermoQuest Inc., San Jose, USA), ανιχνευτή

φορτισμένου αερολύματος (Charged Aerosol Detector, CAD, ESA Corona®, ESA, Chelmsford, MA, USA), αυτόματο δειγματολήπτη AS3000 (ThermoQuest Inc., San Jose, USA) και λογισμικό EZChrom Agilent® version 3,2 (Agilent Technologies, Inc, Pleasanton, CA, USA)

Σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης αποτελούμενο από αντλία Spectra System P1000 (ThermoQuest Inc., San Jose, USA), ανιχνευτή υπεριώδους-ορατού Spectra System UV2000 (ThermoQuest Inc., San Jose, USA) , αυτόματο δειγματολήπτη AS1000 (ThermoQuest Inc., San Jose, USA) , σύστημα ελέγχου Spectra system controller SN4000 και λογισμικό Chromquest, ThermoQuest Inc. (San Jose, U.S.A.)

Σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης αποτελούμενο από αντλία Spectra System P4000 (ThermoQuest Inc., San Jose, USA), ανιχνευτή υπεριώδους UV 1000 (ThermoQuest Inc., San Jose, USA), αυτόματο δειγματολήπτη AS3000 (ThermoQuest Inc., San Jose, USA) και λογισμικό EZChrom Agilent® version 3.2 (Agilent Technologies, Inc, Pleasanton, C.A., U.S.A.

Σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης αποτελούμενο από αντλία Spectra System P4000 (ThermoQuest Inc., San Jose, USA), ανιχνευτή υπεριώδους UV 1000, αυτόματο δειγματολήπτη AS3000 (ThermoQuest Inc., San Jose, USA) και λογισμικό EZChrom Agilent® version 3.2 (Agilent Technologies, Inc, Pleasanton, C.A., U.S.A.

Σωλήνες υπερφυγοκέντρωσης (Sorvall, PA Ultra Crimp Tube)

Τριχοειδής στήλη διαστάσεων 30×0.53 mm επικαλυμμένη με ταινία πάχους 0,5 μm (BP21, SGE Analytical Science Pty. Ltd, Australia)

Υπερφυγόκεντρος (Ultra-Pro 80, Serial No. 9802745, Sorvall, USA)

Φασματοφωτόμετρο υπεριώδους-ορατού UV-1700 PharmaSpec με λογισμικό UV-probe Shimadzu, Kyoto, Japan

Φυγόκεντρος (model Universal 32R, Hettich Laborapparate, Tuttlingen, Germany)

B.2 ΥΛΙΚΑ

Ακετονιτρίλιο, βαθμού καθαρότητας HPLC (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, U.S.A.)

Ακετονιτρίλιο, βαθμού καθαρότητας LC-MS (Merck KGaA, Darmstadt Germany)

Βαλερικό οξύ περιεκτικότητας 98% κατ' ελάχιστο (Fluka, Sigma-Aldrich Co, Steinheim, Germany)

Βόεια Αλβουμίνη (Cat # A9771, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany)

Βουτυρικό οξύ περιεκτικότητας 99,5% κατ'ελάχιστο(Fluka, Sigma-Aldrich Co., Steinheim, Germany)

Γλυκοδεοξυχολικό νάτριο περιεκτικότητας 97% κατ'ελάχιστο (Sigma Chemicals, St Louis, Missouri, USA)

D-Γλυκόζη άνυδρη, αναλυτικού βαθμού καθαρότητας (Sigma-Aldrich Co., Steinheim, Germany)

Γλυκόζη, BioXtra $\geq$ 99,5% (GC) , Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, U.S.A.)

Γλυκοηνοδεοξυχολικό νάτριο περιεκτικότητας 97% κατ'ελάχιστο, (Sigma Chemicals, St Louis, Missouri, USA)

Γλυκοχολικό οξύ, ένυδρο περιεκτικότητας 97% κατ'ελάχιστο (Sigma Chemicals, St Louis, Missouri, USA)

Δεοξυχολικό οξύ, περιεκτικότητας 99% κατ'ελάχιστο, (Sigma Chemicals, St Louis, Missouri, USA)

1,2-Διελαιϊκή –γλυκερόλη περιεκτικότητας 97% κατ'ελάχιστο (Sigma Chemicals, St Louis, Missouri, USA)

Διπαλμιτίνη (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany)

Dulcolax[®], Δισκία Δισακοδύλης, Boehringer Ingelheim (5mg/δισκίο)

Ελαϊκό οξύ περιεκτικότητας 99% κατ'ελάχιστο (Sigma Chemicals, St Louis, Missouri, USA)

Εμφιαλωμένο νερό ΑΥΡΑ[®] (Coca-Cola, Ελληνική εταιρία εμφιαλώσεως Α.Ε., Αθήνα, Ελλάδα)

Ισοβαλερικό οξύ περιεκτικότητας 98,5% κατ'ελάχιστο (Fluka, Sigma-Aldrich Co., Steinheim, Germany)

Ισοβουτυρικό περιεκτικότητας οξύ 99,5% κατ'ελάχιστο (Fluka, Sigma-Aldrich Co., Steinheim, Germany)

Ισοπροπανόλη, βαθμού καθαρότητας HPLC (Merck KgaA, Darmstadt, Germany)

Καπροϊκό οξύ περιεκτικότητας 98% κατ'ελάχιστο (Fluka, Sigma-Aldrich Co.,
Steinheim, Germany)

Λακτουλόζη περιεκτικότητας 98% κατ'ελάχιστο (Sigma Chemicals, Milano, Italy)

Λιθοχολικό οξύ περιεκτικότητας 97% κατ'ελάχιστο, (Sigma Chemicals, St Louis,
Missouri, USA)

Λινολεϊκό οξύ περιεκτικότητας 99% κατ'ελάχιστο, (Sigma Chemicals, St Louis,
Missouri, USA)

Λυσοφωσφατυδιλοχολίνη από ασπράδι αυγού περιεκτικότητας 99% (Sigma
Chemicals, St Louis, Missouri, USA)

D-Μαννιτόλη περιεκτικότητας 98% κατ' ελάχιστο (Sigma Chemicals, Shanghai,
China)

Μεθανόλη, βαθμού καθαρότητας LC-MS (Merck KgaA, Darmstadt, Germany)

Μεθανόλη, βαθμού καθαρότητας LC-MS (Fisher Scientific, Leics, UK)

Μετά νατρίου άλας της ολσαλαζίνης, Lot No F140001, Farchemia S.R.L (Treviglio,
Italy)

1-Μονοελαϊκή γλυκερόλη (Danisco, Dupont)

Μετρονιδαζόλη, Lot No SLBG3633V, Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, U.S.A.)

Mixed Bed Resin (Sigma Chemicals, St Louis, Missouri, USA)

Μπλε του μεθυλενίου, Merck (New Jersey, U.S.A.)

Μυρμηκικό οξύ, 98-100%, Reag ACS, Reag.Ph.Eur., Sigma-Aldrich Co. (St. Louis,
U.S.A.)

Νερό, βαθμού καθαρότητας HPLC (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, U.S.A.)

Νερό, βαθμού καθαρότητας HPLC (Fisher Scientific, Leics, UK)

Νερό, βαθμού αναλυτικής καθαρότητας LC-MS (Merck KgaA, Darmstadt, Germany)

D-Ξυλόζη περιεκτικότητας 99% κατ' ελάχιστο (Sigma Chemicals, St Louis,
Missouri, USA)

Οξικό αμμώνιο, αναλυτικού βαθμού καθαρότητας (Fluka, Sigma-Aldrich, Steinheim,
Germany)

Οξικό οξύ περιεκτικότητας 99,8% κατ'ελάχιστο (Fluka, Sigma-Aldrich Co.,
Steinheim, Germany)

Όξινο ανθρακικό νάτριο, Panreac (Barcelona, Spain)

Ουρσοδεοξυχολικό οξύ, C₂₄H₄₀O₄ (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany)

Προπιονικό οξύ περιεκτικότητας 99,5% κατ'ελάχιστο (Fluka, Sigma-Aldrich Co., Steinheim, Germany)

Προπανόλη, βαθμού καθαρότητας LC-MS (Merck KgaA, Darmstadt Germany)

Σουκρόζη περιεκτικότητας 99% κατ'ελάχιστο (Sigma Chemicals, St Louis, Missouri, USA)

Στεατικό οξύ περιεκτικότητας 99,5% κατ'ελάχιστο (Fluka, Sigma Chemicals, St Louis, Missouri, USA)

Ταυροδεοξυχολικό νάτριο, ένυδρο, περιεκτικότητας 97% κατ'ελάχιστο (Sigma Chemicals, St Louis, Missouri, USA)

Ταυροχηνοδεοξυχολικό νάτριο περιεκτικότητας 95% κατ'ελάχιστο (Sigma Chemicals, St Louis, Missouri, USA)

Ταυροχολικό νάτριο περιεκτικότητας 97% κατ'ελάχιστο (Sigma Chemicals, St Louis, Missouri, USA)

Τριαιθυλαμίνη, 99,5% (Sigma Chemicals, St Louis, Missouri, USA)

Τριελαϊκή γλυκερόλη περιεκτικότητας 99% κατ'ελάχιστο (Sigma Chemicals, St Louis, Missouri, USA)

Τριφθοροξικό οξύ, 99%, Reagent Plus, Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, U.S.A.)

Υδροχλωρικό οξύ πυκνό, αναλυτικού βαθμού καθαρότητας (Panreac Co., Barcelona, Spain)

Φαινόλη, αναλυτικού βαθμού καθαρότητας (Merck KgaA, Darmstadt, Germany)

Φυσιολογικός ορός, 0,9% χλωριούχο νάτριο, Demo Pharmaceuticals (Krioneri, Greece)

Φωσφατιδυλοχολίνη αυγού, καθαρότητας >98%, Lipoid E PC, Lipoid GmbH, (Ludwigshafen, Germany)

Χηνοδεοξυχολικό οξύ, 98% κατ'ελάχιστο (Sigma Chemicals, St Louis, Missouri, USA)

Χοληστερόλη περιεκτικότητας 99% κατ'ελάχιστο (Sigma Chemicals, St Louis, Missouri, USA)

Χολικό Νάτριο, 99,0% κατ'ελάχιστο (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany)

Χολικό οξύ, 98% κατ'ελάχιστο (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany)

B.3: ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ ΤΟΥ ΤΕΛΙΚΟΥ ΕΙΛΕΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΤΥΦΛΟΥ ΥΠΕΡΗΛΙΚΩΝ

B.3.1 Κλινική Μελέτη

Για τις ανάγκες της μελέτης, εκκλήθηκαν για συνέντευξη ένδεκα υπερήλικες εθελοντές. Τα κριτήρια συμμετοχής των εθελοντών αφορούσαν στη προθυμία τους να συμμετάσχουν στη μελέτη όπως δηλώθηκε στο σχετικό έντυπο συγκατάθεσης. Κάθε εθελοντής (άνδρας ή γυναίκα) έπρεπε να είχε συμπληρώσει τουλάχιστον το 65ο έτος της ηλικίας του και το βάρος του να μην υπερέβαινε το $\pm 20\%$ του ιδανικού βάρους, όπως αυτό καθορίζεται από τους πίνακες Metropolitan. Η επαλήθευση της καταλληλότητας κάθε εθελοντή έγινε μετά από γενικές αιματολογικές εξετάσεις, οι οποίες περιελάμβαναν τη λήψη δείγματος αίματος για τον υπολογισμό των ηλεκτρολυτών, της νεφρικής και της ηπατικής λειτουργίας, των μορφολογικών χαρακτηριστικών του αίματος και των επιπέδων των λιπιδίων και την παρουσία αντισωμάτων που υποδηλώνουν ενεργή, οξεία ή χρόνια λοίμωξη σε HIV, HBV και HCV. Κάθε εθελοντής έπρεπε να βρεθεί υγιής σε όλες τις εξετάσεις ενώ ήταν υποχρεωμένος να απέχει από το κάπνισμα, τα οиноπνευματώδη ποτά και την κατανάλωση συνταγογραφούμενων και μη φαρμάκων τρεις ημέρες πριν τη μέρα πραγματοποίησης κάθε φάσης και κατά τη διάρκεια της μελέτης. Τα κριτήρια αποκλεισμού εθελοντών αφορούσαν στην ύπαρξη σοβαρού προβλήματος υγείας (καρδιαγγειακού, παγκρεατικού, ηπατικού, θυροειδικού) ή/και χρόνιων παθήσεων, τα οποία απαιτούν μακρόχρονη χρήση συνταγογραφούμενων φαρμάκων, καθώς και σε ιστορικό γαστρεντερικού προβλήματος. Ακόμη, κριτήρια αποκλεισμού αποτέλεσαν η λήψη κάποιου φαρμάκου για ερευνητικούς σκοπούς και η χρήση φαρμάκων τα οποία επηρεάζουν τη λειτουργία του γαστρεντερικού συστήματος για το διάστημα τριάντα ημερών πριν τη μελέτη. Επιπλέον κριτήριο αποκλεισμού αποτέλεσαν και οι μη κανονικές εντερικές συνθήκες, δηλαδή, κόπρανα που τον τελευταίο μήνα δεν ήταν Τύπου 2, 3, 4 ή 5 σύμφωνα με την κλίμακα Bristol (Reppas et al., 2015) .

Τα βασικά δημογραφικά δεδομένα των εθελοντών, που κλήθηκαν σε συνέντευξη στη μελέτη, παρουσιάζονται στον Πίνακα Β.1.

Πίνακας Β.1: Δημογραφικά δεδομένα εθελοντών που έλαβαν μέρος στην κλινική μελέτη για το φυσικοχημικό χαρακτηρισμό των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού.

Εθελοντής#	Φύλο	Ηλικία	Βάρος (kg)	Ύψος (m)	BMI (kg/m ²)
1	Άρρεν	69	90	1.70	31.14
2**	Θήλυ	67	73	1.59	28.88
3	Άρρεν	66	72	1.70	24.91
4	Άρρεν	65	90	1.80	27.78
5*	Άρρεν	69	94	1.69	32.91
6*	Θήλυ	71	93	1.75	30.37
7	Άρρεν	70	75	1.64	27.89
8	Θήλυ	65	95	1.68	33.66
9*	Θήλυ	65	59	1.70	20.42
10	Θήλυ	68	57	1.57	20.41
11	Άρρεν	69	65	1.64	24.70

* Δεν έλαβαν μέρος στη μελέτη λόγω λήψης αντιβιοτικής θεραπείας μετά τη συνέντευξη

** Δεν έλαβε μέρος στη Φάση II της μελέτης για λόγους που δε σχετίζονται με τη μελέτη.

Από τους ένδεκα εθελοντές που εκκλήθηκαν για συνέντευξη μόνο οι οχτώ συμπερίληφθηκαν τελικά στη μελέτη. Οι υπόλοιποι τρεις εθελοντές απορρίφθηκαν διότι έκαναν χρήση αντιβιοτικής θεραπείας μετά τη συνέντευξη. Ο εθελοντής #2 δε συμμετείχε στη δεύτερη φάση της μελέτης για λόγους που δε σχετίζονται με τη κλινική μελέτη.

Η συλλογή των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού κατά τη διαπεπτική περίοδο (Φάση I) και κατά την περίοδο πέψης (Φάση II) με βάση έναν διασταυρωτό σχεδιασμό έλαβε χώρα στο Γαστρεντερολογικό Τμήμα του Νοσοκομείου του Ελληνικού Ερυθρού Σταυρού στην Αθήνα (NEΕΣ) (Παράρτημα I).

Η προετοιμασία των εθελοντών για την κολονοσκόπηση (χορηγήσεις νερού, γεύματος και δειγματοληψίες) πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με προηγούμενη μελέτη που αφορούσε στο φυσικοχημικό χαρακτηρισμό των περιεχομένων του ειλεού και του τυφλού υγιών ενηλίκων (Reppas et al., 2015). Πιο συγκεκριμένα, 50-44 ώρες πριν την κολονοσκόπηση οι ασθενείς πέρασαν μια περίοδο καθαρισμού του εντέρου κατά την οποία τρέφονταν με ημιστερεή τροφή και τους χορηγήθηκαν 2-4 δισκία βισακοδύλης των 10 mg. Από το βράδυ πριν την ημέρα της κολονοσκόπησης οι εθελοντές ξεκίνησαν μια περίοδο νηστείας. Για τη συλλογή των δειγμάτων οι ασθενείς την ημέρα της κολονοσκόπησης ήπιαν μόνο νερό για τις ανάγκες της Φάσης I (διαπεπτική περίοδος) ενώ για τη Φάση II (περίοδος πέψης) περίπου πέντε ώρες

πριν τη διαδικασία της κολονοσκόπησης κατανάλωσαν πρωινό σύμφωνα με την οδηγία του FDA (2002) για τις μελέτες βιοϊσοδυναμίας και βιοδιαθεσιμότητας. Οι ποσότητες νερού που έλαβαν οι ασθενείς από την άφιξή τους στο νοσοκομείο το πρωί της ημέρας της κολονοσκόπησης μέχρι τη διαδικασία της κολονοσκόπησης ήταν περίπου 850 ml κατά τη διαπεπτική περίοδο και περίπου 750 ml κατά τη περίοδο πέψης σε τακτά χρονικά διαστήματα.

Τη συλλογή των περιεχομένων ακολούθησε η μέτρηση του όγκου τους, του pH και, στις περιπτώσεις εκείνες όπου ο όγκος ήταν αρκετός, της ρυθμιστικής τους ικανότητας με διάλυμα 0,1 M HCl (Καρατζά, 2014). Στη συνέχεια, ακολούθησε υπερφυγοκέντρωση των δειγμάτων σε συνθήκες 30.000 g (25 °C, 15 min). Στο υπερκείμενο υγρό των δειγμάτων προσδιορίστηκαν ο όγκος του υδατικού τους περιεχομένου, η ωσμωτικότητα και η συγκέντρωση των λιπαρών οξέων βραχείας αλυσίδας, των χολικών οξέων, των ουδέτερων λιπιδίων και των φωσφολιπιδίων. Ο χειρισμός κάθε δείγματος έγινε σύμφωνα με προηγούμενη μελέτη (Reppas et al., 2015). Το ίζημα τοποθετήθηκε σε σφραγισμένο περιέκτη μετά από απομάκρυνση του αέρα με αέριο N₂. Όλα τα δείγματα διατηρήθηκαν, στους -70 °C, μέχρι τη στιγμή της ανάλυσής τους.

B.3.2 Ωσμωτικότητα

Για τη μέτρηση της ωσμωτικότητας στο υπερκείμενο υγρό, τα δείγματα αφέθηκαν να ξεπαγώσουν για περίπου μισή ώρα. Ακολούθησε έντονη ανάδευση κάθε δείγματος σε συσκευή περιδίνησης (vortex). Κάθε δείγμα υπέστη κατάλληλη αραιώση με απιονισμένο νερό σε πλαστικό περιέκτη τύπου Eppendorf® και εκ νέου έντονη ανάδευση. Οι αραιώσεις κυμάνθηκαν από 1:4 έως και 1:20 v/v και σε κάθε περίπτωση έγινε η ελάχιστη δυνατή αραιώση ώστε η μέτρηση που θα προκύψει να είναι όσο δυνατόν περισσότερο αντιπροσωπευτική. Στη συνέχεια, 150 μl από το αραιωμένο δείγμα τοποθετήθηκαν στην υάλινη κυψελίδα του ωσμωμέτρου και σημειώθηκε η ένδειξη του οργάνου.

B.3.3 Συγκέντρωση των χολικών οξέων

Τα χολικά οξέα που προσδιορίστηκαν στο υπερκείμενο υγρό ήταν τα ταυροχολικό οξύ (TC), γλυκοχολικό οξύ (GC), ταυροχολοδεοξυχολικό οξύ (TCDC), ουρσοδεοξυχολικό οξύ (UDC), γλυκοχολοδεοξυχολικό οξύ (GCDC), χολικό οξύ (C),

γλυκοδεοξυχολικό οξύ (GDC), χηνοδεοξυχολικό οξύ (CDC), δεοξυχολικό οξύ (DC) και λιθοχολικό οξύ (LC). Η αναλυτική μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε περιελάμβανε υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης αντιστρόφου φάσεως και βαθμιδωτής έκλυσης σε συνδυασμό με ανιχνευτή φορτισμένου αερολύματος (Charged Aerosol Detector) και ήταν σύμφωνα με προηγούμενη διπλωματική εργασία (Καρατζά, 2014). Οι χρωματογραφικές συνθήκες παρατίθενται στον παρακάτω Πίνακα.

Πίνακας Β.2: Οι χρωματογραφικές συνθήκες για το προσδιορισμό χολικών οξέων στην υγρή φάση των περιεχομένων του ειλεού και του τυφλού.

Προστήλη	BDS C18 4 × 10 mm		
Στήλη	BDS Hypersil C18 250 mm × 4.6 mm × 5 μm		
Γραμμή Α	Μεθανόλη: Ρυθμιστικό Διάλυμα μυρμηγκικών pH = 3, 67:33, v/v		
Γραμμή Β	Μεθανόλη		
Κινητή Φάση	Χρόνος (min)	% Α	% Β
	0	100	0
	42	100	0
	52	70	30
	90	70	30
	100	100	0
	105	100	0
Όγκος ένεσης	50 μl		
Ταχύτητα ροής	1.0 ml/min		

Η κατασκευή της καμπύλης αναφοράς πραγματοποιήθηκε με την παρασκευή μεικτού διαλύματος παρακαταθήκης (ΜΔΠ) συγκέντρωσης C=1 mM. Για το σκοπό αυτό παρασκευάστηκε για κάθε χολικό οξύ πρότυπο διάλυμα παρακαταθήκης με συγκέντρωση C=10 mM. Στον Πίνακα Β.3 φαίνεται η ποσότητα κάθε χολικού οξέος που έπρεπε να ζυγιστεί. Ακολούθησε διάλυση και αραιώση των χολικών οξέων σε μεθανόλη σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml και διατήρησή τους στο ψυγείο.

Πίνακας Β.3: Ποσότητες από το κάθε χολικό οξύ που ζυγίστηκε για την παρασκευή 10ml πρότυπου διαλύματος συγκέντρωσης C =10 mM.

Χολικό οξύ/αλάτι	Μοριακό βάρος (g/mol)	Ποσότητα προτύπου που ζυγίστηκε (g)	Ολικός όγκος διαλύματος μεθανόλης (ml)
TC sodium	537.38	0.0538	10
GC acid	465.63	0.0466	10
TCDC-sodium	521.70	0.0522	10
UDC acid	392.58	0.0393	10
GCDC sodium	471.61	0.0472	10
C sodium	430.55	0.0409	10
GDC sodium	471.61	0.0472	10
CDC sodium	392.58	0.0393	10
DC acid	392.57	0.0393	10
LC acid	376.58	0.0376	10

Στη συνέχεια έγινε προσθήκη, σε σκουρόχρωμο υάλινο περιέκτη, 100 μl από κάθε ένα πρότυπο διάλυμα χολικού οξέος και ακολούθησε έντονη ανάδευση σε συσκευή περιδίνησης. Τα πρότυπα διαλύματα και το ΜΔΠ διατηρήθηκαν σε ψυγείο, στους 4°C. Για την παρασκευή των προς ένεση διαλυμάτων κατάλληλος όγκος από το διάλυμα παρακαταθήκης αραιώθηκε με κινητή φάση Α στο 1 ml, ώστε να επιτευχθούν οι συγκεντρώσεις που αναγράφονται στο Πίνακα Β.4.

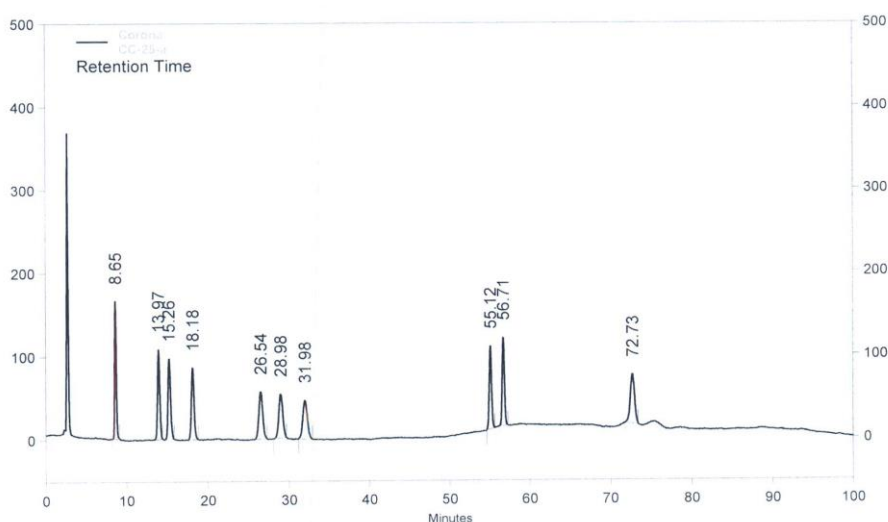
Πίνακας Β.4: Όγκοι που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των διαλυμάτων για την καμπύλη αναφοράς σε ολικό όγκο 1 ml.

Τελική συγκέντρωση κάθε χολικού C (μM)	Όγκος από το ΜΔΠ με συγκέντρωση C=1 mM (μl)	Όγκος κινητής φάσης Α (μl)
5	5	995
10	10	990
15	15	985
20	20	980
25	25	975
30	30	970
40	40	960

Τα εμβαδά των κορυφών κάθε χολικού οξέος προσαρμόστηκαν σε καμπύλη αναφοράς που λόγω των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών απόκρισης του ανιχνευτή φορτισμένου αερολύματος (CAD) ήταν της μορφής $y = y_0 + ax + bx^2$ (Παράρτημα ΙΙ).

Για να αναλυθούν τα βιολογικά δείγματα έπρεπε πρώτα να αποψυχθούν και για αυτό αφέθησαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για περίπου μισή ώρα.

Ακολούθησε αραίωσή τους με ακετονιτρίλιο σε αναλογία που κυμάνθηκε από 1:1 έως και 1:14 v/v σε πλαστικό περιέκτη τύπου Eppendorf® και ανάδευσή τους σε συσκευή περιδίνησης. Στη συνέχεια τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν (10.000 rpm, 10 °C, 10 min). Η παρασκευή των διαλυμάτων που ενέθηκαν στον υγροχρωματογράφο έγινε με τη λήψη του υπερκείμενου υγρού με τη βοήθεια πιπέτας Pasteur. Ενδεικτικά χρωματογραφήματα παρουσιάζονται στα Σχήματα B.1-B.3. Η συγκέντρωση κάθε χολικού οξέος ποσοτικοποιήθηκε χρησιμοποιώντας την καμπύλη αναφοράς που κατασκευάστηκε την ημέρα της ανάλυσής του.



Σχήμα B.1: Ενδεικτικό χρωματογράφημα πρότυπου διαλύματος χολικών οξέων σε κινητή φάση, όπου κάθε χολικό οξύ έχει συγκέντρωση C=25 μ M. Οι χρόνοι ανάσχεσης των κορυφών είναι κατά σειρά έκλουσης 8.65 min για το TC, 13.97 min για το GC, 15.26 min για το TCDC, 18.18 min για το UDC, 26.54 min για το GCDC, 28.98 min για το C, 31.98 min για το GDC, 55.12 min για το CDC, 56.71 min για το DC και 72.73 min για το LC.

Τα χαρακτηριστικά των καμπυλών αναφοράς και τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης παρουσιάζονται στο Παράρτημα Π.Π.1.

B.3.4 Συγκέντρωση των λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου (SCFAs)

Στο υπερκείμενο υγρό των περιεχομένων του ειλεού και του τυφλού προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις των οξικού οξέος (AA), προπιονικού οξέος (PA), βουτυρικού οξέος (BA), ισοβουτυρικού οξέος (IBA), βαλερικού οξέος (VA), ισοβαλερικού οξέος (IVA) και καπροϊκού οξέος (CA) με τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας (GC). Οι χρωματογραφικές συνθήκες που εφαρμόστηκαν (Καρατζά, 2014) και παρατίθενται στον Πίνακα Β.5.

Πίνακας Β.5: Οι χρωματογραφικές συνθήκες για τον προσδιορισμό λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου στην υγρή φάση των περιεχομένων του ειλεού και του τυφλού.

Στήλη	Τριχοειδής, 30 m × 0,53 m επικαλυμμένη με ταινία πάχους 0.5 μm		
Φέρον Αέριο	Ήλιον (He)		
Ροή φέροντος αερίου	14.4 ml/min		
Θερμοκρασιακό πρόγραμμα φούρνου*	Ταχύτητα αύξησης θερμοκρασίας (°C/min)	Θερμοκρασία φούρνου (°C)	Χρόνος παραμονής στη θερμοκρασία φούρνου (min)
		100	1
	8	180	1
	20	200	5
Θερμοκρασία ανιχνευτή (FID)	240°C		
Θερμοκρασία θυρίδας εισαγωγής δείγματος	200°C		
Ενέμενος όγκος δείγματος	1 μl		
Συνολικός χρόνος ανάλυσης	28 min		

Η συγκέντρωση κάθε λιπαρού οξέος ποσοτικοποιήθηκε με τη χρήση καμπύλης αναφοράς. Η καμπύλη αναφοράς κατασκευαζόταν κάθε εργαστηριακή μέρα με την παρασκευή μικτού διαλύματος παρακαταθήκης (ΜΔΠ) συγκεντρώσεως C=10 mM ως προς κάθε ένα από τα επτά SCFAs. Για την παρασκευή του τελευταίου γινόταν μεταφορά κατάλληλου όγκου από κάθε πρότυπο διάλυμα λιπαρού οξέος σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml η οποία συμπληρωνόταν με απιονισμένο νερό.

Πίνακας Β.6: Συγκέντρωση και όγκος προτύπου διαλύματος κάθε λιπαρού οξέος που χρησιμοποιήθηκε στην παρασκευή 100 ml ΜΔΠ.

Λιπαρό οξύ	Συγκέντρωση προτύπου (M)	Όγκος που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή ΜΔΠ (μl)
Οξικό οξύ (AA)	17.5	57
Προπιονικό οξύ (PA)	13.3	75
Βουτυρικό οξύ (BA)	10.8	92
Ισοβουτυρικό οξύ (IBA)	10.7	93
Βαλερικό οξύ (VA)	9.0	111
Ισοβαλερικό οξύ (IVA)	8.9	112
Καπροϊκό οξύ (CA)	7.8	128

Προκειμένου να παρασκευαστούν τα πρότυπα διαλύματα των επιθυμητών συγκεντρώσεων γινόταν αραίωση κατάλληλου όγκου από το ΜΔΠ σε 1 ml διαλύματος HCl συγκεντρώσεως 1×10^{-4} M σύμφωνα με τον παρακάτω Πίνακα.

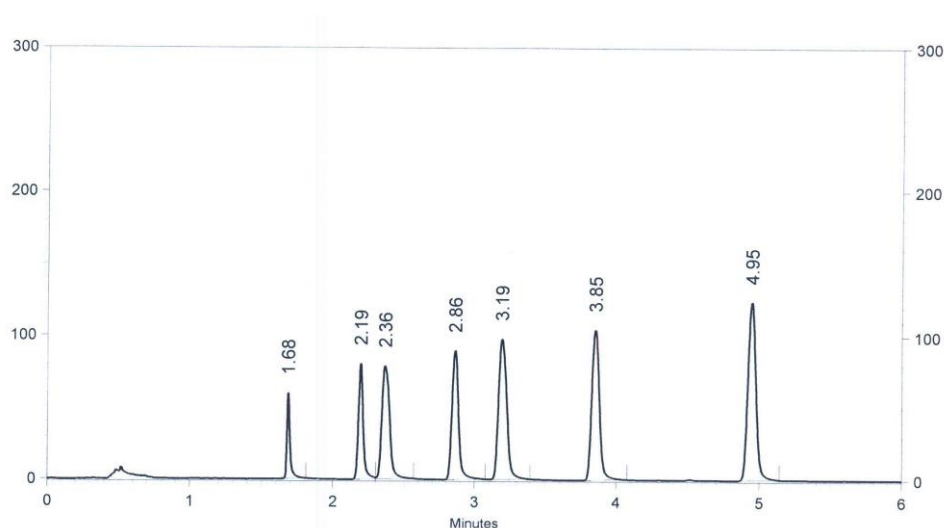
Πίνακας Β.7: Όγκοι που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των διαλυμάτων για την εκτίμηση της καμπύλης αναφοράς σε ολικό όγκο 1 ml.

Τελική συγκέντρωση κάθε λιπαρού οξέος (μM)	Όγκος ΜΔΠ με συγκέντρωση C=10 mM	Όγκος διαλύματος HCl 1×10^{-4} M
50	5	995
100	10	990
200	20	980
400	40	960
600	60	940
800	80	920
1000	100	900

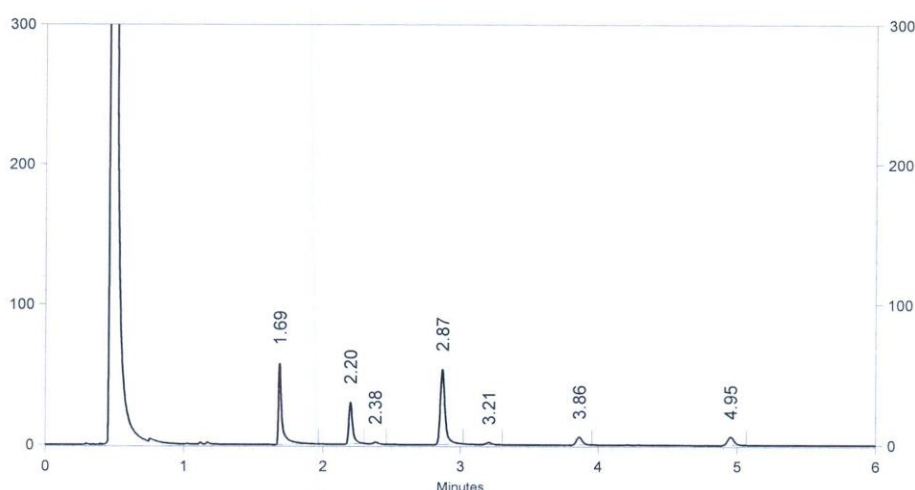
Τα εμβαδά των κορυφών κάθε λιπαρού οξέος προσαρμόστηκαν σε καμπύλη αναφοράς της μορφής $y=ax+b$ όπου y το εμβαδόν των κορυφών, a η κλίση της ευθείας, x η συγκέντρωση του λιπαρού οξέος και b η τομή της ευθείας (Παράρτημα II).

Δεδομένου ότι τα βιολογικά δείγματα είχαν αποθηκευτεί στους -70°C , για να αναλυθούν έπρεπε πρώτα να αποψυχθούν. Για το λόγο αυτό αφέθηκαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για περίπου 20 min και έπειτα ακολούθησε η αραίωσή τους σε πλαστικό περιέκτη τύπου Eppendorf® με διάλυμα HCl συγκεντρώσεως 1×10^{-1} M. Η αραίωση πραγματοποιήθηκε σε αναλογίες που κυμάνθηκαν από 1:1 έως

1:100 v/v. Στη συνέχεια τα δείγματα αναδεύτηκαν σε συσκευή περιδίνησης (vortex) και φυγοκεντρήθηκαν (10.000 rpm, 10 °C, 10 min). Ακολούθησε η παραλαβή του υπερκείμενου υγρού με τη χρήση πιπέτας Pasteur και η ένεσή του στον αεριοχρωματογράφο. Ενδεικτικά χρωματογραφήματα παρουσιάζονται στα Σχήματα B.4-B.6.

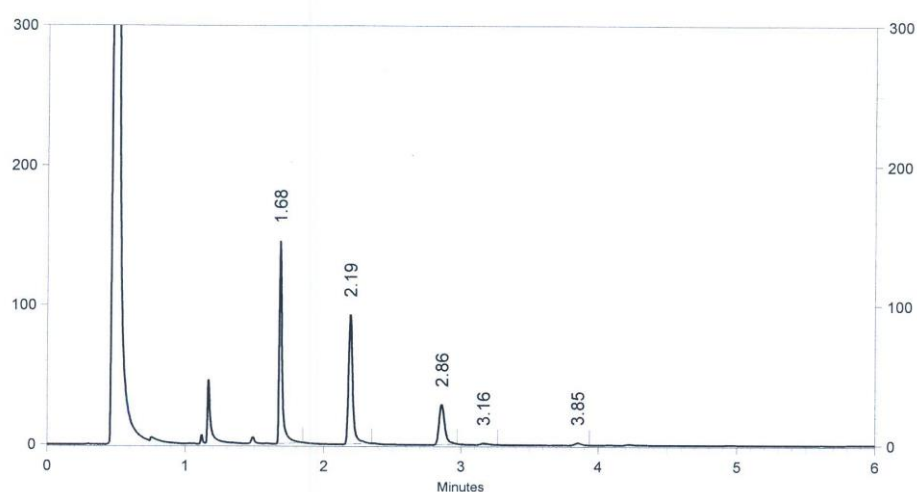


Σχήμα B.4: Ενδεικτικό χρωματογράφημα πρότυπου διαλύματος λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου σε κινητή φάση, όπου το κάθε λιπαρό οξύ έχει συγκέντρωση C=400 μ M. Οι χρόνοι ανάσχεσης των κορυφών είναι κατά σειρά έκλουσης 1.68 min για το AA, 2.19 min για το PA, 2.36 min για το BA, 2.86 min για το IBA, 3.19 min για το VA, 3.85 min για το IVA και 4.95 min για το CA.



Σχήμα B.5: Χρωματογράφημα μετά από ένεση δείγματος από τα υγρά περιεχόμενα του τυφλού του εθελοντή #7 που έχουν συλλεχθεί κατά τη διαπεπτική περίοδο, σε

αραίωση 1:100 με διάλυμα HCl 1×10^{-1} M. Οι κορυφές που ποσοτικοποιήθηκαν ήταν στα 1.69 min για το AA, 2.20 min για το PA, 2.38 min για το BA, 2.87 min για το IBA, 3.21 min για το VA, 3.86 min για το IVA και 4.95 min για το CA.



Σχήμα B.6: Χρωματογράφημα μετά από ένεση δείγματος από τα υγρά περιεχόμενα του ειλεού του εθελοντή #1 που έχουν συλλεχθεί κατά την περίοδο πέψης, σε αραίωση 1:40 με διάλυμα HCl 1×10^{-1} M. Οι κορυφές που ποσοτικοποιήθηκαν ήταν στα 1.68 min για το AA, 2.19 min για το PA, 2.86 min για το IBA, 3.16 min για το VA και 3.85 min για το IVA.

Τα χαρακτηριστικά των καμπυλών αναφοράς και τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης παρουσιάζονται στο Παράρτημα Π.Π.2.

B.3.5 Συγκέντρωση ουδέτερων λιπιδίων και ελεύθερων λιπαρών οξέων

Οι συγκεντρώσεις της λυσο-φωσφατιδυλοχολίνης (Lyso-PC), του λινελαϊκού οξέος (LA), των μονογλυκεριδίων (MG), του ελαϊκού οξέος (OA), του στεατικού οξέος (SA), της χοληστερόλης (CHO), των διγλυκεριδίων (DG), της διπαλμιτίνης (DP), των τριγλυκεριδίων (TG) και της λεκιθίνης (PC) προσδιορίστηκαν στο υπερκείμενο υγρό των περιεχομένων του ειλεού και του τυφλού. Για την ποσοτικοποίηση των λιπιδίων και των λιπαρών οξέων καθώς και για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν ως πρότυπα η μονοελαϊκή γλυκερόλη (ρακεμικό μείγμα) για τα μονογλυκερίδια, η διπαλμιτίνη και το διγλυκερίδιο του ελαϊκού οξέος για τα διγλυκερίδια, η τριελαϊκή γλυκερόλη για τα τριγλυκερίδια και η λεκιθίνη αυγού για τη λεκιθίνη.

Ο προσδιορισμός των συγκεντρώσεων πραγματοποιήθηκε με υγρή χρωματογραφία υψηλής αποδόσεως αντιστρόφου φάσεως και βαθμιδωτής έκλουσης με τη χρήση ανιχνευτή φορτισμένου αερολύματος (Charged Aerosol Detector). Στον Πίνακα Β.8 αναγράφονται οι χρωματογραφικές συνθήκες του προσδιορισμού (Καρατζά, 2014).

Πίνακας Β.8: Οι χρωματογραφικές συνθήκες που εφαρμόστηκαν για τον προσδιορισμό των ουδέτερων λιπιδίων και ελεύθερων λιπαρών οξέων στο περιεχόμενο του ειλεού και του τυφλού.

Προ-Στήλη	BDS C18 4×10 mm		
Στήλη	BDS Hypersil C18 250 mm × 4.6 mm × 5 μm		
Γραμμή Α	(Μεθανόλη: Ακετονιτρίλιο: Ρυθμιστικό διάλυμα μυρμηγκικών pH=3 65:25:10 v/v): Ισοπροπανόλη 96:4 v/v		
Γραμμή Β	Ισοπροπανόλη		
Κινητή φάση	Χρόνος (min)	%Α	%Β
	0	100	0
	30	100	0
	32	50	50
	52	50	50
	57	30	70
	100	0	100
	110	100	0
	120	100	0
Όγκος ένεσης	50 μl		
Ταχύτητα ροής	1.0 ml/min		

Κάθε ουδέτερο λιπίδιο και ελεύθερο λιπαρό οξύ ζυγίστηκε και διαλύθηκε με κατάλληλο διαλύτη μέχρι τη χαραγή ογκομετρικής φιάλης των 10 ml. Έτσι για την κάθε ουσία παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα συγκέντρωσης C=10 mM που διατηρήθηκαν στους 4 °C και χρησιμοποιήθηκαν στη συνέχεια για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς. Τα πρότυπα διαλύματα της διπαλμιτίνης, του διγλυκεριδίου του ελαϊκού οξέος και της τριελαϊκής γλυκερόλης δεν παρασκευάστηκαν εκ νέου αλλά χρησιμοποιήθηκαν ως έχουν αφού είχαν αποθηκευθεί στους -20 °C από προηγούμενη μελέτη (Καρατζά, 2014).

Πίνακας Β.9: Ποσότητες από το κάθε ουδέτερο λιπίδιο ή λιπαρό οξύ που ζυγίστηκε για την παρασκευή 10 ml πρότυπου διαλύματος συγκέντρωσης C=10 mM.

Λιπίδιο ή λιπαρό οξύ	Μοριακό βάρος (g/mol)	Ποσότητα προτύπου που ζυγίστηκε (g)	Διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε για όγκο 10 ml
Lyso-PC	~720	0,0720	Ισοπροπανόλη
LA	280,46	0,0280	Ακετονιτρίλιο
MG	356,6	0,0356	Ακετονιτρίλιο
OA	282,46	0,0282	Ακετονιτρίλιο
SA	284,48	0,0284	Ισοπροπανόλη
CHO	386,65	0,0387	Ισοπροπανόλη
DG	620,99	0,0621	Ισοπροπανόλη
DP	568,9	0,0569	Ισοπροπανόλη
TG	885,46	0,0885	Ισοπροπανόλη
PC	740-780	0,0788	Ισοπροπανόλη

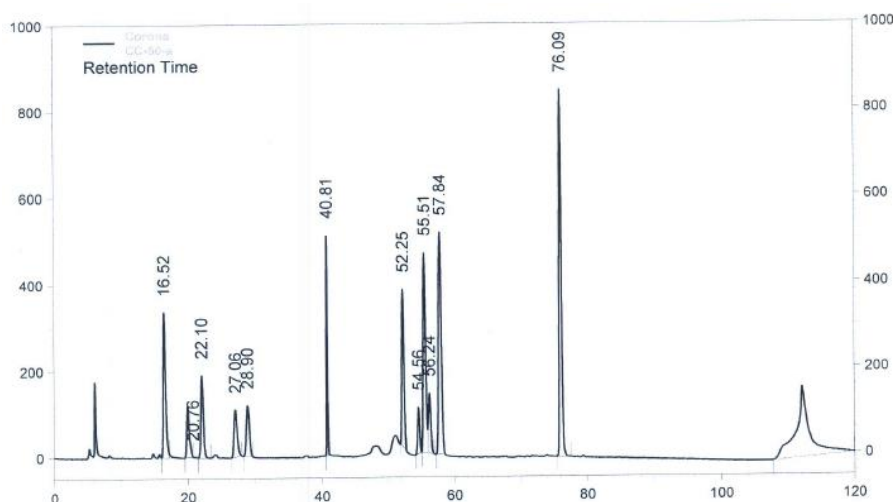
Ακολούθησε η παρασκευή μεικτού διαλύματος παρακαταθήκης (ΜΔΠ) συγκεντρώσεως C=1 mM ως προς κάθε ουδέτερο λιπίδιο και λιπαρό οξύ εκτός από τη λεκιθίνη για την οποία παρασκευάστηκε ένα ξεχωριστό διάλυμα παρακαταθήκης σε ισοπροπανόλη συγκεντρώσεως C=1 mM. Για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς, παρασκευάστηκαν διαλύματα επιθυμητών συγκεντρώσεων και όγκου 1 ml με τη λήψη κατάλληλου όγκου ΜΔΠ ή διαλύματος λεκιθίνης και αραίωσή του με κινητή φάση Α.

Πίνακας Β.10: Όγκοι που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των διαλυμάτων για την εκτίμηση της καμπύλης αναφοράς σε ολικό όγκο 1 ml.

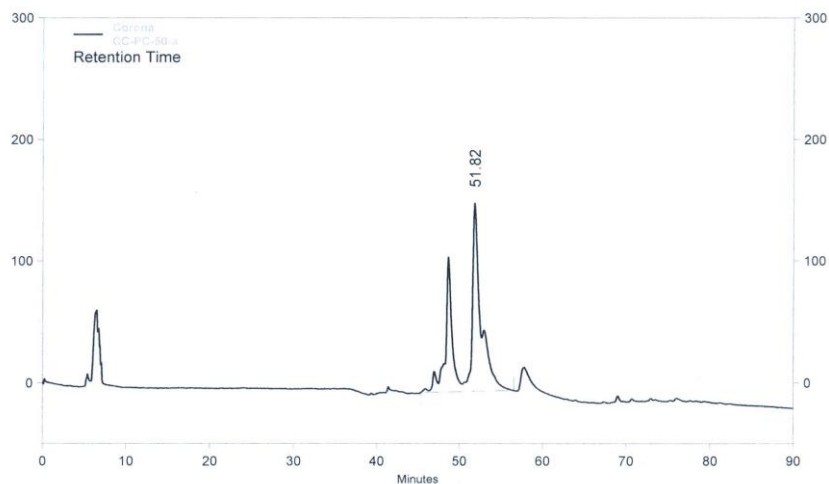
Τελική συγκέντρωση κάθε λιπαρού οξέος ή λιπιδίου (μM)	Όγκος από το ΜΔΠ με συγκέντρωση C=1 mM (μl)	Όγκος κινητής φάσης Α (μl)
5	5	995
10	10	990
20	20	980
50	50	950
80	80	920
100	100	900

Τα εμβαδά των κορυφών κάθε λιπαρού οξέος ή λιπιδίου προσαρμόστηκαν σε καμπύλη αναφοράς που λόγω των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών απόκρισης του ανιχνευτή φορτισμένου αερολύματος (CAD) ήταν της μορφής $y = y_0 + ax + bx^2$ (Παράρτημα II).

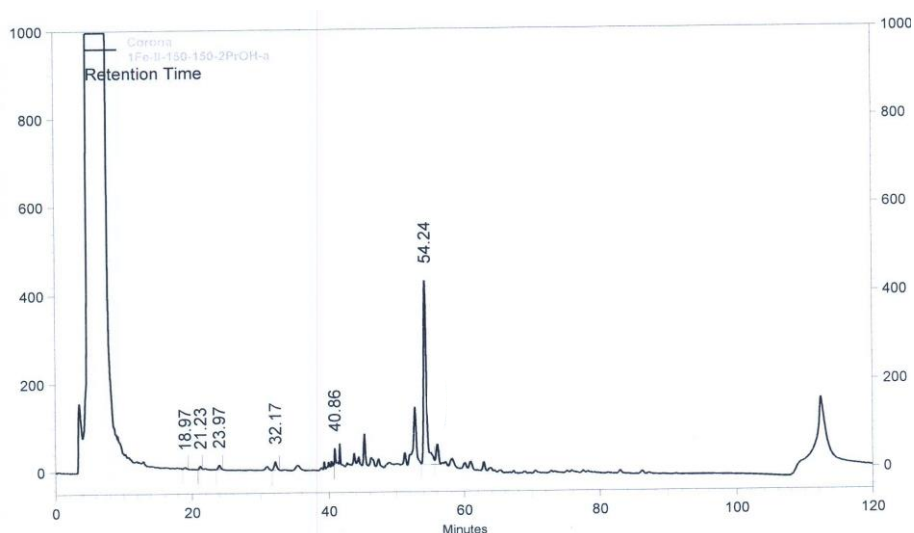
Η διαδικασία που υποβλήθηκαν τα βιολογικά δείγματα ήταν η εξής: Αφού αφέθησαν να αποψυχθούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, αραιώθηκαν σε αναλογία που κυμάνθηκε από 1:1 έως 1:100 v/v με ισοπροπανόλη σε πλαστικό περιέκτη τύπου Eppendorf® και υπέστησαν έντονη ανάδευση σε συσκευή περιδίνησης (vortex). Ακολούθησε η φυγοκέντρησή τους (10 min, 10 °C, 10.000 rpm). Στη συνέχεια παρελήφθη το υπερκείμενο υγρό με τη βοήθεια πιπέτας Pasteur και ακολούθησε ένεση στο χρωματογράφο. Οι συγκεντρώσεις των ουδέτερων λιπιδίων και των λιπαρών οξέων ποσοτικοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας την καμπύλη αναφοράς που κατασκευάστηκε την αντίστοιχη ημέρα της ανάλυσης. Η λεκιθίνη ποσοτικοποιήθηκε με τη ολοκλήρωση των κορυφών που εμφανίζονται στο χρονικό διάστημα 48-52 min περίπου σύμφωνα με τα χρωματογραφήματα των προτύπων διαλυμάτων της. Ενδεικτικά χρωματογραφήματα παρουσιάζονται στα Σχήματα B.7-B.9.



Σχήμα B.7: Ενδεικτικό χρωματογράφημα πρότυπου διαλύματος λιπαρών οξέων και ουδέτερων λιπιδίων σε κινητή φάση, όπου το κάθε λιπαρό οξύ και ουδέτερο λιπίδιο έχει συγκέντρωση C=50 μ M. Οι χρόνοι ανάσχεσης των κορυφών είναι κατά σειρά έκλουσης 16.52 min για τη Lyso-PC, 20.76 min για το LA, 22.10 min για το MG, 28.90 min για το OA, 40.81 min για το SA, 52.25 min για τη CHO, 55.51 min για το DG, 57.84 min για τη DP και 76.09 min για το TG.



Σχήμα Β.8: Ενδεικτικό χρωματογράφημα πρότυπου διαλύματος φωσφατιδυλογολίνης σε κινητή φάση με συγκέντρωση C=50 μ M.

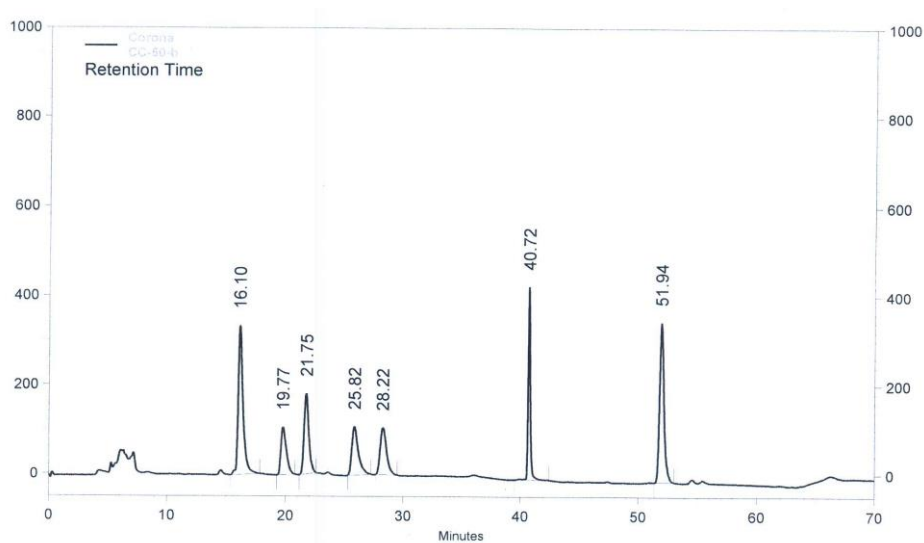


Σχήμα Β.9: Χρωματογράφημα μετά από ένεση δείγματος από τα υγρά περιεχόμενα του ειλεού του εθελοντή #1 που έχουν συλλεχθεί κατά την περίοδο πέψης, σε αραιώση 1:1 με ισοπροπανόλη. Οι κορυφές που ποσοτικοποιήθηκαν ήταν στα 18.97 min για τη Lyso-PC, 21.23 min για το LA, 23.97 min για το MG, 32.17 min για το OA, 40.86 min για το SA και 54.24 min για τη CHO.

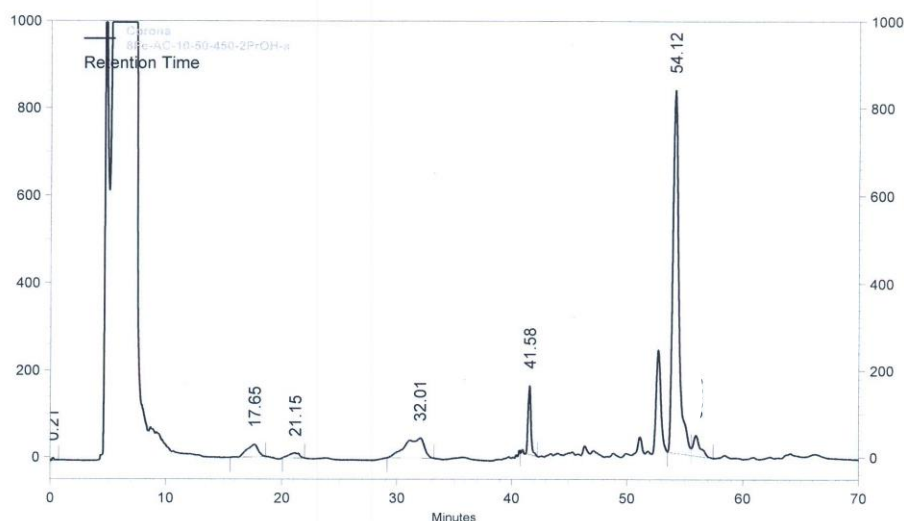
Από τις αναλύσεις των πρώτων δειγμάτων από τα περιεχόμενα του κατώτερου εντέρου μετά από αραιώσεις 1:1 προέκυψε η απουσία DG, DP και TG. Για το λόγο αυτό, οι επιπλέον αραιώσεις που πραγματοποιήθηκαν έγιναν με μία νέα μέθοδο βαθμιδωτής έκλουσης συνολικής διάρκειας 70 min.

Πίνακας B.11: Οι χρωματογραφικές συνθήκες που εφαρμόστηκαν για τον προσδιορισμό των ουδέτερων λιπιδίων και ελεύθερων λιπαρών οξέων στο περιεχόμενο του ειλεού και του τυφλού κατά τη διάρκεια των επιπλέον αραιώσεων.

Γραμμή A	(Μεθανόλη: Ακετονιτρίλιο: Ρυθμιστικό διάλυμα μυρμηγκικών pH=3 65:25:10 v/v): Ισοπροπανόλη 96:4 v/v		
Γραμμή B	Ισοπροπανόλη		
Κινητή φάση	Χρόνος (min)	%A	%B
	0	100	0
	30	100	0
	32	50	50
	52	50	50
	57	30	70
	60	100	0
	70	100	0
Όγκος ένεσης	50 μ l		
Ταχύτητα ροής	1.0 ml/min		



Σχήμα B.10: Ενδεικτικό χρωματογράφημα πρότυπου διαλύματος λιπαρών οξέων και ουδέτερων λιπιδίων σε κινητή φάση, όπου το κάθε λιπαρό οξύ και ουδέτερο λιπίδιο έχει συγκέντρωση C=50 μ M. Οι χρόνοι ανάσχεσης των κορυφών είναι κατά σειρά έκλουσης 16.10 min για τη Lyso-PC, 19.77 min για το LA, 21.75 min για το MG, 28.22 min για το OA, 40.72 min για το SA και 51.94 min για τη CHO.



Σχήμα Β.11: Χρωματογράφημα μετά από ένεση δείγματος από τα υγρά περιεχόμενα του τυφλού του εθελοντή #8 που έχουν συλλεχθεί κατά την περίοδο πέψης, σε αραίωση 1:10 με ισοπροπανόλη. Οι κορυφές που ποσοτικοποιήθηκαν ήταν στα 17.65 min για τη Lyso-PC, 21.15 min για το LA, 32.01 min για το OA, 41.58 min για το SA, 54.124 min για τη CHO.

Τα χαρακτηριστικά των καμπυλών αναφοράς και τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης παρουσιάζονται στο Παράρτημα Π.Π.3.

Β.4 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΦΡΑΓΜΟΥ ΤΟΥ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ ΣΕ ΚΙΡΡΩΤΙΚΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΠΡΙΝ ΚΑΙ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΤΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΠΡΟΠΡΑΝΟΛΟΛΗΣ

Εκτιμήθηκε η διαπερατότητα του γαστρεντερικού βλεννογόνου πριν και μετά τη χορήγηση προπρανολόλης μέσω της συλλογής ούρων από ασθενείς με μη επιπλεγμένη κίρρωση του ήπατος. Το κλινικό μέρος είχε πραγματοποιηθεί σε δύο περιόδους από συνεργάτες στο Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών (Γ.Ν.Α) Ιπποκράτειο υπό την επίβλεψη του Δρ. Μανωλακόπουλου Σπήλιου, Αν. Καθηγητή της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ. Στην πρώτη περίοδο, έλαβαν μέρος συνολικά 21 κίρρωτικοί ασθενείς και οι αναλύσεις των δειγμάτων τους ήταν αντικείμενο προηγούμενης διπλωματικής εργασίας (Καρατζά, 2014). Στη δεύτερη περίοδο έλαβαν μέρος 20 ασθενείς (παρούσα μελέτη). Σε κάθε περίοδο μελετήθηκε η επίδραση της προπρανολόλης στη διαπερατότητα του γαστροδωδεκαδακτυλικού επιθηλίου και στην εντερική διαπερατότητα με βάση δεδομένα που προέκυψαν με τη χρήση συνδυασμού τριών σακχάρων (σουκρόζης, λακτουλόζης και μαννιτόλης) (Κλινική μελέτη #1) και με τη

χρήση D-ξυλόζης (Κλινική μελέτη #2). Ο αριθμός των ασθενών που συμμετείχαν σε κάθε περίοδο παρουσιάζεται στον Πίνακα Β.12.

Πίνακας Β.12: Αριθμός κιρρωτικών ασθενών που συμμετείχαν σε κάθε περίοδο μελέτης της επίδρασης της προπρανολόλης στη διαπερατότητα του γαστρεντερικού επιθηλίου κιρρωτικών ασθενών.

Χορηγηθέντα σάκχαρα	Περίοδος 1 (Καρατζά, 2014)	Περίοδος 2 (Παρούσα μελέτη)
Κλινική μελέτη #1: Συνδυασμός σουκρόζης- λακτουλόζης- μαννιτόλης	6	19
Κλινική μελέτη #2: D-Ξυλόζη	15	20

Για να μειωθεί η μεταβλητότητα των δεδομένων οι δύο μελέτες και στις δύο περιόδους έγινε με βάση διασταυρωτό σχεδιασμό δύο φάσεων, ως εξής:

Κλινική Μελέτη #1:

Φάση I: Υδατικό διάλυμα όγκου 100 ml που περιείχε 20 g σουκρόζης, 10 g λακτουλόζης και 5 g μαννιτόλης χορηγήθηκε σε νηστικό ασθενή. Μετά τη χορήγηση ακολούθησε συλλογή των ούρων των εθελοντών για πέντε ώρες, ογκομέτρησή τους και λήψη δείγματος 50 ml στο οποίο εκτιμήθηκε το ποσοστό απέκκρισης σακχάρων.

Φάση II: Η χορήγηση προπρανολόλης διήρκησε δεκαπέντε ημέρες και στη συνέχεια οι ασθενείς υποβλήθηκαν στην ίδια δοκιμασία με τη Φάση I.

Κλινική Μελέτη #2:

Φάση I: Υδατικό διάλυμα όγκου 240 ml που περιείχε 25 g D-ξυλόζης χορηγήθηκε σε νηστικό ασθενή. Μετά τη χορήγηση ακολούθησε συλλογή των ούρων για πέντε ώρες, ογκομέτρησή τους και λήψη δείγματος 50ml στο οποίο εκτιμήθηκε το ποσοστό απέκκρισης της D-ξυλόζης.

Φάση II: Η χορήγηση προπρανολόλης διήρκησε δεκαπέντε ημέρες και στη συνέχεια οι ασθενείς υποβλήθηκαν στην ίδια δοκιμασία με τη Φάση I.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται ο όγκος των ούρων που συλλέχθηκε από κάθε εθελοντή πέντε ώρες μετά τη χορήγηση του εκάστοτε διαλύματος και στις δύο περιόδους.

Πίνακας Β.13: Ο όγκος (ml) των ούρων σε κάθε εθελοντή που συλλέχθηκαν κατά τη διάρκεια πέντε ωρών σε κάθε Κλινική Μελέτη .

	#		Κλινική Μελέτη #1		Κλινική Μελέτη #2	
		Φύλο	Φάση I	Φάση II	Φάση I	Φάση II
Πρώτη περίοδος	2	Γ	400	485	1700	1700
	4	A	900	2500	1100	1650
	6	Γ	600	690	100	250
	8	A	445	400	500	500
	10	A	500	340	210	350
	21	A	120	870	890	870
	3	A	-	-	300	515
	5	Γ	-	-	1700	1900
	7	A	-	-	1260	1400
	9	Γ	-	-	300	500
	11	A	-	-	500	620
	12	A	-	-	400	600
	13	A	-	-	880	400
	20	Γ	-	-	500	350
	22	Γ	-	-	700	1200
Δεύτερη περίοδος	7	A	390	465	220	300
	13	A	400	650	270	380
	14	Γ	245	545	330	660
	18	A	440	610	235	260
	26	A	610	285	625	420
	27	Γ	-	-	1560	1070
	28	A	220	190	510	290
	29	Γ	1210	670	1550	650
	30	A	720	440	680	1050
	31	Γ	410	450	405	800
	32	A	450	360	490	170
	33	A	770	350	770	230
	34	Γ	510	380	410	240
	35	A	620	440	530	540
	36	A	695	700	495	500
	37	A	230	210	430	210
	38	Γ	650	500	1010	690
	40	A	490	280	870	670
	41	A	120	210	120	140
	42	A	690	1180	1050	1410

Και στις δύο Κλινικές Μελέτες, μία μέρα πριν από κάθε Φάση πραγματοποιήθηκε η συλλογή των ούρων εικοσιτετραώρου από κάθε εθελοντή και ογκομέτρησή τους. Έτσι, όπου χρειάστηκε, εκτιμήθηκε η γραμμή βάσης-θορύβου, η

οποία διαμορφώνεται από ενδογενείς ποσότητες σακχάρων ή από τη λήψη φαρμάκων, ώστε να μη συμπεριληφθεί στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Σε όλες τις περιπτώσεις, η αποθήκευση των ούρων έγινε στην κατάψυξη, στους -20 °C , έως ότου αναλυθούν.

B.4.1 Προσδιορισμός σακχάρων στα ούρα

Οι χρωματογραφικές συνθήκες που εφαρμόστηκαν παρατίθενται στον παρακάτω Πίνακα (Καρατζά, 2014):

Πίνακας B.14: Οι χρωματογραφικές συνθήκες για τον προσδιορισμό των σακχάρων

Στήλη	Asahipak NH ₂ P-50 4E, Shodex (250 mm × 4,6mm × 5μm)
Κινητή Φάση	Ακετονιτρίλιο: Νερό, 75:25 v/v
Όγκος Ένεσης	50 μl
Ταχύτητα ροής	1,0 ml/min
Χρόνος ανάλυσης κάθε δείγματος	15 min

Η ποσοτικοποίηση των δειγμάτων έγινε με την κατασκευή καμπυλών αναφοράς. Για το λόγο αυτό, παρασκευάστηκαν δύο διαλύματα παρακαταθήκης σακχάρων σε νερό καθαρότητας LC-MS.

Στην Κλινική Μελέτη #1, η παρασκευή του μικτού διαλύματος παρακαταθήκης (ΜΔΠ) έγινε με τη ζύγιση ποσότητας 0,010 g από το κάθε σάκχαρο (μαννιτόλη, λακτουλόζη, σουκρόζη) και με τη μεταφορά της σε ογκομετρική φιάλη. Ακολούθησε αραιώση με νερό καθαρότητας LC-MS ως την χαραγή. Έτσι κατασκευάστηκε ΜΔΠ με συγκέντρωση C=100 μg/ml.

Στην Κλινική Μελέτη #2, για την παρασκευή του διαλύματος παρακαταθήκης της D-ξυλόζης, με συγκέντρωση C=100 μg/ml, ζυγίστηκε 0,010 g του σακχάρου, μεταφέρθηκε σε ογκομετρική φιάλη και αραιώθηκε με νερό LC-MS.

Για την παρασκευή των διαλυμάτων των καμπυλών αναφοράς έγινε λήψη από τα μικτά διαλύματα παρακαταθήκης κατάλληλου όγκου ο οποίος αραιώθηκε με κινητή φάση, όπως παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα.

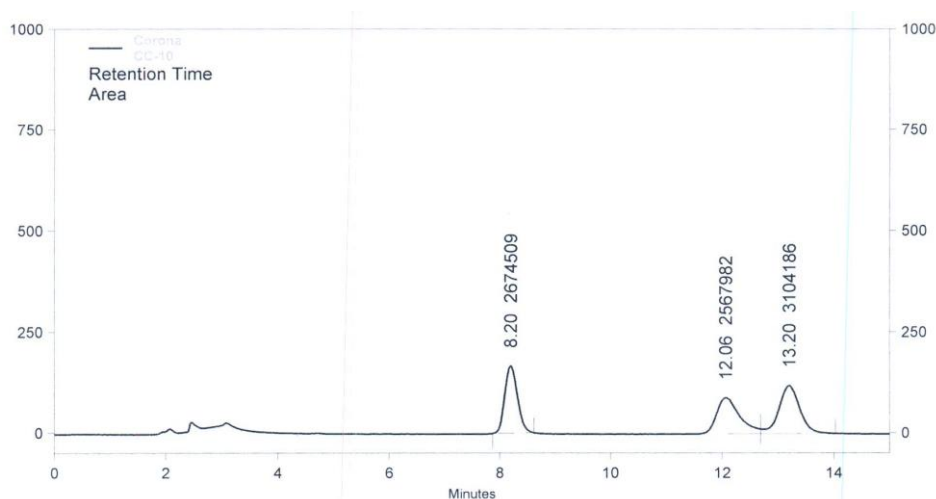
Πίνακας B.15: Όγκοι που χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή των διαλυμάτων για

την κατασκευή των καμπυλών αναφοράς σε ολικό όγκο 1 ml.

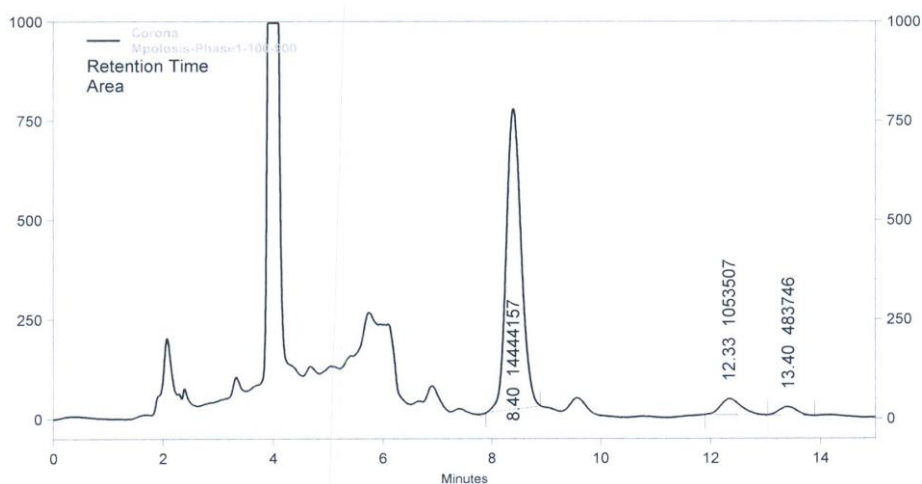
Τελική συγκέντρωση κάθε σακχάρου C (μg/ml)	Όγκος από το ΜΔΠ (μl)	Όγκος κινητής φάσης (μl)
1	10	990
3	30	970
5	50	950
10	100	900
15	150	850
20	200	800
25	250	750
30	300	700
40	400	600
50	500	500

Πριν από τον προσδιορισμό των σακχάρων στα ούρα είναι απαραίτητη η απομάκρυνση ουσιών που ίσως παρεμποδίζουν τον προσδιορισμό των σακχάρων ή επιβαρύνουν το χρωματογραφικό σύστημα όπως είναι διάφορα άλατα ή άλλες υδατοδιαλυτές ουσίες που μπορεί να περιέχουν τα ούρα. Βάσει των αναλύσεων των ούρων της πρώτης περιόδου του κλινικού μέρους της μελέτης, για την απομάκρυνση τέτοιου είδους ουσιών, κάθε δείγμα ούρων υπέστη επεξεργασία με Mixed Bed Resin. Το συγκεκριμένο μείγμα ρητίνης δε προσροφά σημαντικό ποσοστό σακχάρου (Καρατζά, 2014).

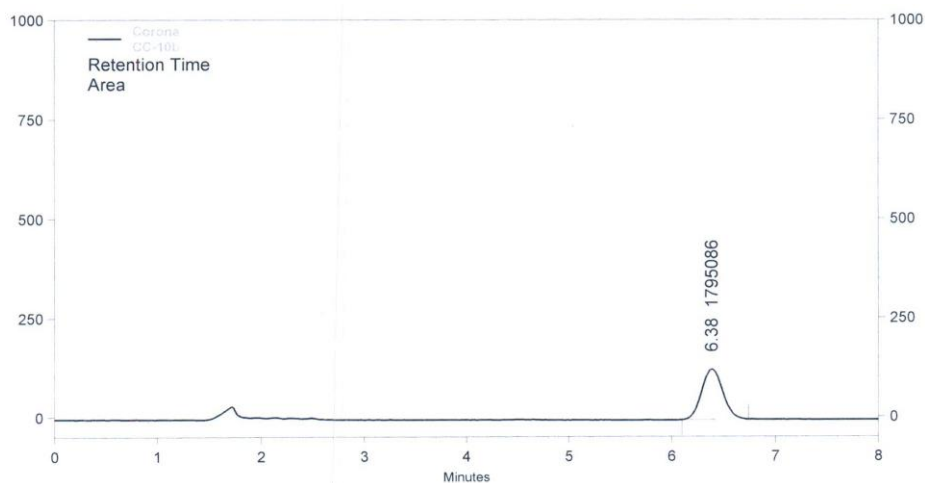
Πιο συγκεκριμένα, τα δείγματα των ούρων αφέθηκαν να αποψυχθούν προκειμένου να φτάσουν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Στη συνέχεια από κάθε δείγμα ούρων αφαιρέθηκε 1 ml, τοποθετήθηκε σε πλακτικό περιέκτη τύπου Eppendorf® και προστέθηκαν σε αυτό 0,5 g ρητίνης. Ακολούθησε έντονη ανάδευση σε συσκευή περιδίνησης και αφέθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 15 min. Μετά το πέρας των 15 min, το δείγμα υπέστη φυγοκέντρωση υπό συνθήκες 10.000 rpm και 10 °C για 10 min. Με τη βοήθεια πιπέτας Pasteur παρελήφθη το υπερκείμενο υγρό κάθε δείγματος το οποίο αραιώθηκε κατάλληλα με κινητή φάση 1:10-1:40 για το τριπλό τεστ σακχάρων και 1:20 έως και 1:400 για D-ξυλόζη. Στα Σχήματα Β.12-Β.15 παρουσιάζονται ενδεικτικά χρωματογραφήματα.



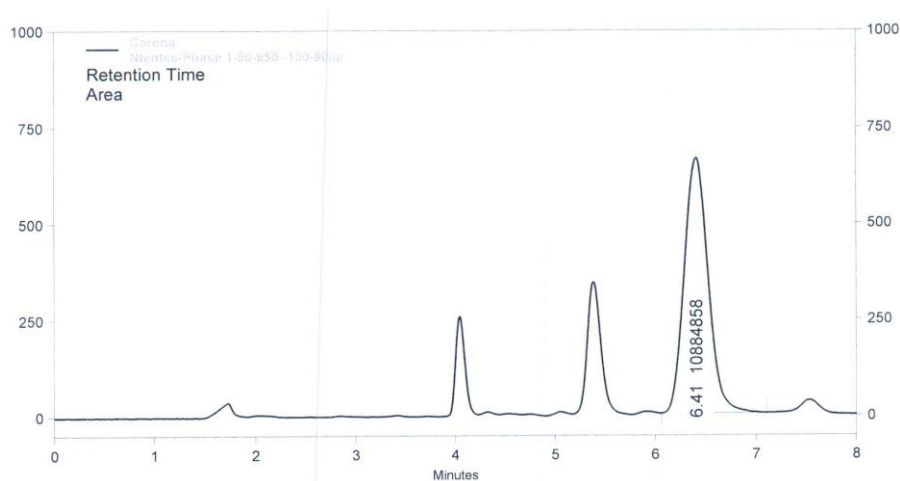
Σχήμα B.12: Ενδεικτικό χρωματογράφημα προτύπου διαλύματος σακχάρων, όπου η συγκέντρωση κάθε συστατικού ήταν 10 $\mu\text{g/ml}$. Κατά σειρά έκλουσης, οι κορυφές αντιστοιχούν στα 8.20 min για τη μαννιτόλη, 12.06 min για τη λακτουλόζη και 13.20 min για τη σουκρόζη.



Σχήμα B.13: Χρωματογράφημα μετά από ένεση ούρων του εθελοντή #18 σε αραίωση 1:10 με κινητή φάση. Οι κορυφές που ποσοτικοποιήθηκαν ήταν στα 8.40 min για τη μαννιτόλη, στα 12.33 min για τη λακτουλόζη και 13.40 min για τη σουκρόζη.



Σχήμα B.14: Ενδεικτικό χρωματογράφημα προτύπου διαλύματος D-Ξυλόζης με συγκέντρωση C=10 µg/ml.



Σχήμα B.15: Χρωματογράφημα μετά από ένεση ούρων του εθελοντή #7 σε αραιώση 1:20 με κινητή φάση. Η κορυφή που ποσοτικοποιήθηκε ήταν της D-Ξυλόζης στα 6.41 min.

Τα χαρακτηριστικά των καμπυλών αναφοράς και τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης παρουσιάζονται στο Παράρτημα III.

B.5 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Η στατιστική επεξεργασία όλων των δεδομένων έγινε με το λογισμικό SigmaPlot for Windows, version 11.0, Copyright© 2008 Systat Software, Inc, San Jose, California, USA. Σε όλες τις περιπτώσεις οι στατιστικά σημαντικές διαφορές εκτιμήθηκαν σε επίπεδο 0.05.

B.5.1 Δεδομένα φυσικοχημικού χαρακτηρισμού περιβάλλοντος κατώτερου εντέρου

Για κάθε φυσικοχημικό χαρακτηριστικό, η σημαντικότητα της διαφοράς μεταξύ τελικού ειλεού και τυφλού και η επίδραση των συνθηκών χορήγησης στον τελικό ειλεό ή στο τυφλό ελέγχθηκε με δοκιμασία t (un paired t -test). Όπου ήταν εφικτό οι διαφορές ελέγχθηκαν με δοκιμασία για παρατηρήσεις κατά ζεύγη (paired t -test) ή με δοκιμασία Wilcoxon αν η δοκιμασία κανονικότητας αποτύγχανε. Στις περιπτώσεις αυτές γίνεται ειδική αναφορά.

B.5.2 Δεδομένα ουρικής απέκκρισης των σακχάρων

Η σημαντικότητα της διαφοράς στη διαπερατότητα του στομάχου ή του λεπτού εντέρου πριν και μετά τη χορήγηση προπρανολόλης ελέγχθηκε με δοκιμασία Wilcoxon ή με δοκιμασία t για παρατηρήσεις κατά ζεύγη (paired t -test) ανάλογα με το αποτέλεσμα της δοκιμασίας κανονικότητας.

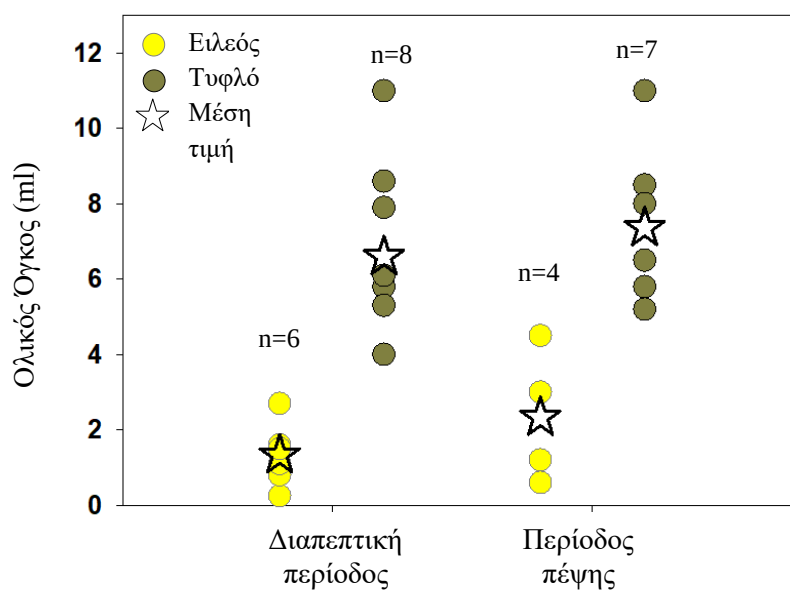
Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

Γ.1 ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ ΤΟΥ ΤΕΛΙΚΟΥ ΕΙΛΕΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΤΥΦΛΟΥ ΥΠΕΡΗΛΙΚΩΝ

Στο Παράρτημα IV γίνεται αναλυτική παρουσίαση των δεδομένων του φυσικοχημικού χαρακτηρισμού των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού ανά εθελοντή.

Γ.1.1 Ολικός όγκος

Ο ολικός όγκος που συλλέχθηκε από την περιοχή του τελικού ειλεού κυμάνθηκε από 0.25 έως 2.7 ml με διάμεση τιμή 1.3 ml κατά τη διαπεπτική περίοδο και από 0.6 έως 4.5 ml με διάμεση τιμή 2.1 ml κατά τη περίοδο πέψης. Παρόμοια, ο ολικός όγκος που συλλέχθηκε από την περιοχή του τυφλού κυμάνθηκε από 4.0 έως 11.0 ml με διάμεση τιμή 6 ml και από 5.2 έως 11.0 ml με διάμεση τιμή 6.5 ml αντίστοιχα (Σχήμα Γ.1).



Σχήμα Γ.1 Τιμές ολικού όγκου των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού υπερηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πέψης.

Σύμφωνα με τον Πίνακα Γ.1, η επίδραση της γευματικής κατάστασης δεν προκάλεσε στατιστικά σημαντικές διαφορές στην περιοχή του τελικού ειλεού και στην περιοχή του τυφλού. Αντίθετα, η διαφορά στον ολικό όγκο που συλλέχθηκε κατά τη διαπεπτική περίοδο στην περιοχή του τελικού ειλεού και του τυφλού ήταν

στατιστικά σημαντική. Παρομοίως, κατά την περίοδο της πέψης προέκυψε στατιστικώς σημαντική διαφορά στον ολικό όγκο που συλλέχθηκε ανάμεσα στις δύο περιοχές. Τα δεδομένα αυτά αντανακλούν τους διαφορετικούς χρόνους παραμονής των περιεχομένων στον τελικό ειλεό και το τυφλό.

Πίνακας Γ.1 Διάμεσες τιμές (εύρος) του ολικού όγκου των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού υπερηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πέψης.

	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης	
Τελικός ειλεός	1.3 (0.25-2.7)	2.1 (0.6-4.5)	<i>p=0.257</i>
Τυφλό	6.0 (4.0-11.0)	6.5 (5.2-11.0)	<i>p=0.290*</i>
	<i>p<0.001</i>	<i>p=0.002</i>	* paired t-test

Η σύγκριση των δεδομένων με αντίστοιχα δεδομένα σε υγιείς ενήλικες (Reppas et al., 2015) (Πίνακας Γ.2) οδήγησε στο συμπέρασμα ότι υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά στον όγκο συλλογής μόνο στην περιοχή του ειλεού και στις δύο γευματικές συνθήκες ($p=0.017$ για τη διαπεπτική περίοδο και $p=0.013$ για την περίοδο πέψης) (Πίνακας Γ.3).

Πίνακας Γ.2 Διάμεσες τιμές (εύρος) του ολικού όγκου των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού των υγιών ενηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πέψης (Reppas et al., 2015).

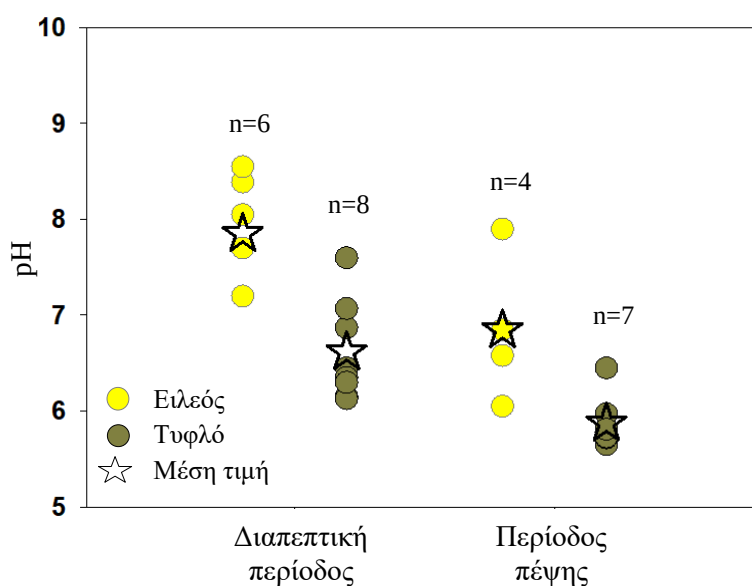
	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης	
Τελικός ειλεός	4.0 (0.3-8.0)	8.0 (2.0-11.0)	<i>p=0.007</i>
Τυφλό	4.5 (1.8-9.0)	8.0 (2.0-11.0)	<i>p=0.010</i>
	<i>p=0.058</i>	<i>p=0.485</i>	

Πίνακας Γ.3 Σύγκριση των τιμών του ολικού όγκου των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού των υπερηλίκων και των υγιών ενηλίκων.

Υπερήλικες vs Ενήλικες (p-values)		
	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης
Τελικός ειλεός	0.017	0.013
Τυφλό	0.127	0.577

Γ.1.2 pH

Στην περιοχή του τελικού ειλεού, η τιμή του pH κατά τη διαπεπτική περίοδο κυμάνθηκε από 7.2 έως 8.5 με διάμεση τιμή 7.9 ενώ κατά τη περίοδο πέψης από 6.0 έως 7.9 με διάμεση τιμή 6.7. Η τιμή του pH στην περιοχή του τυφλού κατά τη διάρκεια της διαπεπτικής περιόδου είχε ως υψηλότερη τιμή 7.6, ως χαμηλότερη τιμή 6.1 και διάμεση τιμή 6.4 ενώ οι αντίστοιχες τιμές για την περίοδο πέψης ήταν 6.4, 5.6 και 5.8 (Σχήμα Γ.2).



Σχήμα Γ.2 Οι τιμές pH των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού υπερηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πέψης.

Οι γευματικές συνθήκες προκάλεσαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην τιμή του pH τόσο στην περιοχή του τελικού ειλεού ($p=0.047$) όσο και στην περιοχή του τυφλού ($p=0.016$). Κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πέψης προέκυψαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις δύο περιοχές ($p=0.001$ για τη διαπεπτική περίοδο και $p=0.013$ για την περίοδο πέψης) (Πίνακας Γ.4).

Πίνακας Γ.4 Διάμεσες τιμές (εύρος) των τιμών pH των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού υπερηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πέψης.

	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης	
Τελικός ειλεός	7.9 (7.2-8.5)	6.7 (6.0-7.9)	<i>p=0.047</i>
Τυφλό	6.4 (6.1-7.6)	5.8 (5.6-6.4)	<i>p=0.016*</i>
	<i>p=0.001</i>	<i>p=0.013</i>	* Wilcoxon test

Τα δεδομένα αυτά δείχνουν ότι αρκετά προϊόντα που στοχεύουν στο παχύ έντερο και λειτουργούν με βάση τις θεωρητικά αναμενόμενες υψηλές τιμές pH στο κατώτερο έντερο είναι πιθανό να μην είναι δραστικά στους υπερήλικες (π.χ. Asacol®).

Από τη σύγκριση των τιμών pH ανάμεσα στους υγιείς υπερήλικες (Πίνακας Γ.4) και στους υγιείς ενήλικες (Reppas et al., 2015) (Πίνακας Γ.5) προέκυψε στατιστικά σημαντική διαφορά στην περιοχή του τελικού ειλεού μόνο κατά τη διάρκεια της περιόδου πέψης ($p=0.002$). Στην περιοχή του τυφλού, στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε μόνο στη διαπεπτική περίοδο ($p=0.022$) (Πίνακας Γ.6).

Πίνακας Γ.5 Διάμεσες τιμές (εύρος) των τιμών pH των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού των υγιών ενηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πέψης (Reppas et al., 2015).

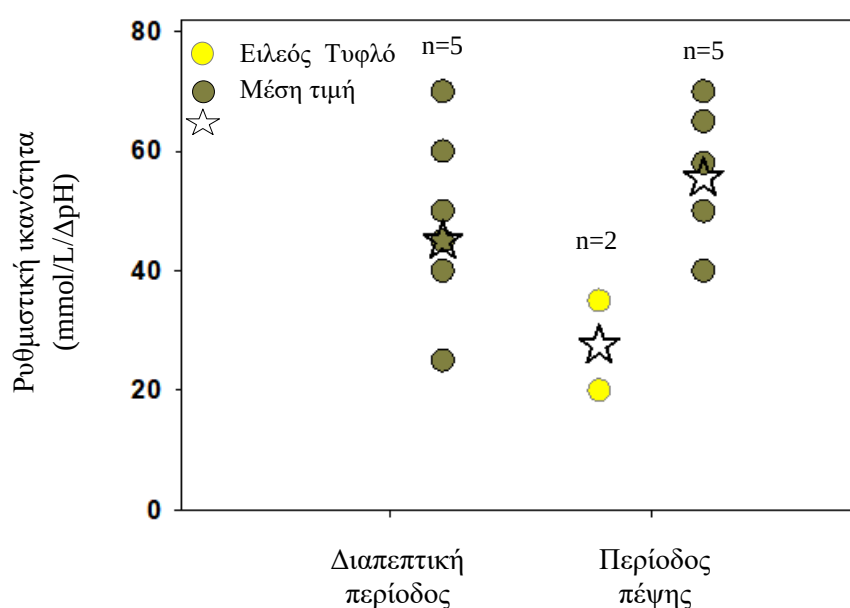
	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης	
Τελικός ειλεός	8.0 (7.0-8.7)	8.1 (7.3-8.4)	<i>p=0.424</i>
Τυφλό	7.4 (6.2-8.5)	6.4 (5.5-7.9)	<i>p=0.003</i>
	<i>p<0.001</i>	<i>p<0.001</i>	

Πίνακας Γ.6 Σύγκριση των τιμών pH των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού των υπερηλίκων και των υγιών ενηλίκων.

Υπερήλικες vs Ενήλικες (p-values)		
	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης
Τελικός ειλεός	0.402	0.002
Τυφλό	0.022	0.081

Γ.1.3 Ρυθμιστική χωρητικότητα

Λόγω περιορισμένου όγκου δείγματος από την περιοχή του τελικού ειλεού δεν ήταν εφικτή η μέτρηση της ρυθμιστικής ικανότητας κατά τη διαπεπτική περίοδο ενώ κατά την περίοδο πέψης έγιναν μόνο δύο μετρήσεις που βρέθηκαν 20 και 35 mmol/L/ΔpH. Όσον αφορά στην περιοχή του τυφλού, κατά τη διαπεπτική περίοδο η ρυθμιστική ικανότητα κυμάνθηκε από 25 έως 70 mmol/L/ΔpH με διάμεση τιμή 45 mmol/L/ΔpH και στην περίοδο πέψης από 40 έως 70 mmol/L/ΔpH με διάμεση τιμή 54 mmol/L/ΔpH (Σχήμα Γ.3).



Σχήμα Γ.3 Τιμές της ρυθμιστικής ικανότητας των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού υπερηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και κατά την περίοδο πέψης.

Λόγω των περιορισμένων αποτελεσμάτων ήταν δυνατή η σύγκριση της επίδρασης της γευματικής κατάστασης μόνο στην περιοχή του τυφλού και βρέθηκε ότι δεν ασκήθηκε στατιστικώς σημαντική επίδραση ($p=0.164$) (Πίνακας Γ.7).

Πίνακας Γ.7 Διάμεσες τιμές (εύρος) της ρυθμιστικής ικανότητας των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού υπερηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πέψης.

	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης	
Τελικός ειλεός	-	20 και 35	-
Τυφλό	45 (25-70)	54 (40-70)	$p=0.164^*$
	-	-	* paired t-test

Η σύγκριση των τιμών της ρυθμιστικής ικανότητας μεταξύ υπερηλίκων (Πίνακας Γ.7) και υγιών ενηλίκων (Reppas et al., 2015) (Πίνακας Γ.8) έγινε εφικτή μόνο στην περιοχή του τυφλού όπου και στις δύο γευματικές καταστάσεις η διαφορά χαρακτηρίστηκε στατιστικά σημαντική ($p=0.013$ για τη διαπεπτική περίοδο και $p=0.008$ για την περίοδο πέψης) (Πίνακας Γ.9). Σημειώνεται ότι η μεγαλύτερη ρυθμιστική ικανότητα των περιεχομένων του τυφλού των υπερηλίκων είναι σε συμφωνία με τις χαμηλότερες τιμές pH της περιοχής.

Πίνακας Γ.8 Διάμεσες τιμές (εύρος) της ρυθμιστικής ικανότητας των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού των υγιών ενηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πέψης (Reppas et al., 2015).

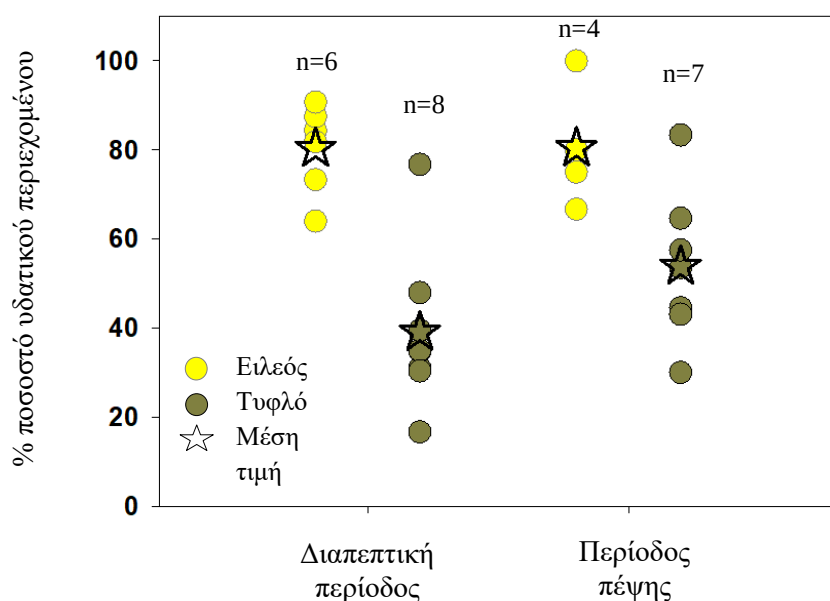
	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης	
Τελικός ειλεός	8.6 (5.1-15)	16 (10-30)	$p=0.230$
Τυφλό	10 (6.5-30)	30 (20-60)	$p=0.025$
	$p=0.058$	$p=0.031$	

Πίνακας Γ.9 Σύγκριση των τιμών της ρυθμιστικής ικανότητας των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού των υπερηλίκων και των υγιών ενηλίκων.

Υπερήλικες vs Ενήλικες (p-values)		
	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης
Τελικός ειλεός	-	-
Τυφλό	0.013	0.008

Γ.1.4 % Ποσοστό υδατικού περιεχομένου

Το % υδατικό περιεχόμενο μετά την υπερφυγοκέντρωση στην περιοχή του τελικού ειλεού προσδιορίστηκε από 64.0 έως 90.7% με διάμεση τιμή 83.1% κατά τη διαπεπτική περίοδο και από 66.7 έως 100% με διάμεση τιμή 77.5 % κατά την περίοδο πέψης. Όσον αφορά στην περιοχή του τυφλού, το % υδατικό περιεχόμενο κυμάνθηκε από 16.7 έως 76.7% με διάμεση τιμή 34.9% και από 30.0 έως 83.3% με διάμεση τιμή 53.6% αντίστοιχα (Σχήμα Γ.4).



Σχήμα Γ.4 Οι τιμές του % ποσοστού υδατικού περιεχομένου των δειγμάτων του τελικού ειλεού και του τυφλού υπερηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πένψης.

Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα προέκυψε ότι η διαφορά του % υδατικού περιεχομένου των δειγμάτων του τελικού ειλεού στη διαπεπτική περίοδο και στην περίοδο πένψης δεν είναι στατιστικά σημαντική ($p=0.987$) σε αντίθεση με την διαφορά στην περιοχή του τυφλού όπου χαρακτηρίζεται στατιστικά σημαντική ($p=0.008$). Η διαφορά του % υδατικού περιεχομένου κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πένψης ανάμεσα στις δύο περιοχές ήταν στατιστικά σημαντική ($p<0.001$ και $p=0.028$ αντίστοιχα) (Πίνακας Γ.10).

Πίνακας Γ.10 Διάμεσες τιμές (εύρος) του % ποσοστού υδατικού περιεχομένου των δειγμάτων του τελικού ειλεού και του τυφλού υπερηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πένψης.

	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πένψης	
Τελικός ειλεός	83.1 (64.0-90.7)	77.5 (66.7-100)	$p=0.987$
Τυφλό	34.9 (16.7-76.7)	53.6 (30.0-83.3)	$p=0.008^*$
	$p<0.001$	$p=0.028$	* paired t-test

Από τη σύγκριση των αποτελεσμάτων των υγιών ενηλίκων (Reppas et al., 2015) (Πίνακας Γ.11) και των υπερηλίκων (Πίνακας Γ.10) παρατηρήθηκε στατιστικά

σημαντική διαφορά μόνο στην περιοχή του τυφλού κατά τη διαπεπτική περίοδο ($p=0.002$) (Πίνακας Γ.12). Το μικρότερο % ποσοστό υδατικού περιεχομένου της περιοχής μπορεί να εξηγεί τη δυσκολία δειγματοληψίας των περιεχομένων της.

Πίνακας Γ.11 Διάμεσες τιμές (εύρος) του % ποσοστού υδατικού περιεχομένου των δειγμάτων του τελικού ειλεού και του τυφλού των υγιών ενηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πέψης (Reppas et al., 2015).

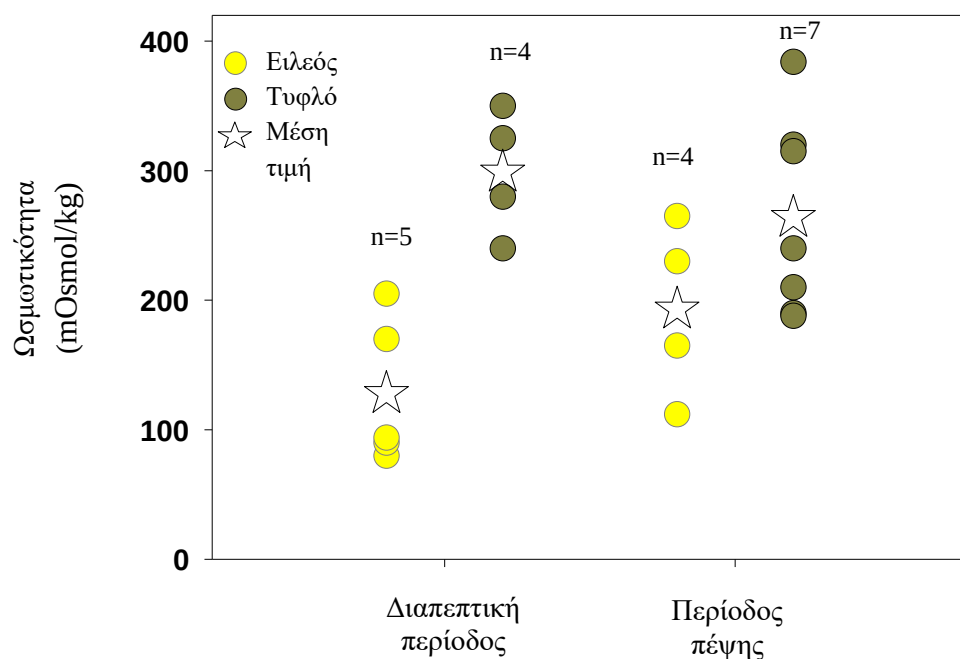
	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης	
Τελικός ειλεός	94 (67-100)	67 (49-100)	$p=0.005$
Τυφλό	73 (25-95)	69 (41-76)	$p=0.436$
	$p=0.001$	$p=0.352$	

Πίνακας Γ.12 Σύγκριση των τιμών του % ποσοστού υδατικού περιεχομένου των δειγμάτων του τελικού ειλεού και του τυφλού των υπερηλίκων και των υγιών ενηλίκων.

Υπερήλικες vs Ενήλικες (p-values)		
	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης
Τελικός ειλεός	0.072	0.100
Τυφλό	0.002	0.176

Γ.1.5 Ωσμωτικότητα

Η ωσμωτικότητα στον τελικό ειλέο κυμάνθηκε κατά τη διαπεπτική περίοδο από 80 έως 205 mOsmol/kg με διάμεση τιμή 94 mOsmol/kg ενώ κατά την περίοδο πέψης από 112 έως 265 mOsmol/kg με διάμεση τιμή 198 mOsmol/kg. Η ωσμωτικότητα στο τυφλό κυμάνθηκε κατά τη διαπεπτική περίοδο από 204 έως 350 mOsmol/kg με διάμεση τιμή 302mOsmol/kg ενώ κατά την περίοδο πέψης από 188 έως 384 mOsmol/kg με διάμεση τιμή 240mOsmol/kg (Σχήμα Γ.5).



Σχήμα Γ.5 Ωσμωτικότητα (mOsmol/kg) στην υδατική φάση των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού υπερηλίκων.

Δεν προέκυψε στατιστικά σημαντική διαφορά με την επίδραση των δοσολογικών συνθηκών σε καμία από τις δύο περιοχές ($p=0.158$ για την περιοχή του τελικού ειλεού και $p=0.436$ για την περιοχή του τυφλού). Αντίθετα, στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στην περιοχή του τελικού ειλεού και του τυφλού παρατηρήθηκε μόνο κατά τη διαπεπτική περίοδο ($p=0.002$ για τη διαπεπτική περίοδο και $p=0.159$ για την περίοδο πένψης) (Πίνακας Γ.13).

Πίνακας Γ.13 Διάμεσες τιμές (εύρος) της ωσμωτικότητας (mOsmol/kg) στην υδατική φάση των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού υπερηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πένψης.

	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πένψης	
Τελικός ειλεός	94 (80-205)	198 (112-265)	$p=0.158$
Τυφλό	302 (240-350)	240 (188-384)	$p=0.436$
	$p=0.002$	$p=0.159$	

Η σύγκριση των αποτελεσμάτων των υπερηλίκων (Πίνακας Γ.13) και των υγιών ενηλίκων (Reppas et al., 2015) (Πίνακας Γ.14) έδειξε ότι στατιστικά σημαντικές διαφορές παρατηρούνται κατά τη διαπεπτική περίοδο και στις δύο

περιοχές ($p=0.044$ για την περιοχή του τελικού ειλεού και $p=0.003$ για την περιοχή του τυφλού). Κατά την περίοδο πέψης δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p=0.948$ για την περιοχή του τελικού ειλεού και $p=0.319$ για την περιοχή του τυφλού) (Πίνακας Γ.15). Τα δεδομένα αυτά είναι σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία όπου υπάρχουν προηγούμενα δεδομένα σε συνθήκες που προσομοιώνουν την περίοδο πέψης (Merchant et al., 2014).

Πίνακας Γ.14 Διάμεσες τιμές (εύρος) της ωσμωτικότητας (mOsmol/kg) στην υδατική φάση των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού των υγιών ενηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πέψης (Reppas et al., 2015).

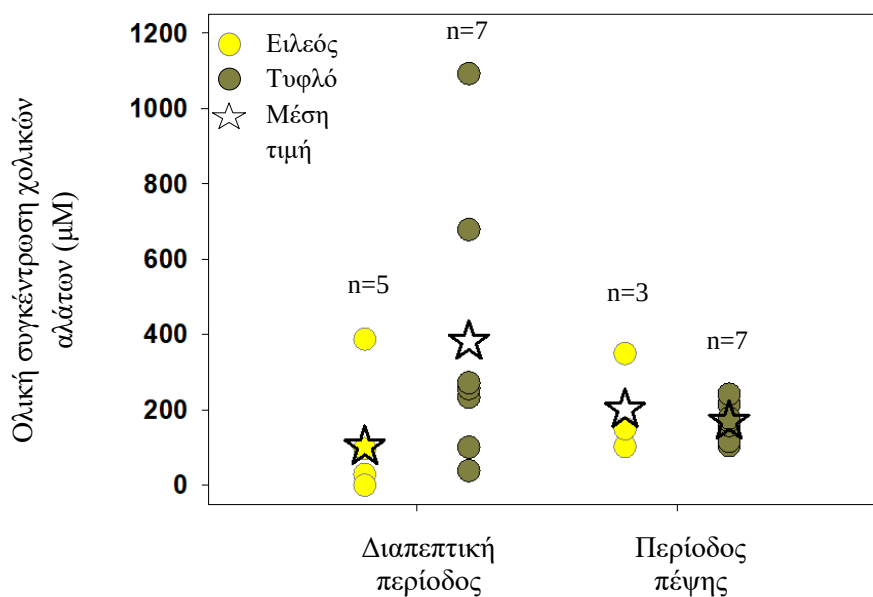
	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης	
Τελικός ειλεός	51 (0-144)	192 (57 – 942)	$p=0.034$
Τυφλό	112 (82-262)	182 (122 -782)	$p=0.112$
	$p=0.023$	$p=0.775$	

Πίνακας Γ.15 Σύγκριση της ωσμωτικότητας των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού των υπερηλίκων και των υγιών ενηλίκων.

Υπερήλικες vs Ενήλικες (p-values)		
	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης
Τελικός ειλεός	0.044	0.948
Τυφλό	0.003	0.319

Γ.1.6 Χολικά οξέα

Στον τελικό ειλεό η ολική συγκέντρωση των χολικών οξέων κατά τη διαπεπτική περίοδο κυμάνθηκε μεταξύ των εθελοντών από 0 έως 388 μM με διάμεση τιμή 28.5 μM . Κατά την περίοδο της πέψης κυμάνθηκε από 103 έως 349 μM με διάμεση τιμή 150 μM . Στο τυφλό, η ολική συγκέντρωση των χολικών οξέων κατά τη διαπεπτική περίοδο εκτιμήθηκε από 38.5 έως 1093 μM με διάμεση τιμή 257 μM και κατά την περίοδο πέψης από 105 έως 241 μM με διάμεση τιμή 171 μM (Σχήμα Γ.6).



Σχήμα Γ.6 Ολική συγκέντρωση (μM) χολικών οξέων κατά τη διαπεπτική περίοδο και κατά τη περίοδο πέψης στην υδατική φάση των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού υπερηλίκων.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα προκύπτει ότι στατιστικώς σημαντική διαφορά δεν παρατηρείται σε καμία από τις δύο περιοχές με την αλλαγή των γευματικών συνθηκών ($p=0.250$ για την περιοχή του τελικού ειλεού και $p=0.119$ για την περιοχή του τυφλού). Επίσης, δεν παρατηρούνται στατιστικώς σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις δύο περιοχές του κατώτερου εντέρου ούτε στη διαπεπτική περίοδο ($p=0.073$) ούτε στην περίοδο πέψης ($p=0.576$) (Πίνακας Γ.16).

Πίνακας Γ.16 Διάμεσες τιμές (εύρος) της ολικής συγκέντρωσης (μM) των χολικών οξέων στην υδατική φάση των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού υπερηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πέψης.

	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης	
Τελικός ειλεός	28.5 (0-388)	150 (103-349)	$p=0.250$
Τυφλό	257 (38.5-1093)	171 (105-241)	$p=0.119^*$
	$p=0.073$	$p=0.576$	* paired t-test

Η σύγκριση των αποτελεσμάτων των πειραμάτων των χολικών οξέων ανάμεσα στις δύο ηλικιακές ομάδες (Πίνακας Γ.16 vs. Πίνακας Γ.17) έδειξε την απουσία στατιστικώς σημαντικών διαφορών σε κάθε συνθήκη (Πίνακας Γ.18).

Πίνακας Γ.17 Διάμεσες τιμές (εύρος) της ολικής συγκέντρωσης (μM) των χολικών οξέων στην υδατική φάση των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού των υγιών ενηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πέψης (Reppas et al., 2015).

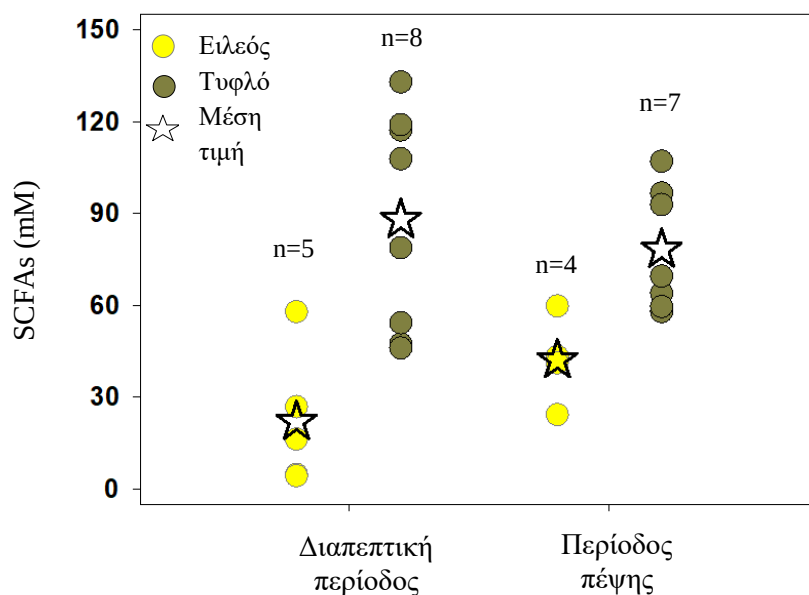
	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης	
Τελικός ειλεός	24 (4.6-524)	204 (31-463)	<i>p=0.078</i>
Τυφλό	127 (9.8-807)	143 (61-983)	<i>p=0.419</i>
	<i>p=0.004</i>	<i>p=0.283</i>	

Πίνακας Γ.18 Σύγκριση των τιμών της ολικής συγκέντρωσης χολικών αλάτων των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού των υπερηλίκων και των υγιών ενηλίκων.

Υπερήλικες vs Ενήλικες (p-values)		
	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης
Τελικός ειλεός	0.874	0.828
Τυφλό	0.190	0.833

Γ.1.7 Λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου (SCFAs)

Η ολική συγκέντρωση των SCFAs στον τελικό ειλεό κατά τη διαπεπτική περίοδο κυμάνθηκε από 4.3 έως 57.8 mM με διάμεση τιμή 16.2 mM. Κατά την περίοδο πέψης κυμάνθηκε από 24.2 έως 59.7 mM με διάμεση τιμή 42.1 mM. Αντίστοιχα, στην περιοχή του τυφλού, η ολική συγκέντρωση των SCFAs διαμορφώθηκε ανάμεσα στις τιμές 46.0 και 133 mM με διάμεση τιμή 93.3 mM κατά τη διαπεπτική περίοδο και ανάμεσα στις τιμές 57.8 και 107 mM έως 69.5 mM κατά την περίοδο πέψης (Σχήμα Γ.7).



Σχήμα Γ.7 Ολική συγκέντρωση (mM) SCFAs κατά τη διαπεπτική περίοδο και κατά την περίοδο πέψης που εκτιμήθηκε στην υδατική φάση των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού υπερηλίκων.

Σύμφωνα με τον Πίνακα Γ.19, η αλλαγή των δοσολογικών συνθηκών δεν προκάλεσε στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ολική συγκέντρωση των SCFAs στις δύο περιοχές ($p=0.163$ για την περιοχή του τελικού ειλεού και $p=0.568$ για την περιοχή του τυφλού). Αντίθετα, στατιστικά σημαντικές αλλαγές παρατηρήθηκαν ανάμεσα στις δύο περιοχές κατά τη διάρκεια της διαπεπτικής περιόδου ($p=0.004$) και της περιόδου πέψης ($p=0.012$).

Πίνακας Γ.19 Διάμεσες τιμές (εύρος) της ολικής συγκέντρωσης (mM) SCFAs στην υδατική φάση των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού υπερηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πέψης.

	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης	
Τελικός ειλεός	16.2 (4.3-57.8)	42.1 (24.2-59.7)	$p=0.163$
Τυφλό	93.3 (46.0-133)	69.5 (57.8-107)	$p=0.568^*$
	$p=0.004$	$p=0.012$	* paired t-test

Σύμφωνα με τον Πίνακα Γ.21, η ολική συγκέντρωση SCFAs στον τελικό ειλεό δε διαφοροποιήθηκε σημαντικά ανάμεσα στους ενήλικες (Reppas et al., 2015) (Πίνακας Γ.20) και στους υπερηλίκους (Πίνακας Γ.19) κατά τη διάρκεια της

διαπεπτικής περιόδου ($p=0.308$) σε αντίθεση με την περίοδο πέψης ($p=0.004$). Αντίθετα, στην περιοχή του τυφλού υπήρξε σημαντική διαφοροποίηση ανάμεσα στις δύο ηλικιακές ομάδες ($p=0.001$ για τη διαπεπτική περίοδο και $p<0.001$ για την περίοδο πέψης) (Πίνακας Γ.21). Αξίζει να σημειωθεί ότι σε προηγούμενη μελέτη τα επίπεδα των SCFAs είχαν βρεθεί μειωμένα στους υπερήλικες σε σχέση με τους ενήλικες (Salazar et al., 2017). Ωστόσο, στη μελέτη αυτή, οι υπολογισμοί των SCFAs πραγματοποιήθηκαν σε δείγματα που προέρχονταν από υπερήλικες που είχαν αποβιώσει αιφνιδίως και κατά συνέπεια δε μπορεί να είναι γνωστός ο χρόνος παραμονής των περιεχομένων στον οργανισμό μέχρι τη λήψη και ανάλυσή τους. Έτσι, θεωρείται αναξιόπιστη η εκτίμηση της ολικής συγκέντρωσης των SCFAs. Η αυξημένη συγκέντρωση των SCFAs στην περιοχή του τελικού ειλεού κατά την περίοδο πέψης και στην περιοχή του τυφλού κατά τη διαπεπτική περίοδο είναι σε συμφωνία με τις χαμηλότερες μετρηθείσες τιμές pH στους υπερήλικες υπό τις αντίστοιχες συνθήκες.

Πίνακας Γ.20 Διάμεσες τιμές (εύρος) της ολικής συγκέντρωσης (mM) SCFAs στην υδατική φάση των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού των υγιών ενηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πέψης (Reppas et al., 2015).

	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης	
Τελικός ειλεός	5.4 (1.7-22.6)	3.5 (2.4-17.9)	$p=0.217$
Τυφλό	30.0 (5.4-66.5)	25.1 (5.6-52.4)	$p=0.457$
	$p=0.001$	$p<0.001$	

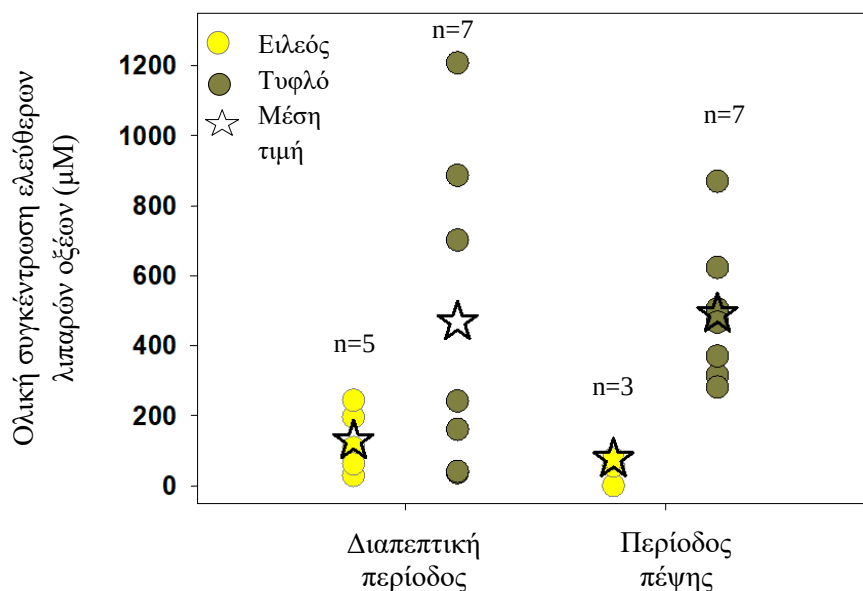
Πίνακας Γ.21 Σύγκριση των τιμών της ολικής συγκέντρωσης SCFAs των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού των υπερηλίκων και των υγιών ενηλίκων.

Υπερήλικες vs Ενήλικες (p-values)		
	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης
Τελικός ειλεός	0.308	0.004
Τυφλό	0.001	0.001

Γ.1.8 Ελεύθερα λιπαρά οξέα και ουδέτερα λιπίδια

Αναφορικά με τα ελεύθερα λιπαρά οξέα (λινελαϊκό, ελαϊκό και στεατικό οξύ), η συγκέντρωσή τους στον τελικό ειλέο κυμάνθηκε από 29.0 έως 244 μM με διάμεση

τιμή 108 μM κατά τη διαπεπτική περίοδο και 56.4 από 0 έως 76.2 μM με διάμεση τιμή 56.4 μM κατά τη περίοδο πέψης. Στην περιοχή του τυφλού οι αντίστοιχες τιμές ήταν από 36.9 έως 1208 μM με διάμεση τιμή 241 μM και από 281 μM έως 870 μM με διάμεση τιμή 467 μM (Σχήμα Γ.8).



Σχήμα Γ.8 Ολική συγκέντρωση (μM) ελεύθερων λιπαρών οξέων (λινελαϊκό, ελαϊκό και στεατικό οξύ) κατά τη διαπεπτική περίοδο και κατά την περίοδο πέψης στην υδατική φάση των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού υπερηλίκων.

Όπως προκύπτει από τον Πίνακα Γ.22, η αλλαγή των δοσολογικών συνθηκών δεν προκάλεσε στατιστικά σημαντική διαφορά στις δύο περιοχές ($p=0.188$ για τον τελικό ειλεό και $p=0.704$ για το τυφλό). Από τη σύγκριση της ολικής συγκέντρωσης των ελεύθερων λιπαρών οξέων του τελικού ειλεού και του τυφλού στη διαπεπτική περίοδο προέκυψε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές αλλαγές ($p=0.142$) σε αντίθεση με την περίοδο πέψης ($p=0.007$).

Πίνακας Γ.22 Διάμεσες τιμές (εύρος) της ολικής συγκέντρωσης (μM) των ελεύθερων λιπαρών οξέων (λινελαϊκό, ελαϊκό και στεατικό οξύ) στην υδατική φάση των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού υπερηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πέψης.

	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης	
Τελικός ειλεός	108 (29.0-244)	56.4 (0-76.2)	<i>p=0.188</i>
Τυφλό	241 (36.9-1208)	467 (281-870)	<i>p=0.704*</i>
	<i>p=0.142</i>	<i>p=0.007</i>	* paired t-test

Από τη σύγκριση των αποτελεσμάτων της ολικής συγκέντρωσης των ουδέτερων λιπαρών οξέων ανάμεσα στις δύο ηλικιακές ομάδες προέκυψε ότι στατιστικά σημαντική διαφορά συγκέντρωσης υπάρχει μόνο στη περιοχή του τελικού ειλεού κατά τη διάρκεια της πέψης ($p<0.001$) (Πίνακας Γ.24).

Πίνακας Γ.23 Διάμεσες τιμές (εύρος) της ολικής συγκέντρωσης (μM) των ελεύθερων λιπαρών οξέων (λινελαϊκό, ελαϊκό και στεατικό οξύ) στην υδατική φάση των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού των υγιών ενηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πέψης (Reppas et al., 2015).

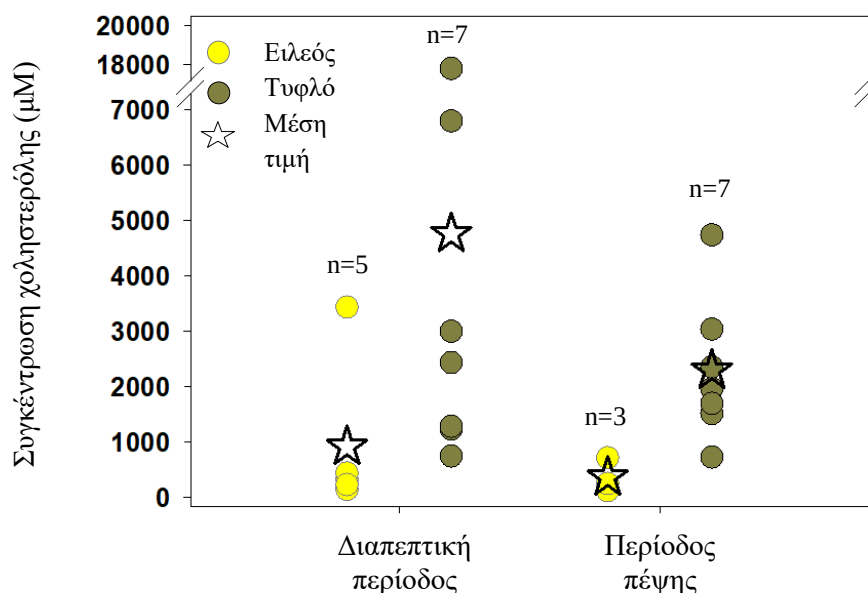
	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης	
Τελικός ειλεός	56 (15-166)	34 (6.4-259)	<i>p=0.908</i>
Τυφλό	99 (21-380)	143 (6.8-430)	<i>p=0.873</i>
	<i>p=0.030</i>	<i>p=0.049</i>	

Πίνακας Γ.24 Σύγκριση των τιμών της ολικής συγκέντρωσης των ελεύθερων λιπαρών οξέων των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού των υπερηλίκων και των υγιών ενηλίκων.

Υπερήλικες vs Ενήλικες (p-values)		
	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης
Τελικός ειλεός	0.141	0.942
Τυφλό	0.254	<0.001

Η συγκέντρωση της χοληστερόλης στον τελικό ειλεό των υπερηλίκων είχε διάμεση τιμή στη διαπεπτική κατάσταση 332 μM και κυμάνθηκε από 151 έως 3443 μM ενώ στην περίοδο πέψης είχε διάμεση τιμή 259 μM και κυμάνθηκε από 128 έως 721 μM. Κατά τη διάρκεια της διαπεπτικής περιόδου στο τυφλό η συγκέντρωση

της χοληστερόλης διαμορφώθηκε ανάμεσα στα 754 και 17816 μM με διάμεση τιμή 2441 μM ενώ κατά τη διάρκεια της περιόδου πέψης η διάμεση τιμή της συγκέντρωσης ήταν 1969 μM και κυμάνθηκε από 734 έως 4746 μM (Σχήμα Γ.9).



Σχήμα Γ.9 Συγκέντρωση (μM) της χοληστερόλης κατά τη διαπεπτική περίοδο και κατά την περίοδο πέψης στην υδατική φάση των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού υπερηλίκων.

Σύμφωνα με τον Πίνακα Γ.25 η συγκέντρωση της χοληστερόλης δεν υφίσταται στατιστικά σημαντική αλλαγή από την αλλαγή των γευματικών συνθηκών σε κάθε περιοχή ($p=0.786$ για τον τελικό ειλέο και $p=0.563$ για το τυφλό). Ωστόσο, η συγκέντρωση της χοληστερόλης διαφοροποιείται στατιστικώς σημαντικά στον τελικό ειλέο σε σχέση με το τυφλό και στη διαπεπτική περίοδο ($p=0,048$) και στην περίοδο πέψης ($p=0.039$).

Πίνακας Γ.25 Διάμεσες τιμές (εύρος) της συγκέντρωσης (μM) της χοληστερόλης στην υδατική φάση των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού υπερηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πέψης.

	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης	
Τελικός ειλέος	332 (151-3443)	259 (128-721)	$p=0.786$
Τυφλό	2441 (754-17816)	1969 (734-4746)	$p=0.563^*$
	$p=0.048$	$p=0.039$	* Wilcoxon test

Η σύγκριση της συγκέντρωσης της χοληστερόλης ανάμεσα στους υγιείς ενήλικες και στους υπερήλικες οδήγησε σε στατιστικά μη σημαντική διαφορά στην περιοχή του τελικού ειλεού ($p=1.000$ για τη διαπεπτική περίοδο και $p=0.613$ για την περίοδο πέψης). Ωστόσο, στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε στην περιοχή του τυφλού τόσο κατά τη διαπεπτική περίοδο ($p=0.031$) όσο και κατά την περίοδο πέψης ($p=0.006$) (Πίνακας Γ.27).

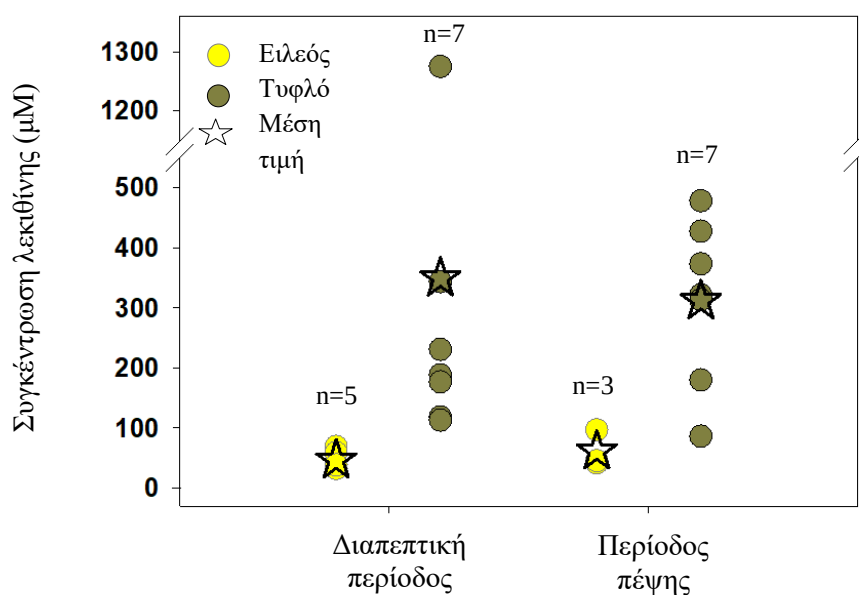
Πίνακας Γ.26 Διάμεσες τιμές (εύρος) της συγκέντρωσης (μM) της χοληστερόλης στην υδατική φάση των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού των υγιών ενηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πέψης (Reppas et al., 2015).

	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης	
Τελικός ειλεός	314 (39.1-1190)	171 (16.9-1599)	$p=0.626$
Τυφλό	789 (100-3958)	161 (28.1-2429)	$p=0.284$
	$p=0.036$	$p=0.044$	

Πίνακας Γ.27 Σύγκριση των τιμών της συγκέντρωσης της χοληστερόλης των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού των υπερηλίκων και των υγιών ενηλίκων.

Υπερήλικες vs Ενήλικες (p-values)		
	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης
Τελικός ειλεός	1.000	0.613
Τυφλό	0.031	0.006

Αναφορικά με την ολική συγκέντρωση της λεκιθίνης (φωσφατιδυλοχολίνη και λυσοφωσφατιδυλοχολίνη) στον τελικό ειλεό, κυμάνθηκε από 32.4 έως 69.3 μM με διάμεση τιμή 35.6 μM στη διαπεπτική περίοδο και από 42.0 έως 97.0 μM με διάμεση τιμή 45.6 μM στη περίοδο πέψης. Η ολική συγκέντρωση της λεκιθίνης στην περιοχή του τυφλού κατά τη διάρκεια της διαπεπτικής περιόδου είχε διάμεση τιμή 188 μM και κυμάνθηκε από 113 έως 1275 μM και κατά τη διάρκεια της περιόδου πέψης είχε διάμεση τιμή 322 μM και κυμάνθηκε από 86.4 έως 478 μM (Σχήμα Γ.10).



Σχήμα Γ.10 Συγκέντρωση (μM) της λεκιθίνης (φωσφατιδυλοχολίνη και λυσοφωσφατιδυλοχολίνη) στην υδατική φάση των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού υπερηλίκων.

Όπως προέκυψε από τον Πίνακα Γ.28, στατιστικά σημαντική διαφορά υπήρξε μόνο ανάμεσα στον τελικό ειλεό και το τυφλό και κατά τη διάρκεια της διαπεπτικής περιόδου ($p=0.003$) και κατά τη διάρκεια της περιόδου πέψης ($p=0.017$) (Πίνακας Γ.28).

Πίνακας Γ.28 Διάμεσες τιμές (εύρος) της συγκέντρωσης (μM) της λεκιθίνης (φωσφατιδυλοχολίνη και λυσοφωσφατιδυλοχολίνη) στην υδατική φάση των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πέψης.

	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης	
Τελικός ειλεός	38.6 (32.4-69.3)	45.6 (42.0-97.0)	$p=0.394$
Τυφλό	188 (113-1275)	322 (86.4-478)	$p=0.844^*$
	$p=0.003$	$p=0.017$	* Wilcoxon test

Σύμφωνα με τον Πίνακα Γ.30, η μόνη περίπτωση στην οποία προέκυψε στατιστικά σημαντική διαφορά στη συγκέντρωση της χοληστερόλης ανάμεσα στις δύο ηλικιακές ομάδες ήταν στην περιοχή του τυφλού κατά τη διάρκεια της περιόδου πέψης ($p<0.001$).

Πίνακας Γ.29 Διάμεσες τιμές (εύρος) της συγκέντρωσης (μM) της λεκιθίνης (φωσφατιδυλοχολίνη και λυσοφωσφατιδυλοχολίνη) στην υδατική φάση των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού των υγιών ενηλίκων κατά τη διαπεπτική περίοδο και την περίοδο πέψης (Reppas et al., 2015).

	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης	
Τελικός ειλεός	65 (28-175)	20 (8.9-170)	<i>p=0.170</i>
Τυφλό	124 (29-397)	72 (10.1-262)	<i>p=0.033</i>
	<i>p=0.001</i>	<i>p=0.110</i>	

Πίνακας Γ.30 Σύγκριση των τιμών της ολικής συγκέντρωσης της λεκιθίνης των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού των υπερηλίκων και των υγιών ενηλίκων.

Υπερήλικες vs Ενήλικες (p-values)		
	Διαπεπτική περίοδος	Περίοδος πέψης
Τελικός ειλεός	0.174	0.070
Τυφλό	0.291	<0.001

Γ.1.9 Σχολιασμός

Διαφορές υπερηλίκων και υγιών ενηλίκων στον τελικό ειλεό

Όσον αφορά στο περιεχόμενο της περιοχής του τελικού ειλεού των υπερηλίκων, κατά τη διαπεπτική περίοδο, παρουσιάζεται αυξημένη ωσμωτικότητα. Κατά την περίοδο πέψης, οι υπερήλικες έχουν μειωμένο pH και αυξημένη ολική συγκέντρωση των SCFAs. Ανεξάρτητα από την παρουσία υπολειμμάτων τροφής, οι υπερήλικες έχουν μειωμένο ολικό όγκο περιεχομένων στον τελικό ειλεό.

Διαφορές υπερηλίκων και υγιών ενηλίκων στο τυφλό

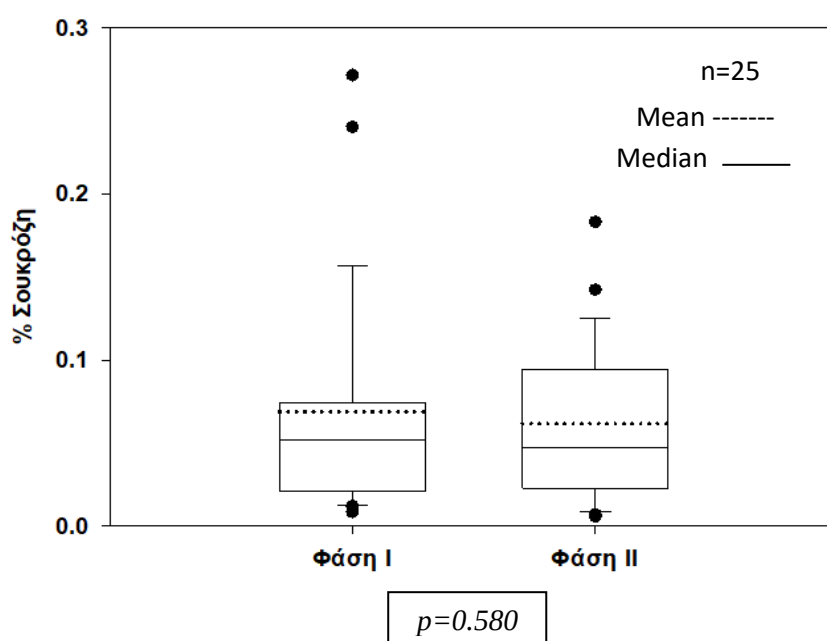
Το περιεχόμενο του τυφλού των υπερηλίκων στη διαπεπτική περίοδο έχει μειωμένο pH, μειωμένο % υδατικό περιεχόμενο και αυξημένη ωσμωτικότητα. Κατά τη διάρκεια της περιόδου πέψης, οι υπερήλικες έχουν αυξημένη ολική συγκέντρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων και λεκιθίνης. Ανεξαρτήτως της ύπαρξης υπολειμμάτων τροφής, το περιεχόμενο του τυφλού στους υπερήλικες έχει αυξημένη ρυθμιστική ικανότητα καθώς και αυξημένη ολική συγκέντρωση SCFAs και χοληστερόλης.

Γ.2 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΠΡΑΝΟΛΟΛΗΣ ΣΤΗ ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΑΝΩΤΕΡΟΥ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΒΛΕΝΝΟΓΟΝΟΥ ΚΙΡΡΩΤΙΚΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης (δεύτερη περίοδος) σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα της πρώτης περιόδου (Καρατζά, 2014) παρουσιάζονται αναλυτικά στο Παράρτημα V.

Γ.2.1 Επίδραση της προπρανολόλης στη μεταφορά μέσω του γαστροδωδεκαδακτυλικού βλεννογόνου

Ο μέσος όρος (τυπική απόκλιση) του % ποσοστού απέκκρισης της σουκρόζης στη Φάση 1 ήταν 0.06 (0.06) και στη Φάση 2 0.06 (0.04). Η χορήγηση προπρανολόλης δε προκαλεί στατιστικά σημαντική διαφορά στη παθητική διαπερατότητα του στομάχου των κιρρωτικών ασθενών ($p=0.580$) (Σχήμα Γ.11)

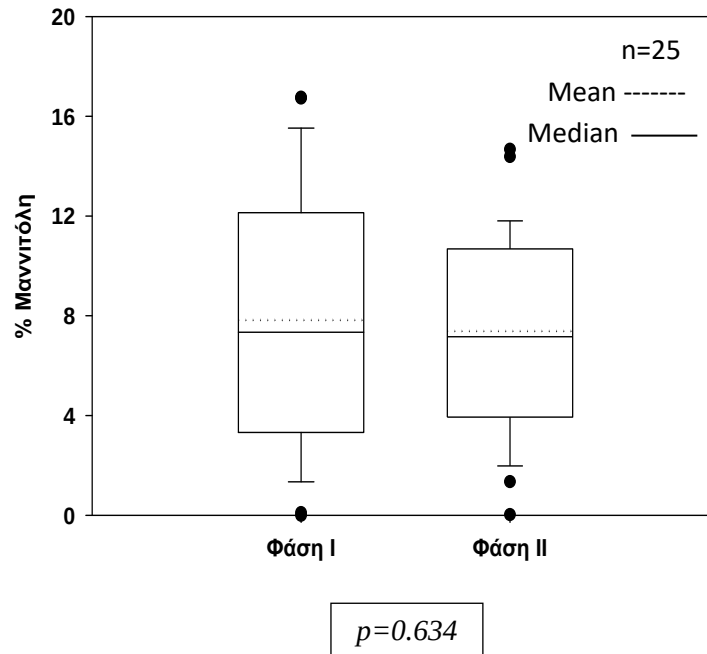


Σχήμα Γ.11: % απέκκριση της σουκρόζης που ποσοτικοποιήθηκε στα ούρα 25 ασθενών, πριν (Φάση I) και μετά (Φάση II) τη θεραπεία με προπρανολόλη.

Γ.2.2 Επίδραση της προπρανολόλης στην παθητική μεταφορά στο λεπτό έντερο

Η παθητική διαπερατότητα του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου εξετάζεται με το % ποσοστό ουρικής απέκκρισης της μαννιτόλης. Έτσι, προέκυψε ότι στη Φάση 1 το % ποσοστό απέκκρισης της μαννιτόλης ήταν κατά μέσο όρο (τυπική απόκλιση)

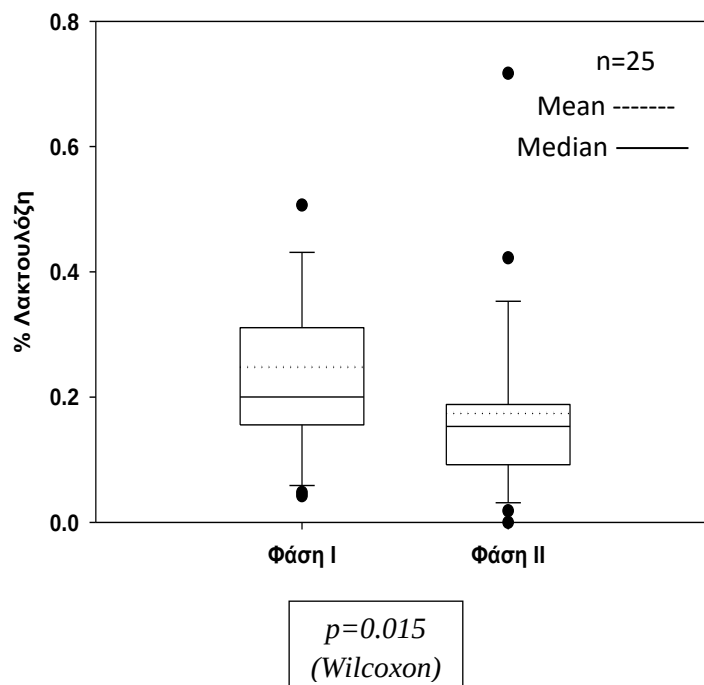
7.82 (5.38) και στη Φάση 2 ήταν 7.38 (4.08) χωρίς να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.634$). (Σχήμα Γ.12).



Σχήμα Γ.12: % απέκκριση μαννιτόλης που ποσοτικοποιήθηκε στα ούρα 25 ασθενών, πριν (Φάση I) και μετά (Φάση II) τη θεραπεία με προπρανολόλη.

Γ.2.3 Επίδραση της προπρανολόλης στην παρακυττάρια μεταφορά στο λεπτό έντερο

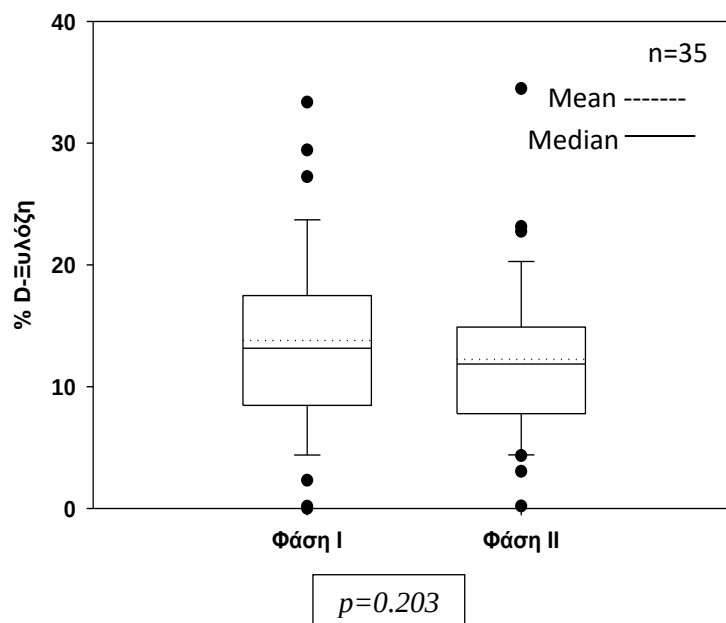
Η παρακυττάρια μεταφορά μέσω του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου εξετάζεται με το % ποσοστό ουρικής απέκκρισης της λακτουλόζης. Η λακτουλόζη απέτυχε στη δοκιμασία κανονικότητας και έτσι με τη δοκιμασία Wilcoxon προέκυψε ότι η διάμεση τιμή (25%,75%) του % ποσοστού απέκκρισής της στη Φάση 1 ήταν 0.20 (0.15, 0.31) και στη Φάση 2 ήταν 0.15 (0.31, 0.18). Για τη λακτουλόζη, η διαφορά που προκύπτει είναι στατιστικά σημαντική ($p=0.015$) (Σχήμα Γ.13).



Σχήμα Γ.13: % απέκκριση λακτουλόζης που ποσοτικοποιήθηκε στα ούρα 25 ασθενών, πριν (Φάση I) και μετά (Φάση II) τη θεραπεία με προπρανολόλη.

Γ.2.4 Επίδραση της προπρανολόλης στη μεταφορά στο λεπτό έντερο με τη μεσολάβηση φορέα

Η % απέκκριση της D-ξυλόζης στα ούρα 35 ασθενών ήταν κατά μέσο όρο (τυπική απόκλιση) στη Φάση 1 13.80 (7.86) και στη Φάση 2 12.25 (6.49). Η διαφορά τους δεν είναι στατιστικά σημαντική ($p=0.203$) (Σχήμα Γ.14).



Σχήμα Γ.14: % απέκκριση της D-ξυλόζης που ποσοτικοποιήθηκε στα ούρα 35 ασθενών, πριν (Φάση I) και μετά (Φάση II) τη θεραπεία με προπρανολόλη.

Γ.2.5 Σχολιασμός

Η χορήγηση της προπρανολόλης επιβεβαιώθηκε ότι αποκαθιστά τη διαταραγμένη, από την κίρρωση του ήπατος, παρακυττάρια μεταφορά στο λεπτό έντερο, μέσω της επαναφοράς των σφιχτών συνάψεων, όπως αυτή εκτιμήθηκε με τη χορήγηση λακτουλόζης. Ωστόσο, οι ενδοκυτταριοί μηχανισμοί μεταφοράς (παθητικοί και με τη μεσολάβηση φορέα) δεν επηρεάστηκαν.

Δ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ανεξάρτητα από τις γευματικές συνθήκες, στον τελικό ειλεό των υπερηλίκων παρατηρείται μικρότερος ολικός όγκος περιεχομένων ενώ στο τυφλό παρατηρούνται αυξημένη ρυθμιστική χωρητικότητα, αυξημένη ολική συγκέντρωση λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου και αυξημένη συγκέντρωση χοληστερόλης.

Όσον αφορά στη χορήγηση της προπρανολόλης σε κιρρωτικούς ασθενείς, η θεραπευτική της αξία φαίνεται να οφείλεται κυρίως στην αποκατάσταση των σφιχτών συνάψεων του επιθηλίου του λεπτού εντέρου.

Α. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abuhelwa, A. Y., Williams, D. B., Upton, R. N., & Foster, D. J. R. (2017). European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics Food , gastrointestinal pH , and models of oral drug absorption. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 112, 234–248. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.11.034>
- Aguirre Valadez, J. M., Rivera-Espinosa, L., Méndez-Guerrero, O., Chávez-Pacheco, J. L., García Juárez, I., & Torre, A. (2016). Intestinal permeability in a patient with liver cirrhosis. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 12, 1729–1748. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S115902>
- Akhavan Rezayat, K., Zeraati, A. A., Pezeshki Rad, M., Chogan, J., Davoudian, N., Akhavan Rezayat, A., & Hoseini, S. M. (2017). Impact of Propranolol on Preventing Renal Dysfunction in Patients with Cirrhosis. *Middle East Journal of Digestive Diseases*, 9(4), 206–211. <https://doi.org/10.15171/mejdd.2017.75>
- Alvis, B. D., & Hughes, C. G. (2016). Physiology Considerations in the Geriatric Patient. *Anesthesiol Clin.*, 33(3), 447–456. <https://doi.org/10.1016/j.anclin.2015.05.003>. Physiology
- Anderson, A. D. G., Jain, P. K., Fleming, S., Poon, P., Mitchell, C. J., & MacFie, J. (2004). Evaluation of a triple sugar test of colonic permeability in humans. *Acta Physiologica Scandinavica*, 182(2), 171–177. <https://doi.org/10.1111/j.1365-201X.2004.01347.x>
- Arrieta, M. C., Bistriz, L., & Meddings, J. B. (2006). Alterations in intestinal permeability. *Gut*, 55(10), 1512–1520. <https://doi.org/10.1136/gut.2005.085373>
- Bellot, P., Francés, R., & Such, J. (2013). Pathological bacterial translocation in cirrhosis: Pathophysiology, diagnosis and clinical implications. *Liver International*, 33(1), 31–39. <https://doi.org/10.1111/liv.12021>
- Camilleri, M., Madsen, K., Spiller, R., Van Meerveld, B. G., & Verne, G. N. (2012). Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease. *Neurogastroenterology & Motility*, 24(6), 503–512. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2012.01921.x>
- Charman, W. N., Porter, C. J. H., Mithani, S., & Dressman, J. B. (1997).

- Physicochemical and Physiological Mechanisms for the Effects of Food on Drug Absorption : The Role of Lipids and pH, *86*(3), 269–282.
- Claesson, M. J., Jeffery, I. B., Conde, S., Power, S. E., O'Connor, E. M., Cusack, S., ... O'Toole, P. W. (2012). Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature*, *488*, 178. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1038/nature11319>
- Drozdzowski, L., & Thomson, A. B. R. (2006). Aging and the intestine. *World Journal of Gastroenterology*, *12*(47), 7578–7584. <https://doi.org/10.3748/wjg.v12.i47.7578>
- E.J. Woodmansey. (2007). Intestinal bacteria and ageing. *Journal of Applied Microbiology*, *102*(5), 1178–1186.
- Giannelli, V., Lattanzi, B., Thalheimer, U., & Merli, M. (2014). Beta-blockers in liver cirrhosis. *Annals of Gastroenterology*, *27*, 20–26.
- Goldbloom, R. B., F.R.C.P., Blake, R. M., & Cameron, D. (1965). Simultaneous Measurement of D-Xylose and Butter-fat Absorption Using Micromethods, *93*(1948), 532–537.
- Grassi, M., Petraccia, L., Mennuni, G., Fontana, M., Scarno, A., Sabetta, S., & Fraioli, A. (2011). Changes, functional disorders, and diseases in the gastrointestinal tract of elderly. *Nutricion Hospitalaria*, *26*(4), 659–668. <https://doi.org/10.3305/nh.2011.26.4.5109>
- Guarner, F., & Malagelada, J.-R. (2003). Gut flora in health and disease. *The Lancet*, *360*(9356), 512–519.
- Holt, P. R. (2007). Intestinal malabsorption in the elderly. *Digestive Diseases*, *25*(2), 144–150. <https://doi.org/10.1159/000099479>
- Hörter, D., & Dressman, J. B. (1997). Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *25*(1), 3–14. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(96\)00487-5](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(96)00487-5)
- Kazuki I., Rika O., Marika I., Ren O., Yuri M., Yuta F., Takuya H., Hisanao K., Yoshiyuki S., Katsuhisa I. (2017). Osmolality of Orally Administered Solutions Influences Luminal Water Volume and Drug Absorption in Intestine. *Journal of*

- Pharmaceutical Sciences*, 106 (9), 2889-2894.
<https://doi.org/10.1016/j.xphs.2017.04.030>
- Ingomar, C. J., Mollertz, S., & Terslev, E. (1964). CHRONIC DIARRHOEAS IN INFANCY AND CHILDHOOD I: D-XYLOSE TOLERANCE TEST, 39(203), 79–84.
- Kalaitzakis, E. (2014). Gastrointestinal dysfunction in liver cirrhosis. *World Journal of Gastroenterology*, 20(40), 14686–14695.
<https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i40.14686>
- Καρατζά Ε., Διπλωματική Εργασία, "Φυσιολογικοί παράγοντες που επηρεάζουν τη απορρόφηση per os χορηγούμενων φαρμάκων: το περιβάλλον στον κατώτερο εντερικό αυλό και ο φραγμός του γαστρεντερικού επιθηλίου κίρρωτικών ασθενών", Τμήμα Φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ, 2014
- Kalantzi, L., Goumas, K., Kalioras, V., Abrahamsson, B., Dressman, J. B., & Reppas, C. (2006). Characterization of the human upper gastrointestinal contents under conditions simulating bioavailability/bioequivalence studies. *Pharmaceutical Research*, 23(1), 165–176. <https://doi.org/10.1007/s11095-005-8476-1>
- Lee, G. O., McCormick, B. J. J., Seidman, J. C., Kosek, M. N., Haque, R., Olortegui, M. P., ... Caulfield, L. E. (2017). Infant nutritional status, feeding practices, enteropathogen exposure, socioeconomic status, and illness are associated with gut barrier function as assessed by the lactulose mannitol test in the MAL-ED birth cohort. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 97(1), 281–290.
<https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0830>
- Mayersohn, M. (1994). Pharmacokinetics in the Elderly. *Environmental Health Perspectives*, 102(11), 119–124.
- McOrist, A. L., Abell, G. C. J., Cooke, C., & Nyland, K. (2008). Bacterial population dynamics and faecal short-chain fatty acid (SCFA) concentrations in healthy humans. *British Journal of Nutrition*, 100(1), 138–146.
<https://doi.org/10.1017/S0007114507886351>
- Meddings. (1997). Intestinal permeability in Crohn ' s disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 11, 47–56.

- Merchant, H. A., Rabbie, S. C., Varum, F. J. O., Afonso-Pereira, F., & Basit, A. W. (2014). Influence of ageing on the gastrointestinal environment of the rat and its implications for drug delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 62, 76–85. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2014.05.004>
- Mudie, D. M., Amidon, G. L., & Amidon, G. E. (2010). Physiological parameters for oral delivery and in vitro testing. *Molecular Pharmaceutics*, 7(5), 1388–1405. <https://doi.org/10.1021/mp100149j>
- Norman, K., Pirlich, M., Schulzke, J. D., Smoliner, C., Lochs, H., Valentini, L., & Bühner, S. (2012). Increased intestinal permeability in malnourished patients with liver cirrhosis. *European Journal of Clinical Nutrition*, 66(10), 1116–1119. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2012.104>
- Phillips, R. J., & Powley, T. L. (2007). Innervation of the gastrointestinal tract: Patterns of aging. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical*, 136(1–2), 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2007.04.005>
- Pye, G., Evans, D. F., Ledingham, S., & Hardcastle, J. D. (1990). Gastrointestinal intraluminal pH in normal subjects and those with colorectal adenoma or carcinoma. *Gut*, 31(12), 1355–1357. <https://doi.org/10.1136/gut.31.12.1355>
- Quigley, E. M. M., MD, FRCP, FACP, FACC, & FRCPI. (2013). Gut Bacteria in Health and Disease. *Gastroenterology & Hepatology*, 9(9), 560–569.
- Reiberger, T., Ferlitsch, A., Payer, B. A., Mandorfer, M., Heinisch, B. B., Hayden, H., Vogelsang, H. (2013). Non-selective betablocker therapy decreases intestinal permeability and serum levels of LBP and IL-6 in patients with cirrhosis. *Journal of Hepatology*, 58(5), 911–921. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2012.12.011>
- Rémond, D., Shahr, D. R., Gille, D., Pinto, P., Kachal, J., Peyron, M.-A., ... Vergères, G. (2015). Understanding the gastrointestinal tract of the elderly to develop dietary solutions that prevent malnutrition. *Oncotarget*, 6(16), 13858–13898. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4030>
- Reppas C., Karatza E., Goumas C., Markopoulos C., Vertzoni M. (2015). Characterization of contents of distal ileum and Cecum to which Drugs/Drug Products are exposed during Bioavailability/ Bioequivalence Studies in Healthy

- Adults. *Pharm Res*, 32, 3338–3349. <https://doi.org/10.1007/s11095-015-1710-6>
- Saffrey, M. J. (2013). Aging of the mammalian gastrointestinal tract: a complex organ system. *Springer*, 36, 1019–1032.
- Salazar, N., Valdés-Varela, L., González, S., Gueimonde, M., & de los Reyes-Gavilán, C. G. (2017). Nutrition and the gut microbiome in the elderly. *Gut Microbes*, 8(2), 82–97. <https://doi.org/10.1080/19490976.2016.1256525>
- Salles, N. (2007). Basic mechanisms of the aging gastrointestinal tract. *Digestive Diseases*, 25(2), 112–117. <https://doi.org/10.1159/000099474>
- Shamma'a, M. H., & Ghazanfar, S. A. S. (1960). D-XYLOSE TEST IN ENTERIC FEVER, CIRRHOSIS, AND MALABSORPTIVE STATES. *British Medical Journal*, 2(5202), 836–838.
- Tsiaoussis, G. I., Assimakopoulos, S. F., Tsamandas, A. C., Triantos, C. K., & Thomopoulos, K. C. (2015). Intestinal barrier dysfunction in cirrhosis: Current concepts in pathophysiology and clinical implications. *World Journal of Hepatology*, 7(17), 2058–2068. <https://doi.org/10.4254/wjh.v7.i17.2058>
- Valle-pinero, A. Y. Del, Deventer, H. E. Van, Fourie, N. H., Angela, C., Patel, N. S., Remaley, A. T., & Henderson, W. A. (2014). syndrome assessed using a four probe permeability solution, 97–101. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2012.12.032>.Gastrointestinal
- Wang, L., Llorente, C., Hartmann, P., Yang, A., Chen, P., Schnabl, B., ... Diego, S. (2015). Methods To Determine Intestinal Permeability and Bacterial Translocation During Liver Disease. *J Immunol Methods*, (421), 44–53. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2014.12.015>.Methods
- Woodmansey, E. J., McMurdo, M. E. T., Macfarlane, G. T., & Macfarlane, S. (2004). Comparison of Compositions and Metabolic Activities of Fecal Microbiotas in Young Adults and in Antibiotic-Treated and Non-Antibiotic Treated Elderly Subjects. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(10), 6113–6122.
- Wysokiński, A., Sobów, T., Kłoszewska, I., & Kostka, T. (2015). Mechanisms of the anorexia of aging—a review. *Age*, 37(4).

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

Αντίγραφο εγγράφου που αφορά στην αδειοδότηση της κλινικής μελέτης.

167/16-6-16

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΥΓΕΙΑΣ
ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΚΟΡΓΙΑΛΕΝΕΙΟ - ΜΠΕΝΑΚΕΙΟ Ε.Ε.Σ.

Αθήνα 16 Ιουνίου 2016

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ
Αρ. Πρωτ.:

ΠΡΟΣ
ΤΗ ΓΡΑΜΜΑΤΕΙΑ ΤΟΥ Δ.Σ.

ΘΕΜΑ: Έγκριση μελέτης με τίτλο « Φυσιολογικός χαρακτηρισμός και εκτίμηση της βακτηριακής ενεργότητας του αυλού του τελικού ειλέου και του ανιόντος παχέος εντέρου υπερηλίκων»

Το Επιστημονικό Συμβούλιο του Νοσοκομείου αφού έλαβε υπόψη την αίτηση του Διευθυντή, Επιστημονικά Υπεύθυνου, του Γαστρεντερολογικού τμήματος κ. Γκούμα Κων/νου, με αριθ. Πρωτ. 11991/ 9-6-2016 για έγκριση μελέτης με τίτλο « Φυσιολογικός χαρακτηρισμός και εκτίμηση της βακτηριακής ενεργότητας του αυλού του τελικού ειλέου και του ανιόντος παχέος εντέρου υπερηλίκων»

Εισηγείται

Θετικά για την έγκριση μελέτης Δεν υπάρχει οικονομική επιβάρυνση για το Νοσοκομείο μας.

Ο ΠΡΟΕΔΡΟΣ
ΤΟΥ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟΥ
ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΚΟΡΓΙΑΛΕΝΕΙΟ ΜΠΕΝΑΚΕΙΟ Ε.Ε.Σ.
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ
ΠΡΟΕΔΡΟΣ: Α. ΚΑΤΣΙΒΑΣ
Α. ΚΑΤΣΙΒΑΣ

Κοινοποιήσεις
- Γρ. Διοικητή

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II

Παράμετροι, χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς και όρια ποσοτικοποίησης για τον προσδιορισμό των χολικών οξέων, των λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου, των ουδέτερων λιπιδίων και των ελεύθερων λιπαρών οξέων.

II.11.1 Χολικά οξέα

Η καμπύλη αναφοράς στην οποία προσαρμόστηκαν τα εμβαδά των κορυφών του κάθε χολικού οξέος ήταν δευτεροβάθμιας της μορφής $y=y_0+ax+\beta x^2$ λόγω των χαρακτηριστικών της απόκρισης του ανιχνευτή φορτισμένου αερολύματος (CAD). Ο αριθμός των σημείων που χρησιμοποιήθηκαν για την καμπύλη αναφοράς ήταν $n=3-4$, ενώ έγινε και μια μεγαλύτερη με 8 σημεία.

Πίνακας II.11.1.1: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό του ταυροχολικού οξέος (TC).

$Y_{0\pm SD}$	$\alpha_{0\pm SD}$	$\beta_{0\pm SD}$	R^2	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μM)
-579003±159911	164466±16290	-1961±354	0.9907	5-40
-217614±251327	102585±45856	-101±1805	0.9935	5-20

Πίνακας II.11.1.2: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό του γλυκοχολικού οξέος (GC).

$Y_{0\pm SD}$	$\alpha_{0\pm SD}$	$\beta_{0\pm SD}$	R^2	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μM)
-144261±43434	80820±4424	119±96	0.9994	5-40
-120586±39989	77885±6094	32±199	0.9996	5-25

Πίνακας II.11.1.3: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό του ταυροχηνοδοξυχολικού οξέος (TCDC).

$Y_{0\pm SD}$	$\alpha_{0\pm SD}$	$\beta_{0\pm SD}$	R^2	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μM)
-85515±98803	80446±10065	271±219	0.9973	5-40
-125726±40954	78858±6242	513±204	0.9997	5-25

Πίνακας II.11.1.4: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό του ουρσοδοξυχολικού οξέος (UDC).

$Y_{0\pm SD}$	$\alpha_{0\pm SD}$	$\beta_{0\pm SD}$	R^2	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μM)
169862±221920	48657±40490	1049±1594	0.9911	5-20
8543±91810	53051±13993	1122±457	0.9981	5-25

Πίνακας Π.ΙΙ.1.5: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό του γλυκογχοδεοξυχολικού οξέος (GCDC).

$Y_{0\pm SD}$	$a_{0\pm SD}$	$\beta_{0\pm SD}$	R^2	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μM)
-393780 $\pm$ 230891	137760 $\pm$ 23520	-1562 $\pm$ 512	0.9752	5-40
-71341 $\pm$ 84184	68930 $\pm$ 12830	441 $\pm$ 419	0.9982	5-25

Πίνακας Π.ΙΙ.1.6: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό του χολικού οξέος (C).

$Y_{0\pm SD}$	$a_{0\pm SD}$	$\beta_{0\pm SD}$	R^2	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μM)
-109810 $\pm$ 88479	76990 $\pm$ 13485	662 $\pm$ 441	0.9986	5-25
-124654 $\pm$ 63819	73470 $\pm$ 6501	183 $\pm$ 141	0.9986	5-40

Πίνακας Π.ΙΙ.1.7: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό του γλυκοδεοξυχολικού οξέος (GDC).

$Y_{0\pm SD}$	$a_{0\pm SD}$	$\beta_{0\pm SD}$	R^2	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μM)
-17908 $\pm$ 111450	54072 $\pm$ 14582	832 $\pm$ 407	0.9962	5-30
-19349 $\pm$ 52791	50238 $\pm$ 9632	896 $\pm$ 379	0.9995	5-20

Πίνακας Π.ΙΙ.1.8: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό του χηνοδεοξυχολικού οξέος (CDC).

$Y_{0\pm SD}$	$a_{0\pm SD}$	$\beta_{0\pm SD}$	R^2	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μM)
-130095 $\pm$ 41377	82383 $\pm$ 6306	756 $\pm$ 206	0.9997	5-25
-182108 $\pm$ 71191	88391 $\pm$ 7252	28 $\pm$ 157	0.9985	5-40

Πίνακας Π.ΙΙ.1.9: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό του δεοξυχολικού οξέος (DC).

$Y_{0\pm SD}$	$a_{0\pm SD}$	$\beta_{0\pm SD}$	R^2	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μM)
-127876 $\pm$ 87851	81654 $\pm$ 8949	173 $\pm$ 194	0.9977	5-40
-98454 $\pm$ 105868	88765 $\pm$ 19316	-633 $\pm$ 760	0.9978	5-20

Πίνακας Π.ΙΙ.1.10: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό του λιθοχολικού οξέος (LC).

$Y_{0\pm SD}$	$a_{0\pm SD}$	$\beta_{0\pm SD}$	R^2	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μM)
8696±90891	86015±13853	655±453	0.9987	5-25
-44148±81262	81720±8278	186±180	0.9981	5-40

Τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης των χολικών οξέων στα δείγματα των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού ήταν (Καρατζά, 2014):

Πίνακας Π.ΙΙ.1.11: Όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης χολικών οξέων (μM).

	TC	GC	TCDC	UDC	GCDC	C	GDC	CDC	DC	LC
LOD	0.93	1.15	0.91	0.57	1.43	0.67	1.61	0.64	0.77	1.05
LOQ	2.82	3.48	2.77	1.72	4.32	2.02	4.88	1.95	2.35	3.19

Π.ΙΙ.2 Λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου (SCFAs)

Η καμπύλη αναφοράς στην οποία προσαρμόστηκαν τα εμβαδά των κορυφών του κάθε λιπαρού οξέος ήταν πρωτοβάθμια της μορφής $y=ax+b$, όπου a είναι η κλίση, b η τομή, x η συγκέντρωση του οξέος και y το εμβαδόν των κορυφών.

Πίνακας Π.ΙΙ.2.1: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό του οξικού οξέος (AA).

Τομή $\pm SD$	Κλίση $\pm SD$	R^2	Εύρος συγκεντρώσεων σε (mM)
-526± 1159	230± 2	0,9995	50-1000
-309± 2326	218± 4	0,9982	50-1000

Πίνακας Π.ΙΙ.2.2: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό του προπιονικού οξέος (PA).

Τομή $\pm SD$	Κλίση $\pm SD$	R^2	Εύρος συγκεντρώσεων σε (mM)
-7975± 3993	475± 7	0.9988	50-1000
-3192± 5940	503± 10	0.9978	50-1000

Πίνακας Π.ΙΙ.2.3: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό του ισοβουτυρικού οξέος (IBA).

Τομή $\pm$ SD	Κλίση $\pm$ SD	R ²	Εύρος συγκεντρώσεων σε (mM)
-16535 $\pm$ 9410	776 $\pm$ 16	0.9976	50-1000
-3141 $\pm$ 2061	754 $\pm$ 8	0.9997	50-400

Πίνακας Π.ΙΙ.2.4: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό του βουτυρικού οξέος (BA).

Τομή $\pm$ SD	Κλίση $\pm$ SD	R ²	Εύρος συγκεντρώσεων σε (mM)
-5378 $\pm$ 3768	728 $\pm$ 6	0.9995	50-1000
255 $\pm$ 2541	733 $\pm$ 11	0.9995	50-400

Πίνακας Π.ΙΙ.2.5: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό του ισοβαλερικού οξέος (IVA).

Τομή $\pm$ SD	Κλίση $\pm$ SD	R ²	Εύρος συγκεντρώσεων σε (mM)
-8958 $\pm$ 5513	1006 $\pm$ 9	0.9995	50-1000
-3497 $\pm$ 3791	1022 $\pm$ 16	0.9994	50-400

Πίνακας Π.ΙΙ.2.6: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό του βαλερικού οξέος (VA).

Τομή $\pm$ SD	Κλίση $\pm$ SD	R ²	Εύρος συγκεντρώσεων σε (mM)
-2530 $\pm$ 3833	976 $\pm$ 6	0.9997	50-1000
-10923 $\pm$ 5389	940 $\pm$ 9	0.9994	50-1000

Πίνακας Π.ΙΙ.2.7: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό του καπροϊκού οξέος (CA).

Τομή $\pm$ SD	Κλίση $\pm$ SD	R ²	Εύρος συγκεντρώσεων σε (mM)
-4241 $\pm$ 4722	1193 $\pm$ 8	0.9997	50-1000
-15860 $\pm$ 5805	1183 $\pm$ 10	0.9996	50-1000

Τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης των λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου στα δείγματα των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού ήταν (Καρατζά, 2014):

Πίνακας Π.ΙΙ.2.8: Όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου (mM).

	AA	PA	IBA	BA	IVA	VA	CA
LOD	15.71	17.03	16.17	18.24	18.32	18.10	18.73
LOQ	46.60	51.61	48.99	55.29	55.50	54.68	56.76

Π.ΙΙ.3 Ελεύθερα λιπαρά οξέα και ουδέτερα λιπίδια

Η καμπύλη αναφοράς στην οποία προσαρμόστηκαν τα εμβαδά των κορυφών του κάθε λιπαρού οξέος και του κάθε ουδέτερου λιπιδίου ήταν δευτεροβάθμιας της μορφής $y=y_0+ax+\beta x^2$ λόγω των χαρακτηριστικών της απόκρισης του ανιχνευτή φορτισμένου αερολύματος (CAD).

Πίνακας Π.ΙΙ.3.1: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό της L-λυσοφωσφατιδυλοχολίνης (Lyso-PC).

Y₀±SD	a₀±SD	β₀±SD	R²	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μM)
144543± 356069	192393± 20486	-291± 195	0.9977	5-100
204755± 346770	191723± 19951	-224± 190	0.9980	5-100

Πίνακας Π.ΙΙ.3.2: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό του λινολεϊκού οξέος (LA).

Y₀±SD	a₀±SD	β₀±SD	R²	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μM)
71342±129399	51024± 7445	-75± 71	0.9958	5-100
42036± 92269	58115± 5540	-125± 60	0.9995	5-80

Πίνακας Π.ΙΙ.3.3: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό της μονοελαϊκής γλυκερόλης (MG).

Y₀±SD	a₀±SD	β₀±SD	R²	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μM)
36091± 47772	116717± 2748	-276± 26	0.9999	5-100
-99474± 144686	116832± 8324	-180± 79	0.9990	5-100

Πίνακας Π.ΙΙ.3.4: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό του ελαϊκού οξέος (OA).

$Y_{0\pm SD}$	$a_{0\pm SD}$	$\beta_{0\pm SD}$	R2	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μM)
259132± 627292	69181± 36091	306± 345	0.9820	5-100
-1080193± 768730	209235± 44229	-1030± 422	0.9760	5-100

Πίνακας Π.ΙΙ.3.5: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό του στεατικού οξέος (SA).

$Y_{0\pm SD}$	$a_{0\pm SD}$	$\beta_{0\pm SD}$	R2	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μM)
60256± 178549	117971± 10272	-203± 98	0.9984	5-100
165898± 147410	118704± 8481	-208± 81	0.9989	5-100

Πίνακας Π.ΙΙ.3.6: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό της χοληστερόλης (CHO).

$Y_{0\pm SD}$	$a_{0\pm SD}$	$\beta_{0\pm SD}$	R2	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μM)
-201791± 79661	209526± 5683	-441± 65	0.9999	5-80
-32186± 133477	201610± 9523	-370± 110	0.9997	5-80

Πίνακας Π.ΙΙ.3.7: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό της διελαϊκής γλυκερόλης (DG).

$Y_{0\pm SD}$	$a_{0\pm SD}$	$\beta_{0\pm SD}$	R2	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μM)
813636± 681741	229461± 48643	-218± 563	0.9950	5-80

Πίνακας Π.ΙΙ.3.8: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό της διπαλμιτίνης (DP).

$Y_{0\pm SD}$	$a_{0\pm SD}$	$\beta_{0\pm SD}$	R2	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μM)
475887± 395516	329811± 22756	-745± 217	0.9989	5-100

Πίνακας Π.ΙΙ.3.9: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό του τριελαϊκής γλυκερόλης (TG).

$Y_{0\pm SD}$	$a_{0\pm SD}$	$\beta_{0\pm SD}$	R2	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μM)
1005730± 723658	486519± 41636	-2324± 398	0.9962	5-100

Πίνακας Π.Π.3.10: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό της φωσφατιδυλοχολίνης (PC).

$Y_{0\pm SD}$	$a_{0\pm SD}$	$b_{0\pm SD}$	R ²	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μM)
-242889± 492128	355946± 28314	-139± 270	0.9990	5-100

Τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης των χολικών οξέων στα δείγματα των περιεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού ήταν (Καρατζά, 2014):

Πίνακας Π.Π.3.11: Όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης ελεύθερων λιπαρών οξέων και ουδέτερων λιπιδίων (μM)

	Lyso-PC	LA	MG	OA	SA	CHO	DG	DP	TG	PC
LOD	1.48	1.29	1.72	0.49	1.38	1.84	1.43	1.22	1.08	4.32
LOQ	4.49	3.88	5.22	1.48	4.17	5.58	4.34	3.66	3.28	13.08

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ

Παράμετροι. χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς και όρια ποσοτικοποίησης για τον προσδιορισμό της σουκρόζης, της λακτουλόζης, της μαννιτόλης και της D-ξυλόζης.

Η καμπύλη αναφοράς στην οποία προσαρμόστηκαν τα εμβαδά των κορυφών του κάθε σακχάρου ήταν δευτεροβλαθμια της μορφής $y=y_0+ax+\beta x^2$ λόγω των χαρακτηριστικών της απόκρισης του ανιχνευτή φορτισμένου αερολύματος (CAD).

Πίνακας Π.ΙΙΙ.1: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό της μαννιτόλης (MA).

$Y_{0\pm SD}$	$a_{0\pm SD}$	$\beta_{0\pm SD}$	R^2	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μg/ml)
139381± 92486	196114±11808	-754±292	0.9976	1-40
139726± 61139	200415±7806	-452±193	0.9991	1-40

Πίνακας Π.ΙΙΙ.2: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό της λακτουλόζης (LA).

$Y_{0\pm SD}$	$a_{0\pm SD}$	$\beta_{0\pm SD}$	R^2	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μg/ml)
23690 ± 9873	93339± 3190	490± 161	0.9997	0.5-20
-1844± 21662	97930± 7000	221±353	0.9985	0.5-20

Πίνακας Π.ΙΙΙ.3: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό της σουκρόζης (SU).

$Y_{0\pm SD}$	$a_{0\pm SD}$	$\beta_{0\pm SD}$	R^2	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μg/ml)
-6217± 30960	161308± 7878	-436±323	0.9989	0.5-25
-44498± 30563	155327± 7777	-472± 319	0.9988	0.5-25

Πίνακας Π.ΙΙΙ.4: Χαρακτηριστικά καμπυλών αναφοράς για τον προσδιορισμό της D-ξυλόζης (D-Xyl).

$Y_{0\pm SD}$	$a_{0\pm SD}$	$\beta_{0\pm SD}$	R^2	Εύρος συγκεντρώσεων σε (μg/ml)
8887± 19413	141269± 2013	-371±39	0.9998	1-50
84440± 58481	167775± 6066	-127± 120	0.9992	1-50

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ IV

Αναλυτική παρουσίαση των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών των πειεχομένων του τελικού ειλεού και του τυφλού ανά εθελοντή.

Π.IV.1 Ολικός όγκος

Πίνακας Π.IV.1: Ο συνολικός όγκος των περιεχομένων του ειλεού και του τυφλού που συλλέχθηκε ανά εθελοντή.

Εθελοντής #	Ειλεός		Τυφλό	
	Όγκος στη διαπεπτική περίοδο (ml)	Όγκος στην περίοδο πέψης (ml)	Όγκος στη διαπεπτική περίοδο (ml)	Όγκος στην περίοδο πέψης (ml)
1	0.25	4.50	11.00	8.50
2	1.60	-	7.90	-
3	-	-	5.80	5.20
4	0.80	-	4.00	6.50
7	-	1.20	6.10	6.50
8	1.10	0.60	4.00	8.00
10	1.50	-	8.60	11.00
11	2.70	3.00	5.30	5.80
Μέση τιμή	1.33	2.33	6.59	7.36
Τυπική απόκλιση	0.83	1.77	2.42	1.98
Διάμεση τιμή	1.30	2.10	5.95	6.50
Ελάχιστη τιμή	0.25	0.60	4.00	5.20
Μέγιστη τιμή	2.70	4.50	11.00	11.00

- : Δεν αναρροφήθηκε δείγμα διότι δεν ήταν ασφαλής η δειγματοληψία

Π.IV.2 pH

Πίνακας Π.IV.2: Οι τιμές pH που προέκυψαν από τα περιεχόμενα που συλλέχθηκαν από τον ειλεό και το τυφλό.

Εθελοντής #	Ειλεός		Τυφλό	
	pH στη διαπεπτική περίοδο (ml)	pH στην περίοδο πέψης (ml)	pH στη διαπεπτική περίοδο (ml)	pH στην περίοδο πέψης (ml)
1	8.05	6.05	6.15	5.65
2	7.20	-	6.13	-
3	-	-	6.45	5.72
4	7.70	-	6.87	5.97
7	-	6.85	6.35	5.78
8	8.39	7.90	7.07	6.45
10	7.2	-	6.3	5.73
11	8.55	6.58	7.6	5.81
Μέση τιμή	7.85	6.85	6.62	5.87
Τυπική απόκλιση	0.58	0.78	0.52	0.27
Διάμεση τιμή	7.88	6.72	6.40	5.78
Ελάχιστη τιμή	7.20	6.05	6.13	5.65
Μέγιστη τιμή	8.55	7.90	7.60	6.45

- : Δεν αναρροφήθηκε δείγμα διότι δεν ήταν ασφαλής η δειγματοληψία

Πίνακας Π.IV.3: Οι τιμές pH που προέκυψαν από τα περιεχόμενα που συλλέχθηκαν από το εγκάρσιον κόλον.

Εθελοντής #	Συνθήκες χορήγησης	Τυφλό	Εγκάρσιον κόλον
4	Περίοδος πέψης	5.9	6.4
11	Περίοδος πέψης	5.8	6.2

Π.ΙV.3 Ρυθμιστική χωρητικότητα

Πίνακας Π.ΙV.4: Οι τιμές της ρυθμιστικής χωρητικότητας που προέκυψαν από τα περιεχόμενα που συλλέχθηκαν από τον ειλεό και το τυφλό.

Εθελοντής #	Ειλεός		Τυφλό	
	Ρυθμιστική χωρητικότητα στη διαπεπτική περίοδο (ml)	Ρυθμιστική χωρητικότητα στην περίοδο πέψης (ml)	Ρυθμιστική χωρητικότητα στη διαπεπτική περίοδο (ml)	Ρυθμιστική χωρητικότητα στην περίοδο πέψης (ml)
1	Δ.Μ.	35.00	70.00	50.00
2	Δ.Μ.	-	50.00	-
3	-	-	25.00	65.00
4	Δ.Μ.	-	Δ.Μ.	40.00
7	-	Δ.Μ.	60.00	Δ.Μ.
8	Δ.Μ.	-	40	70.00
10	Δ.Μ.		45	58
11	Δ.Μ.	20	25	50
Μέση τιμή		27.5	45.0	55.5
Τυπική απόκλιση		10.6	16.8	11.0
Διάμεση τιμή		27.5	45.0	54.0
Ελάχιστη τιμή		20.0	25.0	40.0
Μέγιστη τιμή		35.0	70.0	70.0

- : Δεν αναρροφήθηκε δείγμα διότι δεν ήταν ασφαλής η δειγματοληψία

Δ.Μ : Λόγω των περιορισμένων συλλεχθέντων όγκων από ορισμένους εθελοντές η ρυθμιστική χωρητικότητα δε μετρήθηκε σε όλα τα δείγματα.

Π.ΙV.4 % ποσοστό υδατικού περιεχομένου

Πίνακας Π.ΙV.5: Οι τιμές του % ποσοστού υδατικού περιεχομένου που εκτιμήθηκαν μετά την υπερφυγοκέντρωση των περιεχομένων του ειλεού και του τυφλού.

Εθελοντής #	Ειλεός		Τυφλό	
	% υδατικό περιεχόμενο στη διαπεπτική περίοδο (ml)	% υδατικό περιεχόμενο στην περίοδο πέψης (ml)	% υδατικό περιεχόμενο στη διαπεπτική περίοδο (ml)	% υδατικό περιεχόμενο στην περίοδο πέψης (ml)
1	64.0	80.0	31.0	64.7
2	84.4	-	34.8	-
3	-	-	47.9	53.6
4	87.5	-	35.0	44.5
7	-	100.0	30.4	43.1
8	81.8	66.7	16.7	30.0
10	73.3	-	39.5	57.5
11	90.7	75.0	76.7	83.3
Μέση τιμή	80.3	80.4	39.0	53.8
Τυπική απόκλιση	9.9	14.2	17.6	17.2
Διάμεση τιμή	83.1	77.5	34.9	53.6
Ελάχιστη τιμή	64.0	66.7	16.7	30.0
Μέγιστη τιμή	90.7	100.0	76.7	83.3

- : Δεν αναρροφήθηκε δείγμα διότι δεν ήταν ασφαλής η δειγματοληψία

Π.IV.5 Ωσμωτικότητα

Πίνακας Π.IV.6: Οι τιμές της ωσμωτικότητας που μετρήθηκαν στην υδατική φάση των περιεχομένων του ειλεού και του τυφλού ανά εθελοντή.

Εθελοντής #	Ειλέος		Τυφλό	
	Ωσμωτικότητα στη διαπεπτική περίοδο (ml)	Ωσμωτικότητα στην περίοδο πέψης (ml)	Ωσμωτικότητα στη διαπεπτική περίοδο (ml)	Ωσμωτικότητα στην περίοδο πέψης (ml)
1	Δ.Μ.	265.00	350.00	320.00
2	205.00	-	Δ.Μ.	-
3	-	-	Δ.Μ.	315.00
4	80.00	-	Δ.Μ.	190.00
7	-	112.00	325.00	240.00
8	90.00	230.00	Δ.Μ.	384.00
10	170	-	240	188
11	94	165	280	210
Μέση τιμή	127.80	193.00	298.75	263.86
Τυπική απόκλιση	56.12	68.06	48.71	76.25
Διάμεση τιμή	94.00	197.50	302.50	240.00
Ελάχιστη τιμή	80.00	112.00	240.00	188.00
Μέγιστη τιμή	205.00	265.00	350.00	384.00

- : Δεν αναρροφήθηκε δείγμα διότι δεν ήταν ασφαλής η δειγματοληψία

Δ.Μ: Η μέτρηση της ωσμωτικότητας δεν ήταν δυνατή σε όλα τα δείγματα λόγω αναλυτικού προβλήματος.

Π.IV.6 Χολικά οξέα

Πίνακας Π.IV.7: Η ολική συγκέντρωση χολικών οξέων που εκτιμήθηκε στην υδατική φάση των περιεχομένων του ειλεού και του τυφλού ανά εθελοντή.

Εθελοντής #	Ειλέος		Τυφλό	
	Ολική συγκέντρωση χολικών οξέων στη διαπεπτική περίοδο (mM)	Ολική συγκέντρωση χολικών οξέων στην περίοδο πέψης (mM)	Ολική συγκέντρωση χολικών οξέων στη διαπεπτική περίοδο (mM)	Ολική συγκέντρωση χολικών οξέων στην περίοδο πέψης (mM)
1	Δ.Μ.	102.96	233.37	105.02
2	<LOQ	-	38.46	-
3	-	-	256.71	214.55
4	28.54	-	100.90	116.82
7	-	149.89	271.84	158.15
8	<LOQ	-	-	171.12
10	387.65	-	678.56	241.45
11	96.96	349.42	1092.56	178.50
Μέση τιμή	102.63	200.75	381.77	169.38
Τυπική απόκλιση	164.18	130.87	374.12	48.91
Διάμεση τιμή	28.54	149.89	256.71	171.12
Ελάχιστη τιμή	0.00	102.96	38.46	105.02
Μέγιστη τιμή	387.65	349.42	1092.56	241.45

- : Δεν αναρροφήθηκε δείγμα διότι δεν ήταν ασφαλής η δειγματοληψία

Δ.Μ. : Η μέτρηση της ολικής συγκέντρωσης χολικών οξέων δεν ήταν δυνατή λόγω μικρού όγκου δείγματος

Πίνακας Π.IV.8: Η συγκέντρωση κάθε χολικού οξέος που εκτιμήθηκε στην υδατική φάση των περιεχομένων του ειλεού κατά τη διαπεπτική περίοδο ανά εθελοντή.

Συγκέντρωση χολικών οξέων στον ειλεό στη διαπεπτική περίοδο (mM)										
#	TC	GC	TCDC	UDC	GCDC	C	GDC	CDC	DC	LC
1	Δ.Μ.	Δ.Μ.	Δ.Μ.	Δ.Μ.	Δ.Μ.	Δ.Μ.	Δ.Μ.	Δ.Μ.	Δ.Μ.	Δ.Μ.
2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	8.49	10.83	9.22
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
10	<LOQ	<LOQ	<LOQ	89.53	<LOQ	105.63	<LOQ	65.09	106.59	20.81
11	<LOQ	<LOQ	39.70	<LOQ	<LOQ	23.19	<LOQ	9.08	15.55	9.44

Πίνακας Π.IV.9: Η συγκέντρωση κάθε χολικού οξέος που εκτιμήθηκε στην υδατική φάση των περιεχομένων του ειλεού κατά τη περίοδο πέψης ανά εθελοντή.

Συγκέντρωση χολικών οξέων στον ειλεό στην περίοδο πέψης (mM)										
#	TC	GC	TCDC	UDC	GCDC	C	GDC	CDC	DC	LC
1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	30.55	<LOQ	34.92	<LOQ	14.85	22.64	<LOQ
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	53.37	<LOQ	23.60	62.88	10.05
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	25.74	42.57	<LOQ	17.67	15.35	63.19	10.81	92.20	81.88	<LOQ

Πίνακας Π.IV.10: Η συγκέντρωση κάθε χολικού οξέος που εκτιμήθηκε στην υδατική φάση των περιεχομένων του τυφλού κατά τη διαπεπτική περίοδο ανά εθελοντή.

Συγκέντρωση χολικών οξέων στο τυφλό στην διαπεπτική περίοδο (mM)										
#	TC	GC	TCDC	UDC	GCDC	C	GDC	CDC	DC	LC
1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	37.96	195.41
2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	18.40	20.07
3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	157.64	<LOQ	34.46	37.40	27.21
4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	20.42	38.22	42.27
7	4.63	12.06	4.59	4.51	14.28	48.23	21.69	21.08	91.49	49.28
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	<LOQ	<LOQ	<LOQ	90.20	<LOQ	91.49	65.34	67.44	245.03	119.06
11	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	704.61	<LOQ	125.38	234.59	27.97

Πίνακας Π.ΙV.11: Η συγκέντρωση κάθε χολικού οξέος που εκτιμήθηκε στην υδατική φάση των περιεχομένων του τυφλού κατά τη περίοδο πέψης ανά εθελοντή.

Συγκέντρωση χολικών οξέων στο τυφλό στην περίοδο πέψης (mM)										
#	TC	GC	TCDC	UDC	GCDC	C	GDC	CDC	DC	LC
1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	21.22	<LOQ	29.43	<LOQ	14.34	26.10	13.95
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	140.11	<LOQ	55.87	9.85	8.72
4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	23.29	53.03	40.50
7	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	31.02	<LOQ	16.65	67.94	42.55
8	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	28.22	<LOQ	31.69	79.02	32.18
10	<LOQ	<LOQ	<LOQ	55.66	<LOQ	47.55	<LOQ	26.81	79.37	32.07
11	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	78.12	<LOQ	31.66	68.72	<LOQ

Π.ΙV.7 Λιπαρά οξέα βραχείας αλύσου (SCFAs)

Πίνακας Π.ΙV.12: Η ολική συγκέντρωση λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου (SCFAs) που εκτιμήθηκε στην υδατική φάση των περιεχομένων του ειλεού και του τυφλού ανά εθελοντή.

Εθελοντής #	Ειλεός		Τυφλό	
	Ολική συγκέντρωση SCFA στη διαπεπτική περίοδο (mM)	Ολική συγκέντρωση SCFA στην περίοδο πέψης (mM)	Ολική συγκέντρωση SCFA στη διαπεπτική περίοδο (mM)	Ολική συγκέντρωση SCFA στην περίοδο πέψης (mM)
1	Δ.Μ.	59.71	117.16	96.61
2	57.83	-	132.90	-
3	ΔΜ	-	47.31	63.91
4	16.23	-	78.75	69.47
7	-	43.23	107.78	92.86
8	4.68	41.07	118.92	107.01
10	26.80	-	46.00	57.82
11	4.26	24.25	54.24	59.50
Μέση τιμή	21.96	42.07	87.88	68.40
Τυπική απόκλιση	22.11	14.50	35.57	33.33
Διάμεση τιμή	16.23	42.15	93.26	66.69
Ελάχιστη τιμή	4.26	24.25	46.00	0.00
Μέγιστη τιμή	57.83	59.71	132.90	107.01

- : Δεν αναρροφήθηκε δείγμα διότι δεν ήταν ασφαλής η δειγματοληψία

Δ.Μ. : Η μέτρηση της ολικής συγκέντρωσης χολικών οξέων δεν ήταν δυνατή λόγω μικρού όγκου δείγματος

Πίνακας Π.IV.13: Η συγκέντρωση κάθε SCFA που εκτιμήθηκε στην υδατική φάση των περιεχομένων του ειλεού κατά τη διαπεπτική περίοδο ανά εθελοντή.

SCFA στον ειλέο στη διαπεπτική περίοδο (mM)							
#	AA	PA	IBA	BA	IVA	VA	CA
1	Δ.Μ.	Δ.Μ.	Δ.Μ.	Δ.Μ.	Δ.Μ.	Δ.Μ.	Δ.Μ.
2	36.23	10.55	0.32	9.04	0.35	0.86	0.47
3	-	-	-	-	-	-	-
4	10.22	2.18	<LOQ	3.83	<LOQ	<LOQ	<LOQ
7	-	-	-	-	-	-	-
8	3.81	0.72	<LOQ	0.15	<LOQ	<LOQ	<LOQ
10	20.40	4.18	0.25	1.61	0.26	0.10	<LOQ
11	3.42	0.68	<LOQ	0.16	<LOQ	<LOQ	<LOQ

Πίνακας Π.IV.14: Η συγκέντρωση κάθε SCFA που εκτιμήθηκε στην υδατική φάση των περιεχομένων του ειλεού κατά τη περίοδο πέψης ανά εθελοντή.

SCFA στον ειλέο στην περίοδο πέψης (mM)							
#	AA	PA	IBA	BA	IVA	VA	CA
1	39.12	15.69	<LOQ	4.67	<LOQ	0.24	<LOQ
2	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-
7	24.56	6.47	1.13	7.09	0.26	2.02	1.70
8	34.73	4.30	0.11	1.70	0.23	<LOQ	<LOQ
10	-	-	-	-	-	-	-
11	19.83	1.81	<LOQ	2.61	<LOQ	<LOQ	<LOQ

Πίνακας Π.IV.15: Η συγκέντρωση κάθε SCFA που εκτιμήθηκε στην υδατική φάση των περιεχομένων του τυφλού κατά τη διαπεπτική περίοδο ανά εθελοντή.

SCFA στο τυφλό στη διαπεπτική περίοδο (mM)							
#	AA	PA	IBA	BA	IVA	VA	CA
1	68.77	22.80	1.22	21.59	0.93	1.70	0.14
2	71.53	22.87	3.29	24.19	3.82	6.13	1.07
3	28.48	9.69	0.15	8.04	0.14	0.80	0.00
4	45.39	13.22	1.25	16.78	1.34	0.65	0.11
7	61.62	16.30	2.13	21.34	2.25	2.21	1.92
8	77.78	24.39	1.40	12.21	2.02	0.26	0.88
10	29.04	10.27	0.66	4.81	0.80	0.43	<LOQ
11	39.35	9.69	0.19	4.21	0.31	0.49	<LOQ

Πίνακας Π.ΙV.16: Η συγκέντρωση κάθε SCFA που εκτιμήθηκε στην υδατική φάση των περιεχομένων του τυφλού κατά τη περίοδο πέψης ανά εθελοντή.

SCFA στο τυφλό στην περίοδο πέψης (mM)							
#	AA	PA	IBA	BA	IVA	VA	CA
1	62.43	25.11	<LOQ	8.68	<LOQ	0.39	<LOQ
2	-	-	-	-	-	-	-
3	46.63	4.24	<LOQ	12.86	<LOQ	0.18	<LOQ
4	43.55	5.97	0.11	19.63	0.10	0.10	<LOQ
7	54.28	13.90	0.33	18.87	3.26	1.40	0.81
8	78.72	16.21	0.63	9.26	0.93	1.09	0.17
10	40.41	8.24	0.26	8.44	0.34	0.14	<LOQ
11	44.41	4.94	0.26	9.41	0.34	0.14	<LOQ

Π.ΙV.8 Ελεύθερα λιπαρά οξέα και ουδέτερα λιπίδια

Πίνακας Π.ΙV.17: Η ολική συγκέντρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων που εκτιμήθηκε στην υδατική φάση των περιεχομένων του ειλεού και του τυφλού ανά εθελοντή.

Εθελοντής #	Ειλεός		Τυφλό	
	Ολική συγκέντρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων στη διαπεπτική περίοδο (μM)	Ολική συγκέντρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων στην περίοδο πέψης (μM)	Ολική συγκέντρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων στη διαπεπτική περίοδο (μM)	Ολική συγκέντρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων στην περίοδο πέψης (μM)
1	Δ.Μ.	0.0	36.9	315.8
2	29.0	-	40.7	-
3	-	-	241.8	370.1
4	108.5	-	886.8	870.3
7	ΔΜ	56.4	1208.4	623.7
8	196.1	-	-	504.9
10	244.3	-	701.9	466.9
11	62.1	76.2	160.8	281.2
Μέση τιμή	128.0	44.2	468.2	490.4
Τυπική απόκλιση	90.4	39.5	464.1	204.8
Διάμεση τιμή	108.5	56.4	241.8	466.9
Ελάχιστη τιμή	29.0	0.0	36.9	281.2
Μέγιστη τιμή	244.3	76.17	1208.4	870.3

- : Δεν αναρροφήθηκε δείγμα διότι δεν ήταν ασφαλής η δειγματοληψία

Δ.Μ. : Η μέτρηση της ολικής συγκέντρωσης χολικών οξέων δεν ήταν δυνατή λόγω μικρού όγκου δείγματος

Πίνακας Π.IV.18: Η συγκέντρωση φωσφατιδυλοχολίνης που εκτιμήθηκε στην υδατική φάση των περιεχομένων του ειλεού και του τυφλού ανά εθελοντή.

Εθελοντής #	Ειλεός		Τυφλό	
	Ολική συγκέντρωση φωσφατιδυλοχολίνης στη διαπεπτική περίοδο (μM)	Ολική συγκέντρωση φωσφατιδυλοχολίνης στην περίοδο πέψης (μM)	Ολική συγκέντρωση φωσφατιδυλοχολίνης στη διαπεπτική περίοδο (μM)	Ολική συγκέντρωση φωσφατιδυλοχολίνης στην περίοδο πέψης (μM)
1	Δ.Μ.	42.0	188.3	179.9
2	33.2	-	118.2	-
3	-	-	176.9	478.3
4	69.3	-	230.8	427.6
7	-	45.6	1275.1	321.6
8	32.4	-	-	373.4
10	59.0	-	343.6	313.5
11	38.6	97.0	113.1	86.4
Μέση τιμή	46.5	61.5	349.4	311.5
Τυπική απόκλιση	16.7	30.8	415.5	137.4
Διάμεση τιμή	38.6	45.6	188.3	321.6
Ελάχιστη τιμή	32.4	42.0	113.1	86.4
Μέγιστη τιμή	69.3	97.0	1275.1	478.3

- : Δεν αναρροφήθηκε δείγμα διότι δεν ήταν ασφαλής η δειγματοληψία

Δ.Μ. : Η μέτρηση της ολικής συγκέντρωσης χολικών οξέων δεν ήταν δυνατή λόγω μικρού όγκου δείγματος

Πίνακας Π.ΙV.19: Η συγκέντρωση χοληστερόλης που εκτιμήθηκε στην υδατική φάση των περιεχομένων του ειλεού και του τυφλού ανά εθελοντή.

Εθελοντής #	Ειλεός		Τυφλό	
	Συγκέντρωση χοληστερόλης στη διαπεπτική περίοδο (μM)	Συγκέντρωση χοληστερόλης στην περίοδο πένψης (μM)	Συγκέντρωση χοληστερόλης στη διαπεπτική περίοδο (μM)	Συγκέντρωση χοληστερόλης στην περίοδο πένψης (μM)
1	Δ.Μ.	128.5	754.0	1520.6
2	331.8	-	1241.2	-
3	-	-	3006.8	4745.7
4	447.2	-	2440.8	1969.1
7	-	259.3	6805.1	1703.5
8	151.2	-	-	2362.8
10	3442.7	-	17816.8	3046.1
11	237.0	721.4	1292.1	734.2
Μέση τιμή	922.0	369.7	4765.3	2297.4
Τυπική απόκλιση	1413.4	311.5	6104.2	1295.3
Διάμεση τιμή	331.8	259.3	2440.8	1969.1
Ελάχιστη τιμή	151.2	128.5	754.0	734.2
Μέγιστη τιμή	3442.7	721.4	17816.8	4745.7

- : Δεν αναρροφήθηκε δείγμα διότι δεν ήταν ασφαλής η δειγματοληψία

Δ.Μ. : Η μέτρηση της ολικής συγκέντρωσης χολικών οξέων δεν ήταν δυνατή λόγω μικρού όγκου δείγματος

Πίνακας Π.ΙV.20: Η συγκέντρωση κάθε λιπιδίου και ουδέτερου λιπαρού οξέος που εκτιμήθηκε στην υδατική φάση των περιεχομένων του ειλεού κατά τη διαπεπτική περίοδο ανά εθελοντή.

Συγκέντρωση λιπιδίων και λιπαρών οξέων στον ειλεό στη διαπεπτική περίοδο (μM)									
#	LA	OA	SA	Lyso-PC	PC	CHO	MG	DG	TG
1	Δ.Μ.	Δ.Μ.	Δ.Μ.	Δ.Μ.	Δ.Μ.	Δ.Μ.	Δ.Μ.	Δ.Μ.	Δ.Μ.
2	0.0	14.3	14.7	0.0	33.2	331.8	0.0	0.0	0.0
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	36.6	38.0	33.9	25.8	43.5	447.2	0.0	0.0	0.0
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	22.6	121.4	52.1	0.0	32.4	151.2	0.0	0.0	0.0
10	76.9	89.8	77.7	0.0	59.0	3442.7	58.2	0.0	0.0
11	21.9	28.0	12.2	0.0	38.6	237.0	0.0	0.0	0.0

Πίνακας Π.IV.21: Η συγκέντρωση κάθε λιπιδίου και ουδέτερου λιπαρού οξέος που εκτιμήθηκε στην υδατική φάση των περιεχομένων του ειλεού κατά την περίοδο πέψης ανά εθελοντή.

Συγκέντρωση λιπιδίων και λιπαρών οξέων στον ειλεό στη διαπεπτική περίοδο (μM)									
#	LA	OA	SA	Lyso-PC	PC	CHO	MG	DG	TG
1	0.0	0.0	0.0	0.0	42.0	128.5	0.0	0.0	0.0
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	0.0	34.4	22.0	0.0	45.6	259.3	0.0	0.0	0.0
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	22.0	34.1	20.0	42.9	54.1	721.4	0.0	0.0	0.0

Πίνακας Π.IV.22: Η συγκέντρωση κάθε λιπιδίου και ουδέτερου λιπαρού οξέος που εκτιμήθηκε στην υδατική φάση των περιεχομένων του τυφλού κατά τη διαπεπτική περίοδο ανά εθελοντή.

Συγκέντρωση λιπιδίων και λιπαρών οξέων στον ειλεό στη διαπεπτική περίοδο (μM)									
#	LA	OA	SA	Lyso-PC	PC	CHO	MG	DG	TG
1	36.9	0.0	0.0	0.0	188.3	754.0	0.0	0.0	0.0
2	0.0	40.7	0.0	0.0	118.2	1241.2	0.0	0.0	0.0
3	87.4	92.4	62.0	44.1	132.7	3006.8	35.0	0.0	0.0
4	163.6	190.3	532.9	102.0	128.8	2440.8	0.0	0.0	0.0
7	640.1	161.3	407.0	374.8	900.2	6805.1	0.0	0.0	0.0
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	212.6	158.6	330.7	75.8	267.8	17816.8	34.4	0.0	0.0
11	23.7	94.0	43.1	0.0	113.1	1292.1	0.0	0.0	0.0

Πίνακας Π.IV.23: Η συγκέντρωση κάθε λιπιδίου και ουδέτερου λιπαρού οξέος που εκτιμήθηκε στην υδατική φάση των περιεχομένων του τυφλού κατά την περίοδο πέψης ανά εθελοντή.

Συγκέντρωση λιπιδίων και λιπαρών οξέων στον ειλεό στη διαπεπτική περίοδο (μM)									
#	LA	OA	SA	Lyso-PC	PC	CHO	MG	DG	TG
1	17.3	44.9	253.6	13.1	166.8	1520.6	0.0	0.0	0.0
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	88.0	0.0	282.1	306.5	171.8	4745.7	0.0	0.0	0.0
4	88.1	174.4	607.7	165.2	262.4	1969.1	37.8	0.0	0.0
7	113.6	121.7	388.4	73.6	248.0	1703.5	28.7	0.0	0.0
8	88.1	169.8	247.0	92.3	281.0	2362.8	22.8	0.0	0.0
10	126.2	112.2	228.5	160.5	153.0	3046.1	0.0	0.0	0.0
11	69.7	157.5	54.0	48.8	37.7	734.2	0.0	0.0	0.0

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ V

Αναλυτική παρουσίαση της ποσότητας και του ποσοστού της δόσης κάθε σακχάρου που απεκκρίθηκε στα ούρα ανά εθελοντή.

Πίνακας Π.Υ.1: Η ποσότητα σε g που απεκκρίθηκε στα ούρα κάθε εθελοντή (n=25) 5 ώρες μετά τη χορήγηση 5g μαννιτόλης, 10g λακτουλόζης και 25g σουκρόζης.

	Εθελοντής #	Μαννιτόλη		Λακτουλόζη		Σουκρόζη	
		Φάση I	Φάση II	Φάση I	Φάση II	Φάση I	Φάση II
Πρώτη περίοδος της κλινικής μελέτης	2	0.776	0.576	0.037	0.019	0.048	0.025
	4	0.169	0.339	0.020	0.007	0.009	0.037
	6	0.000	0.099	0.016	0.012	0.008	0.009
	8	0.586	0.355	0.015	0.002	0.016	0.005
	10	0.174	0.214	0.006	0.015	0.027	0.018
	21	0.157	0.236	0.006	0.012	0.002	0.016
Δεύτερη περίοδος της κλινικής μελέτης	7	0.838	0.557	0.103	0.018	0.014	0.028
	13	0.380	0.297	0.043	0.023	0.019	0.020
	14	0.070	0.450	0.004	0.072	0.003	0.019
	18	0.373	0.590	0.023	0.016	0.007	0.007
	26	0.557	0.527	0.051	0.042	0.013	0.014
	28	0.666	0.734	0.019	0.014	0.011	0.011
	29	0.587	0.719	0.020	0.010	0.006	0.007
	30	0.704	0.423	0.033	0.025	0.054	0.019
	31	0.213	0.434	0.028	0.011	0.004	0.004
	32	0.836	0.137	0.024	0.003	0.013	0.001
	33	0.289	0.452	0.021	0.035	0.003	0.015
	34	0.347	0.341	0.009	0.010	0.003	0.003
	35	0.005	0.144	0.036	0.007	0.010	0.007
	36	0.481	0.472	0.030	0.019	0.012	0.006
	37	0.085	0.067	0.018	0.018	0.002	0.002
	38	0.336	0.001	0.017	0.000	0.010	0.001
	40	0.367	0.358	0.005	0.006	0.031	0.024
	41	0.067	0.123	0.017	0.019	0.004	0.004
	42	0.714	0.590	0.020	0.018	0.014	0.005
	Μέση τιμή	0.391	0.369	0.025	0.017	0.014	0.012
	Τυπική απόκλιση	0.267	0.204	0.020	0.015	0.013	0.010
	Διάμεση τιμή	0.367	0.358	0.020	0.015	0.010	0.009
	Μέγιστη τιμή	0.838	0.734	0.103	0.072	0.054	0.037
	Ελάχιστη τιμή	0.000	0.001	0.004	0.000	0.002	0.001

Πίνακας Π.Υ.2: Η ποσότητα σε g που απεκκρίθηκε στα ούρα κάθε εθελοντή (n=35) 5 ώρες μετά τη χορήγηση 25g D-ξυλόζης.

	Εθελοντής #	D-ξυλόζη	
		Φάση I	Φάση II
Πρώτη περίοδος της κλινικής μελέτης	2	0.044	2.492
	3	4.167	4.467
	4	4.057	1.834
	5	4.552	3.960
	6	0.002	1.677
	7	3.570	3.253
	8	2.253	2.519
	9	2.453	1.100
	10	1.942	3.243
	11	1.346	1.761
	12	7.361	3.305
	13	5.374	2.626
	20	2.691	1.934
	21	1.917	3.335
	22	1.095	3.773
Δεύτερη περίοδος της κλινικής μελέτης	7	3.381	2.965
	13	3.289	3.574
	14	2.859	3.405
	18	2.392	1.986
	26	4.440	5.787
	27	3.922	2.690
	28	5.927	4.187
	29	3.134	2.585
	30	5.717	4.186
	31	2.920	2.628
	32	8.342	5.690
	33	3.198	2.109
	34	2.069	3.451
	35	4.019	0.048
	36	6.813	3.406
	37	0.577	0.762
	38	3.433	1.716
	40	3.900	5.070
	41	1.739	1.084
	42	5.898	8.621
	Μέση τιμή	3.451	3.064
	Τυπική απόκλιση	1.966	1.624
	Διάμεση τιμή	3.289	2.965
	Μέγιστη τιμή	8.342	8.621
	Ελάχιστη τιμή	0.002	0.048

Πίνακας Π.Υ.3: Η % ποσότητα μαννιτόλης, λακτουλόζης και σουκρόζης που απεκκρίθηκε από τον κάθε εθελοντή (n=25)..

	Εθελοντής #	Μαννιτόλη		Λακτουλόζη		Σουκρόζη	
		Φάση I	Φάση II	Φάση I	Φάση II	Φάση I	Φάση II
Πρώτη περίοδος της κλινικής μελέτης	2	15.53	11.53	0.37	0.19	0.24	0.12
	4	3.38	6.77	0.20	0.07	0.04	0.18
	6	0.00	1.98	0.16	0.12	0.04	0.05
	8	11.72	7.10	0.15	0.02	0.08	0.02
	10	3.49	4.29	0.06	0.15	0.14	0.09
	21	3.15	4.73	0.06	0.12	0.01	0.08
Δεύτερη περίοδος της κλινικής μελέτης	7	16.76	11.14	1.03	0.18	0.07	0.14
	13	7.61	5.94	0.43	0.23	0.10	0.10
	14	1.40	9.00	0.04	0.72	0.01	0.10
	18	7.45	11.80	0.23	0.16	0.03	0.04
	26	11.14	10.53	0.51	0.42	0.06	0.07
	28	13.32	14.68	0.19	0.14	0.06	0.05
	29	11.74	14.38	0.20	0.10	0.03	0.04
	30	14.08	8.45	0.33	0.25	0.27	0.09
	31	4.27	8.69	0.28	0.11	0.02	0.02
	32	16.73	2.74	0.24	0.03	0.06	0.01
	33	5.79	9.05	0.21	0.35	0.01	0.08
	34	6.93	6.82	0.09	0.10	0.02	0.01
	35	0.10	2.87	0.36	0.07	0.05	0.04
	36	9.62	9.43	0.30	0.19	0.06	0.03
	37	1.70	1.35	0.18	0.18	0.01	0.01
	38	6.72	0.03	0.17	0.00	0.05	0.01
	40	7.34	7.16	0.05	0.06	0.16	0.12
	41	1.34	2.45	0.17	0.19	0.02	0.02
	42	14.28	11.81	0.20	0.18	0.07	0.02
	Μέση τιμή	7.82	7.39	0.25	0.17	0.07	0.06
	Τυπική απόκλιση	5.38	4.08	0.20	0.15	0.07	0.05
	Διάμεση τιμή	7.34	7.16	0.20	0.15	0.05	0.05
	Μέγιστη τιμή	16.76	14.68	1.03	0.72	0.27	0.18
	Ελάχιστη τιμή	0.00	0.03	0.04	0.00	0.01	0.01

Πίνακας Π.Υ.4: Η % ποσότητα D-ξυλόζης που απεκκρίθηκε από τον κάθε εθελοντή (n=35).

	Εθελοντής #	D-ξυλόζη	
		Φάση I	Φάση II
Πρώτη περίοδος της κλινικής μελέτης	2	0.18	9.97
	3	16.67	17.87
	4	16.23	7.34
	5	18.21	15.84
	6	0.01	6.71
	7	14.28	13.01
	8	9.01	10.07
	9	9.81	4.40
	10	7.77	12.97
	11	5.39	7.04
	12	29.44	13.22
	13	21.49	10.50
	20	10.77	7.74
	21	7.67	13.34
	22	4.38	15.09
Δεύτερη περίοδος της κλινικής μελέτης	7	13.52	11.86
	13	13.16	14.30
	14	11.44	13.62
	18	9.57	7.95
	26	17.76	23.15
	27	15.69	10.76
	28	23.71	16.75
	29	12.54	10.34
	30	22.87	16.74
	31	11.68	10.51
	32	33.37	22.76
	33	12.79	8.43
	34	8.28	13.80
	35	16.08	0.19
	36	27.25	13.62
	37	2.31	3.05
	38	13.73	6.86
	40	15.60	20.28
	41	6.96	4.34
	42	23.59	34.48
	Μέση τιμή	13.81	12.25
	Τυπική απόκλιση	7.86	6.50
	Διάμεση τιμή	13.16	11.86
	Μέγιστη τιμή	33.37	34.48
	Ελάχιστη τιμή	0.01	0.19