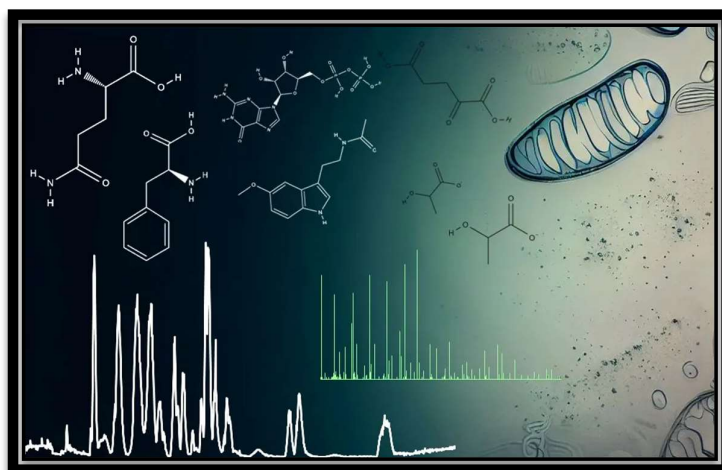




**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**Πτυχιακή Εργασία**

**« ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΛΙΠΙΔΙΚΟΥ ΠΡΟΦΙΛ ΕΘΕΛΟΝΤΩΝ ΜΕ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ  
ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΥ ΣΝΑΚ ΜΑΝΙΤΑΡΙΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΥΓΡΗΣ  
ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ – ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑΣ ΜΑΖΑΣ »**



**ΒΛΕΣΣΙΔΗ ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ**  
**ΑΜ: 19684009**

**Επιβλέπουσα καθηγήτρια:**

**ΘΑΛΕΙΑ ΤΣΙΑΚΑ**

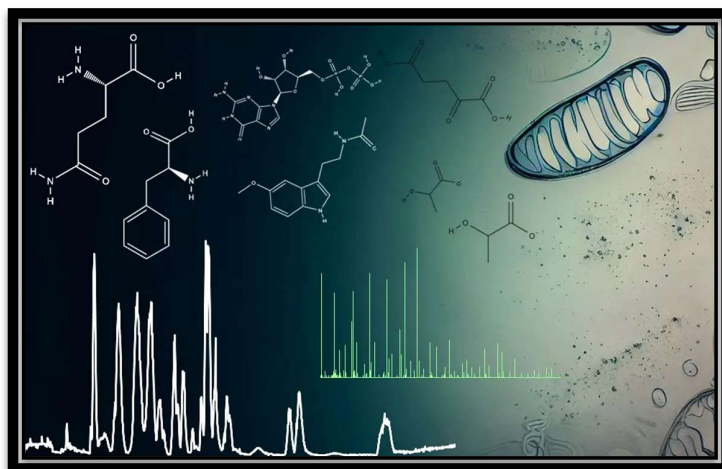
**Αθήνα, 2024**



**UNIVERSITY OF WEST ATTICA**  
**SCHOOL OF FOOD SCIENCE**  
**DEPARTMENT OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY**

**Diploma Thesis**

« EVALUATION OF LIPID PROFILE OF VOLUNTEERS WITH METABOLIC SYNDROME  
AFTER INTAKE OF FUNCTIONAL MUSHROOM SNACK USING LIQUID CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY »



**VLESSIDI AIKATERINI**  
**RN: 19684009**

**Supervisor:**

**THALIA TSIAKA**

**Athens, 2024**



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

« ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΛΙΠΙΔΙΚΟΥ ΠΡΟΦΙΛ ΕΘΕΛΟΝΤΩΝ ΜΕ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ  
ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΥ ΣΝΑΚ ΜΑΝΙΤΑΡΙΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΥΓΡΗΣ  
ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ – ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑΣ ΜΑΖΑΣ»

**Μέλη Εξεταστικής Επιτροπής συμπεριλαμβανομένου και του Εισηγητή**

Η πτυχιακή/διπλωματική εργασία εξετάστηκε επιτυχώς από την κάτωθι Εξεταστική Επιτροπή:

<b>A/α</b>	<b>ΟΝΟΜΑ ΕΠΩΝΥΜΟ</b>	<b>ΒΑΘΜΙΔΑ/ΙΔΙΟΤΗΤΑ</b>	<b>ΨΗΦΙΑΚΗ ΥΠΟΓΡΑΦΗ</b>
<b>1.</b>	<b>Θάλεια Τσιάκα</b>	Επίκουρη Καθηγήτρια / Επιβλέπουσα	
<b>2.</b>	<b>Ευτυχία Κρίτση</b>	Επίκουρη Καθηγήτρια / Μέλος	
<b>3.</b>	<b>Παναγιώτης Ζουμπουλάκης</b>	Καθηγητής / Μέλος	

## ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ/ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Βλεσσίδα Αικατερίνη του Βασιλείου, με αριθμό μητρώου 19684009 και φοιτήτρια του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου.»

Η Δηλούσα



## Περίληψη

Τα τελευταία χρόνια, τα λειτουργικά τρόφιμα διαδραματίζουν ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στην πρόληψη και διαχείριση των μεταβολικών συνδρόμων, τα οποία περιλαμβάνουν διαταραχές όπως ο διαβήτης, η παχυσαρκία, η υπέρταση, η δυσλιπιδαιμία κ.λπ. Επιπλέον, τα μανιτάρια χρησιμοποιούνται ευρέως σε εμπορικά προϊόντα λειτουργικών τροφίμων, όπως σνακ, πρωτεϊνικές μπάρες, σκόνες και τσίχλες, λόγω της περιεκτικότητάς τους σε βιοδραστικές ενώσεις (β-γλυκάνες, πρωτεΐνες, λιπαρά οξέα, φαινολικές ενώσεις κ.λπ.) Από την άλλη πλευρά, η ταυτοποίηση λιπιδικών ενώσεων αποτελεί το πρώτο βήμα της λιπιδομικής (η μελέτη των λιπιδικών ενώσεων) ανάλυσης, που αποκτά ολοένα και μεγαλύτερη σημασία στις διαιτητικές παρεμβάσεις που σχετίζονται με τα μεταβολικά σύνδρομα, λόγω (α) της ικανότητάς της να παρέχει λεπτομερή εικόνα του μεταβολισμού των λιπιδίων και (β) να αξιολογεί την επίδραση της διατροφής σε σημαντικούς βιολογικούς δείκτες λιπιδίων. Έτσι, ο στόχος της παρούσας μελέτης είναι (i) ο προσδιορισμός και η αξιολόγηση του λιπιδικού προφίλ σε αντιπροσωπευτικά δείγματα (Quality controls, QCs) πλάσματος αίματος εθελοντών με μεταβολικά σύνδρομα που έλαβαν λειτουργικό σνακ μανιταριών εμπλουτισμένο με αντιοξειδωτικές ενώσεις και βιταμίνη D2, στα πλαίσια μιας τρίμηνης διατροφικής παρέμβασης (t=0, t=3 μήνες) και (ii) η σύγκρισή του με το λιπιδικό αποτύπωμα των δειγμάτων ελέγχου (άτομα με μεταβολικά σύνδρομα που δεν έλαβαν το σνακ μανιταριών), χρησιμοποιώντας μη στοχευμένη υγρή χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (LC-MS), με τελικό στόχο την μελέτη της επίδρασης του λειτουργικού σνακ και ειδικότερα των αντιοξειδωτικών ενώσεων στο προφίλ των λιπιδίων. Πιο συγκεκριμένα, παρασκευάστηκαν 3 QCs δείγματα (QC0=δείγμα εθελοντών στην αρχή της παρέμβασης (t=0), QC1=δείγμα εθελοντών που δεν έλαβαν το λειτουργικό σνακ στο τέλος της παρέμβασης (t=3), QC2=δείγμα εθελοντών που έλαβαν το λειτουργικό σνακ στο τέλος της παρέμβασης (t=3)). Η ταυτοποίηση των λιπιδίων μεσαίας πολικότητας πραγματοποιήθηκε μέσω της υγρής χρωματογραφίας μικροροών συζευγμένης με τετραπολικό ανιχνευτή χρόνου πτήσης μαζών (microLC-TTOF) και μέσω της πλατφόρμας Lipid Maps. Έτσι, ανιχνεύθηκαν στα τρία QC 27 χαρακτηριστικά λιπίδια, τα οποία εντάσσονται σε κατηγορίες λιπιδίων, όπως τα γλυκερολιπίδια (GPs), σφιγγολιπίδια (SPs) και τα γλυκερολιπίδια (GLs). Παρατηρήθηκε πως τα επίπεδα των GPs δεν παρουσίασαν σημαντική διαφορά στα άτομα που κατανάλωσαν το λειτουργικό σνακ μανιταριών, καθώς παρέμεναν υψηλά, όπως είναι στα άτομα με Μεταβολικά Σύνδρομο, ενώ σημαντική διαφορά φάνηκε στα επίπεδα των SPs, τα οποία είναι υψηλά σε άτομα με Μεταβολικό Σύνδρομο και έπειτα από την κατανάλωση του λειτουργικού σνακ παρατηρήθηκε

εμφανής πτώση. Συνοψίζοντας, το λειτουργικό σνακ μανιταριών φαίνεται να εμφανίζει θετική επίδραση στο προφίλ συγκεκριμένων ομάδων λιπιδίων, που σχετίζονται με τα μεταβολικά σύνδρομα, ανοίγοντας το δρόμο για περαιτέρω διερεύνηση της σχέσης των λιπιδίων με τη διατροφή και την υγεία.

**Λέξεις κλειδιά:** Λειτουργικά τρόφιμα, μανιτάρια, μεταβολικά νοσήματα, λιπιδικό προφίλ, μη στοχευμένη ανάλυση, υγρή χρωματογραφία – φασματοσκοπία μάζας (LC-MS)

## Abstract

In recent years, functional foods have played an instrumental role in the prevention and management of metabolic syndromes, which encompass a range of disorders including diabetes, obesity, hypertension and dyslipidemia. Additionally, matsutake mushrooms are a common ingredient in a variety of commercial functional food products, including snacks, protein bars, powders, and chewing gum. This is due to their content of bioactive ingredients, including beta-glucans, proteins, fatty acids, and phenolic compounds, which are essential for the development of a healthy dietary intake. Conversely, the identification of lipid compounds represents the initial stage of lipidomic analysis, which is becoming increasingly crucial in dietary interventions pertaining to metabolic syndromes due to two key factors: firstly, its capacity to offer a comprehensive insight into lipid metabolism and secondly, its ability to assess the impact of dietary intake on crucial biological lipid markers. The objective of the present study is twofold: firstly, to ascertain and evaluate the lipid profile in anti-personal blood plasma samples (quality controls (QCs)) of volunteers with metabolic syndromes who received a functional mushroom snack enriched with antioxidant compounds and vitamin D2, within a three-month dietary intervention ( $t=0$ ,  $t=3$  months); secondly, to compare the lipid footprint of these samples with that of control samples (subjects with metabolic syndromes who did not receive the mushroom snack), using non-targeted liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). Furthermore, the lipid footprint of control samples (subjects with metabolic syndromes who did not receive the mushroom snack) will be compared with that of the test samples using non-targeted liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). The aim of this comparison is to study the impact of the functional snack and, in particular, the antioxidant compounds on the lipid profile. Specifically, three quality control samples were prepared. QC0 was a sample of volunteers at the beginning of the intervention ( $t=0$ ), QC1 was a sample of volunteers who did not receive the functional snack at the end of the intervention ( $t=3$ ), and QC2 was a sample of volunteers who received the functional snack at the end of the intervention ( $t=3$ ). The identification of mid-polarity lipids was automated through the use of microfluidic liquid chromatography coupled to a quadrupole a-trace time-of-flight mass spectrometry (microLC-TTOF) and the Lipid Maps platform. Consequently, 27 distinctive lipids were identified in the three quality controls, which are categorised as glycerolipids (GPs), sphingolipids (SPs) and glycerolipids (GLs). It was observed that the levels of GPs did not exhibit a notable discrepancy in the subjects who consumed the functional mushroom snack, remaining at a comparable level to that

observed in subjects with Metabolic Syndrome. Conversely, a significant difference was evident in the levels of SPs, which are elevated in subjects with Metabolic Syndrome. Following the consumption of the functional snack, a marked decline was observed. In conclusion, the consumption of a functional mushroom snack appears to exert a beneficial influence on the profile of specific lipid groups associated with metabolic syndrome. This observation provides a rationale for further investigation of the relationship between lipids and diet and health.

**Key words:** Functional foods, mushrooms, metabolic syndrome, lipidomic profile, non-targeted analysis, liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS)



## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη .....	5
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	11
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ .....	12
ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	13
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ .....	15
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 <sup>ο</sup> - ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ.....	16
1.1 Μεταβολικό Σύνδρομο.....	17
1.1.1 Παχυσαρκία .....	20
1.1.2 Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου II .....	21
1.1.3 Υπέρταση .....	21
1.1.4 Δυσλιπιδαιμία.....	22
1.2 Επιδημιολογία και Παθογένεια.....	23
1.2.1 Επιδημιολογία .....	23
1.2.2 Παθοφυσιολογία.....	25
1.3 Διατροφή και Μεταβολικό Σύνδρομο .....	28
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 <sup>ο</sup> - ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΤΡΟΦΙΜΑ ΚΑΙ ΣΝΑΚ ΜΑΝΙΤΑΡΙΩΝ .....	33
2.1 Λειτουργικά Τρόφιμα .....	34
2.1.1 Ορισμός.....	34
2.1.2 Πλεονεκτήματα Λειτουργικών Τροφίμων για την Υγεία του Ανθρώπου .....	35
2.1.3 Βιολειτουργικά Συστατικά και Βιολογική Δράση .....	37
2.2 Μανιτάρια.....	38
2.2.1 Γενικά χαρακτηριστικά και επιλεγμένα είδη Μανιταριών .....	38
2.2.2 Διατροφική Αξία και Βιολογική Δράση.....	39
2.3 Μανιτάρια ως λειτουργικά τρόφιμα.....	40
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 <sup>ο</sup> - ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ .....	43
3.1 Λιπιδομική Ανάλυση.....	44
3.1.1 Μεταβολομική (Metabolomics) .....	44
3.1.2 Λιπιδομική (Lipidomics) .....	45
3.2 Αναλυτικές Τεχνικές – LC-MS Ανάλυση.....	47
3.3 Σκοπός.....	48
3.4 Σχεδιασμός Μελέτης.....	49
3.4.1 Στοιχεία Κλινικής Μελέτης .....	49
3.4.2 Στοιχεία Λειτουργικού Σνακ Μανιταριών.....	50
3.4.3 Στοιχεία Εθελοντών.....	50

3.5 Υλικά και Επιστημονική Οργανολογία.....	52
3.5.1 Αναλώσιμα.....	52
3.5.2 Συσκευές και Επιστημονική Οργανολογία .....	52
3.6 Ανάπτυξη Μεθόδου Μη Στοχευμένης LC/MS Ταυτοποίησης Λιπιδιομικών Ενώσεων Με Αναλυτή Χρόνου Πτώσης (LC-QTOF MS).....	53
3.6.1 Συνθήκες Υγρής Χρωματογραφίας Μικροροών (microLC).....	53
3.6.2 Συνθήκες Τετραπολικού Φασματομετρου Μαζών με Αναλυτή Χρόνου Πτήσης .....	54
3.7 Προκατεργασία Κλινικών Δειγμάτων.....	56
3.7.1 Πορεία εκχύλισης μη δεσμευμένων και δεσμευμένων λιπιδίων σε πλάσμα αίματος: ..	56
3.7.2 Προετοιμασία δειγμάτων για LC-MS ανάλυση: .....	57
3.7.3 Παρασκευή δειγμάτων ελέγχου ποιότητας (QC): .....	57
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4<sup>ο</sup> – ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....</b>	<b>58</b>
4.1 Ανίχνευση, Ταυτοποίηση και Κατηγοριοποίηση Λιπιδικών Ενώσεων.....	59
4.2 Σύγκριση Δειγμάτων Ελέγχου Ποιότητας QC .....	67
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5<sup>ο</sup> – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....</b>	<b>70</b>
5.1 Συμπεράσματα.....	71
5.2 Μελλοντικές προοπτικές .....	73
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....</b>	<b>74</b>

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1: Παχυσαρκία .....	20
Εικόνα 2: Διαβήτης Τύπου 2 .....	21
Εικόνα 3: Κύριοι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί.....	25
Εικόνα 4: Πυραμίδα Μεσογειακής Διατροφής (Dayi T, 2022) .....	29
Εικόνα 5: Μανιτάρια ως κύρια συστατικά για την παρασκευή λειτουργικών αρτοσκευασμάτων (Salehi, 2018).....	41
Εικόνα 6: Noodles με προσθήκη πάστας μανιταριών σε αλεύρι σίτου σε διαφορετικές αναλογίες (Rezoana Parvin, 2020).....	41
Εικόνα 7: Σνακ Μανιταριών .....	42
Εικόνα 11: Από τη Μεταβολομική στην Λιπιδομική Ανάλυση (Araújo AM, 2021).....	44
Εικόνα 14: Μη στοχευμένη ροή εργασιών μεταβολομικής (Araújo AM, 2021) .....	46
Εικόνα 8: Σχεδιασμός Μελέτης Λειτουργικού Σνακ Μανιταριών .....	49
Εικόνα 9: microLC- Triple TOF MS.....	52
Εικόνα 10: Διάγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης της υπό ανάπτυξη μεθόδου micro LC. (η μαύρη γραμμή απεικονίζει το διάλυμα νερού, ενώ η μπλε το διάλυμα ακετονουτριλίου).....	53
Εικόνα 15: Φάσμα μάζας QC2 σε θετικό ιονισμό.....	59
Εικόνα 17: Common Name PC(17:0/18:2(9Z,12Z)) Systematic Name 1-heptadecanoyl-2-(9Z,12Z-octadecadienoyl)-glycero-3-phosphocholine .....	64
Εικόνα 18: Μεταβολικά μονοπάτια κεραμιδίων (CER) .....	65
Εικόνα 19: Common Name SM(d18:0/18:2) Systematic Name N-(9Z,12Z-octadecadienoyl)-sphinganine-1-phosphocholine .....	65
Εικόνα 20: Common Name 2-linoleoyl-sn-glycerol Systematic Name 2-(9Z,12Z-octadecadienoyl)-sn-glycerol.....	66
Εικόνα 20: Διάγραμμα Ενώσεων (Compounds) ως προς τις εντάσεις των λιπιδίων (TIC).....	68

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Όρια περιμέτρου μέσης ανδρών και γυναικών με Μεταβολικό Σύνδρομο (Μ.Σ.) ανά το κόσμο .....	19
Πίνακας 2: Κλινική Διάγνωση για Μεταβολικά Σύνδρομα σύμφωνα με παγκόσμιου οργανισμού υγείας , IGT, Impaired Glucose Tolerance; IFG, Impaired Fasting Glucose; T2D, Type 2 Diabetes Mellitus; WHR, Waist-to-Hip Ratio; IR, insulin resistance BMI, Body Mass Index; TG, Triglycerides; HDL-C, HDL-Cholesterol; WC, Waist Circumference; SBP, Systolic Blood Pressure; DBP, Diastolic Blood Pressure;* Ινσου-λινο-ευαισθησία όπως αξιολογείται σε συνθήκες υπερινσουλιναϊμίας – ευγλυκαϊμίας; (Scott M. Grundy, 2005) (K G M M Alberti, 2009) .....	19
Πίνακας 3: Παράγοντες κίνδυνου υπέρτασης (πρωτοπαθής, δευτεροπαθής).....	22
Πίνακας 4: Μελέτη 2014:Επιπολασμός Μ.Σ. από κάποιες χώρες ανά τον κόσμο .....	24
Πίνακας 5:Διατροφικά πρότυπα και επίδραση στο Μ.Σ., 1. Μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, MUFA, έξτρα παρθένο ελαιόλαδο, EVOO, υδατάνθρακες, CH, καρδιαγγειακή νόσος, CVD, αρτηριακή πίεση. BP, σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2. T2DM, διαιτητικές προσεγγίσεις για τη διακοπή της υπέρτασης. DASH, ακόρεστα λιπαρά οξέα. UFAs- δείκτης μάζας σώματος, BMI. διαστολική αρτηριακή πίεση, DBP- χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας, LDL-c- χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας, HDL-C, γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη. HbA1c- μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, MUFA. ....	28
Πίνακας 6: Κριτήρια Λειτουργικών Τροφίμων .....	34
Πίνακας 7: Βιολειτουργικά Συστατικά Τροφίμων και Βιολογική τους Δράση .....	37
Πίνακας 8: Διατροφική Αξία Λειτουργικού Σνακ Μανιταριών .....	50
Πίνακας 9: Διάγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης .....	54
Πίνακας 10: Συνθήκες QTOF .....	54
Πίνακας 11: Συνθήκες ESI ηλεκτροψεκασμού.....	55
Πίνακας 12: Ιόντα λιπιδίων που ανιχνεύθηκαν σε θετικό ιονισμό σε κάθε QC.....	60
Πίνακας 13:Ιόντα λιπιδίων που ανιχνεύθηκαν σε αρνητικό ιονισμό σε κάθε QC .....	60
Πίνακας 14: Κατάταξη Λιπιδίων .....	60
Πίνακας 15: Λιπίδια που ανιχνεύτηκαν σε κάθε QC μαζί με τα m/z και τον RT τους .....	67
Πίνακας 16: Μεταβολές εντάσεων των λιπιδίων μεταξύ των QC.....	69

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα πτυχιακή διατριβή έγινε στα πλαίσια του προγράμματος Ενιαίας Δράσης Κρατικών Ενισχύσεων Έρευνας, Τεχνολογικής Ανάπτυξης & Καινοτομίας «ΕΡΕΥΝΩ – ΔΗΜΙΟΥΡΓΩ – ΚΑΙΝΟΤΟΜΩ» με τίτλο "Αξιοποίηση γεωργικών υποπροϊόντων ως νέων υποστρωμάτων για την παραγωγή μανιταριών *Pleurotus* υψηλής διατροφικής αξίας – Ανάπτυξη και κλινική αξιολόγηση ενός καινοτόμου πολυδύναμου λειτουργικού τροφίμου (“σνακ μανιταριών”) με αυξημένη περιεκτικότητα σε βιοδραστικές ενώσεις (βιταμίνη D και αντιοξειδωτικά)”. Η υλοποίησή του πραγματοποιήθηκε από την εταιρία «ΜΑΝΙΤΑΡΙΑ ΔΙΡΦΥΣ», σε συνεργασία με τρεις ερευνητικούς φορείς, το Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, το Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, και το Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών.

«Αφιερώνεται σε εκείνους που με στηρίζουν καθημερινά με την αγάπη τους και με βοηθούν να γίνομαι καλύτερος άνθρωπος, στην οικογένειά μου και στους φίλους μου»

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την ολοκλήρωση αυτής της πτυχιακής εργασίας και ταυτόχρονα την ολοκλήρωση του κύκλου των προπτυχιακών σπουδών μου, θα ήθελα να εκφράσω την ειλικρινή μου ευγνωμοσύνη προς όλους εκείνους που στάθηκαν δίπλα μου και με στήριξαν καθ' όλη τη διάρκεια αυτής της πορείας.

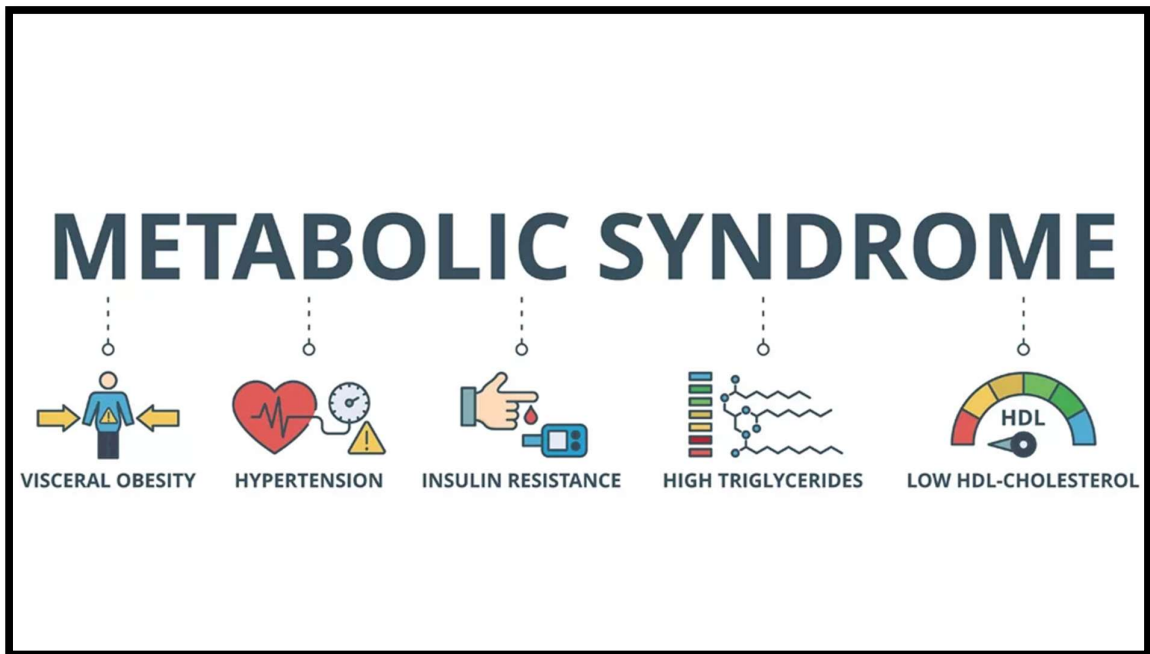
Πρώτα απ' όλα, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στην επιβλέπουσα καθηγήτριά μου, κα. Θάλεια Τσιάκα. Η αφιέρωσή της σε χρόνο και προσπάθεια, προκειμένου να μου προσφέρει καθοδήγηση και να εξηγήσει λεπτομερώς το θέμα της εργασίας, υπήρξε ανεκτίμητη. Οι υποδείξεις και οι συμβουλές της, τόσο σε επιστημονικό όσο και σε προσωπικό επίπεδο, με βοήθησαν σημαντικά να πλησιάσω τους στόχους και τα όνειρά μου. Η υποστήριξή της μου έδειξε ότι τίποτα δεν είναι ακατόρθωτο, αρκεί να έχουμε ένα σαφή στόχο, να το επιθυμούμε πραγματικά και να πιστεύουμε στις δυνατότητές μας. Σας ευχαριστώ θερμά για όλα, κυρία Τσιάκα!

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά και όλους τους καθηγητές που συνέβαλαν καθοριστικά στην ακαδημαϊκή μου πορεία, όπως η κα. Ευτυχία Κρίστη και ο κος Παναγιώτης Ζουμπουλάκης, οι οποίοι με πίστεψαν και με στήριξαν από την πρώτη στιγμή.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον σπουδαίο διδάκτορα Κωνσταντίνο Ανδριά Σταματόπουλο για τη συμβολή του στην προσπάθειά μου, για τις πολύτιμες συμβουλές και καθοδήγησή του, αλλά και για την υποστήριξή του σε όλη την πορεία διεξαγωγής της πτυχιακής μου εργασίας.

Ειδικές ευχαριστίες οφείλω στους γονείς μου και στους φίλους μου, για την αμέριστη στήριξή τους καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου. Η υπομονή, η ενθάρρυνση και η αγάπη τους υπήρξαν καθοριστικοί παράγοντες για να φτάσω ως εδώ. Χωρίς τη διαρκή τους παρουσία και υποστήριξη, αυτή η διαδρομή δεν θα είχε ολοκληρωθεί με την ίδια επιτυχία.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1<sup>0</sup> - ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ





## 1.1 Μεταβολικό Σύνδρομο

Το μεταβολικό σύνδρομο (Μ.Σ.) είχε πρωτοαναφερθεί το 1988 από τον καθηγητή της Ιατρικής του Standford University Gerald M. Reaven με τον όρο « Σύνδρομο X». Ο Reaven περιέγραψε το σύνδρομο αυτό ως ένα σύνολο μεταβολικών διαταραχών όπως: αντίσταση στην ινσουλίνη, υπεργλυκαιμία, υπέρταση, χαμηλή HDL-χοληστερόλη και αυξημένα τριγλυκερίδια. Βέβαια, η ερμηνεία αυτή δεν αποτέλεσε την τελική, καθώς πραγματοποιήθηκαν περαιτέρω έρευνες για την ακριβή αποτύπωσή της. Το μεταβολικό σύνδρομο αποτελεί ένα ευρύτερο σύνολο κλινικών, μεταβολικών και βιοχημικών ανωμαλιών, όπως η κεντρική ή σπλαχνική παχυσαρκία, η υπέρταση, η αντίσταση στην ινσουλίνη και η δυσλιπιδαιμία. Οι παράγοντες αυτοί μπορούν να οδηγήσουν στην εμφάνιση σοβαρών ασθενειών όπως ο Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2, διάφορες καρδιαγγειακές νόσοι, ηπατική στεάτωση, μη αλκοολική λιπώδης διήθηση του ήπατος, η άπνοια ύπνου, καθώς και μερικές μορφές καρκίνου. Θα πρέπει να τονιστεί πως δεν γίνεται καθεμία από αυτές τις μεταβολικές διαταραχές ξεχωριστά να αποτελούν μεμονωμένα παράγοντα εμφάνισης του συνδρόμου. Για να θεωρηθεί πως ένας ασθενής πάσχει από μεταβολικό σύνδρομο χρειάζεται η ταυτόχρονη παρουσία 2 τουλάχιστον προαναφερθέντων διαταραχών. Παρ'όλα αυτά παρατηρούνται ορολογικές διαφορές που βασίζονται σε παθοφυσιολογικό υπόβαθρο από πολλούς διεθνείς οργανισμούς υγείας με. (Uzma Zafar, 2018), (K George M M Alberti, 2005)

Τα πρώτα κριτήρια για τη διάγνωση του Μεταβολικού Συνδρόμου γνωστοποιήθηκαν από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας το 1999 (World Health Organization, 1999). Η διάγνωση προϋποθέτει τουλάχιστον δύο παράγοντες μεταξύ της υπέρτασης, της κοιλιακής παχυσαρκίας, της δυσλιπιδαιμίας και της μικροαλβουμινουρίας. Τα κριτήρια που ακολουθήθηκαν είναι τα εξής:



### Απαιτούμενα για διάγνωση:

- Αντίσταση στην ινσουλίνη/ Υπερινσουλιναιμία

### Από 2 (+) /7 κριτήρια από τα παρακάτω να ισχύουν:

- Κεντρική παχυσαρκία, περίμετρος κοιλιάς > 0.9M, >0.85 F
- Αυξημένη γλυκόζη πλάσματος
- Αρτηριακή πίεση . 140mmHg και >90mmHg
- Τριγλυκερίδια >150mg/dL
- HDL<36mg/dL, <38,6mg/dL F
- Μικρολευκωματινουρία σχέση αλβουμίνης/κερατίνης >30

Το 2001 ο National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP ATPIII) δίνει μια εναλλακτική προσέγγιση του Μεταβολικού Συνδρόμου ώστε να είναι κλινικά αποδεκτό (Lipsy, 2003). Στην περίπτωση αυτή απαιτείται η εμφάνιση 3 στους παραπάνω 5 παράγοντες ,

συγκεκριμένα: η κεντρική παχυσαρκία, η δυσλιπιδαιμία και υπέρταση. Τα κριτήρια στα οποία βασίζεται η διάγνωση είναι:



**NCEP**  
**ATPII**

**Από 3(+)/ 5 κριτήρια από τα παρακάτω να ισχύουν:**

- Κεντρική παχυσαρκία, περίμετρος κοιλιάς > 102 M, >0.88 F
- Γλυκόζη πλάσματος >110 mg/dL
- Αρτηριακή πίεση >130mmHg και >85mmHg
- Τριγλυκερίδια >150mg/dL
- HDL >140/90 mmHg

Παρατηρήθηκε επίσης, πως η μέτρηση της αντίστασης στην ινσουλίνη κρίθηκε μη πρακτική, αν και είναι σαφές ότι πολλά στοιχεία του μεταβολικού συνδρόμου, ιδίως η περίμετρος της μέσης και τα τριγλυκερίδια, συσχετίζονται σε μεγάλο βαθμό με την ευαισθησία στην ινσουλίνη. (K George M M Alberti, 2005)

Το 2005 θεσπίστηκαν νεότερα κριτήρια για το μεταβολικό σύνδρομο από τον IDF (International Diabetes Foundation) (International Diabetes Foundation, 2005), τα οποία αναγράφονται παρακάτω:

**Απαιτούμενα για διάγνωση:**

- Κεντρική παχυσαρκία

**Από 2 (+) /7 κριτήρια από τα παρακάτω να ισχύουν:**

- Περίμετρος κοιλιάς > 94 M, >80 F
- Γλυκόζη πλάσματος >100 mg/dL
- Αρτηριακή πίεση >130mmHg και >85mmHg
- Τριγλυκερίδια >150mg/dL
- HDL <40mg/dL, <50mg/dL F

Η κεντρική παχυσαρκία, η οποία εκτιμάται από την περιφέρεια μέσης, αποδείχτηκε ως βασικό κριτήριο, λόγω της ισχύος των στοιχείων που συνδέουν την περιφέρεια μέσης με τις καρδιαγγειακές νόσους και τις άλλες συνιστώσες του μεταβολικού συνδρόμου. (K George M M Alberti, 2005) (Scott M. Grundy, 2005) Ο IDF διαπιστώνει πως δεν υφίστανται ενιαία κριτήρια για όλες τις εθνικότητες στον προσδιορισμό του μεταβολικού συνδρόμου και για αυτό προτείνει τη θέσπιση εκ νέου ορίων, ανάλογα με την εθνικότητα και τη φυλή (Πίνακας 1). (Antônio Bovolini, 2020)

Πίνακας 1: Όρια περιμέτρου μέσης ανδρών και γυναικών με Μεταβολικό Σύνδρομο (Μ.Σ.) ανά το κόσμο

Χώρα/ Εθνικότητα	Περίμετρος Μέσης	
	Άντρες (cm)	Γυναίκες (cm)
Ευρωπαίοι	≥ 94	≥80
Νότιοι Ασιάτες	≥90	≥80
Κινέζοι	≥90	≥80
Ιάπωνες	≥90	≥80
Νότια και Κεντρική Αμερική	≥90	≥80
Αφρικανοί της Υποσαχάριας Αφρικής	≥94	≥80
Πληθυσμός της Ανατολικής Μεσογείου και της Μέσης Ανατολής (Αραβες)	≥94	≥80

Ο τελικός ορισμός δόθηκε το 2009 έπειτα από συνένωση των κριτηρίων διάγνωσης για το Μ.Σ. από μεγάλους οργανισμούς υγείας. Οι επιστήμονες καταλήγουν στο ότι δεν υπάρχει κάποιο κύριο κριτήριο διάγνωσης, αλλά για την ταυτοποίηση του μεταβολικού συνδρόμου είναι απαραίτητοι τρεις από τους πέντε παράγοντες κινδύνου μεταξύ της κοιλιακής παχυσαρκίας, δυσλιπιδαιμίας, τιμής γλυκόζης νηστείας και υπέρτασης. (Antônio Bonolini, 2020)

Ακολουθεί ο Πίνακας 2 στον οποίο αναγράφονται συνοπτικά ι κλινικές διαγνώσεις για το Μεταβολικό Σύνδρομο από τους προαναφερθείσες οργανισμούς υγείας.

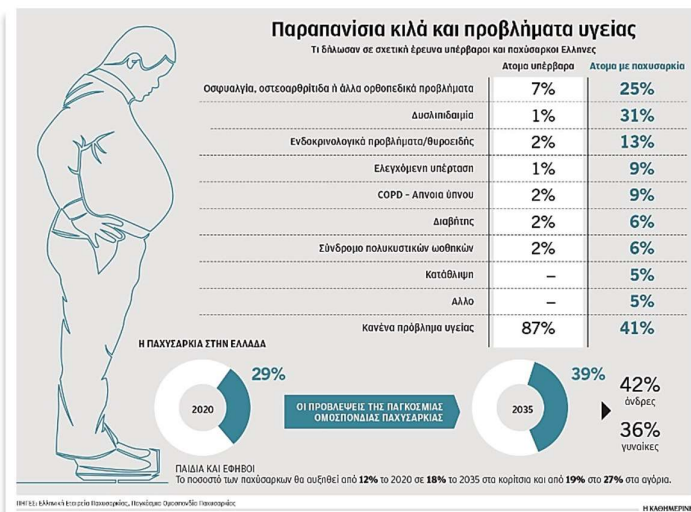
Πίνακας 2: Κλινική Διάγνωση για Μεταβολικά Σύνδρομο σύμφωνα με παγκόσμιοι οργανισμούς υγείας, IGT, Impaired Glucose Tolerance; IFG, Impaired Fasting Glucose; T2D, Type 2 Diabetes Mellitus; WHR, Waist-to-Hip Ratio; IR, insulin resistance BMI, Body Mass Index; TG, Triglycerides; HDL-C, HDL-Cholesterol; WC, Waist Circumference; SBP, Systolic Blood Pressure; DBP, Diastolic Blood Pressure;\* Ινσου-λινο-ευαισθησία όπως αξιολογείται σε συνθήκες υπερινσουλιναίμιας – ευγλυκαιμίας; (Scott M. Grundy, 2005) (K G M M Alberti, 2009)

Κλινικός παράγοντας	W.H.O. (1998)	NCEP ATP III (2001)	IDF (2005)
<b>Ορισμοί</b>	IGT ή T2DM και/ή IR συν δύο ή περισσότερες από τις ακόλουθες διαταραχές	Τρεις ή περισσότερες από τις ακόλουθες διαταραχές	Κεντρική παχυσαρκία (προσαρμοσμένη ως προς τη φυλή και το φύλο) συν δύο από τις ακόλουθες διαταραχές
<b>Ινσουλινο-αντίσταση</b>	IGT, IFG, T2D ή χαμηλή ινσουλινο-ευαισθησία* + 2 από τους παρακάτω παράγοντες	Κανένα κριτήριο, 3 από τους παρακάτω παράγοντες	Κανένα κριτήριο
<b>Παχυσαρκία</b>	Άνδρες: WHR> 0.90 Γυναίκες: WHR> 0.85 και/ή BMI>30 kg/m2	Άνδρες: WC> 102cm Γυναίκες: WC> 88 cm	Άνδρες: WC> 94 cm Γυναίκες: WC> 80 cm

			(για εθνότητες ευρωπαϊκής προέλευσης) + 2 από τους παρακάτω παράγοντες
<b>Δυσλιπιδαιμία</b>	TG> 150 mg/dL και/ή Άνδρες: HDL-C< 35 mg/dL Γυναίκες: HDL-C< 39 mg/dL	TG> 150 mg/dL Άνδρες: HDL-C< 40 mg/dL Γυναίκες: HDL-C< 50 mg/dL	TG> 150 mg/dL ή σε θεραπευτική αγωγή (Rx) Άνδρες: HDL-C< 40 mg/dL Γυναίκες: HDL-C< 50 mg/dL ή σε θεραπευτική αγωγή
<b>Υπεργλυκαιμία</b>	IGT, IFG ή T2D	> 110 mg/dL ή T2D	> 100 mg/dL ή T2D
<b>Υπέρταση</b>	>140/90 mm Hg	> 130/85 mm Hg	> 130 mm Hg SBP ή > 85 mm Hg DBP ή σε θεραπευτική αγωγή (Rx)
<b>Άλλο</b>	Μικροαλβουμινουρία :  Ρυθμός απέκκρισης στα ούρα > 20 mg/min ή αλβουμίνη/κρεατινίνη > 30 mg/g	-	-

### 1.1.1 Παχυσαρκία

Η παχυσαρκία είναι μία νόσος, που στις ανεπτυγμένες κοινωνίες εμφανίζει τάσεις επιδημίας και αποτελεί σήμερα το σημαντικότερο - ίσως - διατροφικό πρόβλημα. Η παχυσαρκία ορίζεται ως η υπερβολική συσσώρευση λιπώδους ιστού στις αποθήκες λίπους του σώματος, η οποία υπερβαίνει το φυσιολογικό ποσοστό λίπους σε σχέση με το σωματικό βάρος, το οποίο κατά μέσο όρο ανέρχεται περίπου στο 17% για τους άνδρες και στο 22% για τις γυναίκες. Όταν ένα άτομο με παχυσαρκία υπερβαίνει τα όρια του υπέρβαρου και εμφανίζει Δείκτη Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) μεγαλύτερο του 30, και τότε αρχίζουν να εμφανίζονται σοβαροί κίνδυνοι για την υγεία του. (Σφλώμος, 2019)



Εικόνα 1: Παχυσαρκία

### 1.1.2 Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου II

Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (ΣΔΤ2), μία από τις πιο συχνές μεταβολικές διαταραχές, προκαλείται από το συνδυασμό δύο βασικών παραγόντων: την ελαττωματική έκκριση ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος και την αδυναμία των ινσουλινοευαίσθητων ιστών να ανταποκριθούν κατάλληλα στην ινσουλίνη. Επειδή η απελευθέρωση ινσουλίνης και η δραστηριότητά της είναι βασικές διαδικασίες για την ομοίωση της γλυκόζης, οι μοριακοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στη σύνθεση και την απελευθέρωση της ινσουλίνης, καθώς και στην αντίληψή της είναι αυστηρά ρυθμισμένοι. Βλάβες σε οποιονδήποτε από τους μηχανισμούς που εμπλέκονται σε αυτές τις διαδικασίες μπορεί να οδηγήσουν σε μεταβολική ανισορροπία που ευθύνεται για την ανάπτυξη της νόσου. Οι ασθενείς με ΣΔΤ2 είναι παχύσαρκοι σε ποσοστό άνω του 80% και σε πολλές περιπτώσεις εμφανίζουν κληρονομική προδιάθεση για την ανάπτυξη της νόσου. (Αντόνιο Βονολίνι, 2020) Η κακή διατροφή και ο καθιστικός τρόπος ζωής αποτελούν σημαντικούς επιπρόσθετους αιτιολογικούς παράγοντες εμφάνισης της νόσου. (Στεφανόπουλος)



Εικόνα 2: Διαβήτης Τύπου 2

### 1.1.3 Υπέρταση

Η υπέρταση αποτελεί μια ακόμη διαταραχή του Μ.Σ, μιας και εμφανίζεται σε περισσότερο από το 1/3 των ασθενών με Μ.Σ.. Η διαταραχή αυτή χαρακτηρίζεται από αυξημένη αρτηριακή πίεση του αίματος στο εσωτερικό του τοιχώματος των μεγάλων αρτηριών του οργανισμού, με τιμές της συστολικής («μεγάλης») πίεσης  $\geq 130$  mmHg και της διαστολικής («μικρής») πίεσης  $\geq 85$  mmHg. Διαβαθμίζεται σε ήπια, μέτρια και σοβαρή. Η διάγνωση της συχνά πραγματοποιείται σε προχωρημένο στάδιο της νόσου, οπότε και εμφανίζονται σοβαρές επιπλοκές που απειλούν τη ζωή, όπως η νεφρική βλάβη και η καρδιακή ανεπάρκεια. Η υπέρταση διακρίνεται σε:

- ιδιοπαθή ή πρωτοπαθή
- δευτεροπαθή υπέρταση

(Στυλιανός, 2023), (ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ, 2023)

Η ιδιοπαθής υπέρταση αποτελεί την πιο πολυσύχναστη μορφή υπέρτασης των ασθενών με ποσοστό μόλις το 95%. Εμφανίζεται συνήθως σε ηλικίες άνω των 30 ετών, αν και πιο σπάνιο ενδέχεται να εμφανιστεί ακόμη και σε παιδιά. Το υπόλοιπο 5% των υπερτασικών ασθενών εμφανίζει δευτεροπαθή υπέρταση, όπου η αυξημένη αρτηριακή πίεση μπορεί να οφείλεται σε διαφορετικά αίτια ή να σχετίζεται με συγκεκριμένες παθήσεις. (Ο'Driscoll, 2015), (Μανωλης, 2023)

Στον παρακάτω πίνακα 3 παρουσιάζονται οι κυριότεροι παράγοντες εμφάνισης υπέρτασης:

Πίνακας 3: Παράγοντες κίνδυνου υπέρτασης (πρωτοπαθής, δευτεροπαθής)

Παράγοντες κινδύνου πρωτοπαθούς υπέρτασης	Κληρονομικότητα
	Stress
	Αντίσταση στην ινσουλίνη
	Παχυσαρκία
	Υψηλή κατανάλωση λίπους
	Υψηλή κατανάλωση άλατος
	Κάπνισμα
	Οιστρογόνα
	Έλειψη σωματικής άσκησης
Παράγοντες κινδύνου δευτεροπαθούς υπέρτασης	Στένωση του ισθμού στην αορτή
	Παθήσεις των νεφρών π.χ. σπειραματονεφρίτιδες, πυελονεφρίτιδες, πολυκυστικοί νεφροί και στένωση νεφρικής αρτηρίας
	Παθήσεις των ενδοκρινών αδένων π.χ. φαιοχρωμοκύττωμα, σύνδρομο cushing, σύνδρομο conn, υπερθυρεοειδισμός
	Λήψη αντισυλληπτικών δισκίων

#### 1.1.4 Δυσλιπιδαιμία

Η δυσλιπιδαιμία αναφέρεται στην παθολογική κατάσταση διαταραχής των λιπιδίων στο αίμα, όπως η χοληστερόλη και τα τριγλυκερίδια. Αυτή η κατάσταση περιλαμβάνει τόσο την αύξηση (ολικής χοληστερόλης, LDL και τριγλυκεριδίων) όσο και τη μείωση (HDL) των λιπιδίων και των λιποπρωτεϊνών, προκαλώντας βλάβες στον οργανισμό. Η δυσλιπιδαιμία κατηγοριοποιείται σε δύο τύπους:

- Πρωτοπαθής (κληρονομικής αιτιολογίας)
- Δευτεροπαθής (προερχόμενη από παθολογικές καταστάσεις ή κακή διατροφή).

Τα άτομα με υπερβολικό βάρος, οι παχύσαρκοι, και εκείνα με σωματική αδράνεια είναι πιο επιρρεπή στην ανάπτυξη υψηλών επιπέδων χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων στο αίμα. Επιπλέον, ασθενείς με διαβήτη και νεφρική νόσο συχνά εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα λιπιδίων στο αίμα, ειδικά όταν οι ιατρικές τους καταστάσεις δεν αντιμετωπίζονται αποτελεσματικά. Το κάπνισμα επίσης μπορεί να συμβάλει στην ανάπτυξη ανθυγιεινών επιπέδων χοληστερόλης στο αίμα. (ΧΑΙΡΕΤΑΚΗ ΕΛΕΝΗ, n.d.)

## 1.2 Επιδημιολογία και Παθογένεια

### 1.2.1 Επιδημιολογία

Ο παγκόσμιος επιπολασμός του μεταβολικού συνδρόμου (Μ.Σ.) διαφέρει ανάλογα με τους γεωγραφικούς, κοινωνικούς και δημογραφικούς παράγοντες, την ηλικιακή ομάδα, το φύλο καθώς και τα διαγνωστικά κριτήρια που χρησιμοποιούνται. (Emma McCracken, 2017) Ο επιπολασμός του μεταβολικού συνδρόμου συχνά είναι παράλληλη με τον επιπολασμό της παχυσαρκίας και της επίπτωσης του διαβήτη τύπου 2. Ιδιαίτερα σημαντικό τρόπο διαφοροποίησης του επιπολασμού αποτελούν και τα κριτήρια στα οποία βασίζεται, δυσκολεύοντας έτσι τη σύγκριση και την αξιόπιστη διεξαγωγή συμπερασμάτων ως προς την επιδημιολογία του μεταβολικού συνδρόμου. (GENOVEFA D. KOLOVOU, 2007)

Σύμφωνα με την απογραφή πληθυσμού το 2000 από τις ΗΠΑ, περίπου 47 εκατομμύρια Αμερικανοί κάτοικοι πάσχουν από Μ.Σ. Βάση των δεδομένα από την Εθνική Έρευνα για την Υγεία και τη Διατροφή III (NAHANES III) και τα κριτήρια NCEP ATP III και με κύρια παράμετρο την ηλικία, ο επιπολασμός του μεταβολικού συνδρόμου στις ΗΠΑ εκτιμάται σε 23,7% (20 ετών και άνω). Καθώς η ηλικία των συμμετεχόντων αυξάνεται παρατηρείται και αύξηση του επιπολασμού έως 43,5%. Θέτοντας ως παράμετρο το φύλο, δεν υπάρχει κάποιο ξεκάθαρο συμπέρασμα από τις μέχρι τώρα μελέτες. Το βάρος αποτελεί μια ακόμη κρίσιμη παράμετρο για τον επιπολασμό του Μ.Σ. Αφορά κυρίως υπέρβαρους ή παχύσαρκους ενήλικες με επιπολασμό 22% σε όσους έχουν δείκτη μάζας σώματος (BMI) 25 και 30kg/m<sup>2</sup> και 60% μεταξύ αυτών με BMI 30 kg/m<sup>2</sup>, συγκριτικά με τον επιπολασμό των ενηλίκων με φυσιολογικό βάρος το οποίο κυμαίνεται στο 5%. Οι εθνικές διαφορές αποτελούν έναν ακόμη κρίσιμο παράγοντα που επηρεάζει τον επιπολασμό του Μ.Σ. Η συχνότητα του Μ.Σ. είναι χαμηλότερη στους μαύρους άνδρες από ό,τι στους λευκούς άνδρες, γεγονός που θα μπορούσε να αποδοθεί στη λιγότερο συχνή δυσλιπιδαιμία που παρατηρείται στους μαύρους άνδρες, καθώς και στον χαμηλότερο επιπολασμό της παχυσαρκίας (23%) σε σύγκριση με τους Μεξικανοαμερικανούς (31%) ή τους λευκούς (31%) άνδρες. Παρ' όλα αυτά, οι μαύροι ενήλικες είναι επιρρεπείς στην υπέρταση και φέρουν μεγαλύτερο κίνδυνο για διαβήτη σε σχέση με τους λευκούς. Αρκετές άλλες εθνικότητες, όπως οι Νοτιοασιάτες, φαίνεται να είναι ιδιαίτερα επιρρεπείς στο Μ.Σ. Μια ακόμη εξίσου σημαντική παράμετρος που επηρεάζει τον επιπολασμό του Μ.Σ. αποτελεί και ο τόπος κατοικίας. Μελέτες δείχνουν πως υψηλότερος επιπολασμός υπάρχει στους κατοίκους των πόλεων σε σχέση με τους κατοίκους της υπαίθρου. Πιθανότητα η διαφορά αυτή να οφείλεται στο ότι στις αστικές περιοχές επικρατεί ένα μοντέλο ζωής με πολλούς κινδύνους, όπως το αλκοόλ και η καθιστική ζωή. Βέβαια, δεν θα πρέπει να παραληφθεί και η γενετική προδιάθεση ως προς το Μ.Σ. που μπορεί να έχουν ορισμένα άτομα του πληθυσμού και τα οποία σε συνδυασμό με τον δυτικό τρόπο ζωής καθίστανται πιο επιρρεπή στην ανάπτυξη του συνδρόμου. (GENOVEFA D. KOLOVOU, 2007)

Σύμφωνα με πολυεθνικές έρευνες που διεξήχθησαν σε 195 χώρες το 2015, παρατηρήθηκε ότι υπήρχαν 604 εκατομμύρια παχύσαρκοι ενήλικες και 108 εκατομμύρια παχύσαρκα παιδιά. Από το 1980, ο επιπολασμός της παχυσαρκίας έχει διπλασιαστεί σε 73 χώρες και έχει αυξηθεί σε πολλές από τις υπόλοιπες. Μια ακόμη ανησυχητική παρατήρηση είναι ότι ο αριθμός των παχύσαρκων παιδιών έχει αυξηθεί κατά τη διάρκεια της παιδικής ηλικίας. Παρόλα αυτά, πρέπει να σημειωθεί ότι η παχυσαρκία δεν είναι πάντα συνδεδεμένη με το μεταβολικό σύνδρομο. Υπάρχουν άτομα με παχυσαρκία που έχουν υψηλό επίπεδο ευαισθησίας στην ινσουλίνη χωρίς παράλληλα να πάσχουν από υπέρταση, υπερλιπιδαιμία ή άλλα χαρακτηριστικά του συνδρόμου. (Saklayen, 2018)

Όπως υποστηρίζει ο IDF, ο παγκόσμιος επιπολασμός του διαβήτη από 8,8% το 2015 αναμένεται να αυξηθεί σε 10,4% μέχρι το 2040, με τα υψηλότερα ποσοστά ανάπτυξης διαβήτη να αναμένεται να εμφανιστούν στην υποσαχάρια Αφρική και τη Μέση / Βόρεια Αφρική (141 και 104%, αντίστοιχα).

Υπολογίζεται ότι πάσχει από μεταβολικό σύνδρομο περίπου το ένα τέταρτο του παγκόσμιου πληθυσμού. Άλλωστε, πάνω από ένα δισεκατομμύριο άνθρωποι σε παγκόσμιο επίπεδο επηρεάζονται από το μεταβολικό σύνδρομο. (Saklayen, 2018) Σύμφωνα με μια μελέτη του 2014 παρουσιάζεται στον πίνακα 4, ο επιπολασμός του Μ.Σ. σε κάποιες χώρες ανά τον κόσμο. (O'Driscoll, 2015)

Πίνακας 4: Μελέτη 2014:Επιπολασμός Μ.Σ. από κάποιες χώρες ανά τον κόσμο

<b>Χώρα</b>	<b>n</b>	<b>Ηλικία (Χρόνια)</b>	<b>NCEP ΑΤΡΙΠΙ</b>	<b>IDF</b>
<i>Αυστραλία</i>	11,247	≥25	24.4% άντρες 19.9% γυναίκες	34.4% άντρες 27.4% γυναίκες
<i>Κίνα</i>	15,540	35–74	9.8% άντρες 17.8% γυναίκες	N/R N/R
<i>Δανία</i>	2,493	41–72	18.6% άντρες 14.3% γυναίκες	23.8% άντρες 17.5% γυναίκες
<i>Ινδία</i>	2,350	>20	17.1% άντρες 19.4% γυναίκες	N/R N/R
<i>Ιρλανδία</i>	890	50–69	21.8% άντρες 21.5% γυναίκες	N/R N/R
<i>Νότια Κορέα</i>	40,698	20–28	5.2% άντρες 9.05% γυναίκες	N/R N/R
<i>Η.Π.Α.</i>	3,601	>20	33.7% άντρες 35.4% γυναίκες	39.9% άντρες 38.1% γυναίκες

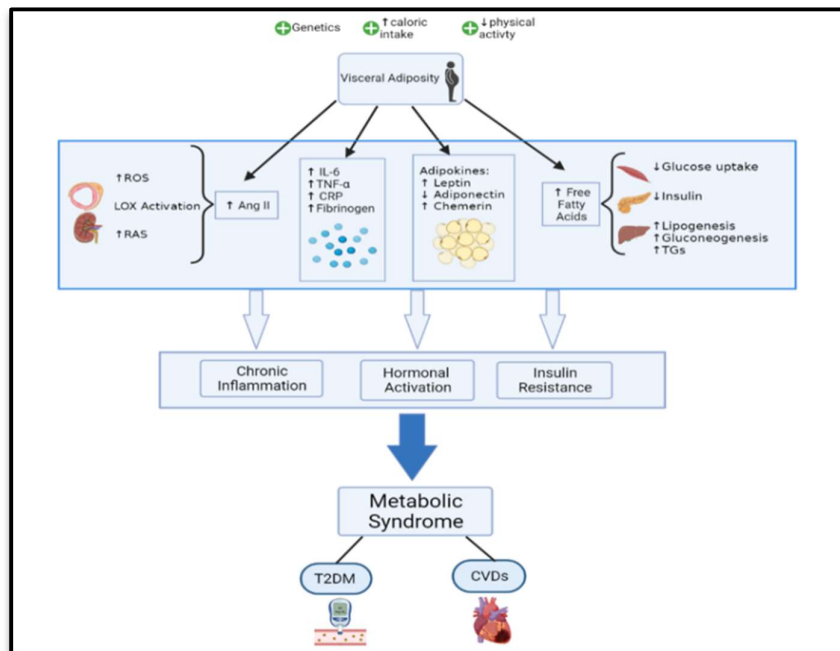
Τέλος, στην Ελλάδα, παρατηρείται ότι το 19,8% του συνολικού δείγματος κλινικών μελετών παρουσιάζει Μ.Σ. Επιπλέον, υπάρχει σημαντική διαφορά ανά φύλο, καθώς το 25% των ανδρών και το 15% των γυναικών εμφανίζουν Μ.Σ., βάσει του κριτηρίου NCEP ΑΤΡΙΠΙ. Σύμφωνα με πιο σύγχρονες



μελέτες, ο επιπολασμός του Μ.Σ. φτάνει σε ελαφρώς υψηλότερα ποσοστά με βάση τα κριτήρια του NCEP ATPIII (20-30%) σε σχέση με τα κριτήρια του IDF, γεγονός που οφείλεται τόσο στις πιο αυστηρές απαιτήσεις για παχυσαρκία του IDF όσο και στο ότι παρουσιάζονται διαφορές ως προς την κλινική διαχείριση και την πρόληψη των καρδιαγγειακών νοσημάτων και του σακχαρώδη διαβήτη. (Eva Sulistiowati, 2016)

### 1.2.2 Παθοφυσιολογία

Η παθοφυσιολογία του Μεταβολικού Συνδρόμου (Μ.Σ.) συντελείται από πολλούς και πολύπλοκους μηχανισμούς, οι οποίοι δεν έχουν ακόμη απόλυτα διασαφηνιστεί και συνεχίζεται να ερευνάται αν αποτελεί μια ενιαία παθολογία ή πολλές ξεχωριστές. Πέρα από γενετικά και περιβαλλοντικά αίτια, ιδιαίτερα κρίσιμοι παράγοντες, σύμφωνα με τους Gracia Fahed et al. (2022), είναι και ο τρόπος ζωής, όπου μπορεί να περιλαμβάνει υπερκατανάλωση τροφής ή και έλλειψη σωματικής δραστηριότητας, κάπνισμα, αλκοόλ. Από αυτούς, κυριότερος παράγοντας αποτελεί η υψηλή πρόσληψη σε θερμίδες, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε κοιλιακή παχυσαρκία και να μετενεργοποιήσει τα μονοπάτια και τις βιολογικές πορείες για την ανάπτυξη Μ.Σ. Άλλοι μηχανισμοί με ιδιαίτερα σημαντική συμβολή είναι η αντίσταση στην ινσουλίνη, η χρόνια φλεγμονή και η νευροορμονική ενεργοποίηση, οι οποίοι εγείρουν την ανάπτυξη καρδιαγγειακών νοσημάτων και διαβήτη τύπου 2. (Gracia Fahed, 2022)



Εικόνα 3: Κύριοι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί

## **Ινσουλινοαντίσταση**

Η αντίσταση στην ινσουλίνη, που αποτελεί βασικό παράγοντα για την ανάπτυξη του μεταβολικού συνδρόμου (Μ.Σ.), οδηγεί σε αύξηση των κυκλοφορούντων ελεύθερων λιπαρών οξέων (free fatty acids, FFA). Αυτό διαταράσσει τη φυσιολογική δράση της ινσουλίνης, αναστέλλοντας τη λιπόλυση και προωθώντας τη γλυκονεογένεση. Η προκύπτουσα υπερινσουλιναμική κατάσταση οδηγεί τελικά σε μειωμένη έκκριση ινσουλίνης και δυσλειτουργία των β-κυττάρων. Η αντίσταση στην ινσουλίνη συμβάλλει επίσης στην υπέρταση μέσω της απώλειας της αγγειοδιασταλτικής δράσης της ινσουλίνης και της αγγειοσύσπασης που προκαλείται από τα FFAs. Οι σπλαχνικές εναποθέσεις λίπους έχουν μεγαλύτερο αντίκτυπο στην αντίσταση στην ινσουλίνη σε σύγκριση με το υποδόριο λίπος, καθώς απελευθερώνουν περισσότερα FFAs στο ήπαρ. Έτσι, καταλήγει σε αλλοιωμένο μεταβολισμό των λιπιδίων, με αυξημένη σύνθεση της πλούσιας σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεΐνης, πολύ χαμηλής πυκνότητας και της μικρής πυκνής LDL χοληστερόλης, μαζί με μειωμένη HDL χοληστερόλη. (Yogita Rochlani, 2017)

## **Νευροορμονική ενεργοποίηση**

Η ανακάλυψη των ενδοκρινικών και ανοσολογικών ιδιοτήτων των λιποκυττάρων έχει δώσει πληροφορίες για την ανάπτυξη του Μεταβολικού Συνδρόμου (Μ.Σ.). Οι αδιποκίνες που απελευθερώνονται από τον σπλαχνικό λιπώδη ιστό, όπως η λεπτίνη και η αδιπονεκτίνη, παίζουν ρόλο στο Μ.Σ. και στην καρδιαγγειακή νόσο (CVD). Η λεπτίνη, η οποία ελέγχει την ενεργειακή ισορροπία και ενεργοποιεί τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, σχετίζεται με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο. Η αδιπονεκτίνη, από την άλλη πλευρά, έχει αντιφλεγμονώδεις και αντιαθηρογόνες ιδιότητες που εξουδετερώνουν τις επιδράσεις της λεπτίνης. Η μειωμένη αδιπονεκτίνη και τα υψηλότερα επίπεδα λεπτίνης συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακής νόσου.

Μια άλλη οδός που συμβάλλει στο Μ.Σ. είναι το σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης (RAS). Η αγγειοτενσίνη II, που παράγεται από τον λιπώδη ιστό και επιδεινώνεται στην παχυσαρκία και την αντίσταση στην ινσουλίνη, οδηγεί στη δημιουργία δραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) και σε διάφορες αρνητικές επιδράσεις στο ενδοθήλιο και στα κύτταρα των λείων μυών των αγγείων. Αυτή η αλληλεπίδραση μεταξύ RAS, ROS και συναφών παραγόντων συμβάλλει στην ανάπτυξη υπέρτασης, δυσλιπιδαιμίας, διαβήτη, καρδιακής υπερτροφίας και καρδιαγγειακής νόσου.

## **Οξειδωτικό Stress και Φλεγμονή**

Το Μ.Σ. θεωρείται προφλεγμονώδης και προθρομβωτική κατάσταση, με τον λιπώδη ιστό να διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στην παθοφυσιολογία του. Ο λιπώδης ιστός, ενεργώντας ως ενδοκρινικό και

παρακρινικό όργανο, υπόκειται σε υπερτροφία και υπερπλασία λόγω διατροφικής υπερβολής, προκαλώντας υποξία, κυτταρική νέκρωση και διήθηση μακροφάγων που παράγουν προφλεγμονώδεις μεσολαβητές, όπως η ιντερλευκίνη-6 (IL-6) και ο παράγοντας νέκρωσης όγκων  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Η IL-6, σημαντική για την αντίσταση στην ινσουλίνη και τον διαβήτη τύπου 2, συσχετίζεται με την υπέρταση, την αθηροσκλήρωση και καρδιαγγειακά συμβάντα. Ο TNF- $\alpha$  εμπλέκεται στην αθηροσκλήρωση και την καρδιακή ανεπάρκεια, ενώ θεραπείες που τον στοχεύουν βελτιώνουν την ψωρίαση και την hidradenitis suppurativa, οι οποίες συνδέονται επίσης με το Μ.Σ..

Ο αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου-1 (PAI-1), προθρομβωτικός μεσολαβητής, είναι αυξημένος σε ασθενείς με Μ.Σ. και διαβήτη τύπου 2, συσχετιζόμενος με τη σοβαρότητα του συνδρόμου. Ο PAI-1 εμπλέκεται τόσο στην αθηροθρόμβωση όσο και στην ανάπτυξη του λιπώδους ιστού και στη σηματοδότηση της ινσουλίνης.

Το οξειδωτικό στρες αναφέρεται στην ανισορροπία μεταξύ της αυξημένης παραγωγής αντιδραστικών ειδών οξυγόνου και αζώτου (ROS/RNS) και της μειωμένης αντιοξειδωτικής ικανότητας σε ένα βιολογικό σύστημα. Αυτή η κατάσταση οδηγεί σε βλάβες στη δομή και λειτουργία βιομορίων, όπως πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, πρωτεΐνες και νουκλεϊκά οξέα, λόγω διαφόρων παραγόντων όπως η μιτοχονδριακή δραστηριότητα, η έκθεση σε τοξικές ουσίες, το κάπνισμα, η περιβαλλοντική μόλυνση και η έντονη σωματική άσκηση. Η παχυσαρκία προκαλεί οξειδωτικό στρες, αυξάνοντας τα αντιδραστικά είδη οξυγόνου και την έκφραση της οξειδάσης NADPH, ενώ μειώνει τα αντιοξειδωτικά ένζυμα. Αυτός ο μηχανισμός συμβάλλει στη δυσλειτουργία των λιποκυττάρων, επιδεινώνοντας το Μ.Σ. (Bojarczuk, 2023), (Aurelia Magdalena Pisoschi, 2015), (Younis Ahmad Hajam, 2022)

Η αδιπονεκτίνη, αντιφλεγμονώδης κυτταροκίνη που εκκρίνεται από τα λιποκύτταρα, λειτουργεί στην ευαισθητοποίηση στην ινσουλίνη και την αντι-αθηρογένεση. Τα επίπεδά της μειώνονται στο Μ.Σ., επιτρέποντας στα αντιδραστικά είδη οξυγόνου και στην οξειδωμένη λιποπρωτεϊνική χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας (OxLDL) να προκαλέσουν οξειδωτικό καταρράκτη, οδηγώντας σε απόπτωση και κυτταρική βλάβη. (Emma McCracken, 2017)

### 1.3 Διατροφή και Μεταβολικό Σύνδρομο

Σύμφωνα με τους Sara Castro-Barquero et al. (2020) οι διαιτητικές παρεμβάσεις που επικεντρώνονται σε ένα μόνο θρεπτικό συστατικό παρουσιάζουν αρκετούς περιορισμούς. Ως εκ τούτου, οι διαιτητικές συμβουλές πρέπει να επικεντρώνονται στο συνολικό διατροφικό πρότυπο ως μέρος της θεραπείας του μεταβολικού συνδρόμου (Μ.Σ.). Σύγχρονα ερευνητικά δεδομένα υποστηρίζουν την εφαρμογή διατροφικών παρεμβάσεων που βασίζονται στην κατανάλωση υγιεινών τροφίμων, αντί για δίαιτες που επικεντρώνονται στον περιορισμό θερμίδων ή μεμονωμένων θρεπτικών συστατικών. (Sara Castro-Barquero, 2020)

Στον πίνακα 5 παρατίθεται διατροφικά πρότυπα και επίδρασή τους στα άτομα με Μ.Σ.

Πίνακας 5: Διατροφικά πρότυπα και επίδραση στο Μ.Σ., 1. Μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, MUFA, έξτρα παρθένο ελαιόλαδο, EVOO, υδατάνθρακες, CH, καρδιαγγειακή νόσος, CVD, αρτηριακή πίεση, BP, σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2. T2DM, διαιτητικές προσεγγίσεις για τη διακοπή της υπέρτασης, DASH, ακόρεστα λιπαρά οξέα, UFAs, δείκτης μάζας σώματος, BMI, διαστολική αρτηριακή πίεση, DBP- χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας, LDL-c- χοληστερόλη λιποπρωτεϊνών υψηλής πυκνότητας, HDL-C, γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη, HbA1c- μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, MUFA.

Διατροφικό πρότυπο	Διατροφική κατανόηση	Βελτίωση των κριτηρίων MetS	Ref.
Μεσογειακή διατροφή	<ul style="list-style-type: none"> <li>35-45% kcal/d από το συνολικό λίπος (κυρίως <sup>1</sup>, EVOO MUFA και ξηροί καρποί ως κύρια πηγή)</li> <li>35-45% kcal/d από CH</li> <li>15-18% kcal/d από πρωτεΐνες</li> <li>Συνολικά λίπη 27% kcal/d</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Μείωση της επίπτωσης και των αποτελεσμάτων της καρδιαγγειακής νόσου</li> <li>Μειωμένη ΑΠ (συστολική και διαστολική)</li> <li>Αντίστροφη συσχέτιση με τη θνησιμότητα</li> <li>Βελτίωση της δυσλιπιδαιμίας</li> <li>Μειωμένη επίπτωση του T2DM</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>[22-29]</li> <li>[15,26]</li> <li>[24,30]</li> <li>[26]</li> <li>[12,22,23,29,31]</li> </ul>
Δίαιτα DASH	<ul style="list-style-type: none"> <li>Κορεσμένα λίπη 6% kcal/d</li> <li>Διατροφική χοληστερόλη</li> <li>CH 55% kcal/d</li> <li>Πρωτεΐνες 18% kcal/d</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Μείωση της ΑΠ (συστολική και διαστολική)</li> <li>Μείωση του ΔΜΣ και της περιφέρειας μέσης</li> <li>Βελτίωση του καρδιομεταβολικού προφίλ</li> <li>Μείωση της επίπτωσης του T2DM</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>[32,33]</li> <li>[34,35]</li> <li>[36-39]</li> <li>[40]</li> </ul>
Διατροφή με βάση τα φυτά	<ul style="list-style-type: none"> <li>Μείωση ή περιορισμός των τροφίμων ζωικής προέλευσης</li> <li>Υψηλή πρόσληψη τροφίμων φυτικής προέλευσης</li> <li>Λιπαρό προφίλ πλούσιο σε UFAs</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Μείωση της ΑΠ (συστολική και διαστολική)</li> <li>Μειωμένο σωματικό βάρος και κίνδυνος παχυσαρκίας</li> <li>Μείωση του κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου</li> <li>Μείωση της συνολικής θνησιμότητας</li> <li>Μειωμένος κίνδυνος T2DM</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>[41,42]</li> <li>[43-45]</li> <li>[46]</li> <li>[43,47,48]</li> <li>[43,47,48]</li> </ul>
Δίαιτες χαμηλής CH και δίαιτες πολύ χαμηλής CH (κετογονικές δίαιτες)	<ul style="list-style-type: none"> <li>&lt;50% kcal/d από υδατάνθρακες και &lt;10% kcal/d από CH σε κετογονικές δίαιτες</li> <li>Υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (20-30% kcal/d)</li> <li>Υψηλή πρόσληψη λίπους (30-70% kcal/d)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Απόλεια βάρους και διατήρηση της απώλειας βάρους</li> <li>Μείωση της DBP</li> <li>Μείωση των επιπέδων της LDL-c και των τριγλυκεριδίων</li> <li>Αύξηση των επιπέδων HDL-c</li> <li>Βελτίωση της αντίστασης στην ινσουλίνη</li> <li>Μείωση των επιπέδων της HbA1c</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>[49-52]</li> <li>[52]</li> <li>[49-51]</li> <li>[49-51]</li> <li>[53,54]</li> <li>[49,51]</li> </ul>
Διατροφή χαμηλών λιπαρών	<ul style="list-style-type: none"> <li>&lt;30% kcal/d από ολικά λιπαρά (&lt;10% κορεσμένα λιπαρά)</li> <li>15-17% kcal/d από πρωτεΐνες</li> <li>50-60% kcal/d από CH</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Μείωση της ΑΠ (συστολική και διαστολική)</li> <li>Βραχυπρόθεσμη βελτίωση του προφίλ χοληστερόλης</li> <li>Βραχυπρόθεσμη απώλεια βάρους</li> <li>Μειωμένος κίνδυνος συνολικής θνησιμότητας</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>[33,55]</li> <li>[33,55]</li> <li>[55]</li> <li>[56]</li> </ul>
Διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες	<ul style="list-style-type: none"> <li>Υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (20-30% kcal/d) ή 1,34-1,50 g/Kg σωματικού βάρους/d από πρωτεΐνες</li> <li>Χαμηλή CH (40-50% kcal/d)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Μείωση των επιπέδων τριγλυκεριδίων</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>[57,58]</li> </ul>

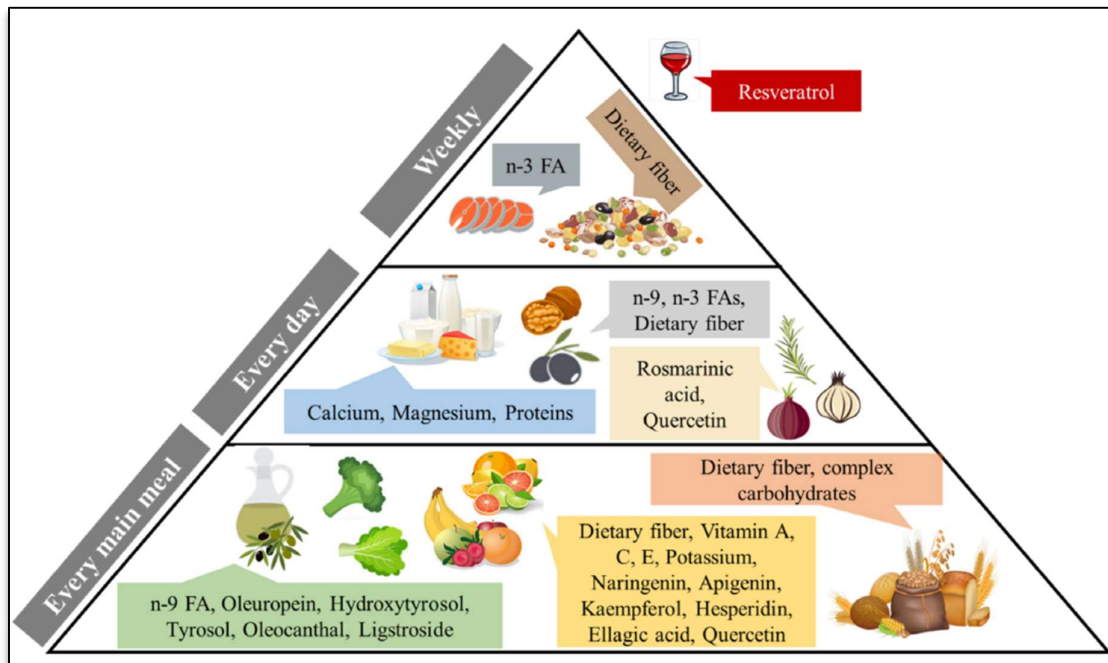
#### Μεσογειακή Διατροφή

Η Μεσογειακή Διατροφή (Μ.Δ.) αποτελεί ένα διατροφικό πρότυπο που ακολουθείται σε χώρες της Μεσογείου και έπειτα από μελέτες φημίζεται για τα οφέλη που παρέχει όχι μόνο για τη διατήρηση της υγείας, αλλά και για την πρόληψη ασθενειών, όπως το Μεταβολικό Σύνδρομο, τα καρδιολογικά νοσήματα και ο Διαβήτης τύπου 2. (Di Daniele, 2017) (Franquesa, 2019) Η Μ.Δ. αποτελεί μια διατροφή πλούσια σε δημητριακά ολικής άλεσης, φρούτα, λαχανικά, όσπρια, μέτρια πρόσληψη γαλακτοκομικών,

πουλερικά, θαλασσινά και χαμηλή πρόσληψη κόκκινου κρέατος. Σημαντική θεωρείται και η καθημερινή κατανάλωση ελαιόλαδου ως κύρια πηγή λίπους. Πέρα από τις ευεργετικές ιδιότητες για την υγεία, το ελαιόλαδο παίζει καθοριστικό ρόλο στη Μ.Δ., καθώς συμβάλλει στην υψηλή κατανάλωση λαχανικών με ποικίλους τρόπους, όπως σε μορφή σαλάτας ή και μαγειρεμένα. (B. Panagiotakos, 2006)

Ο συνδυασμός αυτών των τροφίμων που διαμορφώνουν την Μ.Δ. παρέχει στον άνθρωπο ένα διατροφικό πρότυπο, το οποίο είναι πλούσιο σε σύνθετους υδατάνθρακες και φυτικές ίνες, έχει χαμηλή περιεκτικότητα σε κορεσμένα λιπαρά οξέα και υψηλά ποσοστά σε ακόρεστα. Ακόμη αποτελεί σημαντική πηγή -β καροτένιου, βιταμινών C και E, πολυφαινόλων, αντιοξειδωτικών και ιχνοστοιχείων. (Tosti V. Bertozzi, 2018)

Το Μεσογειακό πρότυπο διατροφής αναπαρίσταται σε μια πυραμίδα (τρίγωνο), κατά της οποίας η βάση αναφέρεται σε τρόφιμα τα οποία συνίσταται να καταναλώνονται συχνότερα και στην κορυφή αναφέρονται τρόφιμα τα οποία συνίσταται να καταναλώνονται πιο σπάνια. Τα υπόλοιπα τρόφιμα παίρνουν ενδιάμεσες θέσεις. Στην παρακάτω πυραμίδα δεν προσδιορίζεται η ακριβής ποσότητα κατανάλωσης των τροφίμων, αλλά μπορεί να αντιληφθεί συγκριτικά με τα υπόλοιπα τρόφιμα, ο όγκος που καταλαμβάνεται για καθένα από αυτά. (B. Panagiotakos, 2006)



Εικόνα 4: Πυραμίδα Μεσογειακής Διατροφής (Dagi T, 2022)

Πολλές είναι οι μελέτες οι οποίες έχουν δείξει την ευεργετική δράση της Μεσογειακής Διατροφής (Μ.Δ.) με το Μεταβολικό Σύνδρομο (Μ.Σ.). Ειδικότερα:

### **Επίδραση στην Παχυσαρκία**

Ένας από τους κρίσιμους παράγοντες του Μ.Σ. είναι η κεντρική παχυσαρκία, όπου χαρακτηρίζεται από τη συσσώρευση λίπους από την κοιλιακή χώρα, γύρω από τα εσωτερικά όργανα και είναι στενά συνδεδεμένη με την ινσουλινοαντίσταση, η οποία κατ' επέκταση αποτελεί ένα από τους βασικότερους μηχανισμούς που συνδέει την παχυσαρκία με την υψηλή πιθανότητα εμφάνισης Διαβήτη τύπου 2 και με τις καρδιαγγειακές παθήσεις.

Η Μεσογειακή Διατροφή παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην μείωση της κεντρικής παχυσαρκίας καθώς παρουσιάζει υψηλή περιεκτικότητα σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα (από το ελαιόλαδο), φυτικές ίνες ( από φρούτα και λαχανικά) και αντιοξειδωτικά. Μέσω της ισορροπημένης διατροφής που προάγεται από τη Μ.Δ. βελτιώνεται ο μεταβολικός ρυθμός και η διατήρηση ενός κατάλληλου για την καλή υγεία βάρους. Εξίσου σημαντικό ρόλο στην Μ.Δ. έχει η κατανάλωση συνδυασμού τροφίμων όπως φρούτα, λαχανικά, ξηροί καρποί, ψάρια και ελαιόλαδο, καθώς καταπολεμούν τη φλεγμονή και την αντίσταση στην ινσουλίνη. Έτσι, ακολουθώντας αυτό το διατροφικό πρότυπο μειώνεται και η κατανάλωση κορεσμένων λιπαρών οξέων, τα οποία είθισται να αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης παχυσαρκίας. Άλλες έρευνες έδειξαν πως άτομα που ασπάζονται την Μ.Δ., παρατηρείται πως έχουν μικρότερο Δείκτη Μάζας Σώματος (Δ.Μ.Σ.) και μικρότερη περιφέρεια μέσης σε σχέση με άτομα που ακολουθούν διαφορετικά διατροφικά πρότυπα. (Alberti KG, 2006), (Nancy Babio, 2009), (He K, 2004), (Berra Rastrollo M, 2006), (Pereira MA, 2005)

### **Επίδραση στην Δυσλιπιδαιμία**

Ένας άλλος πολύ σημαντικός παράγοντας για Μ.Σ. είναι η δυσλιπιδαιμία, όπου χαρακτηρίζεται από ανωμαλίες στα επίπεδα λιπιδίων στο αίμα και αυξάνει την πιθανότητα κινδύνου για καρδιαγγειακές παθήσεις. Ειδικότερα, παρουσιάζει αυξημένα επίπεδα ολικής χοληστερόλης, LDL-χοληστερόλης ("κακής" χοληστερόλης) και τριγλυκεριδίων, καθώς και χαμηλά επίπεδα HDL-χοληστερόλης ("καλής" χοληστερόλης). Αυτές οι ανισορροπίες αυξάνουν τον κίνδυνο αθηροσκλήρωσης, δηλαδή τη συσσώρευση λιπαρών πλακών στα τοιχώματα των αρτηριών, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρά καρδιαγγειακά συμβάντα, όπως καρδιακή προσβολή και εγκεφαλικό επεισόδιο.

Έρευνες έδειξαν πως η Μ.Δ. συμβάλει θετικά στα επίπεδα λιπιδίων στο αίμα, μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο καρδιαγγειακών παθήσεων. Σύμφωνα με τη Μ.Δ., η κατανάλωση ελαιόλαδου, που είναι πλούσιο σε μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, χαμηλώνει τα επίπεδα της LDL-χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων και ταυτόχρονα αυξάνει ή διατηρεί τα επίπεδα της HDL-χοληστερόλης. Κατ' αυτόν τον τρόπο παρατηρείται βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ. Τα φρούτα, τα λαχανικά και οι ξηροί καρποί είναι επίσης συστατικά της διατροφής, τα οποία συμβάλλουν στη μείωση της LDL-χοληστερόλης. Τέλος, η κατανάλωση ιχθυερών, τα οποία είναι πλούσια σε ω-3 λιπαρά οξέα, παρουσιάζουν καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες μειώνοντας τα επίπεδα τριγλυκεριδίων στο αίμα, έχουν αντιφλεγμονώδη δράση και μπορούν να αυξήσουν τα επίπεδα της HDL-χοληστερόλης. (Salas-Salvadó J, 2008), (Ann

C. Skulas-Ray, 2008), (Nancy Babio, 2009) (Ramón Estruch, 2016), (Ana Karina Zambrano, Impact of fundamental components of the Mediterranean diet on the microbiota composition in blood pressure regulation, 2024)

### **Επίδραση στην Αντίσταση στην ινσουλίνη και το Διαβήτη Τύπου 2**

Η αντίσταση την ινσουλίνη αποτελεί ένα βασικό παράγοντα στην ανάπτυξη διαβήτη τύπου 2 και αποτελεί βασικό χαρακτηριστικό του μεταβολικού συνδρόμου. Πολύ σημαντικό ρόλο στη διατροφή παίζει η ποιότητα του λίπους, καθώς επηρεάζει την αντίσταση στην ινσουλίνη και κατ' επέκταση και τον διαβήτη. Τα κορεσμένα λιπαρά οξέα και τα trans- λιπαρά οξέα αυξάνουν τον κίνδυνο ανάπτυξης αντίστασης στην ινσουλίνη και το διαβήτη, ενώ τα μονοακόρεστα και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα έχουν προστατευτικό ρόλο για αυτές τις καταστάσεις. Έτσι, σύμφωνα με έρευνες, η αντικατάσταση κορεσμένων λιπαρών με μονοακόρεστα βελτιώνουν την αντίσταση στην ινσουλίνη.

Η Μ.Δ αποδεδειγμένα μπορεί να μειώσει την αντίσταση στην ινσουλίνη και τον κίνδυνο ανάπτυξης διαβήτη τύπου 2 μέσω της ευεργετικής επίδρασης των συστατικών της. Ειδικότερα, η κατανάλωση τροφίμων ολικής άλεσης και τροφών πλούσιων σε φυτικές ίνες συμβάλλει στην μείωση των επιπέδων ινσουλίνης στο αίμα και βελτίωση της ινσουλινοαντίστασης. Ταυτόχρονα, μειώνουν τον γλυκαιμικό δείκτη, μειώνοντας έτσι και τα επίπεδα γλυκόζης, όπου κι αυτό συμβάλλει με τη σειρά του στην αύξηση ευαισθησίας στην ινσουλίνη. Επιπλέον, η κατανάλωση ελαιόλαδου και καρπών, τα οποία είναι πλούσια σε μονοακόρεστα και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα αντίστοιχα, σχετίζονται με την βελτιωμένη ευαισθησία στην ινσουλίνη και την μειωμένη εμφάνιση κινδύνου για διαβήτη τύπου 2. (Nancy Babio, 2009), (McKeown NM, 2004), (Lau C, 2005), (Liese AD, 2004) (Sheida Zeraattalab-Motlagh, 2022), (Milenkovic, et al., 2021), (Milenkovic T, 2021), (Tatjana Milenkovic, 2021)

### **Επίδραση στην Αρτηριακή Πίεση**

Η υπέρταση από αποτελεί έναν ακόμη πολύ σημαντικό παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακά νοσήματα και συμβάλλει στην εμφάνιση Μ.Σ.

Μελέτες έδειξαν πως η καλή διατροφή και κυρίως η Μ.Δ. παρουσιάζει σημαντική επίδραση στην αρτηριακή πίεση. Η Μ.Δ. περιλαμβάνει υψηλή περιεκτικότητα σε φρούτα, λαχανικά, δημητριακά ολικής άλεσης και μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, από το ελαιόλαδο. Πέρα από αυτά, χαρακτηρίζεται και από χαμηλή πρόσληψη νατρίου και ταυτόχρονη αυξημένη κατανάλωση καλίου, συμβάλλοντας έτσι στην πρόληψη και διαχείριση της υπέρτασης, μειώνοντας την πίεση. Κλινικές έρευνες παρατήρησαν ότι η παρουσία μαγνησίου σε φυλλώδη λαχανικά και σε ξηρούς καρπού, μπορεί να προκαλέσει μικρή μείωση της αρτηριακής πίεσης μέσω αγγειοδιαστολής. Ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο φαίνεται να παίζουν και τα γαλακτοκομικά προϊόντα που είναι χαμηλά σε λιπαρά, καθώς είναι πλούσια σε κάλιο,

μαγνήσιο, ασβέστιο και περιέχουν ορισμένα πεπτίδια που προέρχονται από πρωτεΐνες του του γάλακτος με αποδεδειγμένες υποτασικές ιδιότητες. (Roberto Martinez-Lacoba, 2018), (Ana Karina Zambrano, 2024), (Angeliki Papadaki, 2020), (Salas-Salvadó J, 2008)



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2<sup>ο</sup> - ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΤΡΟΦΙΜΑ ΚΑΙ ΣΝΑΚ ΜΑΝΙΤΑΡΙΩΝ



## 2.1 Λειτουργικά Τρόφιμα

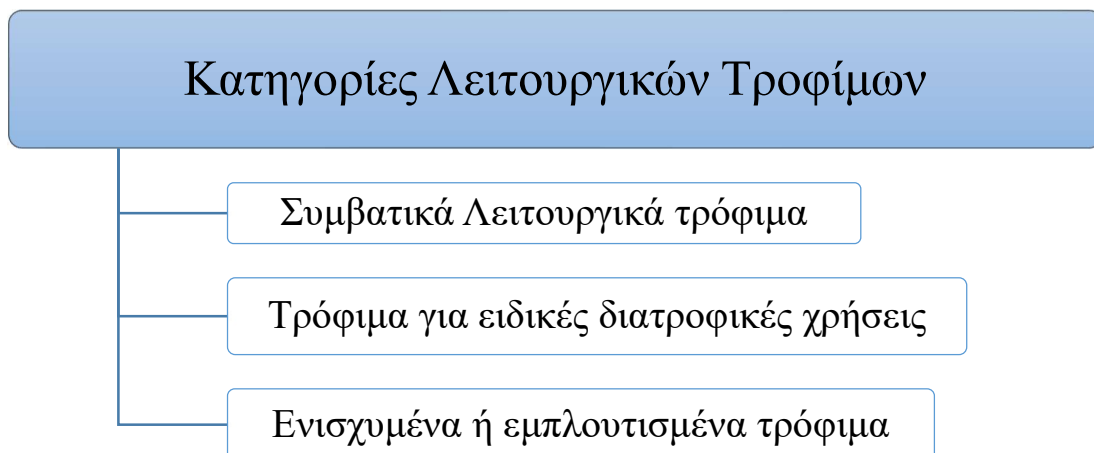
Η σύγχρονη καθημερινότητα με τον γρήγορο τρόπο ζωής, την ακατάλληλη διατροφή και την μειωμένη σωματική άσκηση, έφερε ως αποτέλεσμα την αυξημένη εμφάνιση μη λοιμωδών νόσων, όπως ο διαβήτης τύπου 2, η παχυσαρκία, η υπέρταση, τα καρδιαγγειακά νοσήματα, καρκίνος κ.α., οι οποίες προξενούν πολλά άλλα προβλήματα υγείας, τα οποία ενδέχεται να οδηγήσουν ακόμα και στον θάνατο. Έτσι, δημιουργήθηκε η ανάγκη ανάπτυξης καινοτόμων τροφίμων, τα οποία με φυσικό τρόπο, μέσω των βιολειτουργικών συστατικών τους, να μπορούν να παρέχουν θετικά οφέλη ως προς την υγεία των ανθρώπων.

### 2.1.1 Ορισμός

Σύμφωνα με το Κέντρο Λειτουργικών Τροφίμων (Κέντρο Λειτουργικών Τροφίμων), ως «Λειτουργικά Τρόφιμα» ορίζονται τα φυσικά ή επεξεργασμένα τρόφιμα που περιέχουν βιολογικά ενεργές ενώσεις, οι οποίες, σε καθορισμένες, αποτελεσματικές, μη τοξικές ποσότητες, παρέχουν κλινικά αποδεδειγμένο και τεκμηριωμένο όφελος για την υγεία χρησιμοποιώντας συγκεκριμένους βιοδείκτες, για την προώθηση της βέλτιστης υγείας και τη μείωση του κινδύνου χρόνιων ή ιογενών ασθενειών, καθώς και τη διαχείριση των συμπτωμάτων τους.

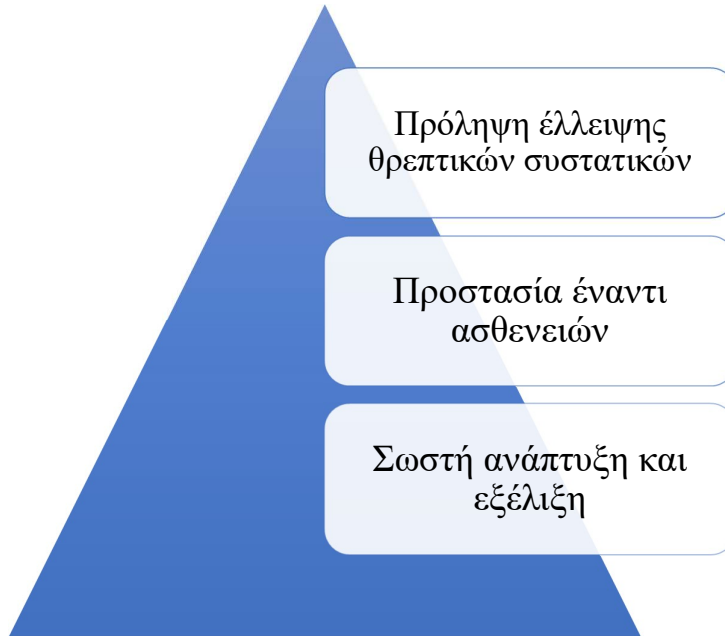
Βέβαια, ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων ( Food and Drug Administration, FDA) (Food and Drug Administration) αν και αναγνωρίζει πως ορισμένα συστατικά τροφίμων έχουν οφέλη για την υγεία στην αντιμετώπιση ασθενειών, δεν αναγνωρίζει τα λειτουργικά τρόφιμα ως μια ξεχωριστή κατηγορία. Από την άλλη μεριά, η Ευρωπαϊκή Ένωση υποστηρίζει πως εάν τεκμηριωθεί ότι ένα προϊόν διατροφής επηρεάζει θετικά μια ή περισσότερες στοχευμένες λειτουργίες του οργανισμού, τότε θεωρείται λειτουργικό τρόφιμο.

*Πίνακας 6: Κριτήρια Λειτουργικών Τροφίμων*



## 2.1.2 Πλεονεκτήματα Λειτουργικών Τροφίμων για την Υγεία του Ανθρώπου

Έρευνες έχουν δείξει πως τα λειτουργικά τρόφιμα έχουν εμφανή πλεονεκτήματα για την υγεία του ανθρώπου συμβάλλοντας ως εξής:



### ➤ Πρόληψη έλλειψης θρεπτικών συστατικών

Τα λειτουργικά τρόφιμα είναι πλούσια σε σημαντικά θρεπτικά συστατικά, κυρίως σε βιταμίνες, μέταλλα, λιπαρά οξέα και φυτικές ίνες. Μια διατροφή που απαρτίζεται από κατανάλωση ποικιλίας λειτουργικών τροφίμων εξασφαλίζει την πρόσληψη των απαραίτητων θρεπτικών συστατικών που χρειάζεται ο ανθρώπινος οργανισμός και ταυτόχρονα προστατεύουν από την έλλειψη των συστατικών αυτών. (Ajmera, 2020)

Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες παρατηρείται σημαντική μείωση έλλειψης θρεπτικών συστατικών έπειτα από κατανάλωση λειτουργικών τροφίμων. Ειδικότερα, τα λειτουργικά τρόφιμα μπορούν να διαδραματίσουν κρίσιμο ρόλο στην αντιμετώπιση συγκεκριμένων ελλείψεων θρεπτικών συστατικών στοχεύοντας σε κοινές ανεπάρκειες όπως η βιταμίνη D, ο σίδηρος και τα ω-3 λιπαρά οξέα. Η ενσωμάτωση λειτουργικών τροφίμων, όπως τα εμπλουτισμένα γαλακτοκομικά προϊόντα, τα δημητριακά και οι φυτικές πηγές μπορεί να ενισχύσει σημαντικά την πρόσληψη αυτών των κρίσιμων θρεπτικών συστατικών, συμβάλλοντας στην καλύτερη συνολική υγεία και τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος. (Amalia Yanni, 2024), (Stephen, 2023)

### ➤ Προστασία έναντι ασθενειών

Ένας ακόμη ρόλος των θρεπτικών συστατικών των λειτουργικών τροφίμων είναι η προστατευτική τους δράση για την καταπολέμηση ασθενειών.

Οι ερευνητές L. Sharma et al. υποστηρίζουν πως η παρουσία ενισχυμένων αντιοξειδωτικών στα τρόφιμα συμβάλει στην πρόληψη κυτταρικής βλάβης και ορισμένων χρόνιων νοσημάτων, όπως καρδιακών παθήσεων, καρκίνο και διαβήτη, λόγω της εξουδετέρωσης ελευθέρων ριζών από αυτά. (Sharma, 2022) Άλλες μελέτες αναφέρουν πως έχει αποδειχθεί η μείωση της φλεγμονής, η ενίσχυση της λειτουργίας του εγκεφάλου και η προαγωγή της υγείας της καρδιάς οφείλονται σε ενισχυμένα με ω-3 λιπαρά οξέα τρόφιμα. (Kolanowski, 2022)

Σύμφωνα με τη μελέτη των Y. Sun et al τα αντιοξειδωτικά που βρίσκονται σε τρόφιμα όπως οι ξηροί καρποί, το ελαιόλαδο και ορισμένα φρούτα και λαχανικά μπορούν να βοηθήσουν στον μετριασμό του οξειδωτικού στρες, μειώνοντας τον κίνδυνο παθήσεων όπως οι καρδιακές παθήσεις και οι νευροεκφυλιστικές διαταραχές. (Yong Sun, 2024)

Κάποια άλλα λειτουργικά τρόφιμα είναι πλούσια σε φυτικές ίνες, οι οποίες βοηθούν στον καλύτερο έλεγχο του σακχάρου στο αίμα και σύμφωνα με τους James et al προσδίδουν προστασία από παθήσεις όπως διαβήτη, παχυσαρκία, καρδιακές παθήσεις, εγκεφαλικά επεισόδια, ακόμη και στην πρόληψη πεπτικών διαταραχών, όπως εκκολπωματίτιδας, στομαχικών ελκών, αιμορροΐδων και της γαστροοισοφαγικής παλινδρόμησης. (Anderson JW, 2009)

### ➤ Σωστή ανάπτυξη και εξέλιξη

Κύριος παράγοντας για την σωστή ανάπτυξη και εξέλιξη των παιδιών είναι η κάλυψη των διατροφικών αναγκών, όπου επιτυγχάνεται μέσω της σωστής διατροφής και ιδιαίτερα με την πρόσληψη των απαραίτητων θρεπτικών συστατικών, η πρόσληψη των οποίων μπορεί να ενισχυθεί μέσω λειτουργικών τροφίμων τα οποία είναι εμπλουτισμένα με συγκεκριμένα θρεπτικά συστατικά.

Στην αγορά έχουν κυκλοφορήσει δημητριακά, σπόροι και άλευρα τα οποία είναι ενισχυμένα με βιταμίνες του συμπλέγματος Β, όπως το φολικό οξύ, το οποίο είναι απαραίτητο για την υγεία του εμβρύου. Το φολικό οξύ είναι σημαντικό να βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα διαφορετικά αν είναι σε μειωμένη περιεκτικότητα αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης ανωμαλιών του νευρικού συστήματος, οι οποίες με τη σειρά τους μπορεί να επηρεάσουν τον εγκέφαλο, το νωτιαίο μυελό ή τη σπονδυλική στήλη. (Ami N, 2016), (Greenberg JA, 2011), (Labeling, 2003)

Βέβαια υπάρχουν και άλλα εξίσου σημαντικά θρεπτικά συστατικά που παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και την εξέλιξη με τα οποία είναι εμπλουτισμένα λειτουργικά τρόφιμα, όπως ω-3 λιπαρά οξέα, σίδηρος και βιταμίνη Β12. (Janna L. Morrison, 2016)

### 2.1.3 Βιολειτουργικά Συστατικά και Βιολογική Δράση

Ως βιολειτουργικά ή βιοενεργά συστατικά ορίζονται οι ουσίες εκείνες, οι οποίες είναι επιστημονικά αποδεδειγμένα πως παρουσιάζουν οφέλη για την υγεία. Τα βιολειτουργικά συστατικά αποτελούν βιοενεργές ενώσεις που απαντώνται σε πολλά τρόφιμα τόσο ζωικής όσο και φυτικής προέλευσης. Βρίσκονται συνήθως στα συμβατικά τρόφιμα όπου η παρουσία τους εκεί είναι φυσική απουσία επιπρόσθετης επεξεργασίας, όπως ενίσχυση ή αφαίρεση κάποιου συστατικού. Συστηματικές μελέτες έχουν δείξει πως οι βιοενεργές ενώσεις έχουν ευεργετική δράση ως προς την υγεία του ανθρώπου καθώς μειώνουν τον κίνδυνο εμφάνισης ασθενειών, βοηθούν στην πρόληψη και τη βελτίωση της λειτουργίας των συστημάτων του οργανισμού. (Κουτελιδάκης, 2019)

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 7) παρατίθεται μια λίστα με λειτουργικά τρόφιμα, τα βιοενεργά τους συστατικά και οι ευεργετικές ιδιότητές τους ως προς την υγεία. (Neelakanta Pillai Padmakumari Soumya, 2021)

Πίνακας 7: Βιολειτουργικά Συστατικά Τροφίμων και Βιολογική τους Δράση

Τρόφιμα	Βιολειτουργικά Συστατικά	Βιολογική τους Δράση
<b>Μπρόκολο, κουνουπίδι, λαχανάκια Βρυξελλών, σκόρδο, κρεμμύδια</b>	Γλυκοσινολικές ενώσεις, σουλφίδια διαλλύλου, ισοθειοκυανικά	Αντιμικροβιακή, ανοσοτροποποιητική, αντικαρκινική, αποτοξινωτική
<b>Σιτάρι</b>	Ανοσοπεπτίδια που προέρχονται από τη γλουτένη	Αυξημένη δράση φυσικών φονικών κυττάρων
<b>Δημητριακά ολικής άλεσης, βρώμη, φρέσκα φρούτα με φλούδα</b>	Διαιτητικές ίνες	Ελάττωση λιπών
<b>Σταφύλια κόκκινο κρασί, τσάι, φρέσκα φρούτα και λαχανικά</b>	Ισοφλαβονοειδή και πολυφαινόλες	Αντιοξειδωτική, ελάττωση λιπιδίων, ανοσοτροποποιητική, αντιοστεοπορωτική, αντικαρκινική
<b>Φυτικά έλαια, ξηροί καρποί, σπόροι</b>	Τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες, φυτοστερόλες	Αντιοξειδωτική, ανοσοτροποποιητική, ελάττωση λιπιδίων
<b>Καρότα, καλαμπόκι, κολοκύθα, πράσινα φυλλώση λαχανικά, πορτοκάλια, παπάγια, κόκκινο φοινικέλαιο</b>	Καροτενοειδή	Αντιοξειδωτικοί ανοσοτροποποιητές
<b>Πράσινα φυλλώδη λαχανικά</b>	Λουτεΐνη (Καροτενοειδές)	Μείωση της ηλιακής εκφύλισης της ωχράς κηλίδας

## 2.2 Μανιτάρια

### 2.2.1 Γενικά χαρακτηριστικά και επιλεγμένα είδη Μανιταριών

Τα μανιτάρια ανήκουν στην κατηγορία των μυκήτων και έχουν βρεθεί ως σήμερα γύρω στα 100.000 είδη. Τα τελευταία χρόνια, λόγω της εξαιρετικής τους γεύσης, της θρεπτικής τους αξίας με αντιοξειδωτική, αντικαρκινική και αντιμικροβιακή δράση και των φαρμακευτικών τους ιδιοτήτων, παρουσιάζουν έντονο επιστημονικό, οικονομικό και καταναλωτικό ενδιαφέρον αποτελώντας πολύτιμα βιολογικά εργαλεία. Μελέτες έχουν δείξει πως κάποια είδη μανιταριών παρουσιάζουν σημαντική βιολογική δράση προσφέροντας τη δυνατότητα για εναλλακτικούς τρόπους αντιμετώπισης διάφορων ασθενειών. Στην Ελλάδα, βρίσκονται πληθώρα ειδών μανιταριών τα οποία είτε είναι κατάλληλα για κατανάλωση είτε είναι δηλητηριώδη, με τα δεύτερα να μπορούν να οδηγήσουν ακόμη και στο θάνατο. Η διάκριση αυτή είναι ιδιαίτερα δύσκολη καθώς δεν υπάρχουν κάποια συγκεκριμένα στοιχεία που να διαχωρίζουν τα είδη μεταξύ τους και συνεπώς η συλλογή τους πρέπει να γίνεται με προσοχή και να περιορίζεται σε γνωστά είδη μανιταριών.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα μανιτάρια παρουσιάζουν ιδιαίτερη βιολογική δράση, η οποία οφείλεται στις υψηλές συγκεντρώσεις βιοδραστικών ενώσεων που είτε απομονωμένες είτε ως μέρος ενός δείγματος προσδίδουν σημαντικά οφέλη για την υγεία, όπως να συμβάλλουν στην πρόληψη ασθενειών ή θεραπευτικά, για την βελτίωση της κλινικής εικόνας των ασθενών. (Kumar, 2014)

Τα κυριότερα είδη μανιταριών που υπερέχουν στην παραγωγή είναι τα είδη από το γένος *Agaricus*, *Pleurotus* και *Lentinula edode*. Την παραγωγική κλίμακα ακολουθούν και άλλα γένη μανιταριών, όπως *Auricularia*, *Flammulina*, *Volvariella volvacea*, *Cyclocybe cylindracea*, *Pholiota nameko*, *Hericium erinaceus*, *Grifola frondosa* και *Tremella fuciformis*. Υπάρχουν βέβαια και άλλα είδη τα οποία δεν είναι εδωδιμα, αλλά έχει αποδειχθεί η φαρμακευτική τους δράση, όπως τα *lucidum* και *Trametes versicolor*. (Diego Cunha Zied, 2017)

Το μεγαλύτερο ενδιαφέρον από τα προαναφερθέντα γένη μανιταριών, προσελκύει το γένος *Pleurotus*. Το γένος *Pleurotus* περιλαμβάνει μανιτάρια με χαρακτηριστική μορφολογία γνωστά ως «στρειδοειδή μανιτάρια» (*oyster mushrooms*). Τα συγκεκριμένα μανιτάρια προσβάλλουν και τρέφονται από ζωντανούς νηματοειδείς οργανισμούς και ο χρόνος ανάπτυξής τους είναι σχετικά μικρός συγκριτικά με άλλα μανιτάρια. Το καρποφόρο σώμα τους είναι ανθεκτικό σε ασθένειες και έχουν τη δυνατότητα να καρποφορήσουν εύκολα και οικονομικά, καθώς χρησιμοποιούν ένα ευρύ φάσμα υποστρωμάτων. Τα είδη *Pleurotus ostreatus* και *Pleurotus eryngii* περυσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον για καλλιέργεια μανιταριών, λόγω της χαμηλής θερμοδικής τους αξίας, την υψηλή περιεκτικότητά τους σε νερό και την ιδιαίτερη γεύση τους, καθιστώντας τα ελκυστικά για τους καταναλωτές. (Marcelo Barba Bellettini, 2019), (Tolera KD, 2017)

## 2.2.2 Διατροφική Αξία και Βιολογική Δράση

### Διατροφική αξία

Τα μανιτάρια αποτελούν τροφή με υψηλή περιεκτικότητα σε νερό (90%) και χαμηλή περιεκτικότητα σε ξηρή ουσία (10%). (Sánchez C. , 2010) Από διατροφικής άποψης παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον μιας και είναι πλούσια σε πρωτεΐνες, φυτικές ίνες, μέταλλα και έχουν χαμηλή λιποπεριεκτικότητα.

Όσον αφορά στα μακροθρεπτικά συστατικά τους, οι πρωτεΐνες των μανιταριών περιέχουν και τα εννέα απαραίτητα αμινοξέα για τον άνθρωπο. (Kalac, 2009) Η σύστασή τους σε αμινοξέα είναι η ακόλουθη: 13-21% γλουταμινικό οξύ, 9-12% ασπαρτικό οξύ, 4-12% αργινίνη και τα υπόλοιπα βρίσκονται σε πολύ μικρότερη περιεκτικότητα. Ανάλογα με τη γεύση που αποδίδουν διακρίνονται στις εξής κατηγορίες: γλυκιά (αλανίνη, γλυκίνη, θρεονίνη, σερίνη), πικρή (αργινίνη, ιστιδίνη, ισολευκίνη, μεθειονίνη, λευκίνη, φαινυλαλαίνη, βαλίνη), χωρίς γεύση (λυσίνη, τυροσίνη) και umami (ασπαραγινικό οξύ, γλουταμίνη). (Lavelli V P. C., 2018), (Tagkouli D, 2021) Επιπλέον, έρευνες έδειξαν πως τα μανιτάρια μπορούν να αποτελέσουν υποκατάστατο της ζωικής πρωτεΐνης, λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε αυτή. (Kalac, 2009) Από την άλλη μεριά, φαίνεται να έχουν υψηλότερη βιολογική αξία από αυτές των λαχανικών. (Filipa S. Reis, 2012)

Ιδιαίτερα σημαντική είναι η υψηλή περιεκτικότητα των μανιταριών σε β- γλυκάνες, για τις οποίες κιάλας φημίζονται. Οι β γλυκάνες είναι βιολογικά ενεργές ενώσεις με σημαντικά οφέλη για την υγεία. Πιο συγκεκριμένα έχουν ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες και έχουν τη δυνατότητα να μειώνουν τις φλεγμονές, να βελτιώνουν την καρδιαγγειακή υγεία και να υποστηρίζουν τον μεταβολισμό της γλυκόζης, αλλά και των λιπιδίων. (Thaynã Gonçalves Timm, 2023), (Chiara Cerletti, 2021)

Τα μανιτάρια αποτελούν, ακόμη, σημαντική πηγή θειαμίνης (βιταμίνη B1), ριβοφλαβίνης (βιταμίνη B2), ωιασίνης, βιοτίνης, ασκορβικού οξέος (βιταμίνη C), βιταμίνη D, αλλά και βιταμίνη E. (Barros, 2008) Ιδιαίτερα η βιταμίνη D<sub>2</sub> εμφανίζεται σε σημαντικές ποσότητες στα μανιτάρια. Προέρχεται από βιομετατροπή της εργοστερόλης με έκθεση σε ακτινοβολία UV, κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης και έπειτα από τη συγκομιδή των μανιταριών. (Lavelli V P. C., 2018)

Όσον αφορά τα μεταλλικά στοιχεία, τα μανιτάρια αποτελούν σημαντική πηγή καλίου, ασβεστίου, ψευδαργύρου και χαλκού, καθώς βρίσκονται σε υψηλές συγκεντρώσεις, με εξαίρεση το νάριο το οποίο εμφανίζεται σε χαμηλότερες. (Sánchez C. , 2004), (Feeney MJ, 2014)

Στα λιπαρά οξέα των μανιταριών ανήκουν ελεύθερα λιπαρά οξέα, μόνο- δι- και τριγλυκερίδια, στερόλες, εστέρες στερολών και φωσφολιπίδια. Σε μικρότερες ποσότητες βρίσκονται το σκουαλένιο, η εργοστερόλη και η ουβικινόνη. (Bano Z, 1988)

### 2.3 Μανιτάρια ως λειτουργικά τρόφιμα

Τα μανιτάρια πέρα από πηγή θρεπτικών συστατικών (πρωτεΐνες, φυτικές ίνες, βιταμίνες, μέταλλα κα.), αποτελούν και σημαντικές πώτες ύλες για την ανάπτυξη λειτουργικών τροφίμων και συμπληρωμάτων διατροφής τόσο για την υγεία όσο και για την καλύτερη ποιότητα ζωής των ανθρώπων. Τα μανιτάρια ως λειτουργικά τρόφιμα, λόγω των βιολειτουργικών συστατικών τους (πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες, πολυφαινόλες, εργοθειονίνη κ.α) μπορούν να δράσουν ευεργετικά στην υγεία του ανθρώπου και να βοηθήσουν στην πρόληψη ή/και στην αντιμετώπιση απειλητικών για τη ζωή ασθενειών. (Shalinee Prasad, 2015)

Οι παραπάνω ιδιότητες των μανιταριών προκάλεσαν ιδιαίτερο ενδιαφέρον στους επιστήμονες, ώστε να αξιοποιηθούν όχι μόνο ως αυτούσια λειτουργικά τρόφιμα, αλλά και ως συστατικά σε άλλα λειτουργικά τρόφιμα με τη μορφή σκόνης, όπως σε προϊόντα αρτοποιίας, ή με προσθήκη εκχυλισμάτων και ενώσεων που έχουν απομονωθεί από μανιτάρια, όπως προσθήκη πολυσακχαριτών που απομονώθηκαν από μανιτάρια.

Τα ευρέως χρησιμοποιούμενα μανιτάρια προς κατανάλωση αποτελούν αυτά των γενών *Agaricus*, *Pleurotus*, *Lentinula*, *Auricularia* και *Flammulina*. Διατίθενται εύκολα στο εμπόριο φρέσκα, κατεψυγμένα ή κονσερβοποιημένα και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως συστατικά σε διάφορες μορφές. (Smith, 2002) Βέβαια, τα τελευταία χρόνια υπάρχουν και άλλα είδη μανιταριών τα οποία φημίζονται για την φαρμακευτική τους δράση και ταυτόχρονα είναι εδώδιμα, όπως τα *lammulina velutipes P. Karst.*, *Tremella spp.*, *Coprinus comatus.*, *Hypsizygus spp.*, *Dictyophora spp.* και *Hericium erinaceus* (Chang ST, 2012) Υπάρχουν πολλές μελέτες για το πώς τα μανιτάρια επεξεργάζονται και αξιοποιούνται ως λειτουργικά τρόφιμα ή ενσωματώνονται σε άλλα προϊόντα προσδίδοντας τους τις ευεργετικές ιδιότητές τους.

Σύμφωνα με τη μελέτη των Ulziijargal, E et al., υπάρχουν στην αγορά αρκετά προϊόντα αρτοποιίας τα οποία εμπεριέχουν πρόσθετα διαιτητικών ινών, προκειμένου να γίνουν πιο υγιή για κατανάλωση και να παρέχουν θετικά αποτελέσματα στην υγεία (χαμηλά σε θερμίδες, μειώνουν τη χοληστερόλη και χαμηλά σε λιπαρά). Συνήθως, χρησιμοποιείται ως πηγή διαιτητικών ινών, το σιτάρι, η βρώμη, το κριθάρι και το ρύζι. Η καινοτομία της συγκεκριμένης έρευνας βασίζεται στην αντικατάσταση των προαναφερθέντων δημητριακών, με τα μανιτάρια τα οποία αποτελούν σημαντική πηγή διαιτητικών ινών. Επιπλέον, παρουσιάζει και ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία, καθώς τα καινοτόμα αρτοσκευάσματα εμπεριέχουν πλέον σημαντικές ποσότητες των αμινοξέων γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA) και εργοθειονίνη. (Ulziijargal E, 2013)





Εικόνα 5: Μανιτάρια ως κύρια συστατικά για την παρασκευή λειτουργικών αρτοσκευασμάτων (Salehi, 2018)

Η πάστα μανιταριών *L. Edodes* που προστέθηκε σε αλεύρι σίτου για την παρασκευή noodles, οδήγησε στη δημιουργία λειτουργικών τροφίμων υψηλής ποιότητας, πλούσιο σε φυτικές ίνες, με αντιοξειδωτική δράση και υπερχοληστερολαιμικές ιδιότητες. (Se-Young Kim, 2018)



Εικόνα 6: Noodles με προσθήκη πάστας μανιταριών σε αλεύρι σίτου σε διαφορετικές αναλογίες (Rezoana Parvin, 2020)

Άλλες μελέτες αφορούν την παρασκευή γαλακτοκομικών λειτουργικών τροφίμων με προσθήκη μανιταριών. Πιο συγκεκριμένα, σύμφωνα με έρευνα των Okamura-Matsui et al. (Ohsugi, 2001) παρήγαγαν λειτουργικό τρόφιμο που μοιάζει με τυρί ενσωματωμένο με *S. commune*, το οποίο αποδείχθηκε ότι έχει προληπτικές δράση έναντι του καρκίνου και των θρομβώσεων. Οι Ribeiro et al. μικροενθυλάκωσαν, τα υδροαλκοολικά εκχυλίσματα από *Suillus luteus (L.) Roussel* και *Coprinopsis atramentaria (Bull.) Redhead, Vilgalys & Moncalvo* σε τυρί cottage με ζήραση με ψεκάσμο προσδίδοντας αντιοξειδωτικές ιδιότητες, οι οποίες διατηρήθηκαν με την πάροδο του χρόνου και ταυτόχρονα διατηρήθηκαν και οι διατροφικές του ιδιότητες, χωρίς καμία χρωματική μεταβολή. (Ribeiro A, 2015)

Στην Ινδία αναπτύχθηκε καινοτόμο σνακ, όπου ενσωματώθηκε σκόνη *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) σε ένα ήδη υπάρχον σνακ αποκαλούμενο «parpad». Αποτελείται από 20% σκόνη μανιταριών και παρατηρήθηκε πως έχει υψηλή σύσταση σε πρωτεΐνες, ανόργανα συστατικά και ακατέργαστες ίνες, προσδίδοντας βελτιωμένη διατροφική αξία και περιεκτικότητα σε φυτικές ίνες. (D. N. Parab R Dhalagade, 2012) Τα εκχυλίσματα του *A. bisporus* χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή σνακ με υψηλή αντιοξειδωτική δράση και ικανότητα απορρόφησης ελεύθερων ριζών. Συμπερασματικά, σύμφωνα με τις προαναφερθείσες μελέτες φαίνεται πως τα σνακ από μανιτάρια μπορούν να χρησιμεύσουν

ως μια καλή εναλλακτική λύση για τα υπάρχοντα σήμερα σνακ, καθώς διατηρούν σημαντική ποσότητα πολυφαινολικών και αντιοξειδωτικών, τα οποία συνιστούν ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία των καταναλωτών. (Richu Singla, 2009)

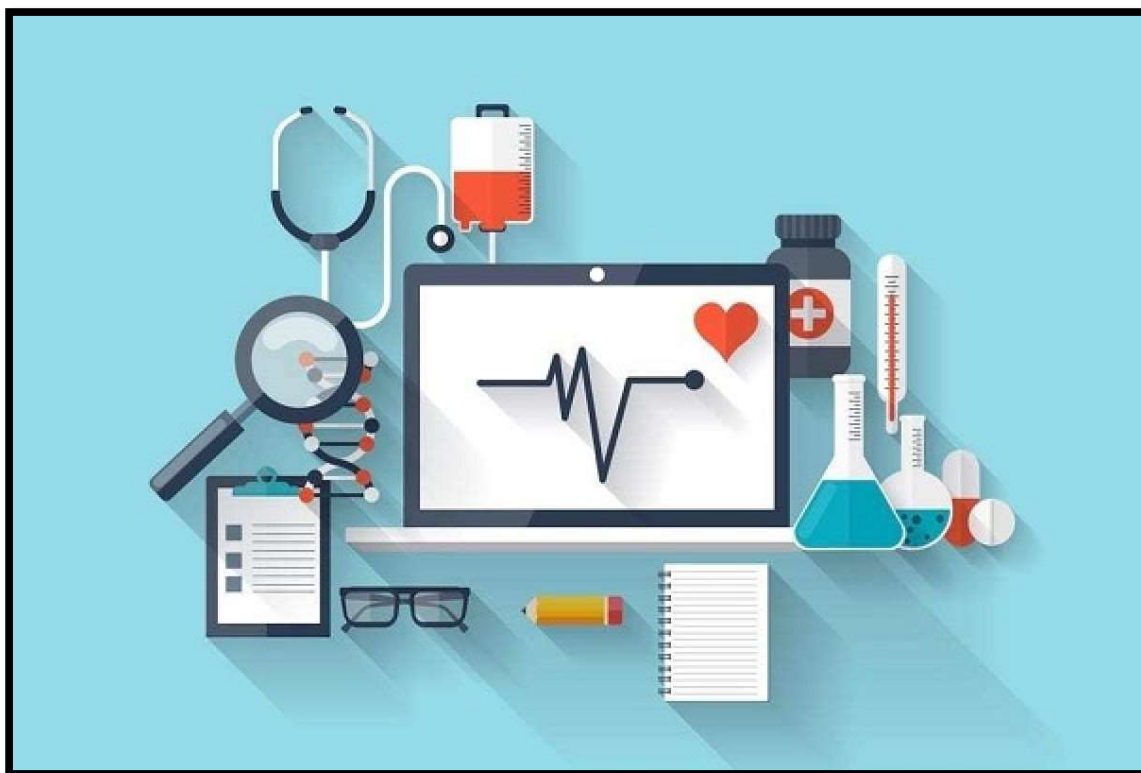
Αρκετά από τα μανιτάρια, λοιπόν, έχουν θετική επίδραση σε ανθρώπινες παθήσεις, επειδή διαθέτουν πολλά τυπικά φαρμακολογικά χαρακτηριστικά, όπως η ενεργοποίηση του μεταβολισμού, η βιορύθμιση (διατήρηση της ομοιόστασης και της ανοσολογικής ισορροπίας), η πρόληψη/έλεγχος της δηλητηρίασης, η μείωση των επιπέδων χοληστερόλης, ως αντιοξειδωτικά με ιδιότητες αναζωογόνησης και ενίσχυσης της ενέργειας, καθώς και ο ρόλος τους στην πρόληψη και βελτίωση απειλητικών για τη ζωή ασθενειών, όπως ο καρκίνος, οι νευροεκφυλιστικές διαταραχές, ο διαβήτης και το μεταβολικό σύνδρομο. (Eliana Pereira, 2012)

Χάρη στις παραπάνω ιδιότητές τους, τα μανιτάρια έχουν θεωρηθεί ως «η νέα υπερτροφή» ή «η πιο εκλεκτή τροφή των διατροφολόγων». (Mane S., 2014)

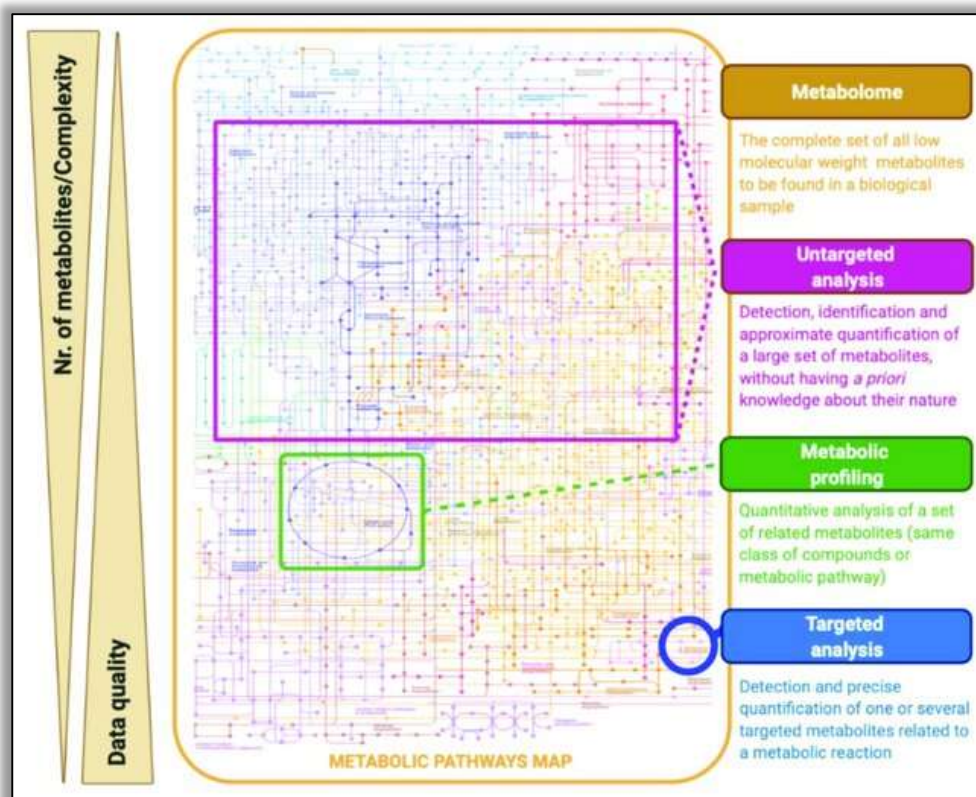


Εικόνα 7: Σνακ Μανιταριών

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3<sup>ο</sup> - ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ



### 3.1 Λιπιδομική Ανάλυση



Εικόνα 8: Από τη Μεταβολομική στην Λιπιδομική Ανάλυση (Araújo AM, 2021)

#### 3.1.1 Μεταβολομική (Metabolomics)

Η μεταβολομική ανάλυση επιτρέπει τη μελέτη των περισσότερων μεταβολιτών που είναι παρόντες σε ένα συγκεκριμένο δείγμα. Στις μελέτες μεταβολομικής, συνηθίζεται η διαίρεση του μεταβολώματος σύμφωνα με διάφορες ιδιότητες, όπως η πολικότητα ή οι κοινές λειτουργικές ομάδες. Η ταυτόχρονη μελέτη εκατοντάδων μεταβολιτών απαιτεί τεχνικές υψηλής απόδοσης και υψηλή ικανότητα ανίχνευσης, οι οποίες επιτρέπουν την ανίχνευση μικρών αλλαγών σε ενώσεις σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Μετρώντας πολύ μικρά μόρια σε διάφορα βιολογικά υγρά, όπως αίμα, πλάσμα, ούρα κτλ., μπορεί να παρατηρηθεί η δραστηριότητα των κεντρικών μεταβολικών οδών του κάθε οργανισμού με σκοπό την αξιολόγηση της κατάστασης της υγείας, καθώς και της απόκρισής του στο περιβάλλον το οποίο ζει. Οι κύριες πλατφόρμες που χρησιμοποιούνται για τη μελέτη της μεταβολομικής είναι η NMR (Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός) και η MS (Φασματομετρία Μάζας). Όλα αυτά τα αναλυτικά εργαλεία, είτε μεμονωμένα είτε σε συνδυασμό, έχουν αποδείξει την υψηλή τους δυναμική στην υποστήριξη προσεγγίσεων μεταβολομικής για διάφορες εφαρμογές. Η εφαρμογή αυτών των τεχνικών έχει επιτρέψει τη μελέτη του μεταβολικού προφίλ ή του αποτυπώματος ενός δείγματος. Η μεταβολομική έχει εφαρμογές

σε ποικίλους τομείς όπως είναι ο τομέας της υγείας, του περιβάλλοντος και των τροφίμων. (Nicholson JK H. E., 2012), (Fraga-Corral, 2020), (Ong., 2023)

### 3.1.2 Λιπιδιομική (Lipidomics)

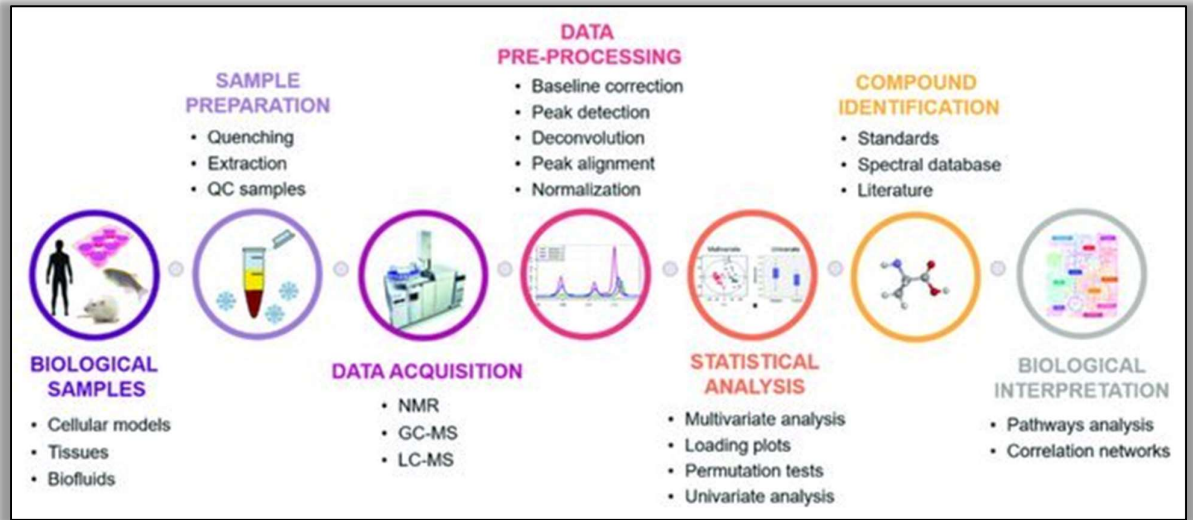
Η λιπιδιομική θεωρείται ένας νέος επιστημονικός κλάδος που επικεντρώνεται στη μελέτη των λιπιδίων και των λειτουργικών τους ιδιοτήτων. Ωστόσο, θα μπορούσε επίσης να χαρακτηριστεί και ως υποκατηγορία της μεταβολομικής, με την οποία διατρέχει στενή σχέση. Με τη λιπιδιομική μελετάται το σύνολο των λιπιδίων (λιπίδομα) στα βιολογικά υγρά όπως ορός, πλάσμα, διάφοροι ιστοί και κύτταρα ή σε επεξεργασμένα τρόφιμα. Σημαντική είναι επίσης και η συμβολή του στην κατανόηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των λιπιδίων, αλλά οι αλληλεπιδράσεις των λιπιδίων με άλλα μόρια, όπως πρωτεΐνες, μεταβολίτες και γονίδια, καθώς και η κατανόηση του ρόλου των λιπιδίων στα βιολογικά συστήματα. (Zhao YY, 2015) , (Johannes V. Swinnen, 2022) Μέσω της λιπιδιομικής μπορεί να εξεταστεί ο τρόπος με τον οποίο τα λιπίδια επηρεάζουν τη δομή των μεμβρανών, το πώς συμμετέχουν στις διαδικασίες της μεταγραφής και της μετάφρασης, αλλά και στην κατανόηση του πώς αυτά αποκρίνονται στις περιβαλλοντικές αλλαγές.

Η λιπιδιομική ανάλυση βρίσκει ευρεία εφαρμογή στην κλινικές έρευνες για τη διεύρυνση των παθογενετικών μηχανισμών και την ανακάλυψη νέων βιοδεικτών. Αυτό οφείλεται στις σημαντικές προόδους στην ανάπτυξη αναλυτικών τεχνολογιών και στην ανακάλυψη νέων βάσεων δεδομένων. (ChinChyeTeo, 2015)

#### **Μη στοχευμένη μεταβολομική ανάλυση (untargeted metabolomics)**

Η μη στοχευμένη μεταβολομική ανάλυση αφορά τη σύγκριση μεταβολιτών, οι οποίοι ανιχνεύονται σε μια ομάδα ελέγχου (control group) με την εξεταζόμενη ομάδα (test group) έχοντας ως κύριο στόχο τη μελέτη των διαφορών των προφίλ διαφορετικών ατόμων και την ομαδοποίησή τους με τη χρήση διαφορετικών στατιστικών εργαλείων. Κατά κύριο λόγο η διαδικασία αρχίζει με εκχύλιση των μεταβολιτών και ακολουθεί ο διαχωρισμός και η ανίχνευση των επιμέρους συστατικών με LC- MS, NMR ή GC-MS ανάλυση. (Castro-Perez JM, 2010) Σε τέτοιου είδους μελέτες, ο ερευνητής εξετάζει κάθε μόριο που ιονίζεται σε μια περιοχή με συγκεκριμένο εύρος τιμών μάζας. Οι αναλυτές TOF και Orbitrap είναι ιδανικοί για την παραγωγή πλήρους σάρωσης όλων των ιόντων μεταβολιτών (λιπιδίων) που υπάρχουν στο δείγμα. (Johannes V. Swinnen, 2022)

Η ερμηνεία και η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων πραγματοποιείται από στατιστικά εργαλεία, τα οποία ομαδοποιούν τα δείγματα και διευκολύνουν την περαιτέρω επεξεργασία τους. Στις μη στοχευμένες μελέτες μεταβολομικής, η αναζήτηση και ταυτοποίηση των μεταβολιτών πραγματοποιείται βάσει της μάζας τους μέσω της χρήσης βάσεων δεδομένων ελεύθερης πρόσβασης. (Smith CA, 2005)



Εικόνα 9: Μη στοχευμένη ροή εργασιών μεταβολομικής (Αραύζο ΑΜ, 2021)

### 3.2 Αναλυτικές Τεχνικές – LC-MS Ανάλυση

Η ταυτοποίηση των μεταβολιτών σε βιολογικά δείγματα προσφέρει τη δυνατότητα μελέτης των μεταβολιτών και των λιπιδίων επιτρέποντας την εξαγωγή σημαντικών συμπερασμάτων για την κατάσταση του οργανισμού. Καθώς τα βιολογικά δείγματα παρουσιάζουν ιδιαίτερη πολυπλοκότητα, η χρήση μίας μόνο τεχνικής δεν αρκεί για την πλήρη ανάλυσή τους. Οι βασικότερες αναλυτικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την μεταβολομική και τη λιπιδιομική ανάλυση είναι η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) και φασματοσκοπία μάζας (MS). Αν και μπορούν να εφαρμοστούν και ως μεμονωμένες τεχνικές, συνήθως προτιμάται η συμπληρωματική τους χρήση για την εξαγωγή πιο ολοκληρωμένων συμπερασμάτων. Και οι δύο τεχνικές είναι ικανές να διεκπεραιώσουν τον τελικό στόχο που δεν είναι άλλος από την αποτύπωση του συνολικού προφίλ των μεταβολιτών και των λιπιδίων στο υπό μελέτη δείγμα. (SG., 2013)

Η συνδυαστική εφαρμογή της υγρής χρωματογραφίας με τη φασματομετρία μάζας (LC-MS) αποτελεί μια προηγμένη αναλυτική τεχνική που επιτρέπει τον διαχωρισμό των συστατικών ενός μίγματος και τον επακόλουθο ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό τους. Ο διαχωρισμός των συστατικών επιτυγχάνεται μέσω υγρής χρωματογραφίας (HPLC), ενώ η φασματομετρία μάζας (MS) είναι μια εξαιρετικά ευαίσθητη μέθοδος που παρέχει ακριβείς πληροφορίες σχετικά με τη δομή των ενώσεων, επιτρέποντας την ταυτοποίηση και ποσοτικοποίησή τους. Η μέθοδος LC-MS είναι ικανή να αναλύει βιοχημικές, οργανικές και ανόργανες ενώσεις από περίπλοκα φυσικά ή βιολογικά δείγματα, καθιστώντας την χρήσιμη σε πολλούς επιστημονικούς τομείς, όπως η βιοτεχνολογία, τα τρόφιμα και η περιβαλλοντική έρευνα, καθώς και σε διάφορες βιομηχανίες, όπως η φαρμακοβιομηχανία, τα αγροχημικά και τα καλλυντικά.

### 3.3 Σκοπός

Τα τελευταία χρόνια, τα λειτουργικά τρόφιμα έχουν τραβήξει το ερευνητικό ενδιαφέρον λόγω των βιοδραστικών συστατικών τους και των ευεργετικών επιδράσεών τους στην ανθρώπινη υγεία. Διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αντιμετώπιση παθολογικών καταστάσεων που σχετίζονται με διάφορα μεταβολικά σύνδρομα, όπως η παχυσαρκία, ο διαβήτης, η υπέρταση και η δυσλιπιδαιμία. Τα μανιτάρια και τα παράγωγά τους, ως πλούσιες πηγές θρεπτικών ουσιών, διαθέτουν αντιοξειδωτικές, αντικαρκινικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες, καθιστώντας τα τρόφιμα με ποικίλα λειτουργικά συστατικά. Στόχος της παρούσας μελέτης είναι ο προσδιορισμός και η αξιολόγηση του λιπιδικού προφίλ σε αντιπροσωπευτικά δείγματα (quality controls, QCs) πλάσματος αίματος εθελοντών με μεταβολικά σύνδρομα που έλαβαν λειτουργικά σνακ μανιταριών ως 3μηνη διατροφική παρέμβαση και η σύγκρισή του με το λιπιδικό αποτύπωμα των δειγμάτων ελέγχου (άτομα με μεταβολικά σύνδρομα που δεν έλαβαν το σνακ μανιταριών), χρησιμοποιώντας μη στοχευμένη ανάλυση υγρής χρωματογραφία-φασματομετρίας μάζας (LC-MS) και πιο συγκεκριμένα σύστημα υγρό χρωματογράφο μικροροών (microLC) συνδεδεμένο με τετραπολικού ανιχνευτή χρόνου πτήσης μαζών (QTOF).

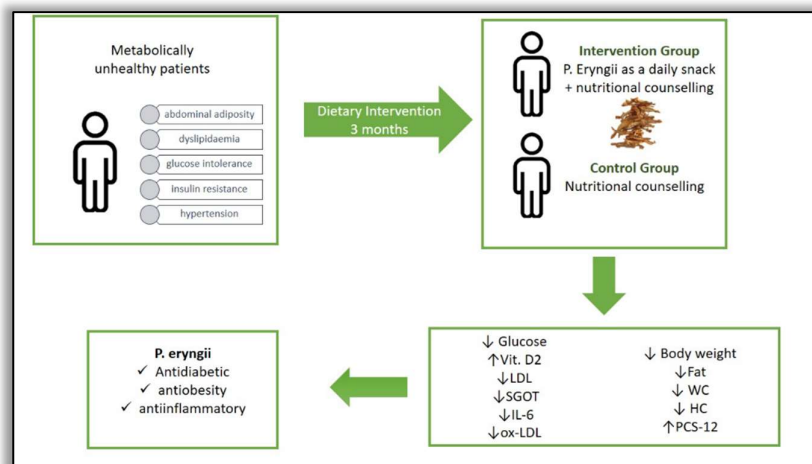
Οι εθελοντές κατανάλωναν καθημερινά για τρεις μήνες ένα λειτουργικό σνακ από μανιτάρια *Pleurotus eryngii* ελληνικής παραγωγής, ενισχυμένο με βιταμίνη D2 και αντιοξειδωτικές ενώσεις. Τα μανιτάρια που χρησιμοποιήθηκαν στο σνακ είχαν καλλιεργηθεί σε υποστρώματα παραπροϊόντων ελαιολιβεοειδούς και οινολασπών με σκοπό την ενίσχυσή τους σε φαινολικές ενώσεις και είχαν υποστεί ακτινοβολία UV με σκοπό τον εμπλουτισμό τους σε βιταμίνη D2

Επομένως, σκοπός της παρούσας ερευνητικής εργασίας είναι ο προσδιορισμός και η αξιολόγηση του λιπιδικού προφίλ σε QCs δείγματα εθελοντών με μεταβολικά σύνδρομα που έλαβαν λειτουργικό σνακ μανιταριών στα πλαίσια της διατροφικής παρέμβασης Ενιαίας Δράσης Κρατικών Ενισχύσεων Έρευνας, Τεχνολογικής Ανάπτυξης και Καινοτομίας «ΕΡΕΥΝΩ – ΔΗΜΙΟΥΡΓΩ – ΚΑΙΝΟΤΟΜΩ» (project code: T1EDK-02560) και η σύγκρισή του με το λιπιδικό αποτύπωμα των δειγμάτων ελέγχου (άτομα με μεταβολικά σύνδρομα που δεν έλαβαν το σνακ μανιταριών), χρησιμοποιώντας μη στοχευμένη υγρή χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (LC-MS). Ενώ, η ταυτοποίηση λιπιδικών μορίων που φαίνεται να επηρεάζονται από την κατανάλωση του λειτουργικού σνακ μανιταριών ενδέχεται να οδηγήσει στην εύρεση βιοδεικτών στο πλάσμα αίματος, οι οποίοι να έχουν θετική επίδραση στο μεταβολικό προφίλ των ατόμων με Μ.Σ. έπειτα από περεταίρω στατιστική μελέτη.



### 3.4 Σχεδιασμός Μελέτης

Η διατροφική παρέμβαση που μελετάται στηρίζεται στην κατανάλωση ενός λειτουργικού σνακ μανιταριών που καταναλώθηκε από άτομα με μεταβολικά σύνδρομα. Στην παρακάτω εικόνα 9 φαίνεται το πώς σχεδιάστηκε το σνακ μανιταριών και κάποια πρώτα αποτελέσματα ερευνών. (Kleftaki SA, 2022)



Εικόνα 10: Σχεδιασμός Μελέτης Λειτουργικού Σνακ Μανιταριών

#### 3.4.1 Στοιχεία Κλινικής Μελέτης

Η κλινική μελέτη πραγματοποιήθηκε στο πρόγραμμα Ενιαίας Δράσης Κρατικών Ενισχύσεων Έρευνας, Τεχνολογικής Ανάπτυξης και Καινοτομίας «ΕΡΕΥΝΩ – ΔΗΜΙΟΥΡΓΩ – ΚΑΙΝΟΤΟΜΩ», με τίτλο "Αξιοποίηση γεωργικών υποπροϊόντων ως νέων υποστρωμάτων για την παραγωγή μανιταριών *Pleurotus* υψηλής διατροφικής αξίας – Ανάπτυξη και κλινική αξιολόγηση ενός καινοτόμου πολυδύναμου λειτουργικού τροφίμου (σνακ μανιταριών) με αυξημένη περιεκτικότητα σε βιοδραστικές ενώσεις (βιταμίνη D και αντιοξειδωτικά)", με κωδικό έργου T1EDK-02560. Το πρόγραμμα υλοποιήθηκε από την εταιρία «ΜΑΝΙΤΑΡΙΑ ΔΙΡΦΥΣ» σε συνεργασία με το Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, το Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο και το Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών σε συνεργασία με το Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής και το Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων.

Η κλινική μελέτη διεξήχθη στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο Αθηνών από το 2020 έως το 2021, με σκοπό την εξέταση της επίδρασης του σνακ μανιταριών *Pleurotus eryngii* σε άτομα με μεταβολικά σύνδρομα, όσον αφορά τη μείωση δεικτών σχετικών με τη φλεγμονή και το οξειδωτικό στρες, καθώς και το μεταβολικό/λιπιδικό τους προφίλ. Η συγκεκριμένη πτυχιακή εργασία επικεντρώνεται στον προσδιορισμό και την αξιολόγηση του λιπιδικού προφίλ σε δείγματα πλάσμα αίματος μέσω μη στοχευμένης υγρής χρωματογραφίας – φασματομετρίας μάζας (LC-MS). (Kleftaki SA, 2022)

### 3.4.2 Στοιχεία Λειτουργικού Σνακ Μανιταριών

Η κλινική αξιολόγηση εστιάζεται στο προϊόν "μανιτάρια chips", το οποίο περιλαμβάνει φέτες μανιταριών *Pleurotus eryngii* ή αλλιώς «Βασιλικά πλευρώτους» ή «King Oyster» (99%), εμπλουτισμένες με εκχύλισμα μαγιάς, φυσικές αρωματικές ύλες και αλάτι. Διατροφικά, το προϊόν προσφέρει σημαντική ποσότητα βιταμίνης D και αποτελεί πλούσια πηγή φυτικών ινών και πρωτεϊνών.

Μετά τη συλλογή, τα μανιτάρια κόπηκαν σε φέτες πάχους 2 mm και ενισχύθηκαν γευστικά με εκχύλισμα μαγιάς και σκόνη σκόρδου σε ποσοστό 0,5% κατά βάρος. Τα *Pleurotus eryngii*, έπειτα έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία (UV), αποτελούν σημαντική πηγή βιταμίνης D<sub>2</sub> (εργοκαλσιφερόλη).

Οι φέτες μανιταριών ψήθηκαν για 20 λεπτά στους 120°C και στη συνέχεια υποβλήθηκαν σε ακτινοβολία UV-B για 120 λεπτά, με μήκος κύματος 290-315 nm. Τοποθετήθηκαν σε απόσταση 20 cm από τους λαμπτήρες UV-B, οι οποίοι είχαν ισχύ 39W, και συσκευάστηκαν ερμητικά ανά 6g σε αλουμινένια φακελάκια. Τέλος, πραγματοποιήθηκαν οι απαραίτητοι έλεγχοι για να διασφαλιστεί η ασφάλεια και η υγιεινή του προϊόντος σύμφωνα με τον Κανονισμό 2073/2005, ενώ διενεργήθηκε και οργανοληπτική αξιολόγηση. (Kleftaki SA, 2022) Τα 6g περιείχαν ≈2,5g γλυκάνη, τα 100g περιείχαν ≈ 18μg φαινολικά, ενώ η υπόλοιπη διατροφική και θερμιδική αξία του σνακ παρουσιάζεται παρακάτω (Πίνακας 8):

Πίνακας 8: Διατροφική Αξία Λειτουργικού Σνακ Μανιταριών

	Snack (6 g)
Energy content (Kcal)	18.42
Available carbohydrates (g)	1.77
Fat (g)	0.288
Protein (g)	1.35
Salt (g)	0.08
Vitamin D <sub>2</sub> (μg)	20

### 3.4.3 Στοιχεία Εθελοντών

Στη μελέτη συμμετείχαν 112 άτομα, ηλικίας 30 – 76 ετών με δείκτη μάζας σώματος >25 kg/m<sup>2</sup> με μεταβολικά νοσήματα. Τα βάρη των συμμετεχόντων ήταν τα ίδια για τουλάχιστον τρεις μήνες πριν ξεκινήσει η συμμετοχή τους στην έρευνα και η καθημερινή δραστηριοποίησή τους ήταν μέτρια. Ως κριτήρια αποκλεισμού τέθηκαν η εγκυμοσύνη, η γαλουχία, η χρήση συμπληρωμάτων διατροφής για 3 μήνες πριν λάβουν τη διατροφική παρέμβαση, παθήσεις του θυροειδούς άνευ θεραπείας, ψυχιατρικές/ψυχικές διαταραχές, ιστορικό κατάχρησης ναρκωτικών ή αλκοόλ. Η Επιτροπή Δεοντολογίας του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου (Αριθμός Πρωτοκόλλου: 62/03-07-2018) ενέκρινε την παρούσα έρευνα

και πραγματοποιήθηκε με βάση Διακήρυξη του Ελσίνκι για την Προστασία Δεδομένων του 1998. Ακόμη, καταχωρήθηκε στο [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov) με Αριθμό ID: NCT04081818. Όλοι οι συμμετέχοντες, ήταν πλήρως ενημερωμένοι για τη μορφή και τις διαδικασίες της έρευνας και υπέγραψαν μια φόρμα συγκατάθεσης πριν από τη συμμετοχή.

Στην τελική κλινική μελέτη, υπήρξε συμμετοχή 112 εθελοντών, οι οποίοι τυχαιοποιήθηκαν σε δύο ομάδες, την ομάδα 1, η οποία δεν είχε λάβει διατροφική παρέμβαση και την ομάδα 2, η οποία είχε λάβει διατροφική παρέμβαση. Σε όλη τη διάρκεια της μελέτης, οι δύο ομάδες έλαβαν διατροφική συμβουλευτική, ενώ η ομάδα 2 κατανάλωνε καθημερινά το σνακ. Υπήρχε παρακολούθηση για τη συμμόρφωση μέσω τηλεφωνικών κλήσεων, ανά δύο εβδομάδες.

Για τη μελέτη του λιπιδικού προφίλ των ασθενών με Μ.Σ., εξετάστηκαν συνολικά 112 εθελοντές, ηλικίας μεταξύ 30 και 76 ετών, εκ των οποίων 73 ήταν γυναίκες και 39 ήταν άνδρες. Τα άτομα αυτά ήταν στην πλειοψηφία υπέρβαρα, ενώ κάποιοι παρουσίαζαν επιπλέον παθολογικές καταστάσεις όπως αρτηριακή υπέρταση, διαβήτη και δυσλιπιδαιμία. Εκτός από τα μεταβολικά αυτά σύνδρομα, ορισμένοι είχαν εμφανίσει και άλλες ασθένειες όπως καρκίνος, έμφραγμα, εγκεφαλικό, οστεοπενία και οστεοπόρωση, υπερλιπιδαιμία, υποθυροειδισμό, μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος (Non-Alcoholic Fatty Liver Disease, NAFLD) και αυξημένη χοληστερόλη. Ένα μέρος αυτών, λάμβανε επίσης φαρμακευτική αγωγή (αντικαταθλιπτικά, πίεση, σάκχαρο, χοληστερόλη, θυροειδής κ.α.).

Οι εθελοντές με μεταβολικό σύνδρομο που δεν κατανάλωσαν το σνακ μανιταριών ήταν 48 (ομάδα 1), ενώ οι εθελοντές με μεταβολικό σύνδρομο που κατανάλωσαν το σνακ ήταν 64 (ομάδα 2). Επιπλέον, από κάθε εθελοντή λήφθηκε δείγμα 2 φορές, μια φορά στην αρχή της κλινικής μελέτης (t=0) και μια στο τέλος της κλινικής μελέτης (t=3), παρουσιάζοντας χρονική διαφορά τριών μηνών. Αυτό ήταν απαραίτητο ώστε να γίνει σύγκριση των αποτελεσμάτων μεταξύ των 2 χρονικών σημείων και τελικά να εκτιμηθεί η επίδραση της διατροφής με το λειτουργικό σνακ μανιταριών στο λιπιδικό προφίλ των ασθενών.

### 3.5 Υλικά και Επιστημονική Οργανολογία

#### 3.5.1 Αναλώσιμα

Για τις εκχυλίσεις των λιπιδίων από τα δείγματα πλάσματος, χρησιμοποιήθηκαν οξικός αιθυλεστέρας, οξικό οξύ, υδροξείδιο του καλίου (KOH), φορμικό οξύ, μεθανόλη. Όλοι οι διαλύτες παραλήφθηκαν από την εταιρία Merck KGaA (Darmstadt, Germany). Το νερό που χρησιμοποιήθηκε κατά την διεξαγωγή των πειραμάτων ήταν απιονισμένο/υπερκαθαρό.

Για τις αναλύσεις LC-MS, χρησιμοποιήθηκε ακετονιτρίλιο και νερό LC-MS καθαρότητας που αγοράστηκαν από την εταιρεία CARLO ERBA REAGENTS GmbH (Emmendingen, Germany).

#### 3.5.2 Συσκευές και Επιστημονική Οργανολογία

Κατά την προκατεργασία των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε για υδατόλουτρο, για την ανάδευση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε vortex, ενώ για το διαχωρισμό των φάσεων στο πλάσμα αίματος χρησιμοποιήθηκε φυγόκεντρος με μέγιστη ταχύτητα περιστροφής 4000 rpm.

Για την μέθοδο LC-MS χρησιμοποιήθηκε τετραπολικός αναλυτής χρόνου πτήσης μαζών (LC-TTOF MS) σε συνδυασμό με το σύστημα υγρής χρωματογραφίας μικροορόων ekspert™ nanoLC 425 της εταιρείας eksigent® (California, USA). Πιο συγκεκριμένα, το σύστημα φασματομετρίας μάζας ήταν το σύστημα TripleTOF® 6600+ της εταιρείας Sciex (Toronto, Canada), ενώ η στήλη χρωματογραφίας ήταν η διαχωρισμού Luna® C-18(2) 100 A (Phenomenex California, USA) με εσωτερική διάμετρο 150 mm x 0,3 mm και μέγεθος σωματιδίων 3 μm. Η δειγματοληψία έγινε με τη χρήση αυτόματου δειγματολήπτη με ekspert 400 Autosampler (50 μL).

Για την λειτουργία του οργάνου χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό Analyst® TF Software 1.8 (Sciex, USA), ενώ για την επεξεργασία των φασμάτων μάζας και των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό Sciex OS Q (Sciex, USA).

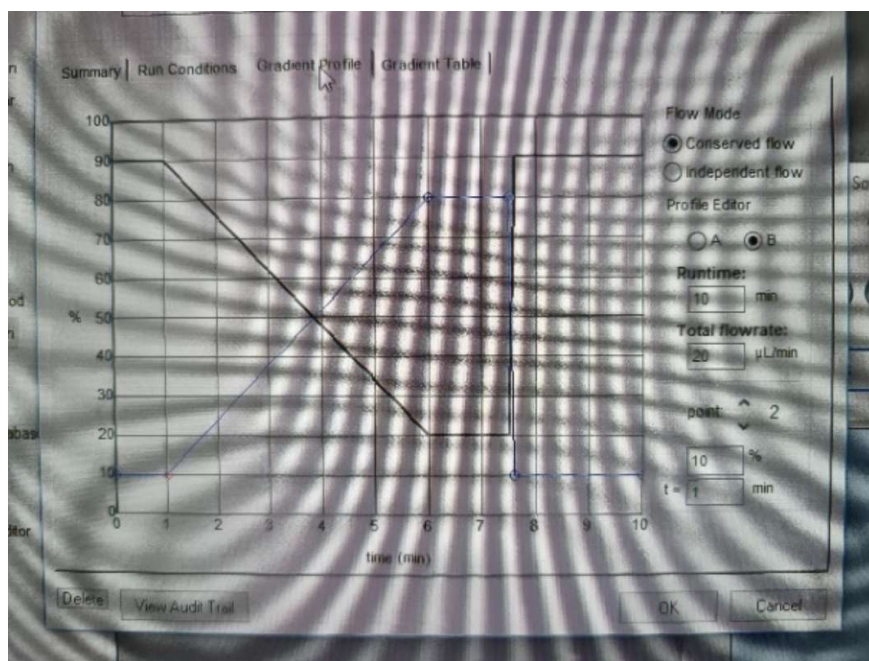


Εικόνα 11: microLC- Triple TOF MS

### 3.6 Ανάπτυξη Μεθόδου Μη Στοχευμένης LC/MS Ταυτοποίησης Λιπιδομικών Ενώσεων Με Αναλυτή Χρόνου Πτώσης (LC-QTOF MS)

#### 3.6.1 Συνθήκες Υγρής Χρωματογραφίας Μικροροών (microLC)

Ο διαχωρισμός των συστατικών των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με τον χρωματογράφο ekspert™ nanoLC 425 της εταιρείας eksigent® (California, USA) και συγκεκριμένα με στήλη αντίστροφης φάσης (Reversed phase, RP). Το πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης συνίσταται από διαλύτη A [νερό – και 0,1% (v/v) μηρυγκικό οξύ] και διαλύτη B [ακετονιτρίλιο – 0,1% (v/v) μηρυγκικό οξύ]. Η ροή της κινητής φάσης ήταν 20  $\mu\text{L}/\text{min}$  και το πρόγραμμα για τη βαθμιδωτή έκλουση ήταν αρχικά 10% B στο χρονικό διάστημα 0-1 min, γραμμική βαθμίδωση 10-90% B στο χρόνο 1-6 min. Διατηρήθηκε σταθερό στο 80% στο χρόνο 6-7,5 min και 80-20% B στο χρονικό διάστημα 7,5-7,6 min. Τέλος η σύσταση της κινητής φάσης επανήλθε στις αρχικές συνθήκες (10% B) και παρέμεινε από το 7,6 έως το 10 min για εξισορρόπηση της στήλης, όπως φαίνεται αναλυτικά στην παρακάτω εικόνα 10 και πίνακα 9. Ο όγκος έγχυσης των δειγμάτων, αλλά και του «τυφλού» (blank) ήταν 1  $\mu\text{L}$ , ενώ η θερμοκρασία της στήλης παρέμεινε στους 30 °C.



Εικόνα 12: Διάγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης της υπό ανάπτυξη μεθόδου micro LC. (η μαύρη γραμμή απεικονίζει το διάλυμα νερού, ενώ η μπλε το διάλυμα ακετονιτρίλιου)

Πίνακας 9: Διάγραμμα βαθμιδωτής έκλυσης

ΧΡΟΝΟΣ (min)	A%	B%
0	90	10
1	90	10
6	20	80
7,5	20	80
7,6	90	10
10	90	10

### 3.6.2 Συνθήκες Τετραπολικού Φασματομετρου Μαζών με Αναλυτή Χρόνου Πτήσης

Η αξιολόγηση του λιπιδικού προφίλ των δειγμάτων πλάσματος πραγματοποιήθηκε σε τετραπολικό αναλυτή χρόνου πτήσης TripleTOF® 6600+ . Το προαναφερθέν σύστημα ελεγχόταν από έναν υπολογιστή, όπου για την λειτουργία του οργάνου χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό Analyst® TF Software 1.8 (Sciex, USA), ενώ για την επεξεργασία των φασμάτων μάζας και των δεδομένων αξιοποίησε το λογισμικό Sciex OS Q (Sciex, USA). Τέλος, η μη στοχευμένη ανάλυση των λιπιδίων πραγματοποιήθηκε με χρήση ιονισμού με θετικό και αρνητικό ηλεκτροψεκασμό (Electrospray Ionization-ESI), ενώ η ταυτοποίηση των λιπιδίων έλαβε χώρα με βάση το μητρικό τους ιόν (MS) και χρήση της πλατφόρμας Lipid Maps (<https://www.lipidmaps.org/resources/education/classification>, 2024) Οι συνθήκες της φασματομετρίας μάζας παρουσιάζονται στον Πίνακα 10 και του ηλεκροψεκασμού ESI στον πίνακα 11.

Πίνακας 10: Συνθήκες QTOF

ΣΥΝΘΗΚΕΣ QTOF MS	
<b>Declustering potential</b>	80 eV
<b>Collision energy</b>	10 eV
<b>Cycles</b>	1009
<b>Cycle time</b>	0.5950 sec
<b>Duration</b>	10.007 min
<b>TOF Mass Range</b>	100 – 1000 Da
	High Sensitivity
<b>Product Ion (Product of IDA) – Accumulation Time</b>	0,070004 sec
<b>TOF MS – Accumulation Time</b>	0,125021 sec

Πίνακας 11: Συνθήκες ESI ηλεκτροψεκασμού

<b>ΣΥΝΘΗΚΕΣ ESI</b>	
<b>Ion source gas 1</b>	40
<b>Ion source gas 2</b>	40
<b>Curtain gas</b>	30 (au)
<b>Ionspray voltage floating</b>	4500
<b>Temperature</b>	300 °C

### 3.7 Προκατεργασία Κλινικών Δειγμάτων

Κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων τα δείγματα πλάσματος διατηρήθηκαν στην κατάψυξη στους  $-80^{\circ}\text{C}$ . Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας, παραλήφθηκε το κλάσμα των λιπιδίων μέτριας προς υψηλής πολικότητας με χρήση διαλύτη οξικού αιθυλεστέρα.

#### 3.7.1 Πορεία εκχύλισης μη δεσμευμένων και δεσμευμένων λιπιδίων σε πλάσμα αίματος:

Η πορεία εκχύλισης βασίστηκε στο πρωτόκολλο ab175819 8 isoprostone ELISA Kit (2023) (abcam, 2023). Σε falcon μεταφέρθηκε 1 mL από κάθε δείγμα πλάσματος, το οποίο ρυθμίστηκε με 12  $\mu\text{L}$  οξικού οξέος  $\text{pH}=4$ , και 1 mL οξικού αιθυλεστέρα. Ακολούθησε καλή ανάδευση στο Vortex για μερικά δευτερόλεπτα και έπειτα πραγματοποιήθηκε φυγοκέντριση στα 2000 rpm (revolutions per minute) για 10 λεπτά και σε θερμοκρασία  $22^{\circ}\text{C}$ . Μετά το πέρας της φυγοκέντρισης προέκυψαν 3 φάσεις, μια ανώτερη οργανική φάση (φάση οξικού αιθυλεστέρα), μια ενδιάμεση φάση (πρωτεϊνική φάση) και μια κατώτερη φάση (υδατική φάση). Με τη βοήθεια αυτόματης πιπέτας συλλέχθηκε 1 mL οξικού αιθυλεστέρα σε ένα δεύτερο falcon. Ακολούθησε απόρριψη της μεσαίας πρωτεϊνικής φάσης έπειτα από κάθε φυγοκέντριση. Η εκχύλιση με 1 mL οξικού αιθυλεστέρα επαναλήφθηκε συνολικά 3 φορές και επομένως η συνολική συσσωρευμένη οργανική φάση φτάνει σε όγκο  $V=3\text{mL}$ . Προκειμένου να συλλεχθούν τα ελεύθερα ισοπροστάνια πραγματοποιήθηκε εξάτμιση του οργανικού διαλύτη σε ήπιο ρεύμα αζώτου και λήφθηκε το εξαγόμενο ίζημα.

Στη συνέχεια ακολουθήθηκε η πορεία εκχύλισης των εστεροποιημένων ισοπροστανίων μέσω της αντίδρασης σαπωνοποίησης. Αρχικά, τα αποξηραμένα υπολείμματα διαλύθηκαν σε 2 mL KOH 20%, αναδεύθηκαν καλά στο Vortex για μερικά δευτερόλεπτα και επώστηκαν στο υδατόλουτρο για 1h στους  $50^{\circ}\text{C}$  για να πραγματοποιηθεί η αντίδραση. Έτσι προκύπτει ένα υδατικό διάλειμμα 2 mL, όπου μετά την επώαση, προστίθενται 3 mL  $\text{H}_2\text{O}$ . Το διάλειμμα ρυθμίστηκε με 132  $\mu\text{L}$  μυρμηκικού οξέος (φορμικό οξύ, FA) 20%  $\text{pH} = 5.5$  και προστέθηκαν 5 mL οξικού αιθυλεστέρα. Ακολούθησε καλή ανάδευση στο Vortex για μερικά δευτερόλεπτα και έπειτα πραγματοποιήθηκε φυγοκέντριση στα 2000 rpm για 10 λεπτά και σε θερμοκρασία  $22^{\circ}\text{C}$ . Με τη βοήθεια αυτόματης πιπέτας συλλέχθηκαν 5 mL οξικού αιθυλεστέρα, όπου εμπεριέχονται τα σαπωνοποιημένα λιπίδια, σε ένα τρίτο falcon. Η εκχύλιση με 5 mL οξικού αιθυλεστέρα επαναλήφθηκε συνολικά 3 φορές και επομένως η συνολική συσσω-



ρευμένη οργανική φάση φτάνει σε όγκο  $V = 15 \text{ mL}$ . Τέλος, για να συλλεχθούν και τα δεσμευμένα ισοπροστάνια πραγματοποιήθηκε εξάτμιση του οργανικού διαλύτη σε ήπιο ρεύμα αζώτου και λήφθηκε το ξηρό υπόλειμμα.

### **3.7.2 Προετοιμασία δειγμάτων για LC-MS ανάλυση:**

Προκειμένου να γίνει δυνατή η λήψη φασμάτων κατά την LC-MS ανάλυση χρειάστηκε να πραγματοποιηθεί περαιτέρω επεξεργασία των δειγμάτων. Στο ξηρό υπόλειμμα που προέκυψε, προστέθηκαν 110 $\mu\text{L}$  απιονισμένο νερό και 390 $\mu\text{L}$  ακετονιτρίλιο ακολούθησε καλή ανάδευση στο Vortex για μερικά δευτερόλεπτα και έπειτα πραγματοποιήθηκε μεταφορά του περιεχομένου δείγματος με τη βοήθεια αυτόματης πιπέτας σε LCMS Vials των 2.0 mL.

### **3.7.3 Παρασκευή δειγμάτων ελέγχου ποιότητας (QC):**

Στα πλαίσια της παρούσας πτυχιακής εργασίας παρασκευάστηκαν και αναλύθηκαν 3 αντιπροσωπευτικά δείγματα πλάσματος εθελοντών με βάση την ακόλουθη πορεία. Επιλέχθηκαν 10 δείγματα από του εθελοντές στο χρόνο 0 (QC0), 10 δείγματα από τους εθελοντές στο χρόνο 3 που δεν είχαν λάβει το λειτουργικό σνακ (QC1) και 10 δείγματα από τους εθελοντές στο χρόνο 3 που έλαβαν το λειτουργικό σνακ. Για την παρασκευή κάθε QC, παραλήφθηκε ίδια ποσότητα πλάσματος (10  $\mu\text{L}$ ) και ακολούθησε προκατεργασία των δειγμάτων όπως περιγράφηκε στις παραγράφους 3.5.1 και 3.5.2.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4<sup>ο</sup> – ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ



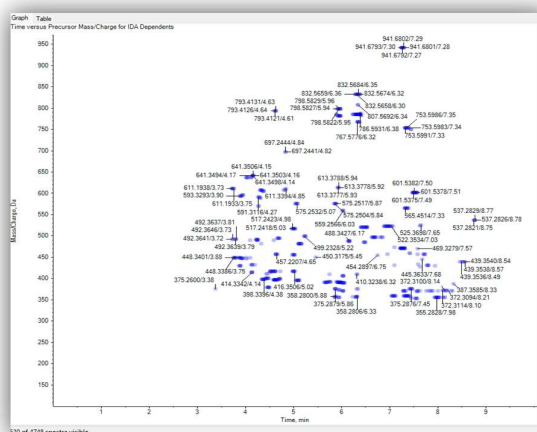
## 4.1 Ανίχνευση, Ταυτοποίηση και Κατηγοριοποίηση Λιπιδικών Ενώσεων

Στην παρούσα μελέτη, πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση του λιπιδικού προφίλ σε δείγματα πλάσματος αίματος με τη χρήση μη στοχευμένης ανάλυσης LC – QTOF MS, για την ταυτοποίηση λιπιδικών ενώσεων πιθανών βιοδεικτών στο πλάσμα αίματος εθελοντών που πάσχουν από Μεταβολικό Σύνδρομο έπειτα από πρόσληψη λειτουργικού σνακ μανιταριών.

Τα δείγματα τυχαιοποιήθηκαν σε δύο ομάδες, την ομάδα 1, η οποία δεν είχε λάβει διατροφική παρέμβαση και την ομάδα 2, η οποία είχε λάβει διατροφική παρέμβαση. Παρασκευάστηκαν τρία δείγματα ποιοτικού ελέγχου QC, όπου το QC0 περιλαμβάνει δείγματα τόσο από την ομάδα 1 όσο και από την ομάδα 2, που λήφθηκαν στην αρχή της κλινικής δοκιμής, όπου καμία ομάδα δεν είχε καταναλώσει το σνακ μανιταριών, το QC1 περιλαμβάνει δείγματα αποκλειστικά από την ομάδα 1, 3 μετά την έναρξη της κλινικής έρευνας, ενώ το QC2 περιλαμβάνει δείγματα αποκλειστικά από την ομάδα 2, 3 μήνες μετά την έναρξη της κλινικής έρευνας, αντιστοίχως.

Η ταυτοποίηση των ενώσεων πραγματοποιήθηκε με χρήση της πλατφόρμας Lipid Maps και μιας εξειδικευμένης βιβλιοθήκης λιπιδίων πλάσματος 1. (Breitkopf SB, 2017).

Μέσω του λογισμικού SCIEX OS έγινε επεξεργασία των φασμάτων μάζας και των δεδομένων, ανιχνεύοντας τα ιόντα λιπιδικών ενώσεων τόσο σε θετικό όσο και σε αρνητικό ιονισμό. Η αντιστοιχία των ενώσεων με τα δεδομένα της βάσης πραγματοποιήθηκε με ακρίβεια μάζας m/z τρίτου ή τέταρτου δεκαδικού ψηφίου. Τα ιόντα MS που παρουσιάζει ένταση ιονισμού κάτω από  $10^5$  απορρίφθηκαν με σκοπό να ταυτοποιηθούν οι λιπιδικές ενώσεις με την υψηλότερη ένταση, άρα και περιεχόμενο στα εξεταζόμενα δείγματα. Ακόμη, καταγράφηκε και ο χαρακτηριστικός χρόνος έκλουσης (RT) κάθε λιπιδικού ιόντος. Ενδεικτικά, παρουσιάζεται ο χάρτης των μεταβολιτών στο δείγμα QC2 σε θετικό ιονισμό μετά την εφαρμογή των κριτηρίων ταυτοποίησης,



Εικόνα 13: Φάσμα μάζας QC2 σε θετικό ιονισμό

Έτσι, ανιχνεύθηκαν 27 χαρακτηριστικά λιπίδια για το πλάσμα αίματος, εκ των οποίων τα 21 βρέθηκαν σε LC-MS ανάλυση με αρνητικό ιονισμό, τα 8 λιπίδια βρέθηκαν σε LC-MS ανάλυση με θετικό ιονισμό, ενώ τόσο σε θετικό όσο και σε αρνητικό ιονισμό βρέθηκαν 2 λιπίδια, όπως φαίνεται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 12: Ιόντα λιπιδίων που ανιχνεύθηκαν σε θετικό ιονισμό σε κάθε QC

Positive Ionitation												
Time 0 - QC0				Time 3 (Group 1) - QC1				Time 3 (Group 2) - QC2				
m/z	RT	TIC	Πιθανή Ταυτότητα	m/z	RT	TIC	Πιθανή Ταυτότητα	m/z	RT	TIC	Πιθανή Ταυτότητα	
522,353	8,34	3,10E+05	LPC(18:1)+H	524,369997	7,66	1,50E+06	LPC(18:0)+H	787,597032	6,39	3,20E+05	SM(d36:2)+CH3COO, SM(d18:0/18:2)+CH3 COO	
520,337	7,73	4,10E+05	LPC(18:2)+H	522,354439	6,95	1,00E+06	LPC(18:1)+H	520,338555	6,53	1,10E+06	LPC(18:2)+H	
				522,354294	6,96	1,30E+06			520,338271	6,52		1,20E+06
				522,354055	6,97	1,50E+06			520,338256	6,51		1,20E+06
				522,353995	6,94	7,80E+05			353,267668	7,57	7,90E+05	MG(18:3)+H
				496,338397	6,78	2,70E+06	LPC(16:0)+H					
				496,337969	6,65	5,00E+06						
				496,337955	6,75	1,10E+06						
				355,283145	8,03	1,30E+05	MG(18:2)+H					
				355,283018	8,18	6,70E+05						
				355,282989	8,04	1,40E+05						

Πίνακας 13: Ιόντα λιπιδίων που ανιχνεύθηκαν σε αρνητικό ιονισμό σε κάθε QC

Negative Ionitation											
Time 0 - QC0				Time 3 (Group 1) - QC1				Time 3 (Group 2) - QC2			
m/z	RT	TIC	Πιθανή Ταυτότητα	m/z	RT	TIC	Πιθανή Ταυτότητα	m/z	RT	TIC	Πιθανή Ταυτότητα
947,614	6,62	4,20E+05	SQDG(40:2)+HCOO	816,5777	6,7	4,80E+05	PC(17:0/18:2)+HCOO	842,6276	6,25	1,60E+06	PC(18:0e/20:3)+HCOO
947,6132	6,63	4,40E+05		810,6395	8,01	7,70E+05	PC(39:4e)+H, PE(42:3p)+H	816,576	6,70	2,80E+05	PC(17:0/18:2)+HCOO
816,576	6,72	3,10E+05	PC(17:0/18:2)+HCOO	787,5967	5,57	1,10E+07	SM(d18:0/18:2)+CH3COO, SM(d36:2)+CH3COO	816,574	6,67	2,90E+05	
787,599	6,24	1,90E+07	SM(d36:2)+CH3COO, SM(d18:0/18:2)+CH3COO	782,5694	5,53	1,30E+06	PC(36:4)+H	790,5609	6,63	2,30E+05	PC(15:0/18:1)+HCOO
780,554	5,61	5,00E+05	PC(36:5)+H	768,59	7,08	5,00E+05	PC(36:4e)+H, PE(39:4e)+H	790,5605	6,64	2,80E+05	
770,6056	6,97	5,90E+05	PC(36:2p)+H, PE(39:2p)+H	476,2793	6,31	1,40E+05	LPE(18:2)-H, LPE(18:3)+H	770,605	6,94	3,50E+05	PC(36:2p)+H, PE(39:2p)+H
564,3312	6,39	1,10E+05	LPC(18:2)+HCOO	476,279	6,3	1,30E+05		729,5804	7,55	2,00E+05	PA(39:1e)-H
564,3309	6,38	1,30E+05		452,2788	6,57	2,80E+05	LdMePE(14:0)-H, LPE(16:0)-H, PE(16:0p)+H	729,5804	7,53	2,80E+05	
476,2783	6,34	4,50E+04	LPE(18:2)-H, LPE(18:3)+H					729,5804	7,54	2,30E+05	
452,2788	6,59	1,60E+05	LdMePE(14:0)-H, LPE(16:0)- H, PE(16:0p)+H								

Οι λιπιδικές αυτές ενώσεις διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες λιπιδίων, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα 14.

Πίνακας 14: Κατάταξη Λιπιδίων

Compound Name	Compound	Compound Ion	Subclass	Lipid Class	Lipid Category
2-linoleoyl-sn-glycerol (2 isotopes)	MG(18:2)	MG(18:2)+H	Monoradylglycerols (MG)	Monoradylglycerols	Glycerolipids (GL)

1-(9Z,12Z,15Z-octadecatrienyl)-3-O-β-D-galactosyl)-sn-glycerol, 1-(2S-methoxy-12-methyloctadeca-7Z,17-dien-5-ynoyl)-sn-glycerol	MG(18:3)	MG(18:3)+H			
	SQDG(40:2)	SQDG(40:2)+HCOO	Sulfoquinovosyldiacylglycerols (SQDG)	Glycosyldiradyl glycerols	
	PA(39:1e)	PA(39:1e)-H	Phosphatic acids (PA)	Glycerophosphates	
1-hexadecanoyl-sn-glycerol-3-phosphocholine (2 isotopes)	LPC(16:0)	LPC(16:0)+H	Lysophosphocholines (LPC)	Glycerophosphocholines	Glycerophospholipids (GP)
1-octadecanoyl-sn-glycerol-3-phosphocholine (2 isotopes)	LPC(18:0)	LPC(18:0)+H			
1-(9Z-octadecenyl)-sn-glycerol-3-phosphocholine (7 isotopes)	LPC(18:1)	LPC(18:1)+H			
1-(2E,4E-octadecadienyl)-sn-glycerol-3-phosphocholine (2 isotopes)	LPC(18:2)	LPC(18:2)+H			
	LPC(18:2)	LPC(18:2)+HCOO			
1-tetradecanoyl-2-(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z-docosapentaenyl)-sn-glycerol-3-phosphocholine (21 isotopes)	PC(36:5)	PC(36:5)+H	Phosphatidylcholines (PC)		

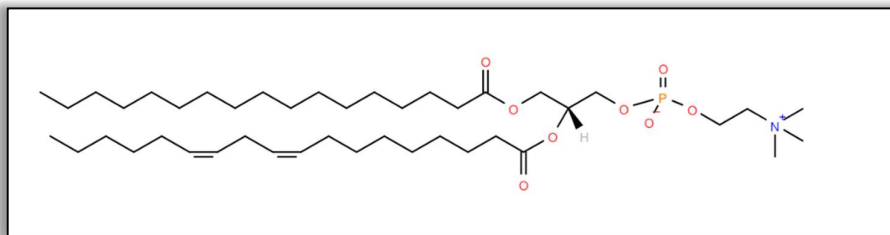
1-(1Z-hexadecenyl)-2-(11Z,14Z-eicosadienyl)-glycero-3-phosphocholine (3 isotopes)	PC(36:2p)	PC(36:2p)+H		
1-tetradecanoyl-2-(7Z,10Z,13Z,16Z-docosatetraenyl)-glycero-3-phosphocholine (27 isotopes)	PC(36:4)	PC(36:4)+H		
	PC(39:4e)	PC(39:4e)+H		
1-heptadecanoyl-2-(9Z,12Z-octadecadienyl)-glycero-3-phosphocholine	PC(17:0/18:2)	PC(17:0/18:2)+HCOO		
1-pentadecanoyl-2-(11Z-octadecenyl)-sn-glycero-3-phosphocholine	PC(15:0/18:1)	PC(15:0/18:1)+HCOO		
	PC(18:0e/20:3)	PC(18:0e/20:3)+HCOO		
2-(9Z,12Z-octadecadienyl)-sn-glycero-3-phosphoethanolamine, 1-(9Z,12Z-octadecadienyl)-glycero-3-phosphoethanolamine	LPE(18:2)	LPE(18:2)-H	Lysophosphatidylethanolamines (LPE)	Glycerophosphoethanolamines
2-(6Z,9Z,12Z-octadecatrienyl)-sn-glycero-3-	LPE(18:3)	LPE(18:3)+H		

phosphoethanolamine (4 isotopes)					
2-hexadecanoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine, 1-hexadecanoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine	LPE(16:0)	LPE(16:0)-H			
	PE(16:0p)	PE(16:0p)+H	Phosphatidylethanolamines (PE)		
	PE(42:3p)	PE(42:3p)+H			
	PE(39:4e)	PE(39:4e)+H			
	PE(39:2p)	PE(39:2p)+H			
	LdMePE(14:0)	LdMePE(14:0)-H	Lysodimethylphosphatidylethanolamine (LdMePE)		
N-(9Z,12Z-octadecadienoyl)-sphinganine-1-phosphocholine (3 isotopes)	SM(d36:2)	SM(d36:2)+CH <sub>3</sub> COO	Sphingomyelins (SM)	Phosphosphingolipids	Sphingolipids (SP)
N-(9Z,12Z-octadecadienoyl)-sphinganine-1-phosphocholine	SM(d18:0/18:2)	SM(d18:0/18:2)+CH <sub>3</sub> COO			

### Γλυκεροφωσfolιπίδια (GPs)

Τα γλυκεροφωσfolιπίδια (GPs) είναι τα πιο άφθονα φωσfolιπίδια και αποτελούν δομικά συστατικά της λιπιδικής διπλοστοιβάδας των κυττάρων με παράλληλη συμμετοχή στον μεταβολισμό και στην

σηματοδότηση. Η κύρια δομή ενός GP περιλαμβάνει δύο λιπαρά οξέα (FA) που είναι εστεροποιημένα με τη σκελεττό της γλυκερόλης στις θέσεις sn-1 και sn-2,



Εικόνα 14:: Common Name PC(17:0/18:2(9Z,12Z)) Systematic Name 1-heptadecanoyl-2-(9Z,12Z-octadecadienoyl)-glycero-3-phosphocholine

καθώς και ένα μόριο φωσφορικής ομάδας με μια κεφαλική ομάδα όπως η χολίνη, η αιθανολαμίνη ή η σερίνη στη θέση sn-3, σχηματίζοντας υποκατηγορίες GP όπως η φωσφατιδυλοχολίνη (PC), η φωσφατιδυλαιθανολαμίνη (PE) και η φωσφατιδυλοσερίνη (PS). Αυτές οι τρεις υποκατηγορίες συντίθενται κυρίως στο ενδοπλασματικό δίκτυο (ER), όπου τα νεοσυντιθέμενα GPs υφίστανται αναδιάρθρωση των αλυσίδων λιπαρών οξέων μέσω της ενσωμάτωσης πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs) στη θέση sn-2.

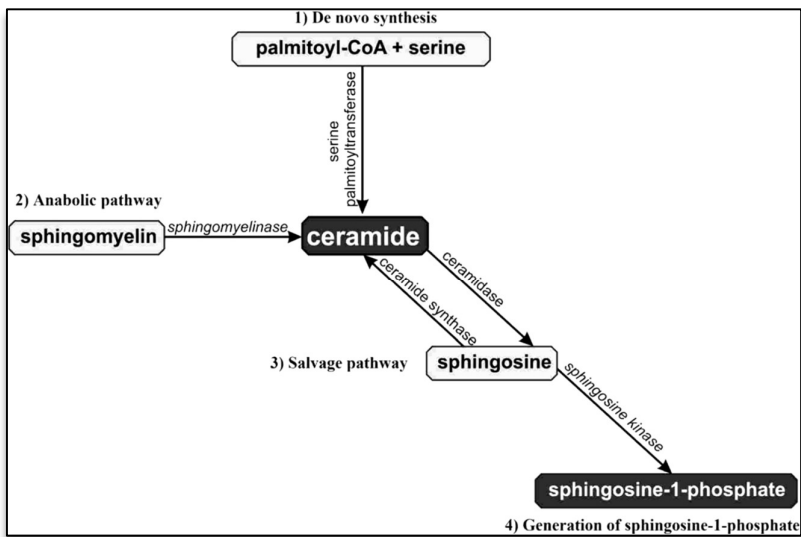
Σύμφωνα με τις μελέτες των Singh RK et al., Gréchez-Cassiau A et al, Jacobs RL et al. και Raubenheimer et al. αποδείχθηκε πως μη φυσιολογικές συγκεντρώσεις των PC και/ή PE μπορεί να συμβάλλουν σε χαρακτηριστικά του μεταβολικού συνδρόμου (MetS), όπως η δυσλιπιδαιμία, η παχυσαρκία και η αντίσταση στην ινσουλίνη. Ακόμη, ανέδειξαν πιθανή συσχέτιση αυτών με τον κίνδυνο εμφάνισης σακχαρώδους διαβήτη τύπου 2 (T2D) και καρδιαγγειακών παθήσεων (CVDs). Επίσης, έχει αποδειχθεί ότι η λυσοφωσφατιδυλοχολίνη (Lyso-PC) επάγει την έκφραση μορίων προσκόλλησης κυττάρων και την έκκριση φλεγμονωδών μεσολαβητών στα ενδοθηλιακά κύτταρα, ενώ έχει εμπλακεί στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης. (Singh RK, 2012), (Gréchez-Cassiau A, 2015), (Jacobs RL, 2010), (Raubenheimer PJ, 2006) Επιπλέον, τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια έχουν βρεθεί να εναποτίθενται στις αθηροσκληρωτικές πλάκες. (Donovan EL, 2013) Χαρακτηριστικό παράδειγμα συμβολής των προαναφερθέντων λιπιδίων με τα μεταβολικά σύνδρομα αποτελεί η μελέτη των Eleonora Candi et al., όπου αφορά άτομα που πάσχουν από κοιλιακή παχυσαρκία συγκριτικά με υγιή. Παρατηρήθηκε αυξημένος ρυθμός ανανέωσης των λιπιδικών μεμβρανών σε άτομα με μεταβολικό σύνδρομο, λόγω της συσσώρευσης λυσολιπιδίων (π.χ. LPE, LPC) στους ιστούς των παχύσαρκων ατόμων. (Candi E, 2018)

### Σφιγγολιπίδια (SPs)

Τα σφιγγολιπίδια (SP) είναι παράγωγα της αμινοαλκοόλης σφιγγοσίνης και αποτελούν βιολογικά ενεργά συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών. Παράλληλα έχουν ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στην ενδοκυτταρική μεταγωγή σήματος και ρυθμίζουν κυτταρικές διεργασίες, όπως ο πολλαπλασιασμός, η ωρίμανση και η απόπτωση, ενώ εμπλέκονται ακόμη και στις κυτταρικές αποκρίσεις στρες. Από τα σημαντικότερα σφιγγολιπίδια είναι το κεραμίδιο (CER), το οποίο αποτελεί πρόδρομο μόριο για άλλα βιολογικά ενεργά σφιγγολιπίδια. Η κυτταρική παραγωγή του επάγεται από ποικίλους παράγοντες, όπως

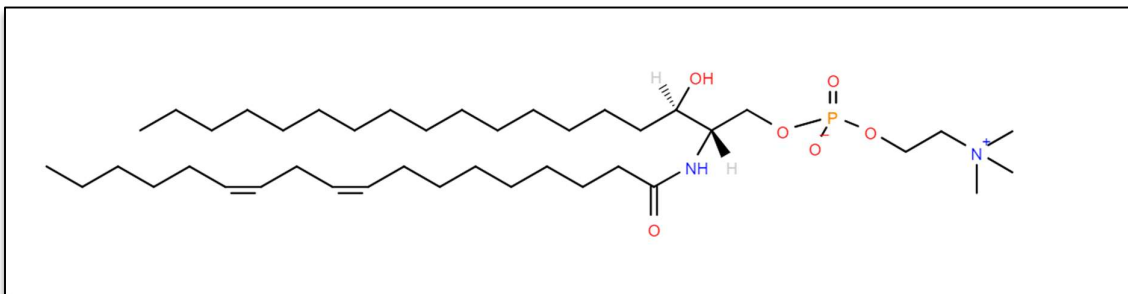


τα γλυκοκορτικοστεροειδή, οι αυξητικοί παράγοντες, οι ιντερλευκίνες, οι ιντερφερόνες, η ιονίζουσα ακτινοβολία και διάφορα χημειοθεραπευτικά. Η παραγωγή του κεραμιδίου επάγεται σε τρεις μεταβολικές οδούς: 1) de novo σύνθεση κυτταρο- στο σολικό στρώμα του ενδοπλασματικού δικτύου μέσω της παλμι- τολτρανσφεράσης της σερίνης (SPT), 2) υδρόλυση της σφιγγομυελίνης μέσω της σφιγγο- μυελινάσης και 3) παραγωγή κεραμιδίου από τη σφιγγοσίνη μέσω της N- ακυλοτρανσφεράσης της σφιγγανίνης (συνθάση του κεραμιδίου) - οδός διάσωσης. (Sonia Borodziej, 2015)



Εικόνα 15:Μεταβολικά μονοπάτια κεραμιδίων (CER)

Όσον αφορά τη δομή των SPs συντελούν μια πολύπλοκη οικογένεια ενώσεων τα οποία μοιράζονται ένα κοινό δομικό χαρακτηριστικό, τη σκελετό βάσης σφιγγοειδούς, η οποία συντίθεται de novo από σερίνη και λιπαρό οξύ μακράς αλυσίδας-CoA και στη συνέχεια μετατρέπεται σε κεραμίδια, φωσφοσφιγγολιπίδια, γλυκοσφιγγολιπίδια και άλλες μορφές, όπως προσδέτες πρωτεϊνών. (<https://www.lipidmaps.org/resources/education/classification>, 2024)



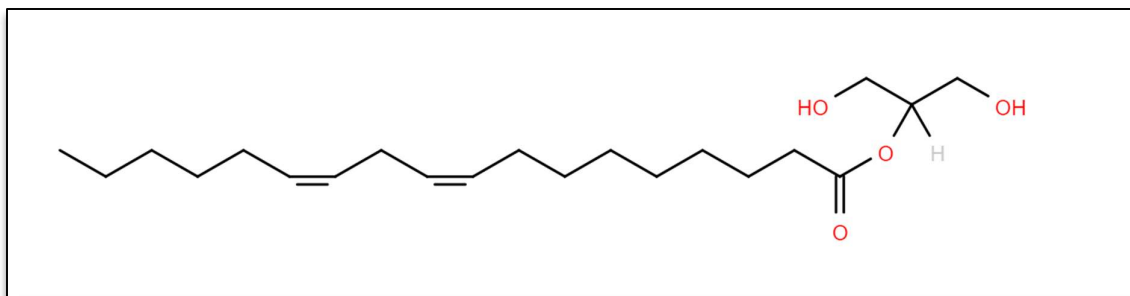
Εικόνα 16:Common Name SM(d18:0/18:2) Systematic Name N-(9Z,12Z-octadecadienyl)-sphinganine-1-phosphocholine

Πολλές έρευνες υποδηλώνουν τον καθοριστικό ρόλο των σφιγγολιπιδίων στην παθογένεια ασθενειών του τρόπου ζωής, όπως το έμφραγμα του μυοκαρδίου, η υπέρταση, το εγκεφαλικό επεισόδιο, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 και η παχυσαρκία.

Πιο συγκεκριμένα, μελέτες των Spijkers LJA et al. αναφέρουν πως το επίπεδο κεραμιδίου είναι αυξημένο σε ασθενείς με υπέρταση και η συγκέντρωσή του εξαρτάται από την σοβαρότητα της νόσου. (Spijkers LJ, 2011) Αυξημένα επίπεδα παρατηρήθηκαν επίσης και σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Στα παχύσαρκα άτομα, τα επίπεδα κεραμιδίου βρέθηκαν μειωμένα στο πλάσμα αίματος 6 μήνες μετά από χειρουργική επέμβαση, όπου πραγματοποιήθηκε απώλεια βάρους και παρατηρήθηκε βελτίωση στην ευαισθησία στην ινσουλίνη. (Sonia Borodzicz, 2015)

### Γλυκερολιπίδια (GLs)

Τα γλυκερολιπίδια (GL) αποτελούνται κυρίως από μονο-, δι- και τρι-υποκατεστημένα γλυκερίδια, με κυριότερα αυτών τους εστέρες λιπαρών οξέων με γλυκερόλη (τριάκυλογλυκερόλες), γνωστά και ως τριγλυκερίδια. Αυτά αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος του αποθηκευμένου λίπους στους ιστούς των θηλαστικών. (<https://www.lipidmaps.org/resources/education/classification>, 2024)



Εικόνα 17: Common Name 2-linoleoyl-sn-glycerol Systematic Name 2-(9Z,12Z-octadecadienoyl)-sn-glycerol

Τα γλυκερολιπίδια διαδραματίζουν ποικίλους σημαντικούς βιοχημικούς ρόλους, από την αποθήκευση ενέργειας έως τη λειτουργία ως δεξαμενές πρόδρομων μορίων για σηματοδοτικές ουσίες που απελευθερώνονται ως αποτέλεσμα της ενεργοποίησης υποδοχέων της μεμβράνης.

Σύμφωνα με έρευνες παρατηρήθηκε πως ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο έχουν διαφορετικά επίπεδα γλυκερολιπιδίων (GLs) και γλυκεροφωσfolιπιδίων (GPs) σε σχέση με υγιή άτομα. Ειδικότερα, βρέθηκαν χαμηλότερα επίπεδα GL και υψηλότερα επίπεδα GP. Πιθανότατα, η διαφορά αυτή να οφείλεται με τον αριθμό των διπλών δεσμών και των ατόμων άνθρακα, μιας και όσο λιγότερους διπλούς δεσμούς και αριθμό ανθράκων έχουν οι λιπιδικές ενώσεις, τόσο μεγαλύτερος κίνδυνος εγκυμονεί για εμφάνιση μεταβολικών νοσημάτων, όπως διαβήτης τύπου 2. (Joné M, 2014)

## 4.2 Σύγκριση Δειγμάτων Ελέγχου Ποιότητας QC

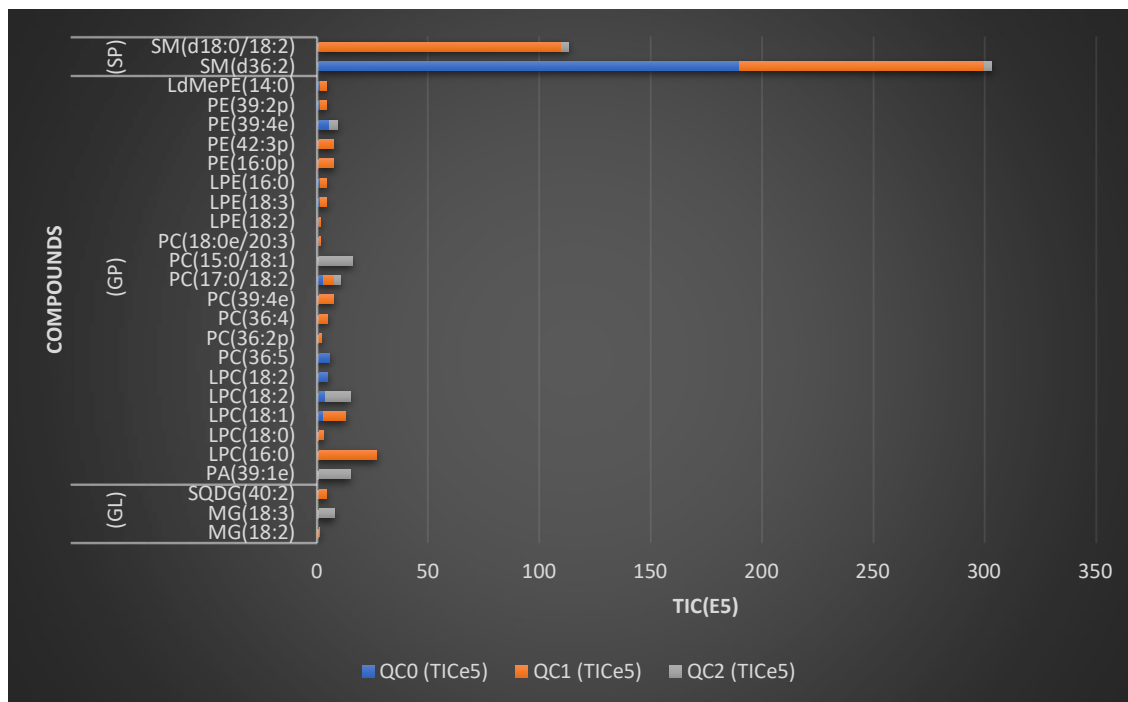
Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε σύγκριση των λιπιδικών ενώσεων που υπάρχουν σε κάθε δείγμα QC προκειμένου, ώστε να παρατηρηθούν τυχόν διαφορές στο λιπιδικό προφίλ των εθελοντών στην αρχή και στο τέλος της κλινικής έρευνας (3 μήνες μετά), ανάλογα με την λήψη ή όχι λειτουργικού σνακ μανιταριών.

Πίνακας 15: Λιπίδια που ανιχνεύτηκαν σε κάθε QC μαζί με τα m/z και τον RT τους

Compound	m/z	RT	QC0	QC1	QC2
SQDG(40:2)	947,6132	6,63			
PC(18:0e/20:3)	842,6276	6,25			
PC(17:0/18:2)	816,576	6,70			
PE(42:3p)	810,6395	8,01			
PC(39:4e)	810,6395	8,01			
PC(15:0/18:1)	790,5605	6,64			
SM(d36:2)	787,597	6,39			
SM(d18:0/18:2)	787,597	6,39			
PC(36:4)	782,5694	5,53			
PC(36:5)	780,554	5,61			
PE(39:2p)	770,6056	6,97			
PC(36:2p)	770,6056	6,97			
PE(39:4e)	768,59	7,08			
PC(36:4e)	768,59	7,08			
PA(39:1e)	729,5804	7,54			
LPC(18:0)	524,37	7,66			
LPC(18:1)	522,3544	6,95			
LPC(18:2)	520,3386	6,53			
LPC(16:0)	496,3384	6,78			
LPE(18:3)	476,2783	6,34			
LPE(18:2)	476,2783	6,34			
PE(16:0p)	452,2788	6,57			
LdMePE(14:0)	452,2788	6,59			
LPE(16:0)	452,2788	6,59			
MG(18:2)	355,283	8,04			

Στον Πίνακα 15 φαίνονται οι λιπιδικές ενώσεις που υπάρχουν σε κάθε δείγμα QC, καθώς και ποιες ενώσεις είναι κοινές σε αυτά. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε πως οι κοινές ενώσεις μεταξύ των QC0 και QC1 είναι 9 (PC(17:0/18:2), SM(d36:2), SM(d18:0/18:2), LPC(18:1), LPE(18:3), LPE(18:2), PE(16:0p), LdMePE(14:0), LPE(16:0)) και είναι περισσότερες από τις κοινές ενώσεις που εντοπίζονται μεταξύ των QC0 και QC2 που είναι 5(PC(17:0/18:2), SM(d36:2), SM(d18:0/18:2), PE(39:2p), LPC(18:2)) , ενώ μεταξύ των QC1 και QC2 είναι μόλις 3 (PC(17:0/18:2), SM(d36:2), SM(d18:0/18:2)). Το γεγονός ότι υπάρχουν αρκετές κοινές ενώσεις μεταξύ των QC0 και QC1 πιθανότατα να οφείλεται στο ότι δεν υπήρξε διατροφική παρέμβαση στα άτομα που ανήκουν στα δύο QCs κι επομένως δεν αναμένεται διαφοροποίηση στο λιπιδικό προφίλ τους.

Επιπλέον στην Εικόνα 20 πραγματοποιείται σύγκριση των λιπιδικών ενώσεων που υπάρχουν στα QC ως προς την ένταση των φασμάτων τους (TIC( $10^5$ )), με σκοπό τον εντοπισμό και σύγκριση των διαφορετικών εντάσεων μεταξύ **κοινών ενώσεων** που βρίσκονται στα QCs.



Εικόνα 18: Διάγραμμα Ενώσεων (Compounds) ως προς τις εντάσεις των λιπιδίων (TIC)

Ειδικότερα, παρατηρείται πως η ένταση των σφιγγολιπιδίων (SM(d36:2), SM(d18:0/18:2)) είναι εμφανώς μεγαλύτερη σε σχέση με τα υπόλοιπα λιπίδια και συγκρίνοντάς τα και στα 3 QCs βρέθηκε σε ιδιαίτερα υψηλά επίπεδα στα QC0 και QC1, ενώ υπήρχε σημαντική μείωση στο QC2. Στα γλυκεροφωσφολιπίδια που είναι κοινά σε QC0 και σε QC2 παρατηρήθηκε μικρή διαφορά της έντασης με μικρή αύξηση από QC0 σε QC2 στα PC(17:0/18:2) και PE(39:2p), μικρή διαφορά της έντασης με μικρή μείωση από QC0 σε QC2 παρατηρήθηκε στο PC(17:0/18:2), ενώ μεγάλη διαφορά έντασης με αύξηση της τιμής από QC0 σε QC2 παρατηρήθηκε στο LPC(18:2). Στο κοινό γλυκεροφωσφολιπίδιο (PC(17:0/18:2)) μεταξύ QC1 και QC2 παρατηρήθηκε μικρή διαφορά έντασης με αύξηση της τιμής του από QC1 σε QC2.

Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται συνοπτικά οι μεταβολές που παρατηρήθηκαν στις εντάσεις των λιπιδίων μεταξύ των QC που υπήρχαν σε δύο ή παραπάνω από αυτά.

Πίνακας 16: Μεταβολές εντάσεων των λιπιδίων μεταξύ των QC

Lipid category	Compound	QC1 vs QC0	QC2 vs QC0	QC2 vs QC1
(GL)	MG(18:2)	-	-	-
	MG(18:3)	-	-	-
	SQDG(40:2)	-	-	-
(GP)	PA(39:1e)	-	-	-
	LPC(16:0)	-	-	-
	LPC(18:0)	-	-	-
	LPC(18:1)	Up	-	-
	LPC(18:2)	-	Up	-
	LPC(18:2)	-	-	-
	PC(36:5)	-	-	-
	PC(36:2p)	-	-	-
	PC(36:4)	-	-	-
	PC(39:4e)	-	-	-
	PC(17:0/18:2)	Up	Up	Down
	PC(15:0/18:1)	-	-	-
	PC(18:0e/20:3)	Up	-	-
	LPE(18:2)	Up	-	-
	LPE(18:3)	Up	-	-
	LPE(16:0)	Up	-	-
	PE(16:0p)	-	-	-
	PE(42:3p)	-	-	-
	PE(39:4e)	-	Down	-
	PE(39:2p)	Up	-	-
	LdMePE(14:0)	Up	-	-
(SP)	SM(d36:2)	Down	Down	Down
	SM(d18:0/18:2)	Down	Down	Down

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5<sup>ο</sup> – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ



## 5.1 Συμπεράσματα

Παρατηρώντας τις διαφορές που υπήρχαν στους πίνακες του κεφαλαίου 4όσον αφορά τις κοινές λιπιδικές ενώσεις στα QCs, αλλά και τις διαφορές ως προς τις εντάσεις των φασμάτων καταλήγουμε στα εξής συμπεράσματα.

- Στην αρχή της κλινικής έρευνας σε time 0 τα επίπεδα των **σφιγγολιπιδίων** ήταν ιδιαίτερα υψηλά άτομα με τα μεταβολικά σύνδρομα (QC0), γεγονός που επιβεβαιώνεται και από άλλες μελέτες. (Carresi, et al., The Effect of Natural Antioxidants in the Development of Metabolic Syndrome: Focus on Bergamot Polyphenolic Fraction, 2020), (Allegra, 2020), (Carresi, et al., 2020)
- Έπειτα από 3 μήνες, δηλαδή στο τέλος της κλινικής έρευνας, παρατηρήθηκε πως στα άτομα που **έλαβαν** το λειτουργικό σνακ μανιταριών (QC2) που ήταν πλούσιο σε αντιοξειδωτικά τα επίπεδα των **σφιγγολιπιδίων** είχαν μείωση των επιπέδων τους. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει την ευεργετική δράση του λειτουργικού σνακ μανιταριών στα άτομα αυτά, πιθανότατα καταπολεμώντας τις ελεύθερες ρίζες και συνεπώς συμβάλλοντας στην μείωση του οξειδωτικού στρες στην οποία λαμβάνουν μέρος τα σφιγγολιπίδια. (Carresi, et al., The Effect of Natural Antioxidants in the Development of Metabolic Syndrome: Focus on Bergamot Polyphenolic Fraction, 2020), (Candi E, 2018)
- Οι διαφορές των επιπέδων εντάσεων των **γλυκεροφωφολιπιδίων** τόσο κατά την αρχή της κλινικής έρευνας (QC0) όσο και στο τέλος (QC1 και QC2) δεν εμφανίζουν τόσο μεγάλες διαφορές συγκριτικά με τα σφιγγολιπίδια, ωστόσο μπορούν να εξαχθούν αξιόπιστα αποτελέσματα. (Joné M, 2014), (Sharebiani, Mokaram, Mirghani, Fazeli, & Stanek, 2024)
- Το περιεχόμενο των περισσότερων **γλυκεροφωσφολιπιδίων** φαίνεται να μη διαφέρει τόσο στην ομάδα που είχε λάβει διατροφική παρέμβαση (QC2) όσο και στην ομάδα που δεν είχε λάβει διατροφική παρέμβαση (QC1). (Joné M, 2014), (Sharebiani, Mokaram, Mirghani, Fazeli, & Stanek, 2024)
- Συγκεκριμένα, τα PC και τα PE παρουσιάζουν μικρή αύξηση στα άτομα που έλαβαν τη διατροφική παρέμβαση συγκρίνοντας τα επίπεδά τους στα QC0 και QC2, ενώ στο LPC παρατηρείται μια σχετικά διακριτή αύξηση(QC0) από την αρχή μέχρι το τέλος της διατροφικής παρέμβασης (QC2).
- Τα σχεδόν σταθερά επίπεδα των PC και PE μπορεί να οφείλονται στην προστατευτική δράση των αντιοξειδωτικών, όπου διατηρούν τα επίπεδα των λιπιδίων χωρίς απαραίτητα να μειώνουν ή να αυξάνουν τα επίπεδα των συγκεκριμένων λιπιδίων. (Sharebiani, Mokaram, Mirghani, Fazeli, & Stanek, 2024)

- Ακόμη, παρατηρείται μικρή αύξηση των επιπέδων του PC (39:4e) στο τέλος της κλινικής μελέτης συγκρίνοντας την ομάδα που έλαβε την διατροφική παρέμβαση (QC2) και αυτή που δεν έλαβε την διατροφική παρέμβαση(QC1).
- Οι παραπάνω παρατηρήσεις για τα **PC και PE** φαίνεται να σχετίζονται με την αντιοξειδωτική δράση του λειτουργικού σνακ μανιταριών, καθώς φαίνεται εμποδίζεται η λιπιδική τους υπεροξείδωση, η οποία αποτελεί ιδιαίτερα σημαντικό παράγοντα για την ανάπτυξη φλεγμονής και οξειδωτικού στρες που επάγουν τον κίνδυνο ανάπτυξης μεταβολικών διαταραχών. Επομένως, **η σταθερή τιμή ή η μικρή αύξηση των επιπέδων των επιπέδων των PC και PE πιθανά να αποτελούν ένδειξη για την αντιοξειδωτική δράση του σνακ.** Από την άλλη μεριά, παρατηρείται μια μη αναμενόμενη αυξημένη ένταση του LPC (18:2) , η οποία δεν μπορεί να δικαιολογηθεί με κάποιον τρόπο και πιθανότατα να οφείλεται σε άλλους μηχανισμούς ή αντιδράσεις που δεν μελετώνται στην παρούσα πτυχιακή μελέτη. (Candi E, 2018), (Sharebiani, Mokaram, Mirghani, Fazeli, & Stanek, 2024), (Joné M, 2014)

Συμπερασματικά, φαίνεται πως το λειτουργικό σνακ μανιταριών που είναι εμπλουτισμένο με αντιοξειδωτικά (φαινολικές ενώσεις) να έχει κάποια θετική επίδραση όσον αφορά το λιπιδικό προφίλ ατόμων με μεταβολικά σύνδρομα και ιδιαίτερα τη μείωση των σφιγγολιπιδίων.



## 5.2 Μελλοντικές προοπτικές

Ωστόσο, χρειάζεται να γίνουν περαιτέρω μελέτες που αφορούν την απαιτούμενη δοσολογία αντιοξειδωτικών που θα μπορούσε να προστεθεί σε λειτουργικά τρόφιμα ώστε να έχει ακόμα πιο ευεργετικές επιδράσεις στα άτομα με μεταβολικό σύνδρομο ή/και να εξεταστούν ποια άλλα συστατικά των μανιταριών (πχ. β-γλυκάνες) μπορούν να έχουν ενδεχομένη θετική επίδραση στην υγεία των ατόμων αυτών.

Εξίσου σημαντική είναι και η ανάλυση του συνόλου των δειγμάτων της παρέμβασης και στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων με εργαλεία χημειομετρίας, καθώς έτσιδιευκολύνεται η επικύρωση των αποτελεσμάτων,. Παράλληλα, είναι δυνατός ο εντοπισμός σημαντικών σχέσεων μεταξύ λιπιδίων και διατροφικών παραμέτρων, προσδιορίζοντας τις μεταβολικές αλλαγές που προκαλούνται από τη διατροφική παρέμβαση.

Μια ακόμη πρόταση για έρευνα αποτελεί η μελέτη λιπιδικών κλασμάτων διαφορετικών πολικότητων (πχ. μη πολικά λιπίδια) προκειμένου να γίνει πλήρης αξιολόγηση του λιπιδικού προφίλ. Βέβαια, ιδιαίτερα σημαντική αποτελεί και η μελέτη λιπιδίων με εφαρμογή αντίστοιχων αναλυτικών τεχνικών και σε άλλα βιολογικά υγρά όπως κόπρανα, ούρα, μητρικό γάλα, ώστε να διερευνηθεί η πιθανότητα ανίχνευσης κι άλλων πιθανών βιοδεικτών.

Τελευταία αλλά και πιο σημαντική είναι η διεξαγωγή προοπτικών μελετών διάρκειας ετών, για πιο έγκυρη εξέταση του λιπιδικού προφίλ των ατόμων με Μ.Σ. και να φανεί πιθανή βελτίωση της νοσηρότητας των ασθενών.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- abcam. (2023, February 22). Ανάκτηση από <https://www.abcam.com/en-us/products/elisa-kits/8-isoprostane-elisa-kit-ab175819>
- Ajmera, R. (2020, January 17). *Healthline*. Ανάκτηση από Healthline: <https://www.healthline.com/nutrition/functional-foods#benefits>
- Alberti KG, Z. P. (2006, May 23). Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation.
- Allegra, M. (2020, November 30). Redox Regulation of Metabolic Syndrome: From Biochemical Mechanisms to Nutritional Interventions.
- Almeida R, P. J.-B. (2015, January). Comprehensive lipidome analysis by shotgun lipidomics on a hybrid quadrupole-orbitrap-linear ion trap mass spectrometer.
- Almeida R, P. J.-B. (2015, January). Comprehensive lipidome analysis by shotgun lipidomics on a hybrid quadrupole-orbitrap-linear ion trap mass spectrometer.
- Alonso A, B. J.-R.-G. (2005, November). Low-fat dairy consumption and reduced risk of hypertension: the Seguimiento.
- Alonso A, M. S. (2015, March 5). Analytical methods in untargeted metabolomics: state of the art in 2015.
- Amalia Yanni, Y. K. (2024, March 15). Functional Foods and Sustainable Health. *Nutrients*.
- Ami N, B. M. (2016, April). Folate and neural tube defects: The role of supplements and food fortification. *Paediatr Child Health*.
- Ami N, B. M. (2016, April). Folate and neural tube defects: The role of supplements and food fortification. *Paediatr Child Health*.
- Ana Karina Zambrano, S. C.-U.-P.-T.-C.-R.-T.-R. (2024, March 3). Impact of fundamental components of the Mediterranean diet on the microbiota composition in blood pressure regulation.
- Ana Karina Zambrano, S. C.-U.-P.-T.-C.-R.-T.-R. (2024, May 3). Impact of fundamental components of the Mediterranean diet on the microbiota composition in blood pressure regulation. *Journal of Translational Medicine* .
- Anderson JW, B. P. (2009, April). Health benefits of dietary fiber.
- Angeliki Papadaki, E. N. (2020, October 30). The Effect of the Mediterranean Diet on Metabolic Health: A Systematic Review and Meta-Analysis of Controlled Trials in Adults. *Nutrients*.
- Ann C. Skulas-Ray, S. G.-E. (2008, May). Omega-3 fatty acid concentrates in the treatment of moderate hypertriglyceridemia. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*.
- António Bovolini, J. G. (2020, October 19). Metabolic Syndrome Pathophysiology and Predisposing Factors. *Thieme*.
- Araújo AM, C. F. (2021, October 9). Toxicometabolomics: Small Molecules to Answer Big Toxicological Questions. *Mwtabolites*.

- Astarita G, L. J. (2013, August 13). An emerging role for metabolomics in nutrition science. *J Nutrigenet Nutrigenomics*.
- Aurelia Magdalena Pisoschi, A. P. (2015, April 25). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*.
- B. Panagiotakos, C. P. (2006, February 10). Dietary patterns: A Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*.
- Bano Z, R. S. (1988). Pleurotus mushrooms. Part II. Chemical composition, nutritional value, post-harvest physiology, preservation, and role as human food.
- Barros, L. C. (2008). Wild and Commercial Mushrooms as Source of Nutrients and Nutraceuticals.
- Bes-Rastrollo M, S.-V. A.-G.-G. (2006, February). Predictors of weight gain in a Mediterranean cohort: the Seguimiento Universidad de Navarra Study.
- Bojarczuk, A. &.-Z. (2023). Polyphenol Supplementation and Antioxidant Status in Athletes: A Narrative Review. *Nutrients*.
- Breitkopf SB, R. S. (2017, March). A relative quantitative positive/negative ion switching method for untargeted lipidomics via high resolution LC-MS/MS from any biological source. *Metabolomics*.
- Candi E, T. M.-P. (2018, March 15). Metabolic profiling of visceral adipose tissue from obese subjects with or without metabolic syndrome. *Biochem J*.
- Carresi, C., Gliozzi, M., Musolino, V., Scicchitano, M., Scarano, F., Bosco, F., . . . al., e. (2020, May 21). The Effect of Natural Antioxidants in the Development of Metabolic Syndrome: Focus on Bergamot Polyphenolic Fraction. *Nutrients*.
- Carresi, C., Gliozzi, M., Musolino, V., Scicchitano, M., Scarano, F., Bosco, F., . . . Ruga, S. (2020). The Effect of Natural Antioxidants in the Development of Metabolic Syndrome: Focus on Bergamot Polyphenolic Fraction. *Nutrients*.
- Castro-Perez JM, K. J. (2010, May 7). Comprehensive LC-MS E lipidomic analysis using a shotgun approach and its application to biomarker detection and identification in osteoarthritis patients.
- Chang ST, W. S. (2012). The role of culinary-medicinal mushrooms on human welfare with a pyramid model for human health. *Int J Med Mushrooms*.
- Chiara Cerletti, S. E. (2021, June 25). Edible Mushrooms and Beta-Glucans: Impact on Human Health. *Nutrients*.
- ChinChyeTeo, W. P. (2015, March). Advances in sample preparation and analytical techniques for lipidomics study of clinical samples.
- Chunyan Wang, M. W. (2015, March). Applications of Mass Spectrometry for Cellular Lipid Analysis.
- D. N. Parab R Dhalagade, A. K. (2012, May). Effect of incorporation of mushroom (Pleurotus sajor-caju) powder on quality characteristics of Papad (Indian snack food). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*.

- Dayi T, O. M. (2022, October 17). Effects of the Mediterranean diet on the components of metabolic syndrome.
- Di Daniele, N. N.-P. (2017, January 31). Impact of Mediterranean diet on metabolic syndrome, cancer and longevity.
- Diego Cunha Zied, A. P.-G. (2017, September). Edible and Medicinal Mushrooms: Technology and Applications.
- Donovan EL, P. S. (2013, May 14). Lipidomic analysis of human plasma reveals ether-linked lipids that are elevated in morbidly obese humans compared to lean.
- Dwyer JT, W. K. (2015, January 15). Fortification and health: challenges and opportunities.
- Eliana Pereira, L. B. (2012, January 15). Towards chemical and nutritional inventory of Portuguese wild edible mushrooms in different habitats. *Food Chemistry*, σσ. 394-403.
- Emma McCracken, M. M. (2017, September). Pathophysiology of the metabolic syndrome. *Elsevier Inc.*
- Eva Sulistiowati, M. S. (2016, January - April). NCEP-ATP III and IDF criteria for metabolic syndrome. *UNIVERSA MEDICINA*.
- Feeney MJ, D. J.-L. (2014, July). Mushrooms and Health Summit proceedings.
- Filipa S. Reis, L. B. (2012, February). Chemical composition and nutritional value of the most widely appreciated cultivated mushrooms: An inter-species comparative study. *Food and Chemical Toxicology*, σσ. 191-197.
- Food and Drug Administration*. (χ.χ.). Ανάκτηση από <https://www.fda.gov/>
- Fraga-Corral, M. C.-O.-G. (2020). Analytical Metabolomics and Applications in Health, Environmental and Food Science. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*.
- Franquesa, M. P.-B.-F.-P.-M.-M.-F. (2019, March 18). Mediterranean Diet and Cardiometabolic Syndrome: A Systematic Review through Evidence-Based Answers to Key Clinical Questions. *Nutrients*.
- Geleijnse JM, K. F. (2003, July). Blood pressure response to changes in sodium and potassium intake: a meta-regression analysis of randomised trials.
- GENOVEFA D. KOLOVOU, K. K. (2007, June). The Prevalence of Metabolic Syndrome in Various Populations.
- Giordano G, G. A. (2019). Quantification of Underivatized Amino Acids on Dry Blood Spot, Plasma, and Urine by HPLC-ESI-MS/MS.
- Gracia Fahed, L. A. (2022, January 12). Metabolic Syndrome: Updates on Pathophysiology and Management in 2021. *International Journal of Molecular Sciences*.
- Gréchez-Cassiau A, F. C. (2015). The hepatic circadian clock regulates the choline kinase  $\alpha$  gene through the BMAL1-REV-ERB $\alpha$  axis.
- Greenberg JA, B. S. (2011). Folic Acid supplementation and pregnancy: more than just neural tube defect prevention.
- H., M. (2005). Biochemical properties of peptides encrypted in bovine milk proteins.

- Harshfield EL, K. A. (2019, June 7). An Unbiased Lipid Phenotyping Approach To Study the Genetic Determinants of Lipids and Their Association with Coronary Heart Disease Risk Factors. . *Proteome*.
- He FJ, M. G. (2002, November). Effect of modest salt reduction on blood pressure: a meta-analysis of randomized trials.
- He K, H. F. (2004, December 28). Changes in intake of fruits and vegetables in relation to risk of obesity and weight gain among middle-aged women.
- <https://www.lipidmaps.org/resources/education/classification>. (2024, February 20). Ανάκτηση από Lipid Maps.
- Ignat I, V. I. (2011, June). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables.
- International Diabetes Foundation*. (2005). Ανάκτηση από <https://idf.org/>
- Jacob M, M. A. (2018, September 26). A targeted metabolomics approach for clinical diagnosis of inborn errors of metabolism.
- Jacobs RL, Z. Y. (2010, July 16). Impaired de novo choline synthesis explains why phosphatidylethanolamine N-methyltransferase-deficient mice are protected from diet-induced obesity.
- JanHummel, S. (2011, October 12). Ultra performance liquid chromatography and high resolution mass spectrometry for the analysis of plant lipids.
- Janna L. Morrison, T. R. (2016, June). Morrison JL, Regnault TR. Nutrition in Pregnancy: Optimising Maternal Diet and Fetal Adaptations to Altered Nutrient Supply. *Nutrients*.
- Jee SH, M. E. (2002, August). The effect of magnesium supplementation on blood pressure: a meta-analysis of randomized clinical trials.
- Jeremy K. Nicholson, E. H. (2012, November 14). Metabolic phenotyping in clinical and surgical environments.
- JK., N. (2006). Global systems biology, personalized medicine and molecular epidemiology. *Molecular Systems Biology*.
- Johannes V. Swinnen, J. D. (2022, January 20). A beginner's guide to lipidomics. *The Biochemist*.
- Jové M, N. A.-O.-L.-M. (2014, December). Plasma lipidomics discloses metabolic syndrome with a specific HDL phenotype.
- K G M M Alberti, R. H.-C. (2009, October 5). Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International . *Circulation*.
- K George M M Alberti, P. Z. (2005, September 24). The metabolic syndrome—a new worldwide definition. *IDF Epidemiology Task Force Consensus Group*.
- Kalac, P. (2009, February). Chemical Composition and Nutritional Value of European Species of Wild Growing Mushrooms: A Review.

- Karppanen H, K. P. (2005, December). Why and how to implement sodium, potassium, calcium, and magnesium changes in food items and diets?
- Kleftaki SA, A. C. (2022, October 26). A Randomized Controlled Trial on Pleurotus eryngii Mushrooms with Antioxidant Compounds and Vitamin D2 in Managing Metabolic Disorders. *Antioxidants* (Basel).
- Kolanowski, W. (2022, July 20). Functional Foods in Disease Prevention and Health Promotion. *Applied Sciences* .
- Kumar, K. (2014, December). Role of edible mushrooms as functional foods-A review. *South Asian Journal of Food Technology and Environment*.
- Labeling, I. o. (2003). Dietary Reference Intakes: Guiding Principles for Nutrition Labeling and Fortification.
- Lau C, F. K.-J. (2005, June). Dietary glycemic index, glycemic load, fiber, simple sugars, and insulin resistance: the Inter99 study.
- Lavelli V, P. C. (2018, March 1). Circular reuse of bio-resources: the role of Pleurotus spp. in the development of functional foods. *Food Funct*.
- Lavelli V, P. C. (2018, March 1). Circular reuse of bio-resources: the role of Pleurotus spp. in the development of functional foods.
- Liese AD, S. M.-D. (2004, December). Dietary patterns, insulin sensitivity and adiposity in the multi-ethnic Insulin Resistance Atherosclerosis Study population.
- Lipsy, R. (2003). The National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines.
- Li-Wei Liu, H.-Y. Y. (2022, December 21). Comprehensive metabolomics.
- Mane S., K. M. (2014). Improvement in nutritional and therapeutic properties of daily meal items through addition of oyster mushroom. In: *Proceedings . 8th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products*.
- Marcelo Barba Bellettini, F. A. (2019, May). Factors affecting mushroom Pleurotus spp. *Saudi Journal of Biological Sciences*, σσ. Pages 633-646.
- McKeown NM, M. J. (2004, February). Carbohydrate nutrition, insulin resistance, and the prevalence of the metabolic syndrome in the Framingham Offspring Cohort.
- Michaela Schwaiger, H. S. (2019). Merging metabolomics and lipidomics into one analytical run. *Analyst*.
- Milenkovic T, B. N.-M. (2021). Diet and Type 2 Diabetes Mellitus: A Perpetual Inspiration for the Scientific World. *Nutrients*.
- Milenkovic, T., Bozhinovska, N., Macut, D., Bjekic-Macut, J., Rahelic, D., Velija Asimi, Z., & Burekovic, A. (2021). Mediterranean Diet and Type 2 Diabetes Mellitus: A Perpetual Inspiration for the Scientific World. *Nutrients*.
- Mizushima S, C. F. (1998, July). Dietary magnesium intake and blood pressure: a qualitative overview of the observational studies.

- Nancy Babio, M. B.-S. (2009, September 12). Mediterranean diet and metabolic syndrome: the evidence.
- Neelakanta Pillai Padmakumari Soumya, S. M. (2021, March 29). Bioactive compounds in functional food and their role as therapeutics. *Bioactive Compounds in Health and Disease*.
- Nicholson JK, H. E. (2012, June 8). Host-gut microbiota metabolic interactions.
- Nicholson JK, L. J. (1999, November). 'Metabonomics': understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data.
- O'Driscoll, S. O. (2015, January). Metabolic syndrome: a closer look at the growing. *obesity reviews*.
- Ohsugi, T. O.-M. (2001, January). Characteristics of a Cheese-Like Food Produced by Fermentation of the Mushroom *Schizophyllum commune*.
- Ong., C. H. (2023). Recent advances in the combination of organic solvent-free extraction, chemical standardization, antioxidant assay, and cell culture metabolomics for functional food and its by-product.
- Pereira MA, K. A. (2005, January). Fast-food habits, weight gain, and insulin resistance (the CARDIA study): 15-year prospective analysis. *Lancet*.
- Pham-Huy LA, H. H.-H. (2008, June). Free radicals, antioxidants in disease and health.
- Ramón Estruch, M. C. (2016, October). The Mediterranean Diet and Plasma Lipid Profile.
- Raubenheimer PJ, N. M. (2006, July). A choline-deficient diet exacerbates fatty liver but attenuates insulin resistance and glucose intolerance in mice fed a high-fat diet. *Diabetes*.
- Rezoana Parvin, T. F. (2020, August). Quality improvement of noodles with mushroom fortified and its comparison with local branded noodles. *NFS Journal*, σσ. 37-42.
- Ribeiro A, R. G. (2015, December 1). Spray-drying microencapsulation of synergistic antioxidant mushroom extracts and their use as functional food ingredients.
- Richu Singla, D. M. (2009, May). Phenolics and antioxidant activity of a ready-to-eat snack food prepared from the edible mushroom (*Agaricus bisporous*). *Nutrition & Food Science*.
- Roberto Martinez-Lacoba, I. P.-G.-S.-S. (2018, October). Mediterranean diet and health outcomes: a systematic meta-review. *European Journal of Public Health*, σσ. 955–961.
- Rolim AE, H.-A. R. (2015, January 10). Lipidomics in the study of lipid metabolism: Current perspectives in the omic sciences.
- Saito K, O. Y. (2017, June 15). Enrichment of resolving power improves ion-peak quantification on a lipidomics platform.
- Saklayen, M. G. (2018, February 26). The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome.
- Salas-Salvadó J, F. X. (2008, June). Effect of two doses of a mixture of soluble fibres on body weight and metabolic variables in overweight or obese patients: a randomised trial.
- Salehi, F. (2018, December). Characterization of different mushrooms powder and its application in bakery products: A review.

- Sánchez, C. (2004, June). Modern aspects of mushroom culture technology.
- Sánchez, C. (2010, February). Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Appl Microbiol Biotechnol*.
- Sara Castro-Barquero, A. M.-L.-P. (2020, September 2020). Dietary Strategies for Metabolic Syndrome: A Comprehensive Review. *Nutrients*.
- Scott M. Grundy, J. I. (2005, October 25). Diagnosis and Management of the Metabolic Syndrome. *An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement*.
- Se-Young Kim, M. K.-H. (2018). Quality Characteristics of Noodle Added with Browned Oak Mushroom(*Lentinus edodes*). *Korean Journal of Food and Cookery Science*.
- SG., V.-B. (2013, February 18). Analytical techniques & applications of metabolomics in systems medicine and systems biotechnology.
- Shalinee Prasad, H. R. (2015, October). Medicinal Mushrooms as a Source of Novel Functional Food. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics (IJFS)*.
- Sharebiani, H., Mokaram, M., Mirghani, M., Fazeli, B., & Stanek, A. (2024). The Effects of Antioxidant Supplementation on the Pathologic Mechanisms of Metabolic Syndrome and Cardiovascular Disease Development. *Nutrients*.
- Sharma, L. Y. (2022, December 2). Role of Functional Foods in Human Health and Disease Prevention.
- Sheida Zeraattalab-Motlagh, A. J.-B. (2022, January 10). Mediterranean dietary pattern and the risk of type 2 diabetes: a systematic review and dose–response meta-analysis of prospective cohort studies.
- Singh RK, F. M. (2012, September). Mechanism of hypertriglyceridemia in CTP:phosphoethanolamine cytidyltransferase-deficient mice.
- Smith CA, O. G. (2005, December). METLIN: a metabolite mass spectral database.
- Smith, R. a. (2002, May). Medicinal Mushrooms: Their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments .
- Sonia Borodzicz, K. C.-J. (2015, June 16). Sphingolipids in cardiovascular diseases and metabolic disorders.
- Spijkers LJ, v. d. (2011). Hypertension is associated with marked alterations in sphingolipid biology: a potential role for ceramide. .
- Stephen, J. M. (2023, September 6). Immune boosting functional components of natural foods and its health benefits. *Food Prod Process and Nutr*.
- Stipanuk MH, U. I. (2011, February). Dealing with methionine/homocysteine sulfur: cysteine metabolism to taurine and inorganic sulfur.
- Swanson D, B. R. (2012, January 5). Omega-3 fatty acids EPA and DHA: health benefits throughout life.
- Tagkouli D, B. G. (2021, June 4). Volatile Profiling of *Pleurotus eryngii* and *Pleurotus ostreatus* Mushrooms Cultivated on Agricultural and Agro-Industrial By-Products.



- Tatjana Milenkovic, N. B.-M. (2021, April 15). Mediterranean Diet and Type 2 Diabetes Mellitus: A Perpetual Inspiration for the Scientific World.
- Thaynã Gonçalves Timm, T. M. (2023, July 6). Mushroom  $\beta$ -glucans: application and innovation for food industry and immunotherapy.
- Tolera KD, A. S. (2017, June 20). Nutritional quality of Oyster Mushroom (*Pleurotus Ostreatus*) as affected by osmotic pretreatments and drying methods. *Food Sci Nutr*.
- Tomas Cajka, O. F. (2018, July 17). LC/MS Method for Comprehensive. *Agilent*.
- Tosti V. Bertozzi, B. F. (2018, March). Health Benefits of the Mediterranean Diet: Metabolic and Molecular Mechanisms. *Oxford University Press on behalf of The Gerontological Society of America*.
- Ulzijiargal E, Y. J. (2013, May 1). Quality of bread supplemented with mushroom mycelia. *Food Chem*.
- Unai Galicia-Garcia, A. B.-V.-S. (2020, August 30). Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*.
- Uzma Zafar, S. K. (2018, June 19). Metabolic syndrome: an update on diagnostic criteria, pathogenesis. *Hellenic Endocrine Society*.
- V. G. Athyros, V. I. (2005). The prevalence of the metabolic syndrome in Greece: The MetS-Greece Multicentre Study.
- Vrhovsek U, M. D. (2012, September 12). A versatile targeted metabolomics method for the rapid quantification of multiple classes of phenolics in fruits and beverages.
- World Health Organization*. (1999). Ανάκτηση από <https://www.who.int/>
- Yogita Rochlani, N. V. (2017, April 26). Metabolic syndrome: pathophysiology, management, and modulation by natural compounds. *Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease*.
- Yong Sun, H. Z. (2024, August 20). Antioxidant Compounds in Functional Foods and Their Benefits for Human Health. *foods*.
- Younis Ahmad Hajam, R. R. (2022, February 5). Oxidative Stress in Human Pathology and Aging: Molecular Mechanisms and Perspectives. *Cells*.
- Zhang A, S. H. (2012, February 2). Recent and potential developments of biofluid analyses in metabolomics. *J Proteomics*.
- Zhao YY, M. H. (2015, October 5). Lipidomics: Novel insight into the biochemical mechanism of lipid metabolism and dysregulation-associated disease.
- ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ, Χ. (2023, Μάιος 12). ΙΑΣΩ - Για ό,τι πιο πολύτιμο έχεις. Ανάκτηση από ΙΑΣΩ - Για ό,τι πιο πολύτιμο έχεις: <https://www.iaso.gr/medical-directory/details/medical/2023/05/12/artiriaki-ypertasi-osa-prepei-na-gnorizoyn-oi-astheneis-mas>
- Κέντρο Λειτουργικών Τροφίμων. (χ.χ.). Ανάκτηση από <https://www.crccy.com/the-innovative-solutions/food-innovation/>
- Κουτελιδάκης, Α. (2019). *Λειτουργικά Τρόφιμα - Η σημασία τους στη διατροφή, την υγεία και την ποιότητα ζωής*. Ζήτη.

Μανωλης, Α. (2023, Ιούλιος 12). *METROPOLITAN HOSPITAL*. Ανάκτηση από METROPOLITAN HOSPITAL: <https://www.metropolitan-hospital.gr/el/metropolitan-blog/%CE%BA%CF%85%CE%BA%CE%BB%CE%BF%CF%86%CE%BF%CF%81%CE%B9%CE%BA%CF%8C-%CF%83%CF%8D%CF%83%CF%84%CE%B7%CE%BC%CE%B1/2548-%CE%B1%CF%81%CF%84%CE%B7%CF%81%CE%B9%CE%B1%CE%BA%CE%AE-%CF%85%CF%80%CE%AD%CF%81%CF>

Στεφανόπουλος, Δ. Η. (χ.χ.). *Ενδοκρινολόγος - Διαβητολόγος Νέα Μάκρη*. Ανάκτηση από Ενδοκρινολόγος - Διαβητολόγος Νέα Μάκρη: <https://dstef.weebly.com/deltaiotaalphabeta942tauetasigmaf-tau973piomicronupsilon-2-sigmadelta2.html>

Στυλιανός, Κ. (2023, Ιούλιος). *Υγεία - Με ευθύνη για τη ζωή*. Ανάκτηση από Υγεία - Με ευθύνη για τη ζωή: <https://www.hygeia.gr/ta-panta-gia-tin-ypertasi/>

Σφλώμος, Κ. (2019). *Βιολειτουργικά Τρόφιμα, Πρόσθετα & Συμπληρώματα Διατροφής*. ΑΘΗΝΑ: ΤΣΟΤΡΑΣ.

ΧΑΙΡΕΤΑΚΗ ΕΛΕΝΗ, Μ. Μ. (χ.χ.). *PREMEDICARE WE CARE*. Ανάκτηση από PREMEDI CARE WE CARE: <https://www.premedicare.gr/duslipidaimia/>