



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ, Α΄ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ: ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΘΕΜΑΤΩΝ ΜΕ
ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ»**

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΥΓΕΙΑ
THE ROLE OF ANTIOXIDANTS IN HUMAN HEALTH**

Ονοματεπώνυμο Αραγιάννη Παναγιώτα

Αριθμός μητρώου φοιτητή 2010685

Επιβλέπων καθηγητής: Τσάκνης Ιωάννης

Τριμελής εξεταστική επιτροπή: Πρόεδρος: Νικολοπούλου-Σταμάτη Πολυξένη

Μέλη: Πρωτόπαπα Ευαγγελία, Τσάκνης Ιωάννης

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ, Α΄ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ: ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΘΕΜΑΤΩΝ ΜΕ
ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΥΓΕΙΑ»**

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΣΤΗΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΥΓΕΙΑ
THE ROLE OF ANTIOXIDANTS IN HUMAN HEALTH**

Ονοματεπώνυμο Αραγιάννη Παναγιώτα **Αριθμός μητρώου φοιτητή** 2010685

Επιβλέπων καθηγητής: Τσάκνης Ιωάννης

Τριμελής εξεταστική επιτροπή: Πρόεδρος: Νικολοπούλου-Σταμάτη Πολυξένη

Μέλη: Πρωτόπαπα Ευαγγελία, Τσάκνης Ιωάννης

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	iv
ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ, ΣΧΗΜΑΤΩΝ, ΕΙΚΟΝΩΝ	vi
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	viii
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	ix
ABSTRACT	x
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Ελεύθερες ρίζες και αντιοξειδωτικές ουσίες	
1.1 Ελεύθερες ρίζες: ορισμός και η δράση τους.....	2
1.2 Αντιοξειδωτικές ουσίες: ορισμός και η δράση τους.....	6
1.2.1 Ενζυμικοί αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί.....	6
1.2.2 Μη ενζυμικές αντιοξειδωτικές ουσίες.....	10
1.2.3 Συνθετικά αντιοξειδωτικά.....	25
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Αντιοξειδωτικά και ανθρώπινη υγεία	
2.1 Οξειδωτικό στρες.....	26
2.2 Αντιοξειδωτικά και νευροεκφυλιστικές νόσοι.....	27
2.3 Αντιοξειδωτικά και αυτοάνοσα νοσήματα.....	31
2.4 Αντιοξειδωτικά και παθήσεις της καρδιάς.....	35
2.5 Αντιοξειδωτικά και καρκίνος.....	37
2.6 Αντιοξειδωτικά και άλλες παθήσεις.....	41
2.7 Αντιοξειδωτικά και γήρανση.....	47
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Αντιοξειδωτικές ουσίες και διατροφή	
3.1 Μέθοδοι μέτρησης της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας σε τρόφιμα.....	50
3.2 Οι αντιοξειδωτικές ουσίες στη διατροφή μας.....	57
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	61

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

AAPH: 2,2'-αζοδις-(2-αμιδοπροπανο)διϋδροχλωρίδιο
 Αβ: αμυλοειδές β-διπεπτίδιο
 ABTS: 2,2'-αζινοδις-(3-αιθυλοβενζοδιαζολιν-6-σουλφονικό οξύ)
 ADP: διφωσφορική αδενοσίνη
 AP-1: ενεργοποιητής πρωτεΐνης 1
 apoE: απολιποπρωτεΐνη E
 BHA: βουτυλοϋδρόξυ ανισόλη
 BHT: βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο
 β-PE: β-φυκοερυθρίνη
 CAT: καταλάση
 DNA: δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ
 DNPB: 2,4-δινιτροφαινυλδραζίνη
 DPPH: 2,2-διφαινυλ-1-πικριλυδραζύλιο
 FAD: δινουκλεοτίδιο φλαβίνης – αδενίνης
 FRAP: Αντιοξειδωτική Ισχύς Αναγωγής Τρισθενούς Σιδήρου
 GPx: υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης
 GR: αναγωγή της γλουταθειόνης
 GSH: γλουταθειόνη
 GSSG: δισουλφιδική γλουταθειόνη
 HNE: 4-υδροξυνονενάλη
 HPLC: Υψηλής Απόδοσης Υγρή Χρωματογραφία
 ΚΝΣ: κεντρικό νευρικό σύστημα
 LDL: λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας
 MAPK: ενεργοποιούμενες από μιτογόνο πρωτεϊνικές κινάσες
 MDA: μαλονδιαλδεΐδη
 MMPs: μεταλλοπρωτεΐνες μήτρας
 ΜΣΑΦ: μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα
 NA: Νόσος του Alzheimer
 NADPH: νικοτιναμιδοαδένινο φωσφινικό δινουκλεοτίδιο
 NOSs: συνθετάσες του μονοξειδίου του αζώτου
 NP: Νόσος του Parkinson
 ORAC: Ικανότητα Απορροφητικότητας Ριζών Οξυγόνου
 PARP-1: πολυμεράση 1 ADP-ριβόζης
 PA: ρευματοειδής αρθρίτιδα
 RCS: ενεργά είδη χλωρίου
 RNS: ενεργά είδη αζώτου
 ROS: ενεργά είδη οξυγόνου
 SOD: δισμουτάση του υπεροξειδίου
 TBARS: θειοβαρβιτουρικό οξύ
 TBHQ: tert-βούτυλο υδροκινόνη
 TEAC: Αντιοξειδωτική Ικανότητα σε Ισοδύναμα Trolox

TPTZ: τριπυριδυλτριαζίνη

TRAP: Συνολικό Δυναμικό Παγίδευσης Ριζών Υπεροξειδίου

UV: υπεριώδης (ακτινοβολία)

XNA: χρόνια νεφρική ανεπάρκεια

8-OH-G: 8-υδροξυ-δεοξυγουανოსίνη

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ, ΣΧΗΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΕΙΚΟΝΩΝ

Πίνακας 1 Δραστικές μορφές μορίων που παράγονται στο ανθρώπινο σώμα.....	3
Εικόνα 1 Αλληλεπίδραση ελεύθερων ριζών με τα βασικά συστατικά του κυττάρου...	4
Σχήμα 1 Αντιδράσεις Haber – Weiss (1-3), Fenton (2).....	5
Εικόνα 2 Απεικονίσεις των δομών των τριών ενζύμων SOD του ανθρώπου.....	7
Εικόνα 3 Αναπαράσταση της δομής της καταλάσης.....	8
Σχήμα 2 Σχηματική αναπαράσταση των αντιδράσεων που πραγματοποιούνται από τους ενζυμικούς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς.....	9
Εικόνα 4 Αναπαράσταση των δομών της GPx1 (αριστερά) και της GR (δεξιά).....	9
Σχήμα 3 Δομή της ουβικινόνης (Q ₁₀).....	10
Σχήμα 4 Οξειδοαναγωγικός κύκλος του Q ₁₀	11
Πίνακας 2 Περιεκτικότητα τροφίμων σε συνένζυμο Q ₁₀	11
Σχήμα 5 Δομές των διάφορων μορφών της βιταμίνης E.....	12
Πίνακας 3 Περιεκτικότητα τροφίμων σε βιταμίνη E.....	12
Σχήμα 6 Η δομή του ασκορβικού οξέος.....	13
Σχήμα 7 Αντιδράσεις και δομές του ασκορβικού οξέος. Σε μπλε πλαίσιο βρίσκονται οι σημαντικότερες και πιο συνήθεις μορφές.....	14
Σχήμα 8 Αντιδράσεις ασκορβικού και σιδήρου.....	14
Πίνακας 4 Περιεκτικότητα φρούτων και λαχανικών σε βιταμίνη C.....	15
Σχήμα 9 Δομή του β-καροτενίου.....	16
Σχήμα 10 Δομή του εποξειδίου-προϊόντος οξείδωσης του β-καροτενίου.....	16
Πίνακας 5 Περιεκτικότητα τροφίμων σε β-καροτένιο.....	16
Σχήμα 11 Δομή της γλουταθειόνης (ανοιγμένη μορφή GSH).....	17
Σχήμα 12 Αντίδραση υπεροξειδίου με τη γλουταθειόνη και παραγωγή του δισουλφιδίου.....	18
Πίνακας 6 Ταξινόμηση και χημικές δομές των φλαβονοειδών.....	19-20
Πίνακας 7 Περιεκτικότητα φλαβονολών σε τρόφιμα.....	20
Εικόνα 5 Γλυκοσίδια φλαβονών.....	21
Πίνακας 8 Περιεκτικότητα φλαβονών σε τρόφιμα.....	21
Πίνακας 9 Περιεκτικότητα φλαβανονών σε τρόφιμα.....	21
Πίνακας 10 Χημικές δομές των φαινολικών οξέων.....	22
Σχήμα 13 Δομές δύο μορφών λιγνανών.....	23
Σχήμα 14 Χημική δομή της ρεσβερατρόλης.....	23
Σχήμα 15 Κέντρα σχηματισμού χηλικών συμπλόκων φλαβονοειδών με μεταλλικά ιόντα.....	24
Σχήμα 16 Αντίδραση ελεύθερων ριζών με φλαβονοειδή.....	24
Σχήμα 17 Δομές των συνθετικών αντιοξειδωτικών.....	25
Σχήμα 18 Αντίδραση της tBHQ με υπεροξειδικές ρίζες.....	25
Σχήμα 19 Πορεία αντιδράσεων απελευθέρωσης ριζών οξυγόνου από την Αβ.....	28
Εικόνα 6 Μονοπάτια που ενεργοποιούν οι ROS και οδηγούν το κύτταρο σε υπερτροφία, απόπτωση ή ίνωση.....	35
Σχήμα 19 Δομές της αμιφωστίνης και του ενεργού μεταβολίτη της.....	40
Εικόνα 7 Μηχανισμός εμφάνισης άσθματος μέσω έκφρασης λάθος γονιδίων.....	43

Εικόνα 8 Τρισδιάστατη δομή της β-φυκοερυθρίνης.....	51
Εικόνα 9 Δομές της AAPH (αριστερά) και φλουοροσκεΐνης (δεξιά).....	51
Εικόνα 10 Δομές του ABTS (αριστερά) , της λουμινόλης (κέντρο) και του Trolox (δεξιά).....	54
Εικόνα 11 Δομή της ρίζας DPPH.....	55
Εικόνα 12 Δομή του συμπλόκου του σιδήρου με TPTZ.....	56
Εικόνα 13 Διατροφική πυραμίδα της Μεσογειακής διατροφής.....	58
Πίνακας 11 Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα φρούτων και λαχανικών (Pellegrini <i>et al</i> , 2003).....	58
Πίνακας 12 Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα διάφορων τροφίμων (Wu <i>et al</i> , 2004).....	59
Πίνακας 13 Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα ομάδων τροφίμων (Carlsen <i>et al</i> , 2010).....	60

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Επιθυμώ να ευχαριστήσω τους ανθρώπους οι οποίοι βοήθησαν στην πραγματοποίηση αλλά και στην τεκμηρίωση της πτυχιακής μου εργασίας. Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κύριο Ιωάννη Τσάκνη που ανέλαβε την επίβλεψη της πτυχιακής μου. Στην συνέχεια θα ήθελα να ευχαριστήσω την κυρία Νικολοπούλου-Σταμάτη Πολυξένη για την εξαιρετική οργάνωση και υλοποίηση του μεταπτυχιακού προγράμματος που μας προσέφερε και τις πολύτιμες γνώσεις που έλαβα από αυτό. Την κυρία Πρωτόπαπα Ευαγγελία για την συμμετοχή στην οργάνωση του προγράμματος και τον εξειδικευμένο τρόπο των διαλέξεών της . Και όλους τους καθηγητές που συμμετείχαν για την ανάλυση, την κατανόηση, την τεκμηρίωση, την μεταδοτικότητα, την προσοχή που έδειξαν για να βρίσκομαι στην θέση να διεκπεραιώσω την μεταπτυχιακή εργασία μου και την ολοκλήρωση του προγράμματος. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την μητέρα μου Χριστίνα, το φίλο μου Κωνσταντίνο, την φίλη μου Πάτρα για την πολύτιμη υποστήριξη που μου χάρισαν.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο άνθρωπος προσλαμβάνει οξυγόνο με τη διαδικασία της αναπνοής ως απαραίτητο συστατικό για τη ζωή του όπως και για τη φυσιολογική λειτουργία του φυσικού του φορέα. Όμως, από το οξυγόνο παράγονται και οι λεγόμενες «ελεύθερες ρίζες» οι οποίες είναι πολύ ασταθείς και ενεργές ενώσεις καθώς προσπαθούν να αποσπασουν ηλεκτρόνια από άλλα άτομα ή μόρια ώστε να σχηματιστεί ζεύγος στην εξωτερική στιβάδα. Η δράση τους μπορεί να είναι υπεύθυνη για την οξειδωτική βλάβη των λιπιδίων των μεμβρανών, τον κερματισμό του DNA, τη μετουσίωση των πρωτεϊνών καθώς και για την υπεροξείδωση των λιποπρωτεϊνών και των LDL σωμάτων. Ο ανθρώπινος οργανισμός για να προλαμβάνει και να προστατεύει τα κύτταρά του από την επιβλαβή δράση των ελεύθερων ριζών έχει αναπτύξει ένα σύστημα αντιοξειδωτικής άμυνας το οποίο εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες και μειώνει την παραγωγή τους. Το σύστημα αντιοξειδωτικής άμυνας αποτελείται από ενζυμικούς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς (δισμουτάση του υπεροξειδίου, καταλάση, υπεροξειδάσες και αναγωγή της γλουταθειόνης) αλλά και από μη ενζυμικές αντιοξειδωτικές ουσίες (συνένζυμο Q10, τοκοφερόλη, ασκορβικό οξύ, γλουταθειόνη, β-καροτένιο, μεταλλικά ιόντα και πολυφαινολικές ενώσεις). Υπάρχουν και τα συνθετικά αντιοξειδωτικά (π.χ. βουτυλοϋδρόξυ ανισόλη) τα οποία χρησιμοποιούνται για τη διατήρηση των τροφίμων τα οποία τείνουν να αντικατασταθούν από φυσικά καθώς έχουν παρουσιάσει καρκινική δράση.

Ως οξειδωτικό στρες ορίζουμε την κατάσταση του κυττάρου ή του οργάνου όπου η ισορροπία μεταξύ παραγωγής ελεύθερων ριζών και δράσης των αντιοξειδωτικών μηχανισμών έχει διαταραχθεί. Το οξειδωτικό στρες έχει βρεθεί ότι παίζει ρόλο στην παθογένεση πολλών ασθενειών όπως το Alzheimer, το Parkinson, ο ζαχαρώδης διαβήτης, τη ρευματοειδή αρθρίτιδα, παθήσεις της καρδιάς, τον καρκίνο αλλά και τη γήρανση. Η εκτίμηση του οξειδωτικού στρες γίνεται από τη μέτρηση σε βιολογικά δείγματα κάποιων δεικτών που δείχνουν το βαθμό οξείδωσης κάποιων βιομορίων, π.χ. της 8-OH-G για το DNA. Έχουν γίνει πολλές και ποικίλες μελέτες σε ασθενείς με συμπληρώματα που περιέχουν αντιοξειδωτικά ξεχωριστά ή σε συνδυασμό 2-3 με ενδιαφέροντα και πολλές φορές αντικρουόμενα αποτελέσματα.

Για τη μέτρηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των τροφών και άλλων δειγμάτων έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι οι οποίες βασίζονται στη μέτρηση της αναστολής της οξείδωσης κάποιων υποστρωμάτων ενώ η αλλαγή αυτή προσδιορίζεται μέσα από χημικές ή αναλυτικές μεθόδους. Μέσα από την εύρεση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας κάποιων ομάδων τροφίμων επιβεβαιώνεται ότι τα φρούτα και λαχανικά έχουν τις μεγάλες συγκεντρώσεις από ποικιλία αντιοξειδωτικών ενώ μελέτες έδειξαν ότι το πρότυπο της Μεσογειακής διατροφής είναι το αποτελεσματικότερο για τη διατήρηση της καλής υγείας του ανθρώπου.

ABSTRACT

Man receives oxygen through the breathing process as an essential ingredient for life and for the normal functioning of his physical body. However, oxygen produces the so-called “free radicals” which are very unstable and active compounds as they try to extract electrons from other atoms or molecules to form pair in their outer layer. Their action may be responsible for the oxidative damage to membrane lipids, fragmentation of DNA, the denaturation of proteins and the peroxidation of lipoproteins and LDL bodies. The human body to prevent and protect cells from the harmful action of free radicals has developed an antioxidant defense system which neutralizes free radicals and reduces their production. The antioxidant defense system consists of antioxidant enzyme mechanisms (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and reductase), but also by non-enzymatic antioxidants (coenzyme Q10, tocopherol, ascorbic acid, glutathione, beta-carotene, metal ions and polyphenolic compounds). There are also synthetic antioxidants (e.g. butylated hydroxyanisole) used for the preservation of foods but now they tend to be replaced by natural as they have presented cancer activity.

Oxidative stress is defined as the state of the cell or organ where the balance between free radical production and the action of antioxidant mechanisms is disturbed. Oxidative stress has been found to play a role in the pathogenesis of many diseases such as Alzheimer's, Parkinson's, diabetes mellitus, rheumatoid arthritis, heart diseases, cancer and aging. The evaluation of oxidative stress is measured in biological samples by some indicators which show the degree of oxidation of some biomolecules, e.g. of 8-OH-G for DNA. There have been many and varied studies in patients who received supplements containing antioxidants separately or 2-3 combined with interesting and sometimes conflicting results.

In order to measure the total antioxidant capacity of foods and other samples several methods have been developed which rely on measuring the inhibition of the oxidation of some substrates while the change is determined by chemical or analytical methods. Determining the total antioxidant capacity of some food groups has confirmed that fruits and vegetables have high concentrations of a variety of antioxidants and studies have shown that the pattern of the Mediterranean diet is the most effective for maintaining good health.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στη σημερινή εποχή όπου ο άνθρωπος έχει κατακτήσει τη γνώση των τρόπων επιβίωσης, υπάρχει η θέληση για μακροβιότητα και καλή ποιότητα ζωής. Μέσα από πολλαπλές έρευνες για τη λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού καθώς και τους τρόπους προστασίας του από ενδογενείς ή εξωγενείς παράγοντες κινδύνου έχει φανεί ότι οι αντιοξειδωτικές ουσίες, είτε αυτές που ενυπάρχουν στον οργανισμό είτε αυτές προσλαμβάνονται με την τροφή, παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην διατήρηση της καλής υγείας του ανθρώπου.

Η διπλωματική αυτή εργασία έχει ως σκοπό να μελετήσει και να καταγράψει τόσο την ποικιλία των αντιοξειδωτικών ουσιών που ενυπάρχουν στη φύση όσο και τα οφέλη τους για την ανθρώπινη υγεία. Πραγματοποιείται διεξοδική μελέτη της βιβλιογραφίας και ανευρίσκονται οι λόγοι για τους οποίους είναι απαραίτητη η ύπαρξη και η πρόσληψη των αντιοξειδωτικών ουσιών, η δράση τους στον ανθρώπινο οργανισμό καθώς και η επίδρασή τους σε συγκεκριμένες ασθένειες όπως ο καρκίνος.

Επίσης, παρατηρούνται ελλείψεις της βιβλιογραφίας και προτείνονται περαιτέρω προοπτικές για μελέτη και έρευνα όσον αφορά τα οφέλη αλλά και τον κίνδυνο που ενυπάρχει στην υπερβολική πρόσληψη αντιοξειδωτικών ουσιών. Τέλος, γίνεται μια πρωταρχική μελέτη στο πόσο πλούσια είναι η διατροφή μας σε αντιοξειδωτικά βάσει της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας κάποιων τροφίμων και της βασικής μεσογειακής διατροφής.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Ελεύθερες ρίζες και αντιοξειδωτικές ουσίες

1.1 Ελεύθερες ρίζες: ορισμός και η δράση τους

Ο άνθρωπος προσλαμβάνει οξυγόνο με τη διαδικασία της αναπνοής ως απαραίτητο συστατικό για τη ζωή του όπως και για τη φυσιολογική λειτουργία του φυσικού του φορέα. Η αξιοποίηση του οξυγόνου από τον ανθρώπινο οργανισμό περιλαμβάνει μεταξύ άλλων την παραγωγή ενέργειας μέσω του μεταβολισμού λιπών, πρωτεϊνών και υδατανθράκων. Παρ' όλα αυτά, το οξυγόνο έχει την ιδιότητα να αντιδρά έντονα μέσα στο σώμα και να δημιουργεί τις λεγόμενες «ελεύθερες ρίζες». Ως ελεύθερη ρίζα ορίζεται ένα άτομο ή μόριο το οποίο περιέχει ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική του στιβάδα (Halliwell, 1994). Από τον ορισμό τους και μόνο είναι εμφανές ότι οι ελεύθερες ρίζες είναι πολύ ασταθείς και ενεργές ενώσεις καθώς προσπαθούν να αποσπάσουν ηλεκτρόνια από άλλα άτομα ή μόρια ώστε να σχηματιστεί ζεύγος στην εξωτερική στιβάδα (Halliwell, 2001).

Για να καταφέρουν το στόχο τους οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να αντιδράσουν μεταξύ τους ή με άλλα μόρια τα οποία δεν είναι ρίζες. Η αντίδραση των ριζών μεταξύ τους θα οδηγήσει στην παραγωγή μιας μη ρίζας, ενός ουδέτερου μορίου το οποίο θα είναι λιγότερο ή καθόλου δραστικό. Όμως, η αντίδραση μιας ελεύθερης ρίζας με μια μη ρίζα, όπως είναι τα περισσότερα μόρια του οργανισμού (λιπίδια, υδατάνθρακες κτλ) οδηγεί στην παραγωγή νέας ρίζας και έτσι μπορεί να ξεκινήσει μια αλυσιδωτή αντίδραση παραγωγής νέων ριζών με δυσμενείς συνέπειες για τον οργανισμό (Halliwell, 2001, Halliwell & Gutteridge, 1998).

Οι πλέον σημαντικές ελεύθερες ρίζες είναι μοριακά είδη με κέντρο το οξυγόνο, το άζωτο ή το χλώριο. Για τις ελεύθερες ρίζες με κεντρικό άτομο το οξυγόνο επικρατεί ο όρος δραστικές μορφές οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS) και οι κυριότερες είναι η ρίζα του υπεροξειδικού ανιόντος $O_2^{\cdot-}$, του υδροξυλίου $\cdot OH$, του υπεροξειδίου ($ROO\cdot$) με την απλούστερη να είναι η $HOO\cdot$. Επίσης, στις ελεύθερες ρίζες κατατάσσονται και οι δραστικές μορφές αζώτου (reactive nitrogen species, RNS) όπως και οι δραστικές μορφές χλωρίου (reactive chlorine species, RCS). Στις RNS περιλαμβάνονται μόρια με κεντρικό άτομο το άζωτο με κυριότερες ρίζες να είναι αυτή του μονοξειδίου του αζώτου $NO\cdot$, του διοξειδίου του αζώτου $NO_2\cdot$ και το υπεροξεινιτρώδες $ONOO^-$ (Fang *et al*, 2002). Στον Πίνακα 1 παρουσιάζονται συνοπτικά οι κατηγορίες των δραστικών μορφών.

Οι ελεύθερες ρίζες προσλαμβάνονται εξωγενώς αλλά γίνεται και ενδογενής παραγωγή τους στο ανθρώπινο σώμα ως παραπροϊόντα φυσιολογικού μεταβολισμού ή/και από χημικά ατυχήματα. Για παράδειγμα, το ανιόν του υπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$) παράγεται κατά τη διάρκεια της αναπνευστικής αλυσίδας στα μιτοχόνδρια όπου διαρρέει ένα ηλεκτρόνιο και προστίθεται στο μοριακό οξυγόνο O_2 (Cadenas & Sies, 1998).

Πίνακας 1 Δραστικές μορφές μορίων που παράγονται στο ανθρώπινο σώμα (Halliwell & Evans, 2001)

Ριζικά είδη	Μη ριζικά είδη
Δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) Υπεροξειδίου, $O_2^{\cdot-}$ Υδροξύλιο, $\cdot OH$ Υπεροξειδίου, $RO_2^{\cdot}$ Αλκοξύλιο, $RO^{\cdot}$ Υδροπεροξύλιο, $HO_2^{\cdot}$	Υπεροξειδίου του υδρογόνου, H_2O_2 Υποχλωριώδες οξύ, $HOCl$ Όζον, O_3 Μονήρες οξυγόνο, 1O_2 Υποβρωμιώδες οξύ, $HOBr$
Δραστικές μορφές αζώτου (RNS) Οξειδίου του αζώτου, $NO^{\cdot}$ Διοξειδίου του αζώτου, $NO_2^{\cdot}$	Νιτρώδες οξύ, HNO_2 Νιτροζοκατιόν, NO^+ Νιτροζοανιόν, NO^- Νιτρικό υπεροξειδίου, $ONOO^-$ Νιτρώδες κατιόν, NO_2^+ Νιτρώδες χλωρίδιο, NO_2Cl
Δραστικές μορφές χλωρίου (RCS)	Υποχλωριώδες οξύ, $HOCl$ Νιτρώδες χλωρίδιο, NO_2Cl

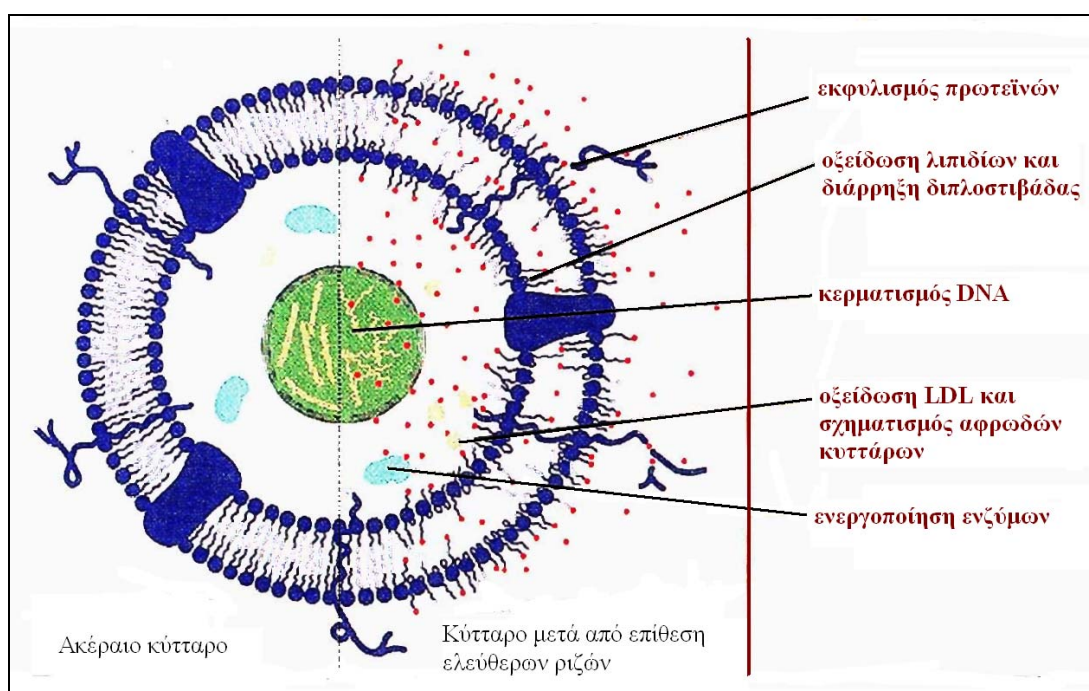
Επίσης, σημαντικό ρόλο στην παραγωγή ελεύθερων ριζών παίζουν τα διάφορα ένζυμα του ανθρώπινου σώματος τα οποία κατά την οξειδοαναγωγική δράση τους απελευθερώνουν ηλεκτρόνια. Πηγή $O_2^{\cdot-}$ αποτελούν, για παράδειγμα, η λιποξυγενάση, οι NADPH οξειδάσες καθώς και οι εξαρτώμενες από το κυτόχρωμα P450 οξυγενάσες. Ενώ, κατά τη πρωτεολυτική μετατροπή της αναγωγάσης της ξανθίνης σε οξειδάση της ξανθίνης παράγεται $O_2^{\cdot-}$ και H_2O_2 (Fang *et al*, 2002). Υπεροξειδίου του υδρογόνου παράγουν και τα υπεροξεισώματα σε φυσιολογικές συνθήκες (Valko *et al*, 2004). Τα υπεροξεισώματα είναι κύρια οργανίδια του κυττάρου, τα οποία καταναλώνουν οξυγόνο και παράγουν H_2O_2 το οποίο στη συνέχεια χρησιμοποιείται για την οξείδωση πλήθους μορίων. Επίσης, η παραγωγή ελευθέρων ριζών αποτελεί μέρος της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος όπου χρησιμοποιούνται για την εξουδετέρωση ορισμένων βακτηρίων.

Η ρίζα του μονοξειδίου του αζώτου, $NO^{\cdot}$, συντίθεται από τις συνθετάσες του NO (NOSs) κατά την οξείδωση της L-αργινίνης προς κιτρουλίνη στα ενδοθηλιακά κύτταρα (Ghafourifar & Cadenas, 2005). Ωστόσο, έχει βρεθεί ότι το NO αποτελεί παράγοντα ρύθμισης της χαλάρωσης των λείων μυϊκών κυττάρων, της αρτηριακής

πίεσης, της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων και της αγγειογένεσης (Bergendi *et al*, 1999).

Τέλος, εξωγενείς παράγοντες μπορούν να προκαλέσουν πηγή ελεύθερων ριζών, για παράδειγμα, ο καπνός του τσιγάρου, η υπεριώδης ακτινοβολία, οι ακτίνες-X, φάρμακα και χημικά όπως επίσης και τα σωματίδια που βρίσκονται στο νέφος της ατμοσφαιρικής ρύπανσης (Rosen *et al*, 1999).

Όπως εξηγήθηκε και παραπάνω οι ελεύθερες ρίζες χρειάζονται να καλύψουν την εξωτερική τους στιβάδα με ένα ηλεκτρόνιο ακόμα οπότε αντιδρούν με διάφορους ιστούς του ανθρώπινου οργανισμού για να το πετύχουν. Κατά αυτόν τον τρόπο οι ελεύθερες ρίζες μπορεί να είναι υπεύθυνες για την οξειδωτική βλάβη των λιπιδίων των μεμβρανών, τον κερματισμό του DNA, τη μετουσίωση των πρωτεϊνών καθώς και για την υπεροξείδωση των λιποπρωτεϊνών και των LDL σωμάτων (Εικόνα 1).



Εικόνα 1 Αλληλεπίδραση ελεύθερων ριζών με τα βασικά συστατικά του κυττάρου (Κουφάκη, 2002)

Κατά αυτόν τον τρόπο, οι ελεύθερες ρίζες σχετίζονται άμεσα με τη γήρανση και διάφορες παθολογικές καταστάσεις όπως είναι ο καρκίνος, ο διαβήτης, η ρευματοειδής αρθρίτιδα και κάποιες παθήσεις του νευρικού συστήματος π.χ. Alzheimer ή Parkinson (Valko *et al*, 2007).

Η ρίζα του υδροξυλίου $\cdot\text{OH}$ έχει από τις πιο χαρακτηριστικές και επιβλαβείς δράσεις καθώς έχει πολύ μικρό χρόνο ημιζωής (10^{-9} s) και αντιδρά άμεσα με οτιδήποτε βρίσκεται κοντά στον τόπο παραγωγής του (Pastor *et al*, 2000). Η οξειδοαναγωγική ισορροπία του κυττάρου είναι άμεσα συνδεδεμένη με ένα ζεύγος κατιόντων σιδήρου (και χαλκού) και διατηρείται σε πολύ αυστηρά όρια του φυσιολογικού. Η μεγάλη συγκέντρωση $\cdot\text{OH}$ διεγείρει κάποια ένζυμα της οικογένειας των λυασών να απελευθερώσουν σίδηρο (Liochev & Fridovich, 1994) ο οποίος αντιδρά με το υπεροξείδιο του υδρογόνου στην αντίδραση Fenton ή/και στις αντιδράσεις Haber – Weiss (Σχήμα 1) προκαλώντας έτσι την παραγωγή κι άλλων μορίων – ριζών (Halliwell & Gutteridge, 1998).



Σχήμα 1 Αντιδράσεις Haber – Weiss (1-3), Fenton (2).

Ακόμα πιο σημαντικό είναι το γεγονός ότι η ρίζα του υδροξυλίου αντιδρά σχεδόν με όλα τα συστατικά του DNA, προκαλώντας βλάβη τόσο στις πουρινικές και πυριμιδικές βάσεις του όσο και στο σκελετό των δεοξυριβοζών (Cadet *et al*, 1999, Dizdarglu *et al*, 2002). Η πιο μελετημένη βλάβη του DNA είναι η οξείδωση της γουανίνης προς την 8-υδροξυδεοξυγουανοσίνη (8-OH-G) η οποία οδηγεί στο σχηματισμό μεταλλάξεων και άρα στην καρκινογένεση (Marnett, 2000). Άλλα κυτταρικά συστατικά στα οποία επιτίθενται οι ROS περιλαμβάνουν τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα των μεμβρανικών λιπιδίων τα οποία είναι εξαιρετικά ευαίσθητα στην οξείδωση (Siems *et al*, 1995). Στην οξείδωση των λιπιδίων παίζουν σημαντικό ρόλο οι ρίζες υπεροξειδίου ($\text{ROO}^{\cdot}$) οι οποίες μέσω μιας διαδικασίας κυκλοποίησης σχηματίζονται σε ενδοπεροξειδία, πρόδρομες ενώσεις της μαλονδιαλδεΐδης (malondialdehyde, MDA). Η MDA έχει βρεθεί ότι έχει μεταλλαξιογόνο δράση σε κύτταρα βακτηρίων και θηλαστικών και καρκινογόνο δράση για τους επίμυες (Fink *et al*, 1997, Marnett, 1999). Εκτός από την MDA, κύριο προϊόν της υπεροξείδωσης των λιπιδίων είναι και η 4-υδροξυ-2-νονεναλ (4-hydroxy-2-nonenal, HNE) η οποία αν και έχει ήπια μεταλλαξιογόνο δράση θεωρείται το πιο τοξικό προϊόν της λιπιδικής υπεροξείδωσης (Klaunig & Kamendulis, 2004).

Όσον αφορά την επίδραση των ελευθέρων ριζών στις πρωτεΐνες, οι ROS είναι πολύ οξειδωτικές για τα αμινοξέα των πρωτεϊνών, ιδιαίτερα την ιστιδίνη, την αργινίνη, τη λυσίνη και την προλίνη. Επίσης, οι $-\text{SH}$ ομάδες της κυστεΐνης μετατρέπονται σε θειολικές ρίζες $\text{RS}^{\cdot}$ ενώ μπορεί να προκύψουν μεικτά δισουλφίδια μεταξύ των $-\text{SH}$ και χαμηλού μοριακού βάρους θειόλες όπως η γλουταθειόνη (Valko *et al*, 2007). Επίσης, οι πολύ δραστικές ρίζες υδροξυλίου $\cdot\text{OH}$ μπορούν να οδηγήσουν στη δημιουργία θραυσμάτων των πρωτεϊνών καθώς επιδρούν στους δεσμούς μεταξύ των

αμινοξέων οδηγώντας έτσι στον κατακερματισμό της πρωτεϊνικής αλυσίδας (Klaunig & Kamendulis, 2004).

1.2 Αντιοξειδωτικές ουσίες: ορισμός και η δράση τους

Ο ανθρώπινος οργανισμός για να προλαμβάνει και να προστατεύει τα κύτταρά του από την επιβλαβή δράση των ελεύθερων ριζών έχει αναπτύξει ένα σύστημα αντιοξειδωτικής άμυνας. Ως αντιοξειδωτικό ορίζεται οποιαδήποτε ένωση η οποία όταν βρίσκεται σε μικρότερη συγκέντρωση από το προς οξείδωση υποστρώμα έχει την ικανότητα να παρεμποδίζει ή να αναστέλλει εξ ολοκλήρου την οξείδωση του υποστρώματος αυτού. Το σύστημα αντιοξειδωτικής άμυνας αποτελείται από ενζυμικούς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς αλλά και από μη ενζυμικές αντιοξειδωτικές ουσίες οι οποίες είτε δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες ή μειώνουν την παραγωγή τους (Cadenas, 1997).

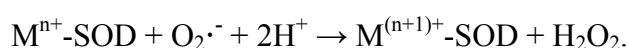
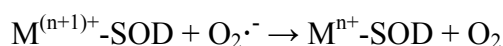
1.2.1 Ενζυμικοί αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί

Στους ενζυμικούς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς κατατάσσονται διάφορα ένζυμα του ανθρώπινου σώματος κυρίως των οποίων είναι η δισμουτάση του υπεροξειδίου (superoxide dismutase, SOD), η καταλάση (catalase, CAT), οι υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης (glutathione peroxidases, GPx), η αναγωγάση της γλουταθειόνης (glutathione reductase, GR) (Yiannakopoulou, 2009).

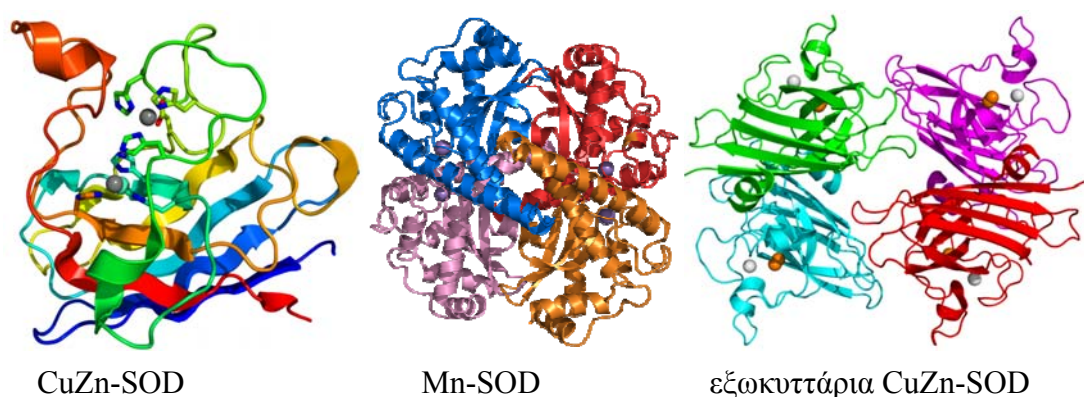
Δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD)

Η αντιοξειδωτική δράση της SOD για πρώτη φορά παρατηρήθηκε και καταγράφηκε το 1969 από τους McCord και Fridovich οι οποίοι ανακάλυψαν ότι η SOD καταλύει την αντίδραση αυτοοξείδωσης του $O_2^{\cdot-}$ παράγοντας H_2O_2 και O_2 (McCord & Fridovich, 1969). Η δισμουτάση του υπεροξειδίου είναι μια μεταλλοπρωτεΐνη που απαντάται σε αρκετές ισομορφές, οι οποίες διαφέρουν ως προς τη φύση του μετάλλου στο ενεργό κέντρο, τη σύνθεση των αμινοξέων και άλλα χαρακτηριστικά. Στον άνθρωπο υπάρχουν τρεις κύριες μορφές, η κυτταροπλασματική CuZn-SOD, η μιτοχονδριακή MnSOD και η εξωκυττάρια CuZn-SOD (Εικόνα 2).

Οι ακόλουθες αντιδράσεις απεικονίζουν την μεταβολή του υπεροξειδίου όπως αυτή γίνεται από τις δισμουτάσες.



όπου M το μεταλλικό ιόν κάθε ενεργού κέντρου ήτοι: [Cu](#) (n=1), [Mn](#) (n=2), [Fe](#) (n=2), και [Ni](#) (n=2).



Εικόνα 2 Απεικονίσεις των δομών των τριών ενζύμων SOD του ανθρώπου.

Η κυτταροπλασματική CuZn-SOD είναι ομοδιμερές με μοριακό βάρος 32 kDa και αποτελεί περίπου το 70% των ισομορφών της δισμουτάσης. Βρίσκεται διάχυτη στο κυτταρόπλασμα και σε μικρότερο βαθμό στον πυρήνα καθώς και στο διαμεμβρανικό χώρο των μιτοχονδρίων. Όπως φαίνεται και από την ονομασία του ενζύμου, περιέχει στο ενεργό του κέντρο ιόντα χαλκού και ψευδάργυρου και βρίσκεται στα περισσότερα όργανα του ανθρώπινου σώματος, στα επιθήλια καθώς και σε όλους τους τύπους των φαγοκυττάρων (Crapo *et al*, 1992). Η Mn-SOD βρίσκεται μόνο στα μιτοχόνδρια και είναι η κύρια αντιοξειδωτική προστασία τους αφού περίπου το 95% του οξυγόνου των κυττάρων μεταβολίζεται εκεί. Το ένζυμο αυτό αποτελείται από 4 υπομονάδες που φέρουν ένα άτομο μαγγανίου η κάθε μία και το μοριακό του βάρος είναι 95 kDa (Whittaker, 2000).

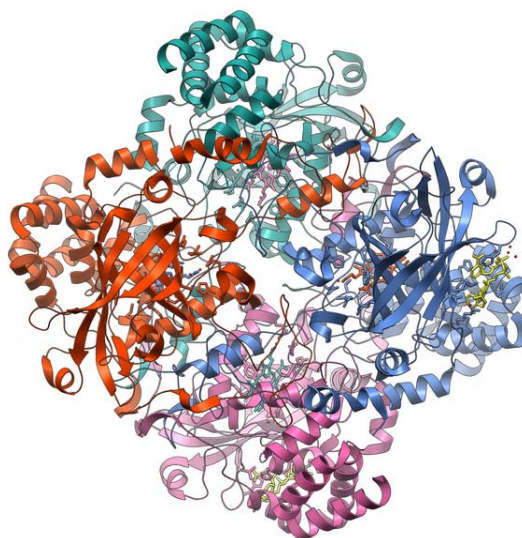
Η εξωκυττάρια SOD είναι μια τετραμερής γλυκοπρωτεΐνη η οποία φέρει στο ενεργό κέντρο της χαλκό και ψευδάργυρο όπως η κυτταροπλασματική αλλά το ένζυμο αυτό δρα στον εξωκυττάριο χώρο μόνο. Το ένζυμο αυτό έχει μοριακό βάρος 135 kDa και εμφανίζει υψηλή συγγένεια για την ηπαρίνη και άλλες θεϊκές γλυκοζαμινογλυκάνες όπως και για το κολλαγόνο τύπου 1. Υψηλή συγκέντρωση του ενζύμου αυτού εμφανίζεται στα τοιχώματα των αιμοφόρων αγγείων καθώς και στους πνεύμονες (Hasnain *et al*, 2009).

Η σπουδαιότητα της ύπαρξης των δισμουτασών έχει αποδειχθεί με πολλά πειράματα και έρευνες γύρω από την αντιοξειδωτική τους ικανότητα αλλά και από τις επιπτώσεις που υπάρχουν εάν το ένζυμο βρίσκεται σε έλλειψη (Remmen *et al*, 2006, Groner *et al*, 1994, Harrison *et al*, 2008).

Καταλάση (CAT)

Η καταλάση είναι ένα πολύ κοινό αντιοξειδωτικό ένζυμο το οποίο ενυπάρχει σχεδόν σε όλους τους οργανισμούς, σε όλα τα όργανα βρίσκεται στα υπεροξειδώματα, οργανίδια των κυττάρων. Καταλύει τη διάσπαση του υδροξειδίου του υδρογόνου σε

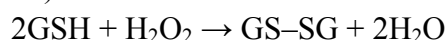
οξυγόνο και νερό ($2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$) και μπορεί να μετατρέψει εκατομμύρια μόρια H_2O_2 σε ένα μόνο λεπτό (Goodsell, 2004). Η καταλάση είναι ένα τετραμερές αποτελούμενο από τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες όπου η κάθε μία περιέχει τουλάχιστον 500 αμινοξέα και η ανθρώπινη καταλάση έχει βάρος γύρω στα 60 kDa. Περιέχει τέσσερις πορφυρινικές ομάδες αίμης (άρα και ιόντα σιδήρου) οι οποίες επιτρέπουν στο ένζυμο να αντιδράσει με το υπεροξειδίο του υδρογόνου (Εικόνα 3). Πρόσφατα, βρέθηκε ότι έλλειψη του ενζύμου καταλάση ευθύνεται για τα γκρίζα μαλλιά καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση του H_2O_2 και η τρίχα λευκαίνει (Schallreuter *et al*, 2009).



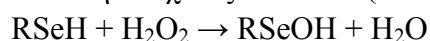
Εικόνα 3 Αναπαράσταση της δομής της καταλάσης.

Υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης (GPx)

Οι υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης είναι μια οικογένεια υπεροξειδασών που η δράση τους είναι να ανάγουν τα λιπιδικά υδροϋπεροξειδία στις αντίστοιχες αλκοόλες και το υπεροξειδίο του υδρογόνου σε νερό. Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί οκτώ ισομορφές GPx στον άνθρωπο με την GPx1 να είναι η κυριότερη και να βρίσκεται στο κυτόπλασμα σχεδόν όλων των ιστών. Οι GPx1-4 περιέχουν σελήνιο στον ενεργό τους κέντρο ενώ η GPx6 είναι μια σεληνοπρωτεΐνη (Spallholz & Boylan, 1991). Συνεπώς, η δράση τους εξαρτάται από την επάρκεια της τροφής σε σελήνιο. Οι GPx1-3 είναι τετραμερείς πρωτεΐνες ενώ η GPx4 είναι μονομερής. Η κύρια αντίδραση στην οποία συμμετέχουν οι GPx είναι η αναγωγή του H_2O_2 χρησιμοποιώντας τη γλουταθειόνη (GSH) οξειδώνοντας τη προς δισουλφιδική (GS-SG):

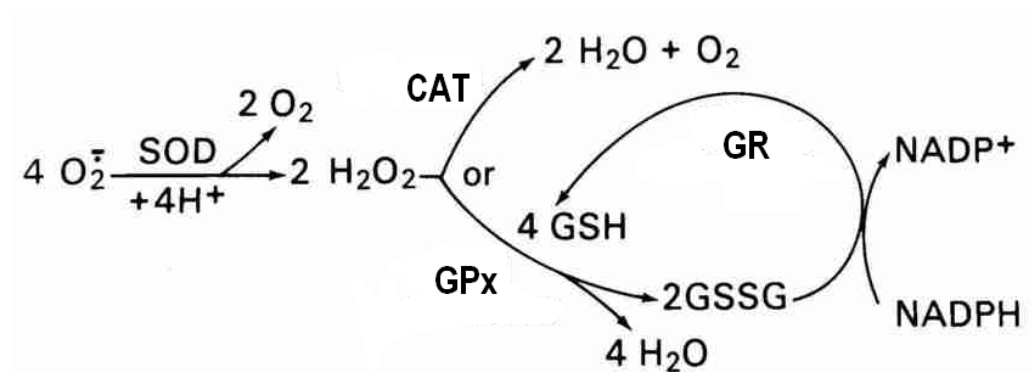


Ο μηχανισμός περιλαμβάνει την οξείδωση μιας σεληνιούχας κυστεΐνης η οποία δίνει το σεληνιούχο οξύ RSeOH (Bhabak & Mugesh, 2010):

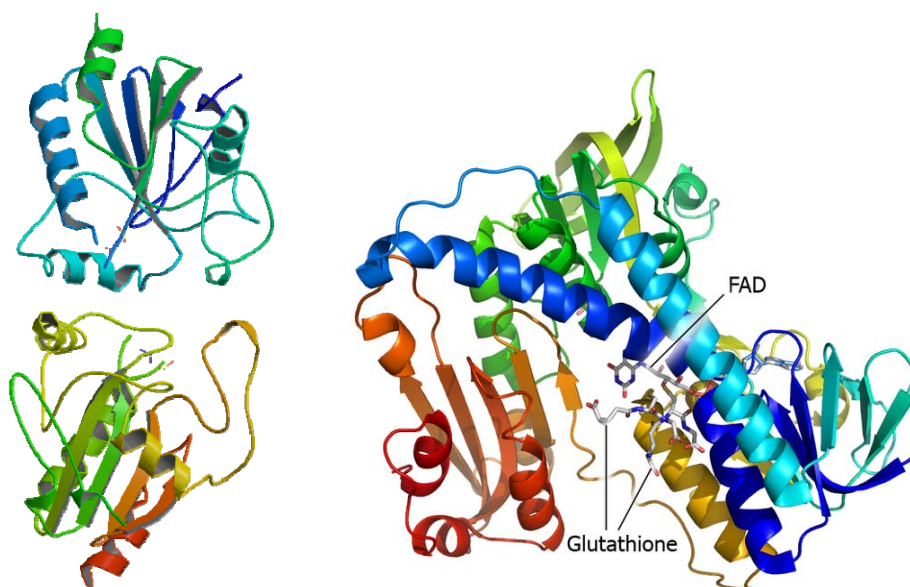


Αναγωγή της γλουταθειόνης (GR)

Μετά την δράση των GPx αναλαμβάνει η αναγωγή της γλουταθειόνης η οποία ανάγει την GSSG πίσω σε GSH. Η GR είναι ένα διμερές ένζυμο, μοριακού βάρους περίπου 50 kDa το οποίο φέρει δύο μόρια FAD στα ενεργά του κέντρα (Εικόνα 4), τα οποία χρησιμοποιούν το NADPH για την αναγωγή της δισουλφιδικής γλουταθειόνης (Σχήμα 2). Έπειτα, το NADPH ανανεώνεται με τη δράση του ενζύμου δεϋδρογονάση της 6-φωσφορικής γλυκόζης μέσω του κύκλου της φωσφορικής πεντόζης (Michiels *et al*, 1994). Πρόβλημα σε αυτόν τον κύκλο μπορεί να οδηγήσει σε οξειδωτικό στρες και λύση του κυττάρου.



Σχήμα 2 Σχηματική αναπαράσταση των αντιδράσεων που πραγματοποιούνται από τους ενζυμικούς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς.



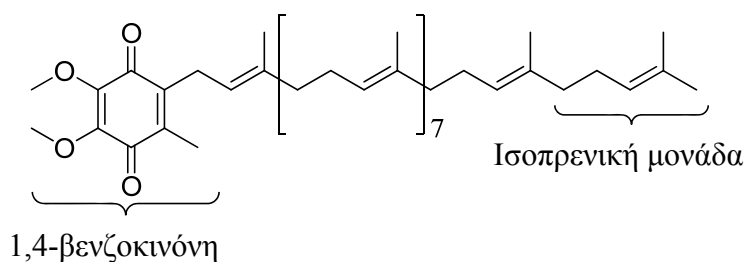
Εικόνα 4 Αναπαράσταση των δομών της GPx1 (αριστερά) και της GR (δεξιά).

1.2.2 Μη ενζυμικές αντιοξειδωτικές ουσίες

Δεδομένου ότι οι υπάρχοντες αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί του ανθρώπινου σώματος μπορεί σε παθολογικές καταστάσεις να μην προφτάσουν να ελέγξουν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις παραγωγής ριζών είναι δυνατή η ενίσχυση του οργανισμού με φυσικά ή συνθετικά αντιοξειδωτικά μέσω της τροφής. Στα φυσικά αντιοξειδωτικά κατατάσσονται τα εξής: συνένζυμο Q_{10} , η τοκοφερόλη (βιταμίνη E), το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), το β -καροτένιο, η γλουταθειόνη, μεταλλικά ιόντα (όπως το σελήνιο, ο χαλκός, ο ψευδάργυρος κτλ) και οι πολυφαινολικές ενώσεις (Halliwell & Gutteridge, 1998).

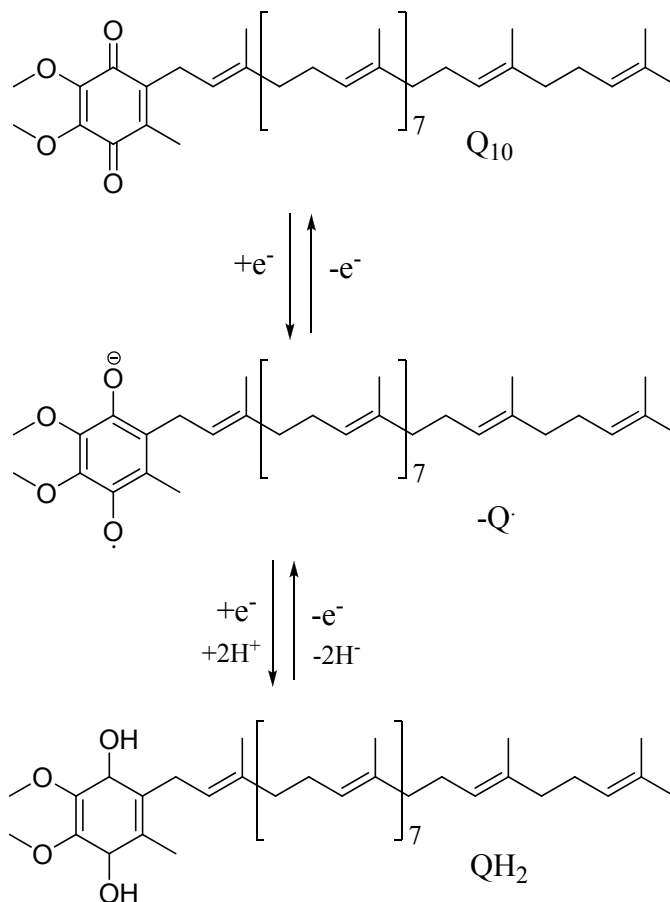
Συνένζυμο Q_{10}

Το συνένζυμο Q_{10} ή αλλιώς ουβικινόνη αποτελείται από μία μονάδα 1,4-βενζοκινόνης και 10 ισοπρενικές μονάδες (Σχήμα 3), δεν είναι διαλυτό στο νερό ενώ βρίσκεται στα περισσότερα ευκαρυωτικά κύτταρα, κυρίως στα μιτοχόνδρια αλλά βρίσκεται και στα υπεροξεισώματα, τα λυσοσώματα και άλλα οργανίδια (Lester & Crane, 1959). Η ανοιγμένη μορφή της ουβικινόνης ονομάζεται ουβικινόλη (QH_2) και η μερικώς ανοιγμένη ριζική μορφή ονομάζεται σεμικινόνη ($\cdot Q$).



Σχήμα 3 Δομή της ουβικινόνης (Q_{10}).

Η ένωση αυτή έχει την ιδιότητα να μεταφέρει δύο ηλεκτρόνια μεταξύ της ανοιγμένης και της οξειδωμένης της μορφής καθιστώντας την ως ένα καλό αντιοξειδωτικό ειδικά όταν βρίσκεται στην ανοιγμένη μορφή (Σχήμα 4). Το Q_{10} συμμετέχει και στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων και άρα είναι διπλά σημαντική η ύπαρξή του στον οργανισμό. Μέχρι σήμερα, έχει βρεθεί ότι το Q_{10} ή/και η έλλειψή του παίζουν σημαντικό ρόλο σε ασθένειες της καρδιάς (Mortensen *et al*, 2013, Florkowski *et al*, 2008), στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης (Sarter, 2002), σε μορφές καρκίνου (Sakano *et al*, 2006) όπως και σαν αντιγηραντικό (Turunen *et al*, 2004) ή απλά ενδυναμωτικό του ανοσοποιητικού συστήματος (Folkers *et al*, 1993).



Σχήμα 4 Οξειδοαναγωγικός κύκλος του Q₁₀.

Όσον αφορά τη λήψη του συνένζυμο Q₁₀, αυτό το παραλαμβάνουμε από διάφορα τρόφιμα όπως είναι η σόγια, λιπαρά ψάρια όπως οι σαρδέλες, σκουμπρί, μοσχάρι, χοιρινό και κοτόπουλο, ξηροί καρποί (όλοι είναι πλούσιες πηγές ειδικά τα αμύγδαλα, τα φιστίκια και τα καρύδια), το σουσάμι, έλαια όπως το βαμβακέλαιο, το σογιέλαιο και το ελαιόλαδο, λαχανικά όπως το μπρόκολο, το σπανάκι, το κουνουπίδι και το λάχανο, και φρούτα (Δημοσθενόπουλος, 2004) αλλά και στο κρέας διάφορων ζώων. Παρακάτω δίνεται ενδεικτικός πίνακας περιεκτικότητας συνενζύμου σε κάποιες τροφές:

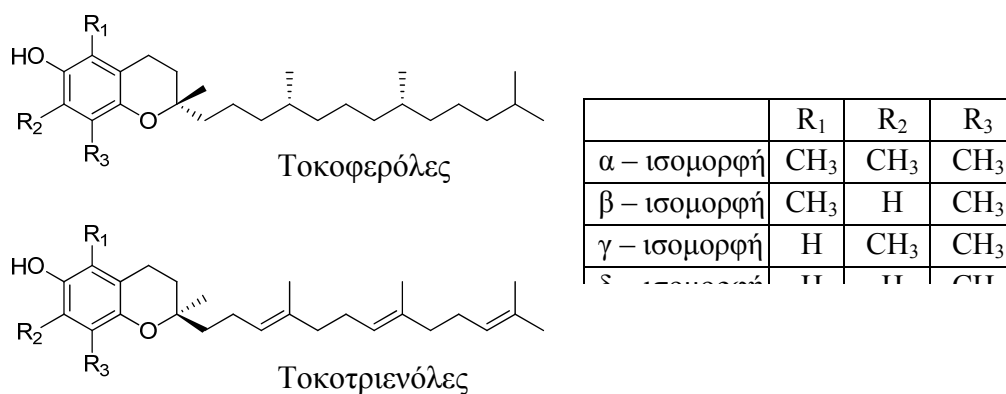
	mg / 100 gr		mg / 100 gr
Σόγια	9.2	Μπρόκολο	0.6 – 0.9
Σαρδέλες	6.4	Σταφύλι	0.6 – 0.7
Σκουμπρί	4.3	Αβοκάντο	1
Μοσχάρι	3.1	Μήλο	0.1
Χοιρινό	1.4 – 4.5	Ξηροί Καρποί	0.5 – 2.7
Πιτυρούχα Δημητριακά	2.8	Σπανάκι	1.0
Κοτόπουλο	2.1		

Πίνακας 2 Περιεκτικότητα τροφίμων σε συνένζυμο Q₁₀.

Ως πολύ λιποφιλικό μόριο, το συνένζυμο Q₁₀ εκχυλίζεται συνήθως με τη χρήση του κανονικού πεντανίου σε λυοφιλωμένες μάζες φυτών ή αν χρησιμοποιείται συσκευή Επιταχυνόμενης Εκχύλισης με Διαλύτη τότε μπορούν να χρησιμοποιηθούν κι άλλοι οργανικοί διαλύτες όπως η μεθανόλη ή η διοξάνη (Klein *et al*, 2012).

Τοκοφερόλη (Βιταμίνη E)

Οι τοκοφερόλες είναι μια οικογένεια ενώσεων που παρουσιάζουν αντιοξειδωτική ικανότητα και ιδιότητες βιταμίνης με την κυριότερη στον άνθρωπο να είναι η α-τοκοφερόλη. Πρόκειται για μια ομάδα οργανικών ουσιών που περιέχουν μεθυλιωμένες φαινόλες και μια καρβονυλική αλυσίδα (Σχήμα 5). Στη βιταμίνη E κατατάσσονται τέσσερις μορφές τοκοφερόλης και τέσσερις μορφές τοκοτριενόλης. Η αντιοξειδωτική τους δράση βασίζεται στην οξείδωση των αλκοολών δίνοντας ένα H⁺ προς τις ελεύθερες ρίζες, προστατεύοντας έτσι τα λιπίδια από υπεροξείδωση αφού είναι και αυτά λιποφιλικά μόρια (Barbas & Herrera, 2001). Δρα συνεργιστικά με τη βιταμίνη C καθώς φαίνεται η C να «επιστρέφει» στην τοκοφερόλη το H⁺ που χρειάζεται για να επανέλθει στην ανοιγμένη μορφή του (Traber & Stevens, 2011).



Σχήμα 5 Δομές των διάφορων μορφών της βιταμίνης E.

Στη μεσογειακή και ευρωπαϊκή διατροφή κυριαρχεί η α-τοκοφερόλη ενώ στον αμερικάνικο τρόπο ζωής επικρατεί η γ-τοκοφερόλη (Wagner *et al*, 2004). Αυτό οφείλεται κυρίως στη μεγαλύτερη κατανάλωση των Ευρωπαίων σε ελαιόλαδο και των Αμερικανών σε καλαμποκέλαιο. Στον πίνακα 3 φαίνονται οι περιεκτικότητες σε βιταμίνη E κάποιων τροφίμων.

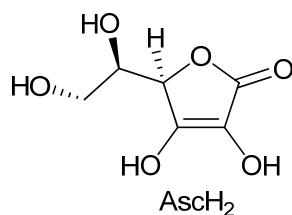
	mg / 100 g		mg / 100 g
Ηλιέλαιο	55.8	Αμύγδαλα	26.2
Αμυγδαλέλαιο	39.2	Κάστανα	1.2
Φυστικέλαιο	17.2	Σπαράγγια	1.5
Ελαιόλαδο	12.0	Καρότα	0.6
Φουντούκια	26.0	Ντομάτες	0.9
Ηλιόσπορος	35.17	Βρώμη	1.5

Πίνακας 3 Περιεκτικότητα τροφίμων σε βιταμίνη E.

Η απομόνωση της βιταμίνης Ε από ζωϊκά προϊόντα πραγματοποιείται με εκχύλιση χρησιμοποιώντας ως διαλύτη κανονικό εξάνιο και διαχωρίζεται από τις υπόλοιπες βιταμίνες με τη χρήση της μεθόδου HPLC (High Performance Liquid Chromatography, Υψηλής Απόδοσης Υγρή Χρωματογραφία) αντίστροφης φάσης και εκχύλιση στερεάς φάσης (Shumskiy *et al*, 2013) ενώ πρόσφατα οι Small *et al* (2013) χρησιμοποίησαν επτάνιο αντί για εξάνιο για να μειώσουν την τοξικότητα των αποβλήτων. Όσον αφορά τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι εκχύλισης και απομόνωσης της βιταμίνης Ε μερικές από τις οποίες είναι αιθανόλη (Guzman *et al*, 2012), μεθανόλη (Annunziata *et al*, 2012), ακετόνη με τη χρήση υπερήχων (Barbas *et al*, 2004), ακόμα και με υπερκρίσιμη εκχύλιση ή με εκχύλιση στερεάς φάσης (Puoci *et al*, 2007). Η καλύτερη λύση δόθηκε με την χρήση μιγμάτων διαλυτών και απλή χρωματογραφία (Soares *et al*, 2004, Araujo *et al*, 2013) ενώ μια νέα μέθοδος με εκχύλιση Folch και κανονικής φάσης HPLC αναπτύχθηκε πρόσφατα (Cruz & Casal, 2013).

Ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C)

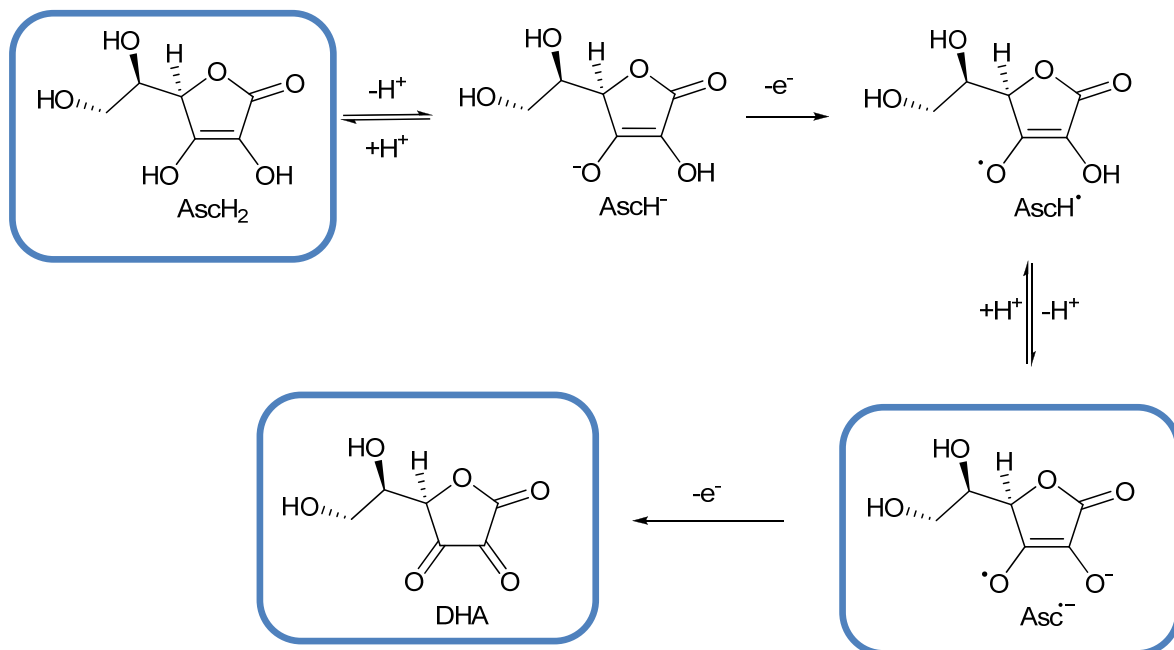
Το ασκορβικό οξύ είναι μια υδατοδιαλυτή οργανική ένωση που στη φυσική της μορφή είναι μια λευκή κρυσταλλική σκόνη. Πρόκειται για μια πολυαλκοόλη και περιέχει ένα πενταμελή ετεροκυκλικό δακτύλιο (Σχήμα 6). Τα φυτά και τα περισσότερα ζώα μπορούν να συνθέσουν την βιταμίνη C μέσω της γλυκόζης αλλά ο άνθρωπος, τα πρωτεύοντα θηλαστικά και μερικά άλλα ζώα δεν μπορούν (Nishikimi *et al*, 1994). Για αυτό το λόγο είναι επιτακτική η λήψη της βιταμίνης μέσα από την τροφή αλλιώς υπάρχει ο κίνδυνος εμφάνισης σκορβούτου, μια ασθένεια που οφείλεται στην έλλειψη της βιταμίνης C η οποία, εκτός των άλλων, είναι απαραίτητη για την παραγωγή κολλαγόνου στον οργανισμό. Η απορρόφηση του ασκορβικού οξέος στον άνθρωπο γίνεται στην εντερική οδό και είναι αυστηρά ελεγχόμενη με αποτέλεσμα να απορροφάται πολύ μικρότερη ποσότητα από αυτή που λαμβάνεται (Graumlich *et al*, 1997).



Σχήμα 6 Η δομή του ασκορβικού οξέος.

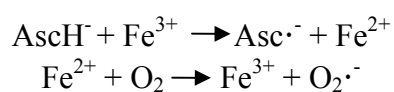
Η αντιοξειδωτική δράση του ασκορβικού οξέος (AscH₂) βασίζεται στη δυνατότητα του μορίου να οξειδώνεται και να δίνει δύο φορές από ένα ηλεκτρόνιο (Σχήμα 7) με αποτέλεσμα την παραγωγή της ασκορβικής ρίζας (Asc[•]) και του διϋδροασκορβικού οξέος (DHA). Με αυτόν τον τρόπο γίνεται δότης ηλεκτρονίου είτε σε ελεύθερες ρίζες όπως η υδροξυλική (OH[•]), οι αλκόξυ (RO[•]) και οιθειούχες (GS[•]) είτε προς την ρίζα της βιταμίνης Ε (α-τοκοπερόξυ) δρώντας συνεργιστικά (Buettner, 1993). Επίσης, με

τον ίδιο τρόπο συμβάλλει στην προστασία των LDL λιπιδίων από οξειδωτική βλάβη (Frei *et al*, 1989).



Σχήμα 7 Αντιδράσεις και δομές του ασκορβικού οξέος. Σε μπλε πλαίσιο βρίσκονται οι σημαντικότερες και πιο συνήθεις μορφές.

Η βιταμίνη C, όμως μπορεί να εμφανίσει και προ-οξειδωτική δράση αν βρεθεί σε περιβάλλον με μεγάλη ποσότητα σιδήρου. Αυτό διότι η μορφή AscH⁻ του ασκορβικού είναι ένα πολύ ισχυρό αναγωγικό που επιδρά στον τρισθενή σίδηρο και τον ανάγει προς δισθενή (σχήμα 8) ο οποίος συμμετέχει στην αντίδραση Fenton (σχήμα 1) και παράγει ρίζες υδροξυλίου. Επίσης, ο δισθενής σίδηρος έχει την τάση να αντιδρά με το μοριακό οξυγόνο δίνοντας την υπεροξειδική ρίζα η οποία επίσης είναι πολύ δραστική (σχήμα 8). Η προ-οξειδωτική δράση του ασκορβικού οξέος εξαρτάται πολύ από την συγκέντρωση των μεταλλικών ιόντων και άλλων παραγόντων (Buettner & Jurkiewicz, 1996). Σε υγιείς ανθρώπους, η βιταμίνη C παρουσιάζει κυρίως αντιοξειδωτικές ικανότητες καθώς ο σίδηρος προσδένεται σε διάφορες πρωτεΐνες όπως η φερριτίνη και δεν υπάρχει μεγάλη συγκέντρωση σε ελεύθερα ιόντα του (Wang *et al*, 2010). Όμως, σε παθολογικές καταστάσεις όπως η μεσογειακή αναιμία ή η αιματοχρωμάτωση όπου υφίσταται μεγάλη ποσότητα ελεύθερων ιόντων σιδήρου στο αίμα μπορεί η λήψη ασκορβικού οξέος να είναι καταστροφική (Buettner & Jurkiewicz, 1996).



Σχήμα 8 Αντιδράσεις ασκορβικού και σιδήρου.

Παρ' όλα αυτά, νεότερες μελέτες προτείνουν τη χρήση του ασκορβικού οξέος ως αντικαρκινικό φάρμακο καθώς η παραγωγή ελεύθερων ριζών μπορούν να προκαλέσουν το θάνατο των καρκινικών κυττάρων (Chen *et al*, 2005, Du *et al*, 2010). Η διαφορά μεταξύ υγιών και καρκινικών κυττάρων ώστε να παραμείνουν τα υγιή κύτταρα ασφαλή από το οξειδωτικό στρες του ασκορβικού είναι ότι τα καρκινικά κύτταρα έχουν χαμηλότερα επίπεδα άλλων αντιοξειδωτικών ουσιών και υψηλότερα επίπεδα ROS (Liu *et al*, 2004, Oberley, 2005). Αρχικές μελέτες έχουν δείξει ότι η χρήση διαλύματος ασκορβικού οξέος παράλληλα με χημειοθεραπείες ή ακτινοβολίες είναι ασφαλή, δεν παρεμποδίζει τα αποτελέσματα των θεραπειών και αυξάνει την ποιότητα ζωής των ασθενών κατά τη διάρκειά τους (Drisko *et al*, 2003, Espey *et al*, 2011, Padayatty *et al*, 2006, Vollbracht *et al*, 2011).

Πηγές βιταμίνης C για τον άνθρωπο είναι κυρίως τα φρούτα και τα λαχανικά ενώ η συνιστώμενη ημερήσια ποσότητα για τους μη καπνιστές είναι 60 mg και για τους καπνιστές 100 mg (Κουτκιά – Μυλωνάκη *et al*, 2012). Παρακάτω δίνεται πίνακας με κάποια τρόφιμα και την περιεκτικότητά τους σε βιταμίνη C.

	mg / 100 g		mg / 100 g
Πράσινη πιπεριά τσίλι	244	Σκόρδο	31
Φραγκοστάφυλο	200	Γκρέϊπφρουτ	30
Κόκκινη πιπεριά	190	Μανταρίνι	30
Κόκκινη πιπεριά τσίλι	144	Σπανάκι	30
Ακτινίδιο	90	Λάχανο	30
Μπρόκολο	90	Πατάτα	20
Λαχανάκια Βρυξελλών	80	Τομάτα	13.7
Φράουλες	60	Σταφύλι	10
Πορτοκαλί	53	Μπανάνα	9
Λεμόνι	53	Κρεμμύδι	7.4
Ανανάς	48	Μήλο	6

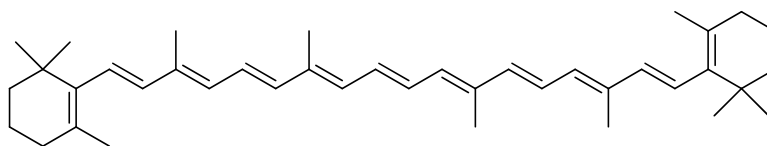
Πίνακας 4 Περιεκτικότητα φρούτων και λαχανικών σε βιταμίνη C.

Λόγω της οξειδοαναγωγικής ιδιότητας του ασκορβικού οξέος αλλά και της χαμηλής οξύτητάς του η εκχύλισή του από φρούτα και άλλα τρόφιμα πρέπει να γίνεται σε οξικό περιβάλλον π.χ. μεταφωσφορικό οξύ (Blake, 2007). Έπειτα, μπορεί να απομονωθεί ή να μετρηθεί με οξειδοαναγωγική τιτλοδότηση, φασματοφωτομετρία και HPLC (Mitic, 2012).

Β-καροτένιο

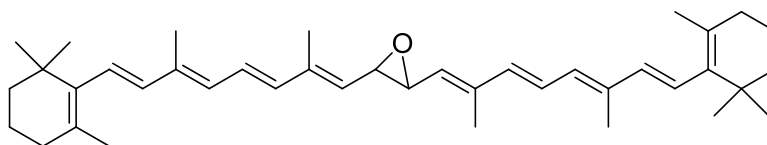
Το β-καροτένιο είναι ένας λιποδιαλυτός υδρογονάνθρακας που κατατάσσεται στα τερπενοειδή και περιέχει ισοπρενικές μονάδες (Σχήμα 9). Είναι φυσική χρωστική που βρίσκεται σε πολλά φρούτα και λαχανικά και δίνει πορτοκαλί, κίτρινο ή κόκκινο χρώμα ενώ αποτελεί πρόδρομος ένωση της βιταμίνης A. Ανήκει στην ευρύτερη

οικογένεια των καροτενοειδών μαζί με το α-καροτένιο, το λυκοπένιο και τη λουτεΐνη (Λιανίδη, 2012).



Σχήμα 9 Δομή του β-καροτενίου.

Η αντιοξειδωτική ικανότητα του β-καροτενίου οφείλεται στο πλήθος των διπλών δεσμών που έχει στο μόριό του καθώς μπορούν εύκολα να γίνουν δότες ηλεκτρονίου (Sies & Stahl, 1995). Η σημαντικότερη δράση του είναι ότι επιδρά στο μονήρες οξυγόνο ($^1\text{O}_2$) και το απενεργοποιεί (Foote & Demmy, 1968) αλλά και ότι ανάγει τις υπεροξειδικές ρίζες ($\text{ROO}\cdot$) συμβάλλοντας έτσι στην προστασία των λιπιδίων από την οξείδωση (Burton & Ingold, 1984). Αν και τα ακριβή προϊόντα οξείδωσης του β-καροτενίου δεν είναι ευρέως γνωστά έχει βρεθεί ότι με τη δράση υπεροξειδικής ρίζας σχηματίζεται ένα εποξειδίο στη θέση του κεντρικού διπλού δεσμού στο μόριο (Kennedy & Liebler, 1991) (Σχήμα 10). Στο ανθρώπινο σώμα το β-καροτένιο ανευρίσκεται κυρίως στο συκώτι, στα επινεφρίδια, στα νεφρά, στις ωοθήκες και στο λίπος (Stahl *et al*, 1992, Kaplan *et al*, 1990).



Σχήμα 10 Δομή του εποξειδίου-προϊόντος οξείδωσης του β-καροτενίου.

Στη φύση το β-καροτένιο συντίθεται από τα φυτά αλλά όχι από τα ζώα οπότε στον άνθρωπο η λήψη του γίνεται μέσα από τη τροφή. Όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα το καρότο και το σπανάκι έχουν τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε β-καροτένιο (CIQUAL, 2012) ενώ η συνιστώμενη ημερήσια ποσότητα είναι 4.8 mg.

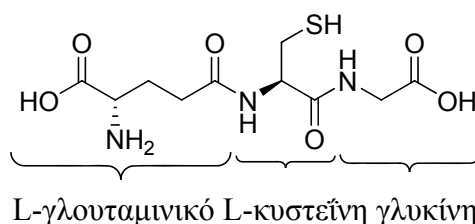
	mg / 100 g		mg / 100 g
Καρότο	13 – 210	Τομάτα	1.84 – 12
Σπανάκι	29.1 – 89	Πράσινη ελιά	1.84 – 2.8
Βασιλικός	3.5 – 48.2	Βερίκοκο	6.15 – 21.6
Μαρούλι	10 – 71.9	Μάνγκο	1.85 – 18
Κόκκινο λάχανο	0 – 18	Πεπόνι	0 – 17.1
Πιπεριά πράσινη	0 – 27.6	Πορτοκάλι	0.4 – 4.26
Πιπεριά κόκκινη	2.6 – 29.8	Νεκταρίνι	1 – 3.31

Πίνακας 5 Περιεκτικότητα τροφίμων σε β-καροτένιο.

Ο πιο συνήθης τρόπος παραλαβής του β-καροτενίου από το φυτό ή το φρούτο είναι με εκχύλιση με διαλύτη την ακετόνη και έπειτα απλή χρωματογραφία στήλης (Niizu & Rodriguez-Amaya, 2005) αλλά χρησιμοποιούνται και οι τεχνικές της απλής HPLC (Ahamad *et al*, 2007) και της αντίστροφης φάσης HPLC (Gimeno *et al*, 2000). Επίσης, κάποιες φορές γίνεται και προσθήκη του BHT (butylated hydroxytoluene, βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο) ως αντιοξειδωτικό στον διαλύτη έκλουσης καθώς υπάρχει ο κίνδυνος αυτοοξειδωσης και σφάλματος στην μέτρηση της περιεκτικότητας του β-καροτενίου (Howard *et al*, 1999, Ahamad *et al*, 2007).

Γλουταθειόνη (GSH)

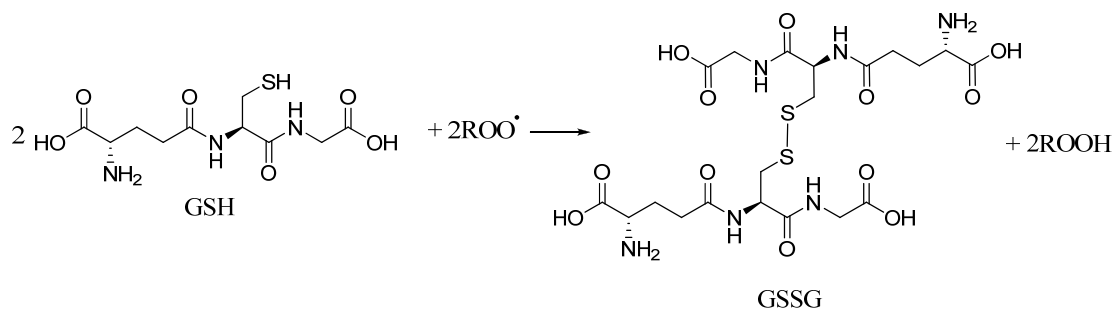
Η γλουταθειόνη είναι ένα τριπεπτίδιο αποτελούμενο από τα αμινοξέα L-γλουταμινικό, L-κυστεΐνη και γλυκίνη (Σχήμα 11) το οποίο συντίθεται στον οργανισμό σε δύο διαδοχικά στάδια που περιλαμβάνουν τα ένζυμα συνθετάση του διπεπτιδίου γ-γλουταμυλ-κυστεΐνη και συνθετάση της γλουταθειόνης στο κυτταρόπλασμα κυρίως του συκωτιού (Yiannakopoulou, 2009). Η γλουταθειόνη είναι η κύρια αντιοξειδωτική θειόλη και αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή της οξειδοαναγωγικής ομοιόστασης του κυττάρου (Masella *et al*, 2005).



Σχήμα 11 Δομή της γλουταθειόνης (ανοιγμένη μορφή GSH).

Η αντιοξειδωτική δράση της γλουταθειόνης βασίζεται κυρίως στη λειτουργία της ως συνένζυμο για την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης όπου η γλουταθειόνη γίνεται δότης ηλεκτρονίου (Schmidt & Dringen, 2012) για να απενεργοποιήσει διάφορες ρίζες (ROS) και σχηματίζει ένα δισουλφίδιο (GSSG), δηλαδή την οξειδωμένη μορφή της (Σχήμα 12). Σε φυσιολογικά κύτταρα κυριαρχεί η ανοιγμένη μορφή GSH ενώ όταν τα κύτταρα υφίστανται οξειδωτικό στρες η συγκέντρωση της GSSG είναι μεγαλύτερη. Μετά την επέλαση του οξειδωτικού στρες αναλαμβάνει δράση η αναγωγή της γλουταθειόνης η οποία με τη βοήθεια του NADPH επαναφέρει τη γλουταθειόνη στην ανοιγμένη μορφή της (Lopez *et al*, 1990).

Η γλουταθειόνη συμβάλλει επίσης και στην διατήρηση ή επαναφορά κι άλλων αντιοξειδωτικών ουσιών (Pastore *et al*, 2003) όπως η βιταμίνη C και E καθώς γίνεται και δέκτης ηλεκτρονίων ώστε να ανάγονται πάλι στην ενεργό μορφή τους (π.χ. το διϋδροασκορβικό οξύ προς ασκορβικό οξύ).



Σχήμα 12 Αντίδραση υπεροξειδίου με τη γλουταθειόνη και παραγωγή του δισουλφιδίου.

Για την απομόνωση και τη μέτρηση της περιεκτικότητας της γλουταθειόνης σε διάφορους ιστούς και όργανα χρησιμοποιείται ευρέως η απλή χρωματογραφία στήλης με χρωματομετρικά ή φθορογονικά αντιδραστήρια όπως του Ellman ή του Sanger ακολουθούμενη από την HPLC (Pastore *et al*, 2003). Μια νέα μέθοδος απομόνωσης περιγράφηκε από τον Huang και τους συνεργάτες του (2011) όπου πραγματοποιούν εκχύλιση στερεάς φάσης με τη χρήση γραφενίου και διάφορους οργανικούς διαλύτες με τον αποτελεσματικότερο να είναι η μεθανόλη.

Μεταλλικά ιόντα

Όσον αφορά κάποια μεταλλικά ιόντα ως αντιοξειδωτικές ουσίες, έχουμε ήδη αναφέρει ότι οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί εξαρτώνται από την συγκέντρωση μετάλλων όπως η δισμουτάση του υπεροξειδίου με τον ψευδάργυρο, το χαλκό και το μαγγάνιο. Πειράματα σε επίμυες έδειξαν ότι έλλειψη σιδήρου συνεπάγεται χαμηλά επίπεδα γλουταθειόνης (Kraus *et al*, 1997) και αυξημένες βλάβες λόγω οξείδωσης σε πρωτεΐνες, λιπίδια και DNA (Oteiza *et al*, 1995).

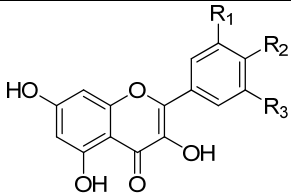
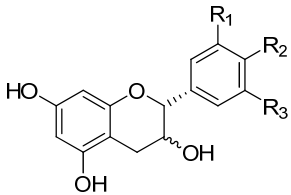
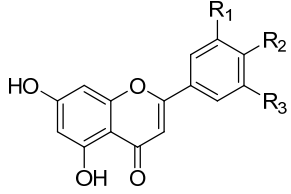
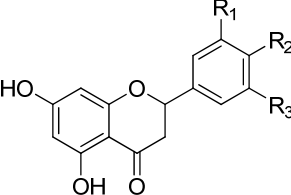
Παρ' όλα αυτά έχει βρεθεί ότι η δραστηριότητα του ενζύμου CuZn-SOD επηρεάζεται περισσότερο όταν υπάρχει έλλειψη χαλκού στον οργανισμό παρά ψευδαργύρου (Zidenberg-Cherr & Keen, 1991). Έρευνες έχουν δείξει ότι τόσο η μεγάλη συγκέντρωση σιδήρου όσο και η έλλειψή του μπορούν να αποτελέσουν αιτία οξειδωτικού στρες (Young *et al*, 1994, Knutson *et al*, 1999).

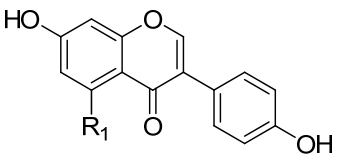
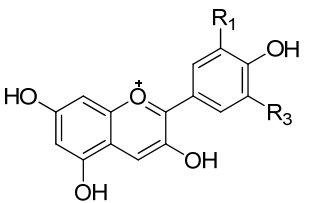
Το σελήνιο (Se) είναι απαραίτητο στοιχείο για τη λειτουργία της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης και οι συγκεντρώσεις των δύο είναι ανάλογες στον οργανισμό (Rea *et al*, 1979). Ακόμα, λήψη σεληνίου αυξάνει τα επίπεδα της γλουταθειόνης στο αίμα συμβάλλοντας και με αυτόν τον τρόπο στην αντιοξειδωτική προστασία του οργανισμού (Schrauzer & Sacher, 1994). Το σελήνιο φαίνεται να παίζει κάποιο ρόλο στην υπέρταση αλλά χωρίς να έχει καθοριστεί αυστηρά η δραστηριότητά του (Kuruppu *et al*, 2013).

Πολυφαινολικές ενώσεις

Οι πολυφαινόλες είναι οργανικές ενώσεις που βρίσκονται σε πολλά τρόφιμα της καθημερινής μας διατροφής. Είναι δευτερογενή προϊόντα του μεταβολισμού των φυτών και προσδίδουν σε αυτά το έντονο χρώμα τους ενώ σχετίζονται και με την προστασία των φυτών στην υπεριώδη ακτινοβολία, τις περιβαλλοντικές πιέσεις και την προσβολή από παθογόνα (Manach *et al*, 2004, Crozier *et al*, 2006).

Οι πολυφαινολικές ενώσεις αποτελούνται από έναν τουλάχιστον αρωματικό δακτύλιο υποκατεστημένο με ένα ή περισσότερα υδροξύλια και συνήθως στη φύση απαντώνται συνδεδεμένα με σάκχαρα (γλυκόζη, γαλακτόζη, ραμνόζη κ.α.) στη μορφή γλυκοζιτών (Morton *et al*, 2000). Ανάλογα με τη χημική τους δομή κατηγοριοποιούνται σε φλαβονοειδή και μη φλαβονοειδή. Τα φλαβονοειδή περιλαμβάνουν τις φλαβονόλες, τις φλαβανόλες, τις φλαβόνες, τις ισοφλαβόνες και τις ανθοκυανιδίνες (Πίνακας 6) ενώ τα μη φλαβονοειδή περιλαμβάνουν τα φαινολικά οξέα, τις λιγνίνες, τις λιγνάνες και τα στυλβένια (Crozier *et al*, 2006, Kaufman *et al*, 1999). Ως προς τη διαλυτότητα τους, οι πολυφαινολικές ενώσεις παρουσιάζουν ετερογένεια καθώς να μεν οι περισσότερες είναι υδατοδιαλυτές αλλά υπάρχουν κάποιες που είναι διαλυτές μόνο σε οργανικούς διαλύτες και άλλες που είναι καθολικά αδιάλυτες (Vermeris & Nicholson, 2006).

Τάξη φλαβονοειδών	Γενική χημική δομή	Όνομα	R ₁	R ₂	R ₃
Φλαβονόλες		Κερκετίνη	OH	OH	H
		Καμπφερόλη	H	OH	H
		Μυρικετίνη	OH	OH	OH
Φλαβανόλες		(+)-κατεχίνη	OH	OH	H
		(-)-επικατεχίνη	OH	OH	H
		Επιγαλλοκατεχίνη	OH	OH	OH
Φλαβόνες		Λουτεολίνη	OH	OH	H
		Απιγενίνη	H	OH	H
		Χρυσίνη	H	H	H
Φλαβανόνες		Ναριγενίνη	H	OH	H
		Εσπεριτίνη	H	OCH ₃	OH

Ισοφλαβόνες		Γενιστεΐνη	OH	-	-
		Ντετζεΐνη	H	-	-
Ανθοκυανιδίνες		Κυανιδίνη	OH	-	H
		Δελφινιδίνη	OH	-	OH

Πίνακας 6 Ταξινόμηση και χημικές δομές των φλαβονοειδών.

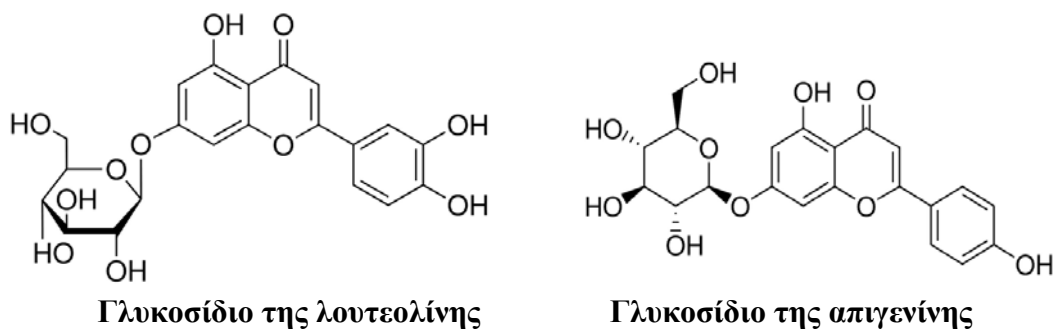
Οι φλαβονόλες είναι τα πιο διαδεδομένα και χαρακτηρισμένα φλαβονοειδή στα τρόφιμα με κύριους εκπρόσωπους την κερκετίνη, την καμπερόλη και τη μυρικετίνη (Πίνακας 6). Ανευρίσκονται κυρίως στην εξωτερική επιφάνεια των φρούτων, στα φύλλα και στην επιδερμίδα των φυτών καθώς η βιοσύνθεσή τους επάγεται από το φως (Manach *et al*, 2004). Μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φλαβονόλες έχουν οι φράουλες, το σπανάκι, το κουνουπίδι και το βερύκοκο (Πίνακας 7, Sultana & Anwar, 2008, Manach *et al*, 2004).

Οι φλαβανόλες είναι η πιο πολύπλοκη ομάδα των φλαβονοειδών και υφίστανται είτε ως μονομερή (π.χ. κατεχίνη) είτε ως πολυμερή, τις προανθοκυανιδίνες ή αλλιώς συμπυκνωμένες ταννίνες. Αντίθετα με τα υπόλοιπα φλαβονοειδή, τα μονομερή των φλαβανολών δεν υπάρχουν σε γλυκοζυλιωμένες μορφές (Manach *et al*, 2004) ενώ οι δακτύλιοι τους βρίσκονται σε δύο επίπεδα (Crozier *et al*, 2006). Οι προανθοκυανιδίνες είναι ολιγομερή ή πολυμερή μιας φλαβανόλης και κατεργαζόμενες με ισχυρά οξέα σε ανθοκυανιδίνες (Crozier *et al*, 2006).

	mg / 100g		mg / 100g
Κουνουπίδι	160.4	Ντομάτα	1.5
Σπανάκι	172	Μήλο	46
Καρότα	52.5	Δαμάσκηνο	56.5
Μπιζέλια	19.8	Βερίκοκο	78.9
Γογγύλι	47.2	Φράουλες	357.5
Κρεμμύδι	10.5	Φύλλα αλόης	163.6
Μπρόκολο	10	Μαύρο τσάι	30-45 (mg/l)
Ντοματίνια	20	Πράσινο τσάι	20-35 (mg/l)

Πίνακας 7 Περιεκτικότητα φλαβονολών σε τρόφιμα.

Οι φλαβόνες παρόλο που έχουν παρόμοια δομή με τις φλαβονόλες βρίσκονται σε μικρότερη συχνότητα στα φρούτα και τα λαχανικά με κύρια αναφορά να γίνεται για το σέλινο και το μαϊντανό (Πίνακας 8, Justenen *et al*, 1998, Hertog *et al*, 1992). Οι κυριότερες μορφές τους είναι γλυκοσίδια της λουτεολίνης και απιγενίνης (Πίνακας 6, εικόνα 5).



Εικόνα 5 Γλυκοσίδια φλαβονών.

	mg / 100 g		mg/100 g
Σέλινο	95	Κόκκινη πιπεριά	1.5
Μαϊντανός	186	Κουκιά	2.6

Πίνακας 8 Περιεκτικότητα φλαβονών σε τρόφιμα.

Επόμενη κατηγορία φλαβονοειδών είναι οι φλαβανόνες οι οποίες χαρακτηρίζονται από την απουσία του διπλού δεσμού στον πυρανικό δακτύλιο και η δομή τους είναι ιδιαίτερα δραστική και μπορεί να υποστεί υδροξυλίωση, μεθυλίωση και γλυκοζυλίωση (Crozier *et al*, 2006). Οι φλαβανόνες βρίσκονται κυρίως σε εσπεριδοειδή φρούτα με κυριότερες δομές αυτές της εσπεριτίνης και της ναριγενίνης (Πίνακας 9, Khan *et al*, 2014).

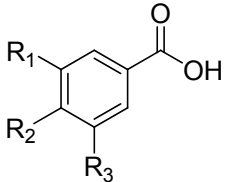
	mg / 100 g		mg / 100 g
Κλημεντίνη	446.2	Λάϊμ	17.3
Γκρέϊπφρουτ	122.1	Μανταρίνι	23.1
Λεμόνι	26.4	Ντομάτα	18.2

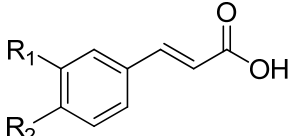
Πίνακας 9 Περιεκτικότητα φλαβανονών σε τρόφιμα.

Η δομή των ισοφλαβονών είναι αρκετά διαφορετική από τα υπόλοιπα φλαβονοειδή καθώς ο ένας αρωματικός δακτύλιος είναι συνδεδεμένος με άλλον άνθρακα του δεύτερου αρωματικού συστήματος (Πίνακας 6). Κυριότεροι εκπρόσωποι αυτής της κατηγορίας είναι η ντετζεΐνη και η γενιστεΐνη και θεωρούνται ως φυτοοιστρογόνα καθώς έχουν την ικανότητα να προσδένονται σε υποδοχείς των οιστρογόνων παρουσιάζοντας έτσι ψευδο-ορμονικές ιδιότητες (Manach *et al*, 2004). Οι ισοφλαβόνες απαντώνται κυρίως σε προϊόντα σόγιας (αλεύρι: 130 mg/100g, γάλα: 10 mg/100g).

Οι ανθοκυανιδίνες βρίσκονται κυρίως στη γλυκοζυλιωμένη μορφή τους ή εστεροποιημένα με με οργανικά οξέα δίνοντας σε πολλά φυτά τα χρώματα κόκκινο, μπλε και μωβ ενώ παίζουν σημαντικό ρόλο στο να ελκύουν έντομα για την αναπαραγωγή του φυτού (Crozier *et al*, 2006). Συνηθέστερα είναι η κυανιδίνη και η δελφινίνη (Πίνακας 6) και βρίσκονται σε λίγα φρούτα και λαχανικά όπως η μελιτζάνα (750 mg/100g), τα φραγκοστάφυλα (200 mg/100g), το κόκκινο λάχανο (25 mg/100g) και στο κόκκινο κρασί (27 mg/100mL).

Όσον αφορά την κατηγορία των μη φλαβονοειδών τα φαινολικά οξέα είναι τα πιο μελετημένα τα οποία είναι απλούστερα στη δομή τους με έναν μόνο αρωματικό δακτύλιο και μια μικρή υδρογονανθρακική αλυσίδα (Πίνακας 10). Διακρίνονται στα υδροξυβενζοϊκά και στα υδροξυκινναμικά οξέα με πιο χαρακτηριστικά να είναι τα γαλλικό, πρωτοκατεχοϊκό, κουμαρικό, καφεϊκό και φερουλικό. Το γαλλικό οξύ είναι η βασική μονάδα των γαλλοταννινών ενώ μαζί με εξαϋδροξυδιφαινυλικές ομάδες σχηματίζουν τις ελλαγιταννίνες. Τόσο οι γαλλοταννίνες όσο και οι ελλαγιταννίνες είναι υδρολυόμενες ταννίνες οι οποίες, αντίθετα με τις συμπυκνωμένες, διασπώνται εύκολα με επίδραση αραιού οξέος απελευθερώνοντας γαλλικό οξύ και ελλαγικό οξύ (Crozier *et al*, 2006). Η πλειοψηφία των φρούτων και λαχανικών είναι φτωχή σε φαινολικά οξέα καθώς αυτά βιοσυντίθεται προς ταννίνες και φλαβονοειδή ή είναι εστεροποιημένα με σάκχαρα, αλκοόλες και άλλα οργανικά οξέα (Manach *et al*, 2004). Μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε υδροξυκινναμικά οξέα έχουν ο καφές (105 mg/100mL), το ακτινίδιο (80 mg/100g), και η μελιτζάνα (63 mg/100g).

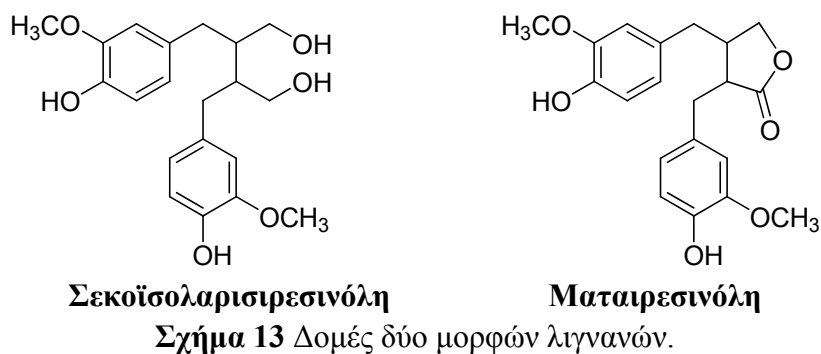
Υδροξυβενζοϊκά οξέα	R	Γαλλικό οξύ	Πρωτοκατεχοϊκό οξύ
	R ₁	OH	OH
	R ₂	OH	OH
	R ₃	OH	H

Υδροξυκινναμικά οξέα	R	Κουμαρικό οξύ	Καφεϊκό οξύ	Φερουλικό οξύ
	R ₁	OH	OH	OCH ₃
	R ₂	H	OH	OH

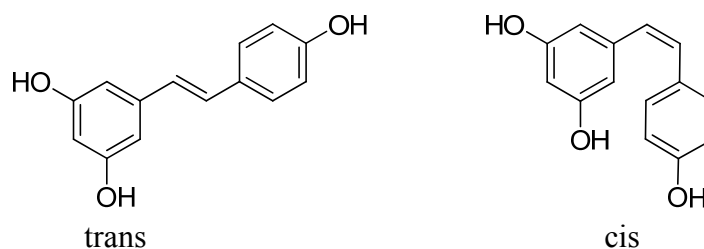
Πίνακας 10 Χημικές δομές των φαινολικών οξέων.

Στα μη φλαβονοειδή κατατάσσονται και οι λιγνίνες οι οποίες είναι φαινολικά πολυμερή που βρίσκονται στα κυτταρικά τοιχώματα των φυτών και των δέντρων (McNally *et al*, 2001). Τα τρία σημαντικότερα μονομερή που σχηματίζουν τις λιγνίνες είναι p-κουμαρυλική αλκοόλη, η κωνιφερυλική αλκοόλη και η σινναπυλική αλκοόλη (Freudenberg & Nash, 1968). Η αποικοδόμησή τους παράγει διάφορα φαινολικά συστατικά όπως το πρωτοκατεχοϊκό οξύ και η p-υδροξυβενζαλδεΐδη.

Οι λιγνάνες είναι διφαινυλικές ενώσεις που προκύπτουν από διμερισμό δύο μορίων κινναμικού οξέος (Webb & McCullough, 2005). Οι λιγνάνες όπως και οι περισσότερες φαινολικές ενώσεις βρίσκονται συνδεδεμένες με σάκχαρα. Κύριοι φυτικοί εκπρόσωποι είναι η σεκοϊσολαρισρεσινόλη και η ματαιρεσινόλη (Σχήμα 13) και πρωταρχική πηγή τους είναι ο λιναρόσπορος ενώ σε μικρές ποσότητες υπάρχουν στα δημητριακά, στο σκόρδο, στα σπαράγγια, τα καρότα, τα αχλάδια και τα δαμάσκηνα (Manach *et al*, 2004).



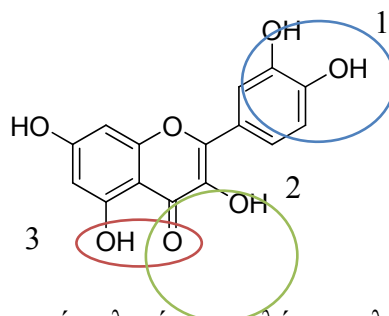
Τα στυλβένια είναι ενώσεις πολύ σημαντικές για την υγεία των φυτών καθώς που παράγονται όταν γίνεται προσβολή του φυτού από μύκητες, βακτήρια και ιούς. Ανήκουν στις φυτοαλεξίνες και η δομή τους αποτελείται από δύο αρωματικούς δακτυλίους και μια μεθυλενική γέφυρα. Η ρεσερατρούλη είναι η πιο κοινή δομή στυλβένιου και βρίσκεται στους ιστούς των φυτικών ιστών σε *cis* και *trans* μορφή (Σχήμα 14). Τα στυλβένια διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τη θέση και τον αριθμό των υποκατεστημένων υδροξυλομάδων στους αρωματικούς δακτυλίους, τη στερεοχημική τους διάταξη καθώς και τον αριθμό και τον κορεσμό των μεθυλενίων στη γέφυρα (Crozier *et al*, 2006, Manach *et al*, 2004). Οι κύριες διατροφικές πηγές των στυλβενίων περιλαμβάνουν τα σταφύλια, το κρασί, τη σόγια και τα προϊόντα φιστικιών.



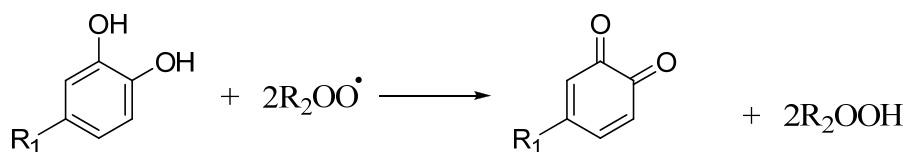
Σχήμα 14 Χημική δομή της ρεσερατρούλης.

Η αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολικών ενώσεων βασίζεται σε δύο μηχανισμούς: α) τη δημιουργία χηλικών συμπλόκων με ελεύθερα ιόντα σιδήρου και χαλκού και β) τη δέσμευση ελεύθερων ριζών με αντίστοιχη οξείδωσή τους. Και οι δύο αυτοί μηχανισμοί εξαρτώνται από τη θέση των υδροξυλομάδων. Στην περίπτωση της δημιουργίας χηλικών συμπλόκων αυτό πραγματοποιείται σε τρεις θέσεις των φαινολικών (Σχήμα 15). Σε μία ή και στις τρεις θέσεις προσδένεται ένα ιόν Fe^{3+} ή Cu^{2+} και έτσι απενεργοποιείται η οξειδωτική τους δράση προς τα λιπίδια (π.χ. αντίδραση Fenton). Οι ενώσεις που συμμετέχουν σε αυτού του είδους αλληλεπιδράσεις είναι κυρίως οι φλαβόνες, οι φλαβονόλες και οι φλαβανόλες (Pratt & Hudson, 1990, Mira *et al*, 2002).

Παρ'όλα αυτά η κύρια αντιοξειδωτική δράση των πολυφαινολών οφείλεται στην προσφορά ατόμων H και ηλεκτρονίου στις ελεύθερες ρίζες απενεργοποιώντας τες. Καθώς όλα τα είδη υδροξυλίου δεν έχουν την ίδια ικανότητα προσφοράς του H, τα φλαβονοειδή παρουσιάζουν μεγάλη διαβάθμιση στη δραστηριότητά τους. Όμως, έχει γίνει αποδεκτό ότι αυτά με 3,4-ο-διυδροξύ-υποκατάσταση του βενζολικού δακτυλίου είναι τα πιο ενεργά καθώς μπορούν να δώσουν δύο H με δύο ηλεκτρόνια σχετικά εύκολα αφού η δομή στην οποία καταλήγουν είναι αρκετά σταθερή (Σχήμα 16, Foti & Ruberto, 2001).



Σχήμα 15 Κέντρα σχηματισμού χηλικών συμπλόκων φλαβονοειδών με μεταλλικά ιόντα.



Σχήμα 16 Αντίδραση ελεύθερων ριζών με φλαβονοειδή.

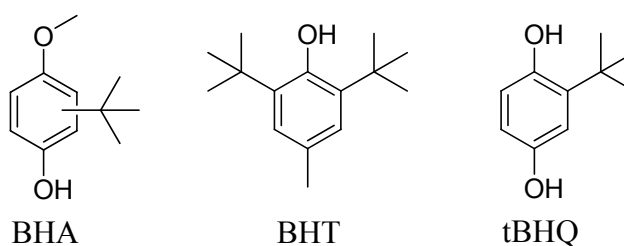
Οι τρόποι απομόνωσης των πολυφαινολικών ενώσεων περιλαμβάνουν την απλή εκχύλιση με τη χρήση οργανικών διαλυτών όπως διαιθυλαιθέρα ή οξικό αιθυλεστέρα (Vekari *et al*, 1993), μεθανόλη, αιθανόλη ή ακετόνη (Escribano – Bailon & Santos – Buelga, 2003). Έπειτα, όχι τόσο συνηθισμένη είναι η εκχύλιση με υπερκρίσιμο ρευστό με τη χρήση του υπερκρίσιμου διοξειδίου του άνθρακα και διαλύτες μεθανόλη (Moraes *et al*, 1997) και αιθανόλη (Bergeron *et al*, 2005). Τέλος,

πραγματοποιείται και εχύλιση στερεάς φάσης κυρίως σε χυμούς φρούτων ή πολτοποιημένα λαχανικά με χρωματογραφία είτε κανονικής φάσης ή αντίστροφης (Escribano – Bailon & Santos – Buelga, 2003) και με ποικίλους διαλύτες αναλόγως το υπό διαχωρισμό φαινολικό συστατικό. Μέθοδοι ταυτοποίησης είναι η HPLC, η φασματοσκοπία υπεριώδους – ορατού και η φασματοσκοπία μάζας.

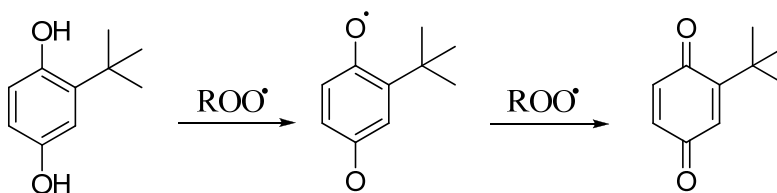
1.2.3 Συνθετικά αντιοξειδωτικά

Τα συνθετικά αντιοξειδωτικά εισήλθαν στην αγορά τροφίμων στα τέλη της δεκαετίας του 1940 ως συντηρητικά των τροφίμων προστατεύοντας τα από την οξείδωση και δαιτηρώντας τη διατροφική τους αξία, το χρώμα και τη γεύση τους (Nakamura *et al*, 2003). Ευρέως χρησιμοποιούμενα συνθετικά αντιοξειδωτικά είναι η βουτυλοϋδρόξυ ανισόλη (BHA), το βουτυλικό υδροξυτολουόλιο (BHT) και η *tert*-βούτυλο υδροκινόνη (tBHQ) που ανήκουν στην κατηγορία των φαινολικών ενώσεων (Iverson, 1995). Οι τρεις αυτές ενώσεις προστατεύουν τα διατροφικά προϊόντα από την λιπιδική υπεροξείδωση και χρησιμοποιούνται κυρίως στο βούτυρο, σε προϊόντα κρέατος, σνακς, δημητριακά και προϊόντα πετρελαίου (Helmenstine, 2014).

Οι ενώσεις αυτές εκτός από αντιοξειδωτική ικανότητα εμφανίζουν και χημειοπροστατευτική δράση αλλά και καρκινική (Yanishlieva – Maslarova, 2001) οπότε γίνονται έρευνες ώστε να αντικατασταθούν από φυσικά αντιοξειδωτικά (Pokorny, 2001). Το υδροξύλιο που βρίσκεται στον βενζολικό δακτύλιο είναι ο δότης ηλεκτρονίου και Η στις αντιδράσεις οξειδοαναγωγής στις οποίες συμμετέχουν τα BHA, BHT και tBHQ απενεργοποιώντας τις ROS (Σχήμα 17). Για παράδειγμα, η tBHQ με την επίδραση δύο μορίων ελεύθερων ριζών μετατρέπεται στην οξειδωμένη μορφή της, την 2-*tert*-βούτυλο-1,2-βενζοκινόνη περνώντας από το στάδιο της ανιονικής ρίζας της ημικινόνης (Σχήμα 18, El-Kadi *et al*, 2007).



Σχήμα 17 Δομές των συνθετικών αντιοξειδωτικών.



Σχήμα 18 Αντίδραση της tBHQ με υπεροξειδικές ρίζες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Αντιοξειδωτικά και ανθρώπινη υγεία

2.1 Οξειδωτικό στρες

Οι ελεύθερες ρίζες εκτός από επιβλαβείς για την υγεία του ανθρώπου είναι και απαραίτητες καθώς συμμετέχουν σε ένα πλήθος φυσιολογικών διαδικασιών όπως η μεταγωγή του σήματος και η ρύθμιση της οξειδοαναγωγικής ομοιόστασης (Dröge, 2002). Για αυτό σε έναν φυσιολογικό, υγιή οργανισμό υπάρχει μια ισορροπία μεταξύ της παραγωγής των ελεύθερων ριζών και της δράσης των αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Όταν η ισορροπία αυτή διαταραχθεί τότε ο οργανισμός υπόκειται σε *οξειδωτικό στρες* (Sies, 1985).

Το οξειδωτικό στρες μπορεί να οφείλεται σε διάφορους παράγοντες όπως η υποξία, η ακτινοβολία UV, η χημειοθεραπεία, η ακτινοθεραπεία και οι παράγοντες γήρανσης (Reuter *et al*, 2010). Κατά τη διάρκειά του, η υπεροχή των οξειδωτικών παραγόντων μπορεί να προκαλέσει βλάβη σε πολλά βιομόρια όπως το DNA, οι πρωτεΐνες και τα λιπίδια ενώ μπορεί να οδηγήσει και στον θάνατο των κυττάρων (Halliwell, 2001).

Έρευνες έχουν συσχετίσει την ύπαρξη οξειδωτικού στρες με πολλές ασθένειες όπως ο καρκίνος (Lau *et al*, 2008), το Parkinson (Tieu *et al*, 2003), το Alzheimer (Multhaup *et al*, 1997), τη ρευματοειδή αρθρίτιδα (Gelderman *et al*, 2007), το διαβήτη (Muhammad *et al*, 2009) και παθήσεις της καρδιάς (Touyz *et al*, 2004, Yoshizumi *et al*, 2001).

Για να μπορέσουν οι ερευνητές να έχουν μια ακριβή εικόνα της συσχέτισης του οξειδωτικού στρες με τις διάφορες παθολογικές καταστάσεις όρισαν τους δείκτες εκτίμησης οξειδωτικού στρες. Οι πιο συνηθισμένοι δείκτες είναι προϊόντα οξείδωσης του DNA, των πρωτεϊνών και των λιπιδίων (Halliwell & Whiteman, 2004) και περιλαμβάνουν τη συγκέντρωση της 8-OH-G με την οποία μετريέται η βλάβη του DNA. Όσον αφορά την πρωτεϊνική οξείδωση ο κυριότερος δείκτης είναι τα καρβονύλια των αμινοξέων τα οποία μπορούν να προσδιοριστούν με κατεργασία με 2,4-δινιτροφαινυλδραζίνη (DNPH) (Therond *et al*, 2000, Levine *et al*, 1990). Ως δείκτες εκτίμησης της οξείδωσης των πρωτεϊνών χρησιμοποιούνται και διάφορα παράγωγα των αμινοξέων π.χ. της κυστεΐνης ή της τυροσίνης (Hawkins *et al*, 2009).

Κάποια προϊόντα της λιπιδικής υπεροξείδωσης που χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της έντασης του οξειδωτικού στρες είναι τα λιπιδικά υδροπεροξειδία, η μαλονδιαλδεΐδη, τα ισοπροστάνια, η 4-υδροξυνονενάλη και αυτά που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS) (Therond *et al*, 2000). Πολύ σημαντικός δείκτης θεωρείται ο λόγος GSH/GSSG αφού τα δύο ποσά είναι ανάλογα (Therond *et al*, 2000). Ωστόσο, έχει βρεθεί ότι η ισορροπία μεταξύ των δύο μορφών της γλουταθειόνης μπορεί να διατηρηθεί και σε κατάσταση οξειδωτικού στρες αν αυξηθεί η δράση της GR (Schafer & Buettner, 2001).

2.2 Αντιοξειδωτικά και νευροεκφυλιστικές νόσοι

Στις κύριες νευροεκφυλιστικές νόσους κατατάσσονται οι νόσοι Alzheimer (NA) και Parkinson (NP). Ο εγκέφαλος ως όργανο είναι αρκετά ευαίσθητος στις οξειδωτικές βλάβες αφού διαθέτει μεγάλη συγκέντρωση σε οξυγόνο, σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα αλλά και οξειδοαναγωγικά μέταλλα (Cu, Fe, Zn). Ο κίνδυνος οξειδωτικού στρες αυξάνει με την πάροδο της ηλικίας για αυτό και η εμφάνιση νευροεκφυλιστικής νόσου είναι συνήθης στους ηλικιωμένους ανθρώπους (Valko *et al*, 2007).

Νόσος Alzheimer (NA)

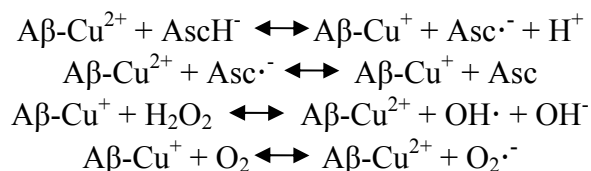
Η αιτία της νόσου Alzheimer έχει αποδοθεί σε οξειδωτική βλάβη συνδεδεμένη με τη συσσώρευση του αμυλοειδούς-β-πεπτιδίου (Αβ), κύριο συστατικό των γηραιών πλακών του εγκεφάλου όπως και των νευροϊνδιακών συμπλεγμάτων και των νευρόφιλων νημάτων (Butterfield *et al*, 2002). Ενδείξεις ότι υφίσταται οξειδωτικό στρες ο εγκέφαλος των ασθενών με NA αποτελούν:

- α) τα αυξημένα επίπεδα ιόντων Cu, Fe, Al και Hg,
- β) η αυξημένη λιπιδική υπεροξείδωση, η αυξημένη συγκέντρωση 4-υδροξυνονενάλης και τα μειωμένα επίπεδα πολυακόρεστων λιπαρών οξέων,
- γ) η αυξημένη οξείδωση λιπιδίων και DNA,
- δ) ο μειωμένος μεταβολισμός ενέργειας και η μικρότερη περιεκτικότητα σε οξειδάση του κυτοχρώματος c,
- ε) τα προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης όπως η μαλονδιαλδεΐδη, καρβονυλικές ενώσεις και υπεροξυνιτρικά ιόντα (ONOO[•]) στα νευροϊνδιακά συμπλέγματα (Butterfield *et al*, 2002).

Μια από τις διεργασίες που πραγματοποιούν τα τοξικά πεπτίδια Αβ αυξάνοντας τα επίπεδα ελεύθερων ριζών στα κύτταρα του εγκεφάλου είναι η διέγερση της οξείδωσης του ασκορβικού ανιόντος με τη δράση ιόντων χαλκού (Dikalov *et al*, 2004). Οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα απελευθερώνοντας ρίζες οξυγόνου φαίνονται στο σχήμα 19. Επίσης, πρόσφατα έχει βρεθεί ότι η απολιποπρωτεΐνη E (apoE) παίζει κάποιο ρόλο στην παθογένεση της NA καθώς είναι ευάλωτη σε επίδραση ελεύθερων ριζών και συμβάλλει στη βλάβη της μιτοχονδριακής λειτουργίας και ακεραιότητας (Chang *et al*, 2005). Ακόμα, τα ιόντα ψευδαργύρου (Zn) φαίνεται να συμμετέχουν στην πρόοδο της ασθένειας αν και οι απόψεις είναι διφορούμενες. Έρευνες αναφέρουν ότι μικρομοριακή συγκέντρωση Zn στον εγκέφαλο αναστέλλει την τοξικότητα της Αβ αν και δεν είναι σαφής ο μηχανισμός που δρα (Bush, 2003) ενώ άλλες υποστηρίζουν ότι μεγάλες συγκεντρώσεις μπορεί να προκαλέσουν το θάνατο των νευρωνικών κυττάρων είτε ανεξάρτητα ή συνεργιστικά με την Αβ (Cuaajungco & Faget, 2003).

Για τη θεραπεία της νόσου Alzheimer αν και δεν υπάρχει μέχρι στιγμής κάποιο φάρμακο που να προστατεύει πλήρως τους νευρώνες ωστόσο δίνονται συμπτωματικές αγωγές όπως οι αναστολείς της χολινεστεράσης/

ακετυλοχολινεστεράσης οι οποίοι εμπλέκονται στην ενίσχυση της χολινεργικής νευροδιαβίβασης και αναστέλλουν την αποικοδόμηση της ακετυλοχολίνης εντός των συνάψεων. Άλλοι θεραπευτικοί παράγοντες περιλαμβάνουν νευροτροφίνες, αντιοξειδωτικά, στατίνες, τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ) κ.α. (Feng & Wuang, 2012).



Σχήμα 19 Πορεία αντιδράσεων απελευθέρωσης ριζών οξυγόνου από την Αβ.

Όσον αφορά τη θεραπεία με χορήγηση αντιοξειδωτικών ουσιών μέσω της διατροφής οι έρευνες και μελέτες έχουν διφορούμενα αποτελέσματα για την υγεία του ανθρώπου. Μέχρι σήμερα μεταξύ άλλων έχουν μελετηθεί η α-τοκοφερόλη, η βιταμίνη C, το λιποϊκό οξύ και η καφεΐνη. Η περισσότερο μελετημένη και με τα σημαντικότερα αποτελέσματα είναι η α-τοκοφερόλη η οποία σε μελέτη με ασθενείς με ΝΑ μείωσε τη βλάβη των νευρώνων και έδειξε καθυστέρηση στην πρόοδο της ασθένειας (Sano *et al*, 1997). Επίσης, ασθενείς που δεν λάμβαναν αγωγή ή λάμβαναν μόνο αναστολέα της χολινεστεράσης και συμπλήρωμα βιταμίνης E παρουσίασαν μεγαλύτερη διάρκεια ζωής (Pavlik *et al*, 2009).

Μελέτες σε επίμυες με μοντέλο της νόσου Alzheimer έδειξαν ότι χορήγηση α-τοκοφερόλης εξασθενεί τις επιδράσεις της τοξικής Αβ και βελτιώνει τη γνωσιακή απόδοση (Montiel *et al*, 2006), καταστέλλει την λιπιδική οξείδωση, μειώνει τα επίπεδα της Αβ και την εναπόθεσή της στις γηραιές πλάκες (Sung *et al*, 2004) και μειώνει τα επίπεδα καρβονυλικών ενώσεων και της 8-OH-G (Nakashima *et al*, 2004). Παρ'όλα αυτά, η μελέτη της ομάδας του Lloret (2009) έδειξε ότι μόνο στους μισούς ασθενείς με ΝΑ η βιταμίνη E μείωσε τους δείκτες οξειδωτικού στρες στο πλάσμα ενώ ο συνδυασμός λήψης καροτενίου, βιταμίνης C και E δεν χαμήλωσε το κίνδυνο εμφάνισης ΝΑ (Kamat *et al*, 2008).

Το λιποϊκό οξύ συμβάλλει κυρίως στην προστασία των μιτοχονδρίων καθώς από μελέτη σε επίμυες με χρόνια χορήγησή του παρατηρήθηκε μείωση των δεικτών της λιπιδικής υπεροξειδωσης αλλά όχι των επιπέδων της Αβ στον εγκέφαλο (Quinn *et al*, 2007). Η καφεΐνη εκτός από την γνωστή διεγερτική δράση της εμφάνισε σε λαγούς με ΝΑ, μειωμένη παραγωγή και συσσώρευση της Αβ και εξασθένησε τη δράση των ROS (Prasanthi *et al*, 2010).

Η σχέση μεταξύ πρόσληψης αντιοξειδωτικών ουσιών και διαφοροποίησης στην πορεία της νόσου του Alzheimer χρειάζεται να διερευνηθεί περαιτέρω καθώς ναι μεν τα πειράματα σε μικρά ζώα είναι πολλά υποσχόμενα, ωστόσο δεν υπάρχουν αρκετά

στοιχεία από κλινικές μελέτες για να διαλευκανθεί το κατά πόσο η χορήγηση αντιοξειδωτικών μειώνει ή προλαμβάνει τη νόσο αυτή.

Νόσος του Parkinson (NP)

Η νόσος του Parkinson (NP) εκδηλώνεται στην περιοχή του μεσεγκέφαλου όπου παρατηρείται μια επιλεκτική απώλεια νευρώνων της μελαϊνός ουσίας (Sayre *et al*, 2001). Παρά την μεγάλη πρόοδο που έχει γίνει στην εύρεση της παθογένεσης της νόσου αυτής οι ακριβείς λεπτομέρειες του εκφυλισμού παραμένουν άγνωστες. Ωστόσο, πληθώρα ερευνών τόσο μεταθανάτιων όσο και σε κύτταρα της μελαϊνός ουσίας υποστηρίζουν το γεγονός ότι το οξειδωτικό στρες στη συγκεκριμένη περιοχή του εγκεφάλου παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση και στον καταρράκτη αντιδράσεων και γεγονότων που ακολουθεί η νόσος του Parkinson (Olanow & Tatton, 1999, Jankovic & Tolosa, 1998).

Σε ασθενείς με νόσο Parkinson έχει παρατηρηθεί υψηλή παραγωγή ελεύθερων ριζών αλλά χωρίς εμφανή εξήγηση μέχρι σήμερα (Korppula *et al*, 2012). Ο πιο σημαντικός μηχανισμός παραγωγής ROS είναι η υψηλή συγκέντρωση ιόντων σιδήρου τα οποία δρουν συνεργιστικά στην οξείδωση της ντοπαμίνης σε 6-υδρόξυ-ντοπαμίνη ή κινόνη της ντοπαμίνης από την οξειδάση-β-μονοαμίνη προκαλώντας την απελευθέρωση υδροξυλικών ριζών και υπεροξειδίου του υδρογόνου (Halliwell, 2006). Άλλοι σημαντικοί παράγοντες υπεύθυνοι για την απελευθέρωση ριζών είναι μιτοχονδριακές ανωμαλίες (Beal, 2004, Schapira, 2008), η έκφραση του γονιδίου άλφα-συνουκλείνη (SNCA, Trojanowski & Lee, 2003), μειωμένα επίπεδα ενδογενών αντιοξειδωτικών θρεπτικών συστατικών (γλουταθειόνη και ασκορβικό οξύ), και αντιοξειδωτικών ενζύμων (καταλάση και GSH υπεροξειδάσης, Korppula *et al*, 2012).

Όπως και για τη νόσο του Alzheimer έτσι και για τη νόσο του Parkinson η θεραπεία είναι συμπτωματική και χρησιμοποιείται κυρίως η L-dopa, πρόδρομος ένωση της ντοπαμίνης η οποία όμως εμφανίζει παρενέργειες καθώς μεταβολίζεται προς ντοπαμίνη και σε άλλα σημεία του σώματος πέρα από τη μέλαινα ουσία (Chao *et al*, 2012). Για το λόγο αυτό, μαζί με την L-dopa χορηγούνται και καρβιντόπα ή βενσεραζίδη, αναστολείς της ντοπα-αποκαρβοξυλάσης (Fahn, 2010). Όμως, και αυτή η μέθοδος παρουσιάζει περιορισμούς οπότε δοκιμάζονται νέοι τρόποι διανομής του φαρμάκου με ενδοφλέβια έγχυση ή διαδερμικό σύστημα παροχής (Schapira, 2009).

Ως εκ τούτου, οι αντιοξειδωτικές ουσίες θα μπορούσαν να αποτελούν μια πολύ σημαντική θεραπευτική βοήθεια στην ίαση της νόσου του Parkinson. Ένα από τα πιο μελετημένα αντιοξειδωτικά είναι το συνένζυμο Q το οποίο έχει βρεθεί να μειώνεται δραματικά και ταχύτατα σε πθήκους με NP αυξάνοντας έτσι τα επίπεδα ελεύθερων ριζών (Battino *et al*, 1996). Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι το συνένζυμο Q παρουσιάζει νευροπροστατευτικές ιδιότητες σε διάφορα μοντέλα νευροεκφυλιστικών παθήσεων (Beal, 2004, Mancuso *et al*, 2010). Πιο συγκεκριμένα μελέτες σε αρουραίους έδειξαν ότι πρόσληψη συνενζύμου μείωσε την νευροεκφύλιση σε

μεσεγκεφαλικούς νευρώνες (Moon *et al*, 2005) ενώ ήταν νευροπροστατευτικό για τους ντοπαμινεργικούς νευρώνες όταν προκλήθηκε απόπτωση με σίδηρο (Ono *et al*, 2005). Ακόμα, προεπεξεργασία των νευρωνικών κυττάρων με Q₁₀ διατήρησε την μιτοχονδριακή μεμβράνη κατά τη διάρκεια οξειδωτικού στρες και μείωσε την μιτοχονδριακή παραγωγή των ROS (Sumayajulu *et al*, 2005).

Πρόσφατα μελετήθηκαν τα θεραπευτικά οφέλη του συνενζύμου σε ποντίκια με προκληθέντα Παρκινσονισμό και έδειξαν μειωμένη οξείδωση της ντοπαμίνης και διατήρηση των ντοπαμινεργικών νευρώνων (Cleren *et al*, 2008). Ήδη πραγματοποιούνται κλινικές δοκιμές για την χορήγηση του συνενζύμου σε ασθενείς ιδιαίτερα αφού οι παρενέργειες είναι μηδαμινές (Shults *et al*, 2002).

Ο συνδυασμός συνενζύμου Q₁₀ και κρεατίνης, μιας νιτρικής ένωσης που παρέχει ενέργεια σε μύες και νευρικά κύτταρα, έχει μελετηθεί για την θεραπεία της NP σε ποντικούς (Yang *et al*, 2009). Σε αυτήν τη μελέτη οι συγγραφείς ανακαλύπτουν ότι χορήγηση μίγματος συνενζύμου και κρεατίνης σε ποντίκια πριν την πρόκληση της ασθένειας έχει νευροπροστατευτικά αποτελέσματα ενάντια στην καταστροφή της ντοπαμίνης ενώ μειώνεται κατά πολύ η λιπιδική υπεροξείδωση.

Η κερκετίνη, γνωστό φλαβονοειδές, μελετήθηκε πρόσφατα σε ένα μοντέλο ψαριού στο οποίο χορηγήθηκε 6-υδρόξυ-ντοπαμίνη για να προκληθεί το οξειδωτικό στρες. Η κερκετίνη έδειξε να προλαμβάνει την επικείμενη απόπτωση των κυττάρων ενώ όταν χορηγούταν η κερκετίνη πριν το στρες τότε η νευρωνική απώλεια εξασθενούσε (Zhang *et al*, 2012). Σε παρόμοια πειράματα, ο Spiraksa και οι συνεργάτες του (2012) παρατήρησαν ότι η κερκετίνη βελτίωσε τη χωρική μνήμη και τη γνωσιακή δυσλειτουργία των αρουραίων και εξασθένησε τον νευροεκφυλισμό σε όλες τις περιοχές του ιππόκαμπου.

Άλλα πειράματα σε φαινολικές ενώσεις περιλαμβάνουν αυτά για το στυλβένιο ρεσβερατρόλη το οποίο μελετήθηκε ως προς την νευροπροστατευτική του ικανότητα. Μαζί με λιποσώματα ρεσβερατρόλης χορηγήθηκε σε αρουραίους που είχαν υποστεί NP μέσω της 6-υδρόξυ-ντοπαμίνης και βρέθηκε ότι τα επίπεδα των ROS μειώθηκαν δραματικά και η αντιοξειδωτική ικανότητα των μελαινών κυττάρων βελτιώθηκε σημαντικά (Wang *et al*, 2011).

Πολύ μελετημένες αντιοξειδωτικές ενώσεις για τη θεραπεία της νόσου είναι η α-τοκοφερόλη και το ασκορβικό οξύ για τις οποίες έχουν γίνει πολλές μελέτες και πειράματα, είτε μεμονωμένα η κάθε μία ή συνδυασμός τους. Αρχική μελέτη με ασθενείς οι οποίοι λάμβαναν τον συνδυασμό των δύο βιταμινών έδειξε ότι υπήρχε μια καθυστέρηση 2,5 – 3 χρόνια για να χρειαστεί να λάβουν την L-dopa σε σύγκριση με αυτούς που δεν έπαιρναν καθόλου βιταμίνες (Fahn *et al*, 1991). Από την άλλη πλευρά, κλινικές μελέτες με ασθενείς που λάμβαναν μόνο βιταμίνη E (α-τοκοφερόλη) έδειξαν ότι δεν υπήρχε αξιοσημείωτη μείωση του χρόνου που έπρεπε οι ασθενείς να

λάβουν το φάρμακο (Farriss & Zhang, 2003). Αυτό υποδεικνύει μια συνεργιστική δράση των δύο βιταμινών αλλά και τα αποτελέσματα φαίνεται να είναι δοσοεξαρτώμενα. Πρόσφατα πραγματοποιήθηκε μελέτη σε γενετικά μεταλλαγμένο είδος μύγας *Drosophila* η οποία παρουσιάζει παρόμοιο οξειδωτικό στρες με αυτό της νόσου Parkinson και άρα αυξημένη παραγωγή ROS, οξειδωτική βλάβη πρωτεϊνών και μειωμένη δράση των αντιοξειδωτικών ενζύμων. Με λήψη μέσω της τροφής α-τοκοφερόλης και ασκορβικού οξέος μειώθηκαν τα επίπεδα του υπεροξειδίου του υδρογόνου και αυξήθηκε η δραστηριότητα της SOD (Casami *et al*, 2013).

Συμπερασματικά μπορούμε να πούμε ότι έχει αποδειχθεί ότι η λήψη αντιοξειδωτικών μπορεί να συνεισφέρει στη θεραπεία της νόσου του Parkinson αλλά και στην πρόληψή του ή στην επιβράδυνση της προόδου της ασθένειας. Παρ'όλα αυτά, χρειάζεται ακόμα να γίνουν έρευνες και κλινικές μελέτες ώστε να βρεθεί ποιος συνδυασμός είναι ο αποδοτικότερος και σε ποια δόση έχει τα καλύτερα αποτελέσματα.

2.3 Αντιοξειδωτικά και αυτοάνοσα νοσήματα

Τα αυτοάνοσα νοσήματα ορίζονται ως παθήσεις οι οποίες εμφανίζονται όταν το ανοσοποιητικό σύστημα του ανθρώπου λανθασμένα επιτίθεται και καταστρέφει υγιή σκύτταρα ή ιστούς του σώματος. Κανονικά τα λευκά αιμοσφαίρια του ανοσοποιητικού συστήματος βοηθούν στην προστασία του οργανισμού από παθογόνους οργανισμούς όπως τα βακτήρια και οι ιοί οι οποίοι έχουν στην επιφάνειά τους ουσίες που ονομάζονται αντιγόνα όπως και οι τοξίνες, τα καρκινικά κύτταρα, το αίμα ή οι ιστοί από ένα άλλο άτομο ή είδος. Το ανοσοποιητικό σύστημα παράγει αντισώματα τα οποία προσδένονται στα αντιγόνα με σκοπό την καταστροφή των επιβλαβών αυτών ουσιών ή μικροοργανισμών. Σε ασθενείς με μια αυτοάνοση διαταραχή, το ανοσοποιητικό σύστημα δεν μπορεί να καταλάβει τη διαφορά μεταξύ των υγιών ιστών του σώματος και των αντιγόνων από ξένους ιστούς. Το αποτέλεσμα είναι μια ανοσοαπόκριση που καταστρέφει φυσιολογικούς ιστούς του σώματος (Dugdale, 2011).

Στην παθογένεση των αυτοάνοσων νοσημάτων έχει μελετηθεί εκτενώς η συμμετοχή της οξειδοαναγωγικής κατάστασης του κυττάρου και η παρουσία ελεύθερων ριζών οξυγόνου (Baskol *et al*, 2007, Alves *et al*, 2008, Ghafourifar *et al*, 2008, Suys *et al*, 2007). Οι ROS συμμετέχουν στη φυσιολογική ενεργοποίηση των παραγόντων μεταγραφής για τις προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες, για τα μόρια πρόσφυσης αλλά και για τα γονίδια που συνδέονται με τον κυτταρικό κύκλο ενώ η παραγωγή τους επηρεάζει την επαγωγή της απόπτωσης (Orrenius, 2007). Αυτές οι λειτουργίες δείχνουν ότι οι ROS μπορούν να παίζουν ουσιαστικό ρόλο τόσο στην παθογένεση των αυτοάνοσων νοσημάτων όσο και στη σοβαρότητά τους.

Από την άλλη πλευρά, αυτοάνοση αντίδραση μπορεί να συμβάλει στην οξειδοαναγωγική κατάσταση των ιστών αν, για παράδειγμα, το ανοσοποιητικό εκκρίνει αντισώματα έναντι των αντιοξειδωτικών ενζύμων. Αυτό μπορεί έπειτα να προκαλέσει οξειδωτικό στρες και άλλες παθολογικές καταστάσεις (Ortona *et al*, 2008). Κάποιες από τις σημαντικότερες και πλέον διαδεδομένες ασθένειες στον ελληνικό πληθυσμό είναι η ρευματοειδής αρθρίτιδα και ο διαβήτης τύπου 1.

Ρευματοειδής Αρθρίτιδα (PA)

Η ρευματοειδής αρθρίτιδα είναι μια χρόνια ασθένεια η οποία επηρεάζει κυρίως το γυναικείο πληθυσμό προκαλώντας φλεγμονή στις αρθρώσεις με υψηλή νοσηρότητα και θνησιμότητα (Scott *et al*, 2010). Ασθενείς με PA φαίνεται να υπόκεινται σε οξειδωτικό στρες αφού οι δείκτες εκτίμησης στο αίμα όσον αφορά την λιπιδική υπεροξείδωση και την οξείδωση του DNA είναι ανεβασμένοι ενώ η αντιοξειδωτική ικανότητα των ενζύμων και των κυττάρων μειωμένη σε σύγκριση με τους υγιείς ανθρώπους (Sung & Bae, 2013). Οι αιτίες του οξειδωτικού στρες στους ασθενείς αυτούς είναι ακόμη άγνωστες καθώς υπάρχει δυσκολία στην πραγματοποίηση μεγάλης, εκτενούς μελέτης και σύγκρισης ασθενών με PA και υγιών ατόμων.

Στην ρευματοειδή αρθρίτιδα λαμβάνουν χώρα μια σειρά αντιδράσεων του ανοσοποιητικού συστήματος με αποτέλεσμα τη δημιουργία φλεγμονής. Η φλεγμονή έχει την ιδιότητα να παράγει ελεύθερες ρίζες και αυτές συμμετέχουν επίσης στη δημιουργία φλεγμονής οπότε δημιουργείται ένας φάβλος κύκλος μεταξύ ROS και φλεγμονής. Από εκεί και πέρα παίζει ρόλο η πρόσληψη βιταμινών και αντιοξειδωτικών από το κάθε άτομο μέσω της διατροφής του (Sung & Bae, 2013). Για παράδειγμα, έρευνες έχουν δείξει ότι ασθενείς με PA είχαν σημαντικά φτωχότερη δίαιτα σε βιταμίνη A και β-καροτένιο σε σχέση με υγιείς (Bae *et al*, 2003). Ενώ, πρωτύτη μελέτη έβγαλε το συμπέρασμα ότι πολύ μικρό ποσοστό των ασθενών (<30%) λάμβανε την καθορισμένη ημερήσια πρόσληψη σε βιταμίνη E και σεληνίο (Stone *et al*, 1997).

Η πρόσληψη σεληνίου και βιταμίνης E (α-τοκοφερόλης) έχει μελετηθεί όσον αφορά την πρόοδο της ρευματοειδούς αρθρίτιδας αλλά τα αποτελέσματα δεν ήταν ικανοποιητικά. Σε ασθενείς με PA πρόσληψη σεληνίου 200μg ανά ημέρα δεν είχε ιδιαίτερες διαφορές στα συμπτώματα συγκριτικά με αυτούς που λάμβαναν placebo (Peretz *et al*, 2001). Το ίδιο έγινε και στη μελέτη όπου χρησιμοποιήθηκαν 1200mg α-τοκοφερόλης (Edmonds *et al*, 1997). Όμως, πρόσφατα σε μελέτη όπου ως συμπληρώματα διατροφής χρησιμοποιήθηκαν συζευγμένο λινολενικό οξύ και βιταμίνη E τα συμπτώματα των ασθενών βελτιώθηκαν πολύ σε σύγκριση με αυτών που έπαιρναν placebo (Aryaeian *et al*, 2009).

Αντίστοιχες μελέτες συνέκριναν την επιρροή της μεσογειακής διατροφής με αυτή της δυτικής. Τα αποτελέσματα ήταν πολύ θετικά αφού υπήρξε μείωση στο πρήξιμο των

αρθρώσεων και γενικότερα καλύτερη υγεία στους ασθενείς που τρέφονταν βάσει της μεσογειακής διατροφής (Hagfors *et al*, 2003).

Αντίθετα με τις μελέτες σε ανθρώπους, πειράματα σε ποντίκια με χορήγηση αντιοξειδωτικών έχουν παρουσιάσει εξαιρετικά αποτελέσματα με μείωση των δεικτών που σχετίζονται με τη φλεγμονή. Για παράδειγμα, η βιταμίνη E μαζί με ω3 λιπαρά οξέα μείωσε δραματικά τα επίπεδα των διάφορων δεικτών φλεγμονής (Vekatramman & Chu, 1999) ενώ πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι φτωχή σε βιταμίνη E διατροφή αρουραίων επιτάχυνε τη δημιουργία φλεγμονής (Choi *et al*, 2009). Τέλος, μελετήθηκαν διάφορα φλαβονοειδή (ρουτίνη, κερκετίνη, μορίνη, εσπεριτίνη) σε διαφορετικά μοντέλα φλεγμονής και η ρουτίνη και η κερκετίνη αποδείχθηκαν οι πιο αποτελεσματικές ενώσεις (Rotelli *et al*, 2003).

Διαβήτης τύπου 1

Ο ινσουλινοεξαρτώμενος σακχαρώδης διαβήτης ή αλλιώς διαβήτης τύπου 1 είναι μια αυτοάνοση ασθένεια που χαρακτηρίζεται από απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος ενάντια β κύτταρα του παγκρέατος τα οποία παράγουν την ινσουλίνη (Ho, Watson & Lee, 2013). Το ανοσοποιητικό σύστημα ξαφνικά και για άγνωστο λόγο παράγει μακροφάγα και κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα τα οποία επιτίθενται στα β κύτταρα των σωματιδίων του Langerhans στο πάγκρεας και παράγουν φλεγμονή μέχρι την οριστική καταστροφή τους. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα ανεπάρκεια σε ινσουλίνη, απορρύθμιση του σακχαχάρου στο αίμα, συνεχή υπεργλυκαιμία και άλλες επιπλοκές (Li *et al*, 2009). Οι πιο σύνηθεις θεραπευτικές αγωγές για ασθενείς με διαβήτη είναι η λήψη ινσουλίνης με ένεση, η μεταμόσχευση παγκρέατος ή η ορμονοθεραπεία (Li *et al*, 2009).

Παρόλες τις προσπάθειες και την πρόοδο που έχει γίνει για τον προσδιορισμό της αιτιολογίας του διαβήτη, ακόμα αυτή είναι υπό συζήτηση. Οι συνδυασμένες επιρροές της γενετικής προδιάθεσης, των περιβαλλοντικών παραγόντων και της διατροφικής ανεπάρκειας συμβάλλουν στην ανάπτυξη της ασθένειας αλλά έχει γίνει επίσης αποδεκτό ότι η ύπαρξη οξειδωτικού στρες παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της ασθένειας και ειδικότερα στην καταστροφή των β κυττάρων (Nerup *et al*, 1988, Rabinovitch, 1998, West, 2000). Ένας διαδεδομένος παράγοντας παραγωγής ROS είναι η επίθεση από ιό. Το ανοσοποιητικό σύστημα του ανθρώπου προσπαθεί να αμυνθεί της προσβολής από ιό παράγοντας ROS από ενεργά φαγοκύτταρα οι οποίες προκαλούν να μεν την καταστροφή των κυττάρων του ιού αλλά και ενεργοποιούν μηχανισμούς όπως η φλεγμονή (Peterhans *et al*, 1987). Κανονικά, αυτή η παραγωγή των ROS ρυθμίζεται από τους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς των διάφορων κυττάρων οπότε δεν υφίσταται οξειδωτικό στρες. Όμως, ειδικά τα β κύτταρα του παγκρέατος είναι ευαίσθητα στην οξειδωτική βλάβη καθώς έχουν πολύ μικρότερη συγκέντρωση στα αντιοξειδωτικά ένζυμα της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης ή της δισμουτάσης του υπεροξειδίου (Tiedge *et al*, 1997). Οπότε σε άτομα με γενετική

προδιάθεση, η προσβολή από κάποιον ιό μπορεί να είναι και η αρχή μιας αυτοάνοσης απόκρισης έναντι του παγκρέατος.

Μέσα στα χρόνια έχουν μελετηθεί πολλοί συνδυασμοί αντιοξειδωτικών ως προς την θεραπευτική τους ικανότητα σε διαβητικούς αρουραίους ή σε ασθενείς με διαβήτη. Παρόμοια με άλλες ασθένειες έτσι και σε αυτή τα αποτελέσματα από τα πειράματα σε ζώα είναι πάντα θετικότερα από αυτά των κλινικών μελετών σε ανθρώπους. Για παράδειγμα, η βιταμίνη Ε έχει αναφερθεί ότι ενδυναμώνει τον αντιοξειδωτικό αμυντικό μηχανισμό και μειώνει τους δείκτες οξειδωτικού στρες όπως τα καρβονυλικά παράγωγα σε εγκεφάλους αρουραίων (Hong *et al*, 2004) αλλά σε κλινικές μελέτες δεν υπάρχει ουσιαστική διαφορά στους παράγοντες κινδύνου (καρδιαγγειακά νοσήματα, εγκεφαλικό) μεταξύ αυτών που λάμβαναν συμπλήρωμα βιταμίνης Ε με αυτούς που δεν λάμβαναν (GISSI, 1999).

Ο Ozkan και οι συνεργάτες του (2005) ερεύνησαν τις προστατευτικές ιδιότητες συνδυασμού τριών αντιοξειδωτικών ουσιών, των βιταμινών Ε και C και του λιποϊκού οξέος σε διαβητικά ποντίκια. Τα αποτελέσματα ήταν η προστασία των λιπιδικών ενώσεων και η πρόληψη της δυσλειτουργίας των περιφερικών νεύρων και των αγγείων. Αντίστοιχη μελέτη σε ανθρώπους με το συνδυασμό βιταμινών Α και C, φολικού οξέος, νιασίνης, β-καροτενίου, σεληνίου και ψευδαργύρου παρουσίασε πολύ χαμηλότερο ρίσκο καρδιαγγειακών νοσημάτων και θνησιμότητας στους ασθενείς που λάμβαναν αυτό το συμπλήρωμα διατροφής (Kritharides *et al*, 2002). Αντίθετα, άλλη μελέτη όπου το συμπλήρωμα περιείχε μόνο βιταμίνες Ε και C και β-καροτένιο, οι ασθενείς που το λάμβαναν δεν είχαν ουσιαστική διαφορά στην εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων από αυτούς που έπαιρναν το placebo (Deepak *et al*, 2003).

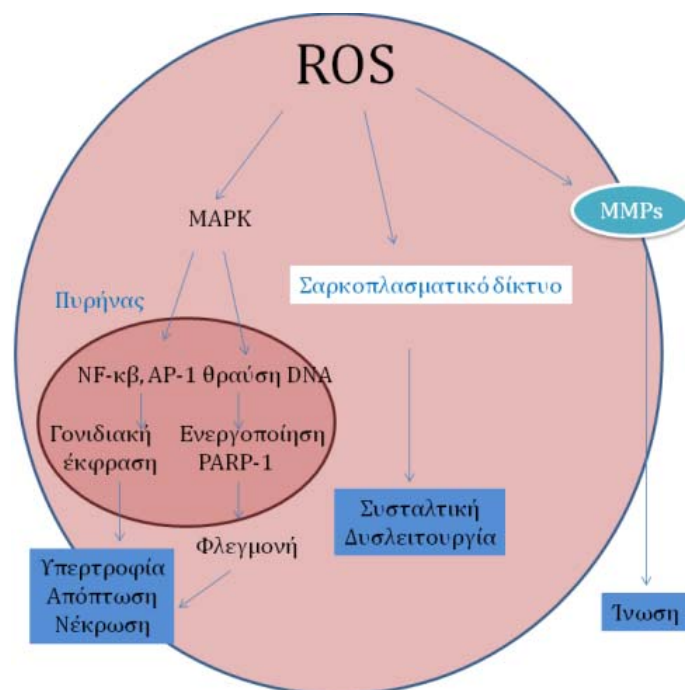
Οι ταννίνες έχουν προταθεί ότι μπορούν να μειώσουν τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα μέσω καθυστέρησης της απορρόφησής της από το έντερο και ότι μπορούν να καθυστερήσουν την έναρξη του σακχαρώδους διαβήτη ενισχύοντας το αντιοξειδωτικό περιβάλλον των β κυττάρων (Serrano *et al*, 2009). Η ισοφλαβόνη γενιστεΐνη σε διαβητικά ζώα βρέθηκε ότι μειώνει τη χρόνια φλεγμονώδη αντίδραση μειώνοντας τα επίπεδα φλεγμονωδών παραγόντων (Valsecchi *et al*, 2011). Σε διαβητικά ποντίκια η λήψη κερκετίνης και ναριγκενίνης μείωσε το οξειδωτικό στρες και την οξειδωτική βλάβη του DNA και αύξησε το χρόνο ζωής τους (Orsolic *et al*, 2011). Επίσης, χορήγηση ναριγκενίνης και βιταμίνης C σε διαβητικούς αρουραίους μείωσε τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα και βελτίωσε την αντιοξειδωτική τους άμυνα (Punithavathi *et al*, 2008) ενώ λήψη βιταμίνης C από διαβητικούς ασθενείς έφερε τα επίπεδα σορβιτόλης στο αίμα σε φυσιολογικά και ενίσχυσε τα τριχοειδή αγγεία (Cunningham *et al*, 1994).

Συμπερασματικά, μπορούμε να πούμε ότι η χορήγηση αντιοξειδωτικών ουσιών σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 1 μπορεί να είναι βοηθητική όταν είναι συνδυαστική,

δηλαδή όταν το συμπλήρωμα περιέχει περισσότερα από τρία διαφορετικά είδη αντιοξειδωτικών. Παρ'όλα αυτά, οι έρευνες είναι ακόμα σε αρχικό στάδιο και χρειάζεται να γίνουν περισσότερες ώστε να ανακαλυφθεί ποιος συνδυασμός και σε ποιες ποσότητες είναι ο αποτελεσματικότερος και έχει την πιο προστατευτική δράση για τον ασθενή.

2.4 Αντιοξειδωτικά και παθήσεις της καρδιάς

Διάφορες παθήσεις της καρδιάς έχουν συνδεθεί με την ύπαρξη οξειδωτικού στρες χωρίς να έχουν βρεθεί αδιάσειστες αποδείξεις. Μερικές από αυτές είναι η αθηροσκλήρωση, η ισχαιμική καρδιοπάθεια, οι μυοκαρδιοπάθειες, η καρδιακή υπερτροφία και η συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια (Kukreja & Hess, 1992). Κυριότερες πηγές ελεύθερων ριζών στις καρδιακές παθήσεις είναι βλάβες ή ανωμαλίες: α) στο σύστημα οξυρεδοукτασών της ξανθίνης, β) στο σύστημα οξειδασών NADPH, και γ) στα μιτοχονδριακά κυτοχρώματα (Berry & Hare, 2004, Hare & Stamler, 2005). Οι ROS συμμετέχουν άμεσα στην κυτταρική δομή και λειτουργία της καρδιάς και ενεργοποιούν σηματοδοτικά μόρια που επιδρούν στην μυοκαρδιακή αναμόρφωση και ανεπάρκεια (Tsutsui *et al*, 2011). Στην εικόνα 6 φαίνονται τα διάφορα μονοπάτια που συμμετέχουν οι ROS προκαλώντας την υπερτροφία, απόπτωση ή νέκρωση του κυττάρου, τη συσταλτική δυσλειτουργία ή την ίνωση του.



Εικόνα 6 Μονοπάτια που ενεργοποιούν οι ROS και οδηγούν το κύτταρο σε υπερτροφία, απόπτωση ή ίνωση. MAPK: ενεργοποιούμενες από μιτογόνο πρωτεϊνικές κινάσες, AP-1: ενεργοποιητής πρωτεΐνης 1, PARP-1: πολυμεράση 1 ADP-ριβόζης, MMPs: μεταλλοπρωτεΐνες μήτρας.

Όσον αφορά τη δράση των αντιοξειδωτικών στην προστασία ή θεραπεία ασθενών με καρδιοπάθειες υπάρχει πληθώρα ερευνών οι οποίες είναι πολλά υποσχόμενες αλλά και πολλές οι οποίες αναιρούν τις ελπίδες που έθεσαν οι άλλες. Για παράδειγμα, σε ασθενείς με προχωρημένη καρδιαγγειακή νόσο οι οποίοι υπόκεινταν σε αιμοκάθαρση συμπλήρωμα βιταμίνης E μείωσε την εμφάνιση των τελικών σημείων της νόσου όπως τα εμφράγματα του μυοκαρδίου και τα ισχαιμικά επεισόδια (Boaz *et al*, 2000). Ενώ, μια μελέτη στην Ινδία υποστηρίζει ότι η συνδυαστική θεραπεία με τις αντιοξειδωτικές βιταμίνες A, E, C και β-καροτένιο σε ασθενείς με πρόσφατο οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου μπορεί να είναι προστατευτική ενάντια στην καρδιακή νέκρωση και το οξειδωτικό στρες (Singh *et al*, 1996). Επίσης, ο Salonen με τους συνεργάτες του (2000) αναφέρουν ότι η συνδυασμένη χορήγηση συμπληρωμάτων με βιταμίνης E και βραδείας απελευθέρωσης βιταμίνης C παρουσιάζει στοιχεία επιβράδυνσης της αθηροσκλήρωσης στους άνδρες.

Από την άλλη πλευρά σε μια πολύ μεγάλη μελέτη από το ιταλικό GISSI η λήψη βιταμίνης E όχι μόνο δεν είχε θετικά αποτελέσματα αλλά αύξησε το ποσοστό των ασθενών με καρδιακή ανεπάρκεια κατά 50% (GISSI, 2006). Ενώ, σε μεγάλης διάρκειας λήψη συμπληρωμάτων είτε βιταμίνης C ή E ο κίνδυνος για καρδιαγγειακή νόσο δεν μειώνεται (Sesso *et al*, 2008). Σε γενικά πλαίσια, διαπιστώνεται ότι τα συμπληρώματα διατροφής δεν βελτιώνουν καθόλου ή σε ικανοποιητικό βαθμό την κατάσταση της υγείας ατόμων με καρδιακή νόσο αλλά η πρόσληψη αντιοξειδωτικών ουσιών μέσω της διατροφής φαίνεται να παρέχει προστασία ενάντια στην ασθένεια (Wang *et al*, 2013).

Για παράδειγμα, σε μια εκτενή μελέτη που διήρκησε για οκτώ χρόνια και περιελάμβανε υγιή άτομα φάνηκε ότι τα άτομα τα οποία λάμβαναν την μεγαλύτερη ποσότητα βιταμίνης E μέσω της διατροφής τους είχαν 34% χαμηλότερες πιθανότητες να εμφανίσουν καρδιαγγειακές νόσους (Stampfer *et al*, 1993). Παρομοίως, άτομα που είχαν πλούσια σε βιταμίνη C διατροφή ήταν πολύ λιγότερο πιθανό να παρουσιάσουν στεφανιαία νόσο σε σύγκριση με τα άτομα που είχαν φτωχότερη (Knekt *et al*, 1994). Επίσης, όσον αφορά την λήψη καροτενίων μέσω της διατροφής, άντρες – καπνιστές οι οποίοι λάμβαναν μεγάλη ποσότητα καροτενίων με τη διατροφή τους είχαν 70% λιγότερες πιθανότητες να ασθενήσουν από στεφανιαία νόσο από τους υπόλοιπους (Rimm *et al*, 1993). Αντιθέτως, όσον αφορά τη διατροφική πρόσληψη φλαβονοειδών οι διάφορες μελέτες, αν και λίγες έως τώρα, δεν έχουν δείξει να υπάρχει ουσιαστική σχέση μεταξύ της ποσότητας των φλαβονοειδών στη διατροφή και στην πρόληψη ή εμφάνιση καρδιακών παθήσεων. Όμως, χαμηλή προστασία έδειξαν οι ανθοκυανιδίνες τόσο σε καρδιαγγειακά νοσήματα (12%) όσο και στη στεφανιαία νόσο (9%) σε άτομα που λάμβαναν έστω και λίγο μέσω της τροφής τους από αυτούς που δεν λάμβαναν καθόλου (Mink *et al*, 2007).

Από την συγκεντρωτική αυτή μελέτη, φαίνεται ότι ναι μεν τα αντιοξειδωτικά παίζουν κάποιο ρόλο στη βελτίωση των καρδιακών νοσημάτων ή στη μείωση εμφάνισης των

τελικών σημείων ειδικά όταν λαμβάνονται μέσω της διατροφής και όχι τόσο ως συμπληρώματα. Αυτό μπορεί να οφείλεται στη φύση του ανθρώπινου οργανισμού ο οποίος ξέρει πώς να προφυλάσσεται και τι χρειάζεται. Παρ'όλα αυτά, είναι σκόπιμο να πραγματοποιηθούν κι άλλες έρευνες και κλινικές μελέτες ώστε να αποσαφηνιστεί η ακριβής ωφέλιμη ποσότητα και ποιότητα των αντιοξειδωτικών που μπορεί να βοηθήσουν στην υγεία των ασθενών με καρδιακές παθήσεις.

2.5 Αντιοξειδωτικά και καρκίνος

Ο καρκίνος είναι ένας όρος που χρησιμοποιείται για τις ασθένειες στις οποίες τα ανώμαλα κύτταρα διαιρούνται χωρίς έλεγχο και είναι σε θέση να εισβάλουν σε άλλους ιστούς. Τα καρκινικά κύτταρα μπορούν να εξαπλωθούν σε άλλα μέρη του σώματος μέσω του αίματος και του λεμφικού συστήματος (Νακοπούλου, 2010). Ο καρκίνος ξεκινάει συνήθως από βλάβη που υπόκειται το DNA και επηρεάζεται η φυσιολογική ανάπτυξη των κυττάρων. Δηλαδή, τα φυσιολογικά κύτταρα αναπτύσσονται και διαιρούνται όταν χρειάζεται το σώμα αλλά όταν αρρωσταίνουν ή γερνάνε προκαλείται ο κυτταρικός θάνατος. Ως καρκινικά κύτταρα ονομάζονται αυτά τα οποία δεν πεθαίνουν στην ώρα τους, αλλά αναπτύσσονται νέα κύτταρα εκεί που δεν χρειάζονται. Τα παραπανίσια κύτταρα σχηματίζουν σταδιακά έναν όγκο.

Όμως, δεν είναι όλοι οι όγκοι καρκινικοί. Υπάρχουν οι καλοήθεις όγκοι οι οποίοι όταν αφαιρεθούν δεν επανεμφανίζονται και τα κύτταρά τους δεν εξαπλώνονται στο υπόλοιπο σώμα. Οι κακοήθεις όγκοι είναι καρκινικοί και τα κύτταρά τους μπορούν να εισβάλουν σε διπλανά και να εξαπλωθούν στο υπόλοιπο σώμα ενώ αυτή η διαδικασία ονομάζεται μετάσταση. Δυστυχώς δεν υπάρχει μόνο ένα είδος καρκίνου αλλά πάνω από εκατό, οι οποίοι μπορούν να ομαδοποιηθούν σε ευρύτερες κατηγορίες που περιλαμβάνουν:

- ω Καρκίνωμα: καρκίνος που ξεκινά από το δέρμα ή σε ιστούς που βρίσκονται ή καλύπτουν τα εσωτερικά όργανα. Τύποι καρκινώματος: αδеноκαρκίνωμα, καρκίνωμα βασικών κυττάρων, καρκίνωμα πλακωδών κυττάρων και μεταβατικών.
- ω Σάρκωμα: καρκίνος που ξεκινά σε οστό, χόνδρο, λίπος, μύες, αιμοφόρα αγγεία, ή άλλα μέρη συνδετικού ιστού.
- ω Λευχαιμία: καρκίνος που ξεκινά στο μυελό των οστών και προκαλεί μεγάλους αριθμούς μη φυσιολογικών κυττάρων του αίματος παράγονται και εισέρχονται στο αίμα.
- ω Λέμφωμα και μυέλωμα: καρκίνοι που ξεκινούν στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος.
- ω Καρκίνοι κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ): καρκίνοι που αρχίζουν στους ιστούς του εγκεφάλου και του νωτιαίου μυελού.

Το οξειδωτικό στρες προκαλεί μια ανισορροπία στην οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου η οποία κυριαρχεί σε πολλά καρκινικά κύτταρα άρα ενδέχεται αυτή η ανισορροπία να συνδέεται με την ογκογένεση. Αυτό μπορεί να θεωρηθεί λογικό αφού η οξειδωτική βλάβη του DNA παράγει τροποποιημένα μόρια τα οποία μπορεί να ενεργοποιήσουν την μεταλλαξιογένεση, την καρκινογένεση ή τη γήρανση (Valko *et al*, 2007). Μέχρι σήμερα, έχουν βρεθεί πολλά τέτοια θραύσματα DNA σε όγκους αποδεικνύοντας ότι το οξειδωτικό στρες συμβάλλει στην αιτιολογία του καρκίνου. Οι ROS επιδρούν στο DNA οξειδώνοντας τις βάσεις του προς διάφορα προϊόντα, διασπώντας τους κλώνους ή με άμεση χημική τροποποίηση πάνω στο μόριο ενώ προϊόντα λιπιδικής υπεροξειδωσης προσδένονται στο DNA με αποτέλεσμα τη δημιουργία μεταλλαξιογόνων περιοχών (Halliwell, 1999).

Εκτός των ελεύθερων ριζών, εμπλέκονται και μεταλλικά ιόντα στην παθογένεση του καρκίνου, είτε επειδή παράγουν ROS είτε επειδή προσδένονται σε σημαντικές θειόλες για την επιβίωση του κυττάρου (Leonard *et al*, 2004, Roy & Saha, 2002, Valko *et al*, 2005). Για παράδειγμα, ο σίδηρος θεωρείται υπεύθυνος για τον καρκίνο του παχέος εντέρου (Valko *et al*, 2001) αλλά και για τον καρκίνο των πνευμόνων που προκλήθηκε από τον αμίαντο (Stayner *et al*, 1996). Για τον καρκίνο των πνευμόνων έχει κατηγορηθεί και το εξασθενές χρώμιο, το οποίο συνδέεται με τη μιτοχονδριακή/ λυσοσωμική τοξικότητα λόγω της παραγωγής ελευθέρων ριζών (Pourahmad & O'Brien, 2001). Από τα σημαντικότερα και πλέον καρκινογόνα είναι το αρσενικό και οι διάφορες ενώσεις του καθώς έχουν τη δυνατότητα να προσδένονται σε θειολικές ομάδες αναστέλλοντας με αυτόν τον τρόπο τη δράση πολλών ενζύμων, συμπεριλαμβανομένων και των αντιοξειδωτικών, όπως η αναγωγή της γλουταθειόνης (Roy & Saha, 2002).

Τις τελευταίες δεκαετίες έχει επικυρωθεί και ο ρόλος του καπνού ως ισχυρό καρκινογόνο αφού έχει αυξήσει τα ποσοστά οξειδωτικής βλάβης του DNA κατά 20-50% αποδεδειγμένα από μετρήσεις της συγκέντρωσης της 8-υδροξυδεοξυγουανοσίνης (8-OH-G), ενός διαδεδομένου οξειδωμένου θραύσματος του DNA, στα ούρα και στα λευκοκύτταρα (Loft & Poulsen, 1996). Καθώς ο καρκίνος είναι μια σοβαρή και ανίατη ασθένεια της εποχής μας γίνονται έρευνες για την θεραπεία του εξερευνώντας κάθε μηχανισμό που συμμετέχει σε αυτήν άρα και τον ρόλο των αντιοξειδωτικών. Η βιταμίνη E και η α-τοκοφερόλη έχουν μελετηθεί διεξοδικά σε πολλές μελέτες σχετικά με τη δράση τους στην εμφάνιση ή στη θεραπεία του καρκίνου και ουσιαστικά τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα καθώς άλλες βρίσκουν ότι μειώνεται το ποσοστό εμφάνισης καρκίνου, άλλες ότι δεν υπάρχει διαφορά μεταξύ των ατόμων που λάμβαναν συμπλήρωμα και των υπόλοιπων και άλλες δείχνουν ακόμη ότι αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης του καρκίνου (Halliwell, 1999, Bardia *et al*, 2008).

Για παράδειγμα, σε μελέτη για την εμφάνιση καρκίνου του προστάτη όπου δόθηκαν συμπληρώματα βιταμίνης E και μίγμα βιταμίνης E και σεληνίου, στην ομάδα που

έπαιρνε μόνο τη βιταμίνη αυξήθηκε το ποσοστό εμφάνισης καρκίνου αλλά όχι στην ομάδα που έπαιρνε το συνδυασμό E και σεληνίου. Αυτό δείχνει ότι η βιταμίνη E έχει ισχυρή προ-οξειδωτική ικανότητα αλλά μαζί με το σελήνιο δρα προστατευτικά (Klein *et al*, 2011). Από την άλλη, η βιταμίνη E έχει εμφανίσει και μείωση της εμφάνισης του καρκίνου του προστάτη σε άλλη μελέτη όπου χορηγούταν για μεγαλύτερο διάστημα και σε μεγαλύτερη ποσότητα υποδεικνύοντας ότι υπάρχει μια λεπτή γραμμή μεταξύ προ-οξειδωτικής και αντιοξειδωτικής δράσης της βιταμίνης E (Kirsch *et al*, 2006).

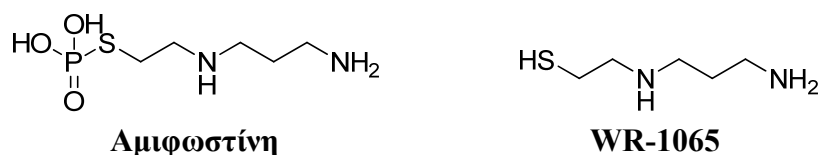
Η α-τοκοφερόλη έχει χρησιμοποιηθεί βοηθητικά σε ασθενείς που υπόκεινται σε ακτινοθεραπεία ως προς την έκκριση σάλιου και τη ξηροστομία. Τα αποτελέσματα ήταν θετικά καθώς οι ασθενείς παρουσίασαν καλύτερη ροή σάλιου, βελτιώνοντας τις παραμέτρους των σιελογόνων αδένων (Chitra *et al*, 2008). Η βιταμίνη C έχει επίσης μελετηθεί αρκετά μόνη της αλλά και σε συνδυασμό με άλλα αντιοξειδωτικά. Σε μια τυχαία επιλεγμένη κλινική μελέτη συμπλήρωμα βιταμίνης C χρησιμοποιήθηκε ταυτόχρονα με χημειοθεραπεία και τα αποτελέσματα έδειξαν μεγαλύτερη ανταπόκριση στους ασθενείς που τη λάμβαναν από εκείνους που δεν έπαιρναν καθόλου το συμπλήρωμα (Goel *et al*, 1999). Σε διαφορετική μελέτη όπου το συμπλήρωμα περιείχε βιταμίνες C, E και σελήνιο και οι ασθενείς υποβάλλονταν σε χημειοθεραπείες βρέθηκε μεγαλύτερη βελτίωση στην προστασία από την τοξικότητα σε αυτούς οι οποίοι είχαν υψηλά επίπεδα αντιοξειδωτικών στο αίμα τους από τους υπόλοιπους (Weijl *et al*, 2004). Συμπλήρωμα με τις βιταμίνες C, E και το β-καροτένιο χρησιμοποιήθηκε σε άλλη κλινική μελέτη όπου αν και στατιστικά δεν υπήρχε μεγάλη διαφορά, παρατηρήθηκε μια μικρή αύξηση της ανταπόκρισης στα φάρμακα και της ενδιάμεσης επιβίωσης (Pathak *et al*, 2005).

Το σελήνιο παρουσιάζει μια ενδιαφέρουσα εικόνα ως προς την αντικαρκινική του δράση. Γενικά, από διάφορες κλινικές μελέτες έχει βρεθεί να μειώνει την εμφάνιση του καρκίνου και μάλιστα περισσότερο στους άνδρες παρά στις γυναίκες σε αντίθεση με άλλα αντιοξειδωτικά τα οποία δεν παρουσιάζουν διαχωρισμό μεταξύ των δύο φύλων (Bardia *et al*, 2008). Επίσης, η λήψη συμπληρώματος σεληνίου έχει συνδεθεί και με τη μείωση θνησιμότητας από τον καρκίνο είτε μόνο του είτε σε συνδυασμό με άλλα αντιοξειδωτικά και βιταμίνες (Clark *et al*, 1997, Hercberg *et al*, 2004). Σε γενικά πλαίσια έχει μελετηθεί και η συχνότητα εμφάνισης καρκίνου ανάμεσα σε χορτοφάγους ανθρώπους (vegetarians) και παμφάγους παρουσιάζοντας σημαντικές διαφορές. Σε μεγάλες κλινικές μελέτες όπου συμμετέχουν πάνω από 20000 άτομα φαίνεται να υπάρχει σημαντική διαφορά στην εμφάνιση καρκίνου με τους χορτοφάγους να παρουσιάζουν καρκίνο με πολύ μικρότερη συχνότητα από ότι οι παμφάγοι (Key *et al*, 2009, Huang *et al*, 2012). Ειδικότερα, οι παμφάγοι υπερτερούν όσον αφορά την εμφάνιση καρκίνου του γαστρεντερικού σωλήνα (Tantamango – Bartley *et al*, 2013), του προστάτη, παχέος εντέρου και της ουροδόχου κύστεως (Fraser, 1999) ενώ δεν υπάρχει ουσιαστική διαφορά μεταξύ χορτοφάγων και παμφάγων στην εμφάνιση καρκίνου του μαστού (Dos Santos *et al*, 2002, Travis *et al*,

2008). Αυτό υποδεικνύει ότι υπάρχει μια άμεση σχέση της απορρόφησης των διατροφικών συστατικών μέσα από το γαστρεντερικό σύστημα και την προστασία ή μη του οργανισμού από τον καρκίνο.

Εκτός από την άμεση δράση των αντιοξειδωτικών ουσιών στη θεραπεία του καρκίνου έχει μελετηθεί και η προστατευτική δράση τους ως προς τις παρενέργειες των χημειοθεραπειών και άλλων μεθόδων. Η κερκετίνη, το γνωστό φλαβονοειδές, χρησιμοποιήθηκε σε πειράματα με καρκινικά κύτταρα μόνη της και σε συνδυασμό με τα αντικαρκινικά φάρμακα Ταξόλη και Νοκοδαζόλη. Τα πειράματα αυτά έδειξαν ότι η κερκετίνη να μεν εμποδίζει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων και την επιβίωσή τους αλλά συγχρόνως αναστέλλει τη δράση των αντικαρκινικών φαρμάκων (Samuel *et al*, 2010).

Η αμιφωστίνη είναι μια φωσφορυλιωμένη θειόλη (Σχήμα 19) η οποία δρα ως αντιοξειδωτικό και χρησιμοποιείται ως ακτινο-προστατευτικό φάρμακο καθώς στην ελεύθερη μορφή της προστατεύει τα υγιή και όχι τα καρκινικά κύτταρα από την επίδραση των ROS (Spencer *et al*, 2005). Η στοχευμένη αυτή δράση της αμιφωστίνης οφείλεται στη βελτιωμένη αγγείωση, τα υψηλότερα επίπεδα αλκαλικής φωσφατάσης, η οποία είναι απαραίτητη για την αποφωσφορύλωση της αμιφωστίνης στον ενεργό μεταβολίτη της WR-1065), και στο υψηλότερο pH των φυσιολογικών ιστών (Spencer *et al*, 2002).



Σχήμα 19 Δομές της αμιφωστίνης και του ενεργού μεταβολίτη της.

Κλινική μελέτη σε άτομα που έπασχαν από καρκίνο λαιμού ή κεφαλιού και υπόκεινταν σε ακτινοθεραπείες, η αμιφωστίνη μείωσε πολύ την εμφάνιση της ξηροστομίας αλλά όχι και της στοματικής βλεννογονίτιδας (Brizel *et al*, 2000). Ωστόσο, σε άλλη μελέτη με ασθενείς με καρκίνο των ωοθηκών οι οποίοι έκαναν αγωγή με καρβοπλατίνη και πακλιταξέλη, η αμιφωστίνη μείωσε κατά πολύ την εμφάνιση της βλεννογονίτιδας (Loruso *et al*, 2003). Τέλος, η αμιφωστίνη μείωσε σημαντικά την εμφάνιση οισοφαγίτιδας σε ασθενείς με μη μικροκυτταρικό τύπο καρκίνου των πνευμόνων οι οποίοι υπόκεινταν σε ακτινοθεραπείες και χημειοθεραπείες (Komaki *et al*, 2002). Παρ'όλα αυτά η αμιφωστίνη δεν συνιστάται εύκολα καθώς είναι αρκετά τοξική και παρουσιάζει πολλές παρενέργειες όπως ναυτία, έμετο, υπόταση, μεταλλική γεύση, αλλεργίες κτλ (Bardet *et al*, 2002).

Κάποια αντιοξειδωτικά εμφανίζουν καρδιοπροστατευτική δράση ενάντια στην τοξικότητα των αντικαρκινικών φαρμάκων. Το ταννικό οξύ έχει δοκιμαστεί σε ζώα

τα οποία υφίστανται χημειοθεραπεία με δοξορουβικίνη, η οποία χρησιμοποιείται στην εξάλειψη διάφορων ειδών όγκων συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το ταννικό οξύ βελτιώνει την τοξικότητα της δοξορουβικίνης προς την καρδιά και ενδυναμώνει την αντικαρκινική της δράση (Tikko *et al*, 2011). Σε άλλα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν οι προκυανιδίνες από τους σπόρους του σταφυλιού και έδειξαν πολύ καλή καρδιοπροστατευτική δράση. Οι ερευνητές χορήγησαν στους αρουραίους τις προκυανιδίνες πριν τη δοξορουβικίνη και παρατήρησαν ότι αυτό μείωσε τον κενοτοπιασμό του κυτταροπλάσματος, αύξησε την πίεση της αριστερής κοιλίας και βελτίωσε την εικόνα του ηλεκτροκαρδιογραφήματος (Li *et al*, 2009). Υποστηρίζουν ότι η καρδιοπροστατευτική δράση των προκυανιδινών οφείλεται στην ικανότητά τους να ρυθμίζουν το οξειδωτικό στρες και να μειώνουν την λιπιδική υπεροξείδωση που προκαλεί η δοξορουβικίνη (Li *et al*, 2009).

Τέλος, σε πρόσφατη μελέτη χρησιμοποιήθηκε συμπλήρωμα που περιείχε βιταμίνες C, E, β-καροτένιο και σελήνιο σε ασθενείς με καρκίνο του τραχήλου της μήτρας κατά τη διάρκεια ακτινοθεραπείας και αγωγής με cis-platin. Τα αποτελέσματα ήταν διαφορετικά καθώς δεν μετρήθηκε τόσο η αντικαρκινική δράση των αντιοξειδωτικών αλλά τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης τα οποία βελτιώθηκαν πολύ σε σύγκριση με την ομάδα που λάμβανε το placebo (Fuchs – Tarlovsky *et al*, 2011). Επίσης, οι ασθενείς που λάμβαναν το συμπλήρωμα ανέφεραν ότι το επίπεδο ζωής τους βελτιώθηκε το οποίο υποστηρίζεται και από μια παλαιότερη μελέτη όπου οι συγγραφείς αποδεικνύουν την σχέση μεταξύ της διατήρησης των επιπέδων της αιμοσφαιρίνης και την πορεία των ασθενών με καρκίνωμα του τραχήλου της μήτρας (Grogan *et al*, 1999).

Μέσα από όλες αυτές τις έρευνες φαίνεται ότι τα αντιοξειδωτικά πρέπει να χορηγούνται με μεγάλη προσοχή στους ασθενείς με καρκίνο καθώς μπορεί να έχουν το αντίθετο αποτέλεσμα από το επιθυμητό, δηλαδή να δράσουν είτε προστατευτικά στα καρκινικά κύτταρα είτε να δράσουν προ-οξειδωτικά επεκτείνοντας το οξειδωτικό στρες και στα υγιή κύτταρα. Οπότε, χρειάζεται να γίνουν κι άλλες μελέτες και έρευνες ώστε να αναφανεί ποια αντιοξειδωτικά παρουσιάζουν όντως αντικαρκινικές ιδιότητες και σε ποιο σημείο της εξέλιξης της ασθένειας πρέπει να χορηγούνται για να υπάρξει το καλύτερο αποτέλεσμα. Τέλος, είναι πολύ ενδιαφέρουσα η προστατευτική δράση κάποιων αντιοξειδωτικών έναντι στις παρενέργειες ή/ και την τοξικότητα των αντικαρκινικών φαρμάκων. Και σε αυτόν τον τομέα θα ήταν πολύ ωφέλιμο να γίνουν περισσότερες κλινικές μελέτες για να διαπιστωθεί η ασφαλής δόση του εκάστοτε αντιοξειδωτικού.

2.6 Αντιοξειδωτικά και άλλες παθήσεις

Όπως έχει φανεί από τη μέχρι τώρα μελέτη η ύπαρξη των ελεύθερων ριζών και του οξειδωτικού στρες στο ανθρώπινο σώμα παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην παθογένεση ή στην εξέλιξη διάφορων ασθενειών. Εκτός από τον καρκίνο, τις

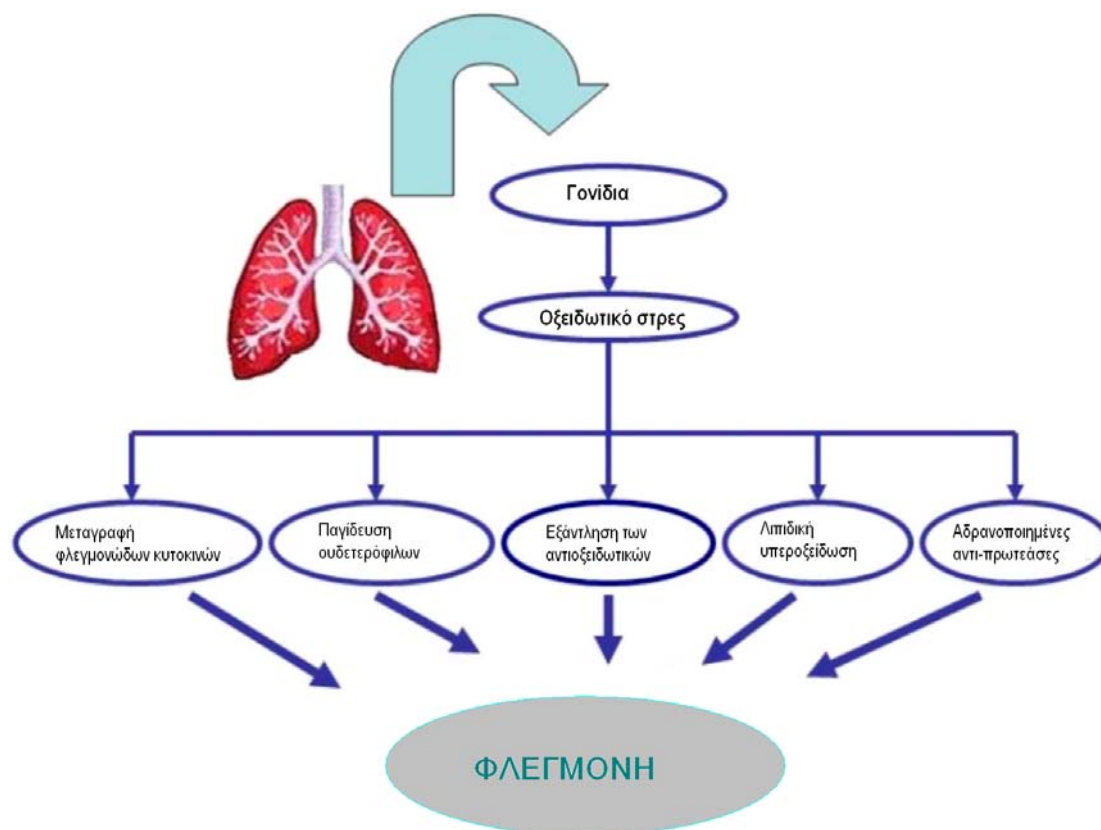
παθήσεις της καρδιάς κτλ έχουν γίνει έρευνες και για τη συσχέτιση άλλων ασθενειών, όπως είναι το άσθμα, η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και ο ζαχαρώδης διαβήτης τύπου 2, με το οξειδωτικό στρες και μελέτες για τις θεραπευτικές ιδιότητες των αντιοξειδωτικών τις οποίες θα αναλύσουμε παρακάτω.

Άσθμα

Το άσθμα είναι μια χρόνια φλεγμονώδης ασθένεια που προσβάλλει τους αεραγωγούς των πνευμόνων και χαρακτηρίζεται από διακυμάνσεις και επαναλαμβανόμενα συμπτώματα. Κύρια συμπτώματα είναι η δυσκολία στην αναπνοή, συριγμός, βήχας και σφίξιμο στο στήθος. Είναι μια πολύ κοινή ασθένεια αφού περίπου 300 εκατομμύρια άνθρωποι στον πλανήτη την έχουν (Vos, 2012). Το οξειδωτικό στρες έχει συνδεθεί με την εμφάνιση του άσθματος από την ύπαρξη των δεικτών – προϊόντων οξείδωσης, ισοπροστανίων στην ανάσα των ασθενών (Dworski *et al*, 2001) και στα ούρα τους (Wedes *et al*, 2009). Ένας σημαντικός δείκτης εκτίμησης οξειδωτικού στρες που χρησιμοποιείται στο άσθμα είναι η 3-βρωμοτυροσίνη, προϊόν οξείδωσης του DNA. Μετρήσεις σε ασθενείς με άσθμα έδειξαν τρεις φορές μεγαλύτερη συγκέντρωση της 3-βρωμοτυροσίνης στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα από τους υγιείς (Wu *et al*, 2000), ενώ άτομα που εισάγονται στην μονάδα εντατικής θεραπείας μετά από κρίση άσθματος έχουν εκατό φορές μεγαλύτερη συγκέντρωση από αυτούς που δεν είχαν άσθμα (MacPherson *et al*, 2001).

Εκτός από τους δείκτες εκτίμησης οξειδωτικού στρες μετρήθηκε και η αντιοξειδωτική ικανότητα των παιδιών με άσθμα και βρέθηκε ότι τα επίπεδα των ενζύμων υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, υπεροξειδική δισμουτάση ήταν πολύ μειωμένα όπως και των αντιοξειδωτικών γλουταθειόνη, ασκορβικό οξύ και τοκοφερόλη (Sackesen *et al*, 2008). Ακόμα και η συγκέντρωση των τριών αμινοξέων που συνθέτουν τη γλουταθειόνη ήταν αρκετά μειωμένη. Αυτό δεν καθιστά σαφές αν η αιτία των μειωμένων επιπέδων των αντιοξειδωτικών μηχανισμών είναι η μεγάλη συγκέντρωση των ROS ή το αντίστροφο. Στην εικόνα 7 παρουσιάζεται ένας πιθανός μηχανισμός εμφάνισης άσθματος βασισμένος στην έκφραση λάθος γονιδίων.

Όσον αφορά τη λήψη αντιοξειδωτικών ουσιών ως θεραπευτική μέθοδο στους ασθενείς με άσθμα, διάφορες μελέτες που έγιναν πάνω στη βιταμίνη C δεν παρουσίασαν καμία αξιοσημείωτη αλλαγή στα συμπτώματα και στην κλινική εικόνα του ασθενούς ή ακόμα και στη λειτουργία των πνευμόνων (Cook *et al*, 1997, Huang & Pau, 2001, McKeever *et al*, 2004, Romieu *et al*, 2004). Από την άλλη, λήψη βιταμίνης E από μητέρες κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης είχε θετικά αποτελέσματα, μειώνοντας τον συριγμό των παιδιών μέχρι 2 ετών (Litonjua *et al*, 2006, Martindale *et al*, 2005, Miyake *et al*, 2010) ενώ σε άλλες πάλι δεν βρέθηκε να επηρεάζεται η κατάσταση του παιδιού με άσθμα (Huang & Pau, 2001, McKeever *et al*, 2004).



Εικόνα 7 Μηχανισμός εμφάνισης άσθματος μέσω έκφρασης λάθος γονιδίων.

Όσον αφορά το σελήνιο έχειδειχθεί να υπάρχει σχέση μεταξύ των επιπέδων στο αίμα της εγκυμονούσας μητέρας και της εμφάνισης συριγμού στο παιδί αλλά όχι άσθματος (Devereux *et al*, 2007, Kocabas *et al*, 2006). Ξανά αυτά τα αποτελέσματα ακυρώνονται από άλλες μελέτες οι οποίες δεν βρίσκουν να υπάρχει άμεση σχέση μεταξύ της κλινικής εικόνας του ασθενούς και των επιπέδων σεληνίου στο αίμα του (Rubin *et al*, 2004, McKeever *et al*, 2004). Ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι μελέτες που αφορούν τον ψευδάργυρο όπου έδειξαν ότι η σχέση της πρόσληψης ψευδαργύρου από τις εγκυμονούσες με την εμφάνιση συριγμού ή άσθματος στο παιδί είναι ανάλογη (Litonjua *et al*, 2006, Shaheen *et al*, 2004). Επίσης, διάφορες μελέτες επιβεβαιώνουν ότι τα επίπεδα του ψευδαργύρου στο αίμα και τα μαλλιά παιδιών με άσθμα ή συριγμό είναι αρκετά χαμηλότερα από των υγείων (El-Kholy *et al*, 1999, Ermis *et al*, 2004, Tahan & Karakucsu, 2006).

Από την διερεύνηση της βιβλιογραφίας φάνηκε ότι ναι μεν το άσθμα συσχετίζεται με το οξειδωτικό στρες σύμφωνα με τους δείκτες εκτίμησης του σε ασθενείς, αλλά δεν έχει αποδειχτεί ακόμα ότι η πρόσληψη αντιοξειδωτικών μπορεί να προλάβει την εμφάνιση άσθματος (στην περίπτωση εγκυμοσύνης) ή να συμβάλλει στη θεραπεία του.

Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια

Η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (XNA) είναι η ασθένεια που περιγράφει τη σταδιακή απώλεια της λειτουργίας των νεφρών. Η λειτουργία των νεφρών είναι η κάθαρση του αίματος από άχρηστες ουσίες ή/και επικίνδυνες ουσίες και η αποβολή της περίσσειας του νερού στα ούρα. Συνήθως, στην αρχή της XNA δεν εμφανίζονται συμπτώματα και η διάγνωση γίνεται σε εξετάσεις ρουτίνας ή τυχαία. Υπάρχουν διάφοροι λόγοι για τους οποίους εμφανίζεται αυτή η ασθένεια αλλά οι κυριότεροι είναι η υψηλή αρτηριακή πίεση και ο ζαχαρώδης διαβήτης. Η διάγνωση της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας βασίζεται στη μέτρηση της κρεατινίνης στο αίμα ενώ έπειτα πρέπει να ελέγχονται και τα επίπεδα στοιχείων όπως ασβέστιο, μαγνήσιο κ.α. καθώς όσο προχωράει η ασθένεια επηρεάζει όλο και περισσότερους παράγοντες. Η θεραπεία της νεφρικής ανεπάρκειας είναι συμπτωματική και βασίζεται στην καθυστέρηση της ασθένειας, δηλαδή οι ασθενείς φροντίζουν να ρυθμίζουν την πίεσή τους, το ζάχαρό τους, να μην καπνίζουν, η διατροφή τους να είναι πλούσια σε βιταμίνες και ασβέστιο αλλά φτωχή σε αλάτι και φώσφορο. Αν η ασθένεια φτάσει σε προχωρημένο στάδιο τότε μπορεί να χρειαστεί μεταμόσχευση νεφρού ή τακτική αιμοκάθαρση (Herbert, 2011).

Το οξειδωτικό στρες έχει συσχετιστεί με την εμφάνιση και την εξέλιξη της νόσου καθώς τα επίπεδα των δεικτών εκτίμησης σε ασθενείς με XNA είναι αρκετά ανεβασμένα, όπως η μαλονδιαλδεϋδη (Nath *et al*, 1990, Cross *et al*, 1987, Galle, 2001). Επίσης, τα προϊόντα της λιπιδικής υπεροξειδωσης και ιδιαίτερα της LDL παρουσιάζονται ιδιαίτερα υψηλά στους ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια συγκριτικά με τους υγιείς (Annuk *et al*, 2001, Diepeveen *et al*, 2004, Himmelfarb & McMonagle, 2001). Σε ασθενείς που υπόκεινται σε αιμοκάθαρση έχει βρεθεί ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα των κυττάρων μειώνεται πολύ αφού τα επίπεδα των SOD, καταλάσης και γλουταθειόνης είναι αρκετά χαμηλά (Sahni *et al*, 2012). Ακόμα, ασθενείς με σοβαρή XNA παρουσίασαν υψηλότερα επίπεδα μαλονδιαλδεϋδης από τους αντίστοιχους με μέτρια εξέλιξη της ασθένειας το οποίο υποδεικνύει ότι ο βαθμός του οξειδωτικού στρες αυξάνεται καθώς εξελίσσεται η ασθένεια και αντίστροφα (Sahni *et al*, 2012).

Η δράση των αντιοξειδωτικών ουσιών έχει μελετηθεί περισσότερο σε υψηλού κινδύνου ασθενείς οι οποίοι υπόκεινται σε αιμοκάθαρση καθώς, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, οι περισσότεροι δεν αντιλαμβάνονται ότι πάσχουν από νεφρική ανεπάρκεια παρά μόνο στα τελευταία στάδια της νόσου. Ήδη εδώ και πολλά χρόνια μελετάτε η δράση της α-τοκοφερόλης σε ασθενείς με XNA παρουσιάζοντας πολύ καλά αποτελέσματα μέχρις στιγμής ειδικά αν συγκρίνουμε τη δράση της σε άλλες ασθένειες η οποία ήταν μηδαμινή. Σε πολλές μελέτες λήψη συμπληρώματος α-τοκοφερόλης μειώνει αρκετά τα επίπεδα της μαλονδιαλδεϋδης στο αίμα και σε διάφορα κύτταρα (Giardini *et al*, 1984, Yukawa *et al*, 1992, Sanaka *et al*, 1995). Σε συνδυασμό με σίδηρο, η α-τοκοφερόλη μειώνει πολύ και τα προϊόντα λιπιδικής υπεροξειδωσης (Roob *et al*, 2002) ενώ μείωσε την παρουσία αναπνευστικής κρίσης και ανάγκης για χορήγηση σιδήρου κατά τη διάρκεια της αιμοκάθαρσης (Hodkova *et*

al, 2005). Πολύ σημαντική ήταν μια κλινική μελέτη που παρατήρησε ότι στους ασθενείς οι οποίοι λάμβαναν το συμπλήρωμα α-τοκοφερόλης μειώθηκε η ευαισθησία στην όσμωση των ερυθροκυττάρων αλλά και τα επίπεδα μαλονδιαλδεϋδης (Uzum *et al*, 2006). Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι τα άτομα στα οποία χορηγήθηκε α-τοκοφερόλη παρουσίασαν μειωμένα επίπεδα αρνητικά φορτισμένων θραυσμάτων LDL μετά από 3 μήνες (Mafra *et al*, 2009).

Η βιταμίνη C αν και λιγότερο μελετημένη έχει δείξει επίσης καλά αποτελέσματα και έχει χρησιμοποιηθεί σε αρκετές κλινικές μελέτες μαζί με τη χρήση placebo. Τα πρώτα αποτελέσματα έδειξαν μειωμένα επίπεδα μαλονδιαλδεϋδης (Candan *et al*, 2002) ενώ αργότερα η βιταμίνη C σε κάθε συνεδρία αιμοκάθαρσης μείωσε τα επίπεδα της 8-OH-G και την παραγωγή των ROS αλλά και αύξησε την έκφραση των ενζύμων που επιδιορθώνουν το νουκλεοτίδιο 8-OH-G (Tarnig *et al*, 2004). Σε μια άλλη μελέτη πραγματοποιήθηκε συνδυασμός βιταμίνης C και σιδήρου και ενώ μόνη της η βιταμίνη δεν μείωσε τα επίπεδα TBARS μαζί με τον σίδηρο αυτό επιτεύχθηκε (Eiselt *et al*, 2006). Σε μια μεγάλης χρονικής διάρκειας (ενός έτους) χορήγηση βιταμίνης C σε ασθενείς με ΧΝΑ τα επίπεδα TBARS μειώθηκαν αλλά όχι η ευαισθησία της LDL στην οξείδωση (Ramos *et al*, 2008).

Το σελήνιο παρουσιάζει πολύ καλή δράση καθώς εκτός του ότι μειώνει τα επίπεδα TBARS και μαλονδιαλδεϋδης στο πλάσμα, αυξάνει τα επίπεδα της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης αλλά και της α-τοκοφερόλης (Richard *et al*, 1993, Koenig *et al*, 1997). Το συνένζυμο Q₁₀ από την άλλη, παρουσιάζει αντιφατική εικόνα και μάλλον προ-οξειδωτική αφού η χορήγησή του μείωσε τα προϊόντα της πρωτεϊνικής οξείδωσης αλλά μείωσε και την σύσταση του αίματος σε αντιοξειδωτικά ενώ δεν άλλαξε καθόλου τη συγκέντρωση της μαλονδιαλδεϋδης (Sakata *et al*, 2008).

Εξαιρετικά σημαντικά είναι τα ευρήματα μελετών στις οποίες συνδυάστηκαν η βιταμίνη C και η α-τοκοφερόλη. Σε μια αρχική μελέτη οι ασθενείς έλαβαν συμπλήρωμα που περιείχε α-τοκοφερόλη, βιταμίνη C και A και μετά από 40 ημέρες παρουσίασαν μειωμένα επίπεδα μαλονδιαλδεϋδης και αυξημένα επίπεδα γλουταθειόνης, αναγωγάσης και υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (Hassan *et al*, 1995). Αργότερα, σε διαφορετική μελέτη, χρησιμοποιήθηκαν τρία συμπληρώματα τα οποία περιείχαν το καθένα ασκορβικό οξύ, α-τοκοφερόλη και το συνδυασμό των δύο ουσιών. Σε αυτή τη μελέτη όλοι όσοι λάμβαναν συμπλήρωμα είχαν μειωμένα επίπεδα των προϊόντων της λιπιδικής υπεροξειδωσης αλλά οι δύο ομάδες που λάμβαναν και ασκορβικό οξύ είχαν αυξημένη γλουταθειόνη και γενικότερη αντιοξειδωτική ικανότητα στο πλάσμα (Chao *et al*, 2002). Αυτό επιβεβαιώθηκε και σε μετέπειτα μελέτη όπου οι ασθενείς λάμβαναν βιταμίνη C και α-τοκοφερόλη και τα επίπεδα TBARS μειώθηκαν ενώ αυξήθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα (Sato *et al*, 2003). Τέλος, η α-τοκοφερόλη έχει παρουσιάσει και καρδιοπροστατευτική δράση στους ασθενείς με βαριά χρονική νεφρική ανεπάρκεια μειώνοντας κατά 70% στην εμφάνιση εμφράγματος του μυοκαρδίου (Boaz *et al*, 2000).

Από τα παραπάνω δεδομένα συμπεραίνουμε ότι στην προκειμένη περίπτωση η λήψη α-τοκοφερόλης, βιταμίνης C ή/και σεληνίου μπορούν να συμβάλλουν στην επιβράδυνση της ασθένειας αυτής ή/και στη θεραπεία της αν βρεθεί σε πρώιμο στάδιο. Παρ' όλα αυτά, χρειάζεται να γίνουν περισσότερες μελέτες ώστε να βρεθεί η σχέση δόσης – αποτελέσματος και να βρεθούν οι κατάλληλες ποσότητες και ο κατάλληλος συνδυασμός αντιοξειδωτικών ενός αποτελεσματικού συμπληρώματος διατροφής.

Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2

Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 είναι μια καταστροφική νόσος που οφείλεται στην ελαττωματική ρύθμιση της ομοιόστασης της γλυκόζης στο σώμα και μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη πολλών ασθενειών όπως αμφιβληστροειδοπάθεια με κίνδυνο τύφλωσης, νεφρική ανεπάρκεια, νευροπάθεια με κίνδυνο τον ακρωτηριασμό των άκρων (διαβητικό πόδι), ενώ ελοχεύει και ο κίνδυνος καρδιακής προσβολής ή εγκεφαλικού επεισοδίου (Henriksen, 2013). Ουσιαστικά, στον σακχαρώδη διαβήτη τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα είναι πολύ υψηλά ($> 126\text{mg/dL}$) το οποίο οφείλεται κυρίως στην μειωμένη ικανότητα της ινσουλίνης να ρυθμίζει τον μεταβολισμό της γλυκόζης ιδιαίτερα σε περιφερικούς ιστούς, όπως ο σκελετικός μυς, ο λιπώδης ιστός, το ήπαρ, και στον υποθάλαμο του κεντρικού νευρικού συστήματος (Henriksen, 2002).

Ένας από τους σημαντικότερους λόγους εμφάνισης του σακχαρώδης διαβήτη τύπου 2 είναι η πλούσια σε λιπαρά διατροφή και η παχυσαρκία όπου η περίσσεια ενέργειας προκαλεί την παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) στα μιτοχόνδρια ιδιαίτερα των σκελετικών μυών και σχετίζεται με την εμφάνιση του διαβήτη (Anderson *et al*, 2009). Από εκεί και έπειτα, τα υψηλά επίπεδα σακχάρου στο αίμα προκαλούν την παραγωγή των υπεροξειδίων από τα μιτοχόνδρια ενώ τα προϊόντα γλυκοζυλίωσης ενεργοποιούν την παραγωγή των ROS μέσα από το σύστημα της NADPH οξειδάσης και διάφορων άλλων μηχανισμών (Rains & Jain, 2011). Με αυτόν τον τρόπο, η υπεργλυκαιμία συνδέεται με την έναρξη της αντίστασης στην ινσουλίνη. Η δυσλιπιδαιμία συνδέεται άμεσα με την απελευθέρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων τα οποία μέσω διάφορων μηχανισμών ενεργοποιούν την παραγωγή των ROS στα μιτοχόνδρια ειδικά σε κύτταρα ευαίσθητα στην ινσουλίνη, όπως τα καρδιομυοκύτταρα, τα σκελετικά μυοκύτταρα και τα λιποκύτταρα, οπότε αποτελεί επίσης μια αιτία για σακχαρώδη διαβήτη (Schonfeld & Wojtczak, 2008).

Μελέτες ως προς τη θεραπευτική ιδιότητα αντιοξειδωτικών ουσιών στο σακχαρώδη διαβήτη δεν υπάρχουν πολλές στη βιβλιογραφία και οι περισσότερες έχουν ασχοληθεί με την α-τοκοφερόλη και τη βιταμίνη C. Σε αρχική μελέτη η λήψη βιταμίνης E από διαβητικούς μείωσε τα επίπεδα γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης και άλλων γλυκοζυλιωμένων πρωτεϊνών αλλά όχι τα επίπεδα γλυκόζης στο πλάσμα (Ceriello *et al*, 1991). Έπειτα, παρόμοια μελέτη έδειξε αντιφατικά αποτελέσματα αφού η χορήγηση βιταμίνης E να μην μείωσε την ποσότητα της μαλονδιαλδεΐδης στα

ερυθροκύτταρα και αύξησε την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του ορού αλλά παραδόξως αύξησε την χοληστερόλη και μείωσε την δραστηριότητα της CuZn-SOD (Ble-Castillo *et al*, 2005). Η βιταμίνη E όμως, έδειξε και καρδιοπροστατευτική δράση σε διαβητικούς ασθενείς μειώνοντας και τα επίπεδα της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης (Manzella *et al*, 2001).

Όσον αφορά τη βιταμίνη C μελέτες έδειξαν ότι δεν υπάρχει ουσιαστική διαφορά μεταξύ αυτών που τη λάμβαναν και των υπολοίπων στα επίπεδα γλυκόζης ή ινσουλίνης (Chen *et al*, 2003). Ενδιαφέρονσα αποτελέσματα παρουσίασε μια μελέτη που συνδύασε τις βιταμίνες C, E και τα μέταλλα μαγνήσιο και ψευδάργυρο σε διάφορες αναλογίες (Farvid *et al*, 2005). Η λήψη του συμπληρώματος αυτού σε όποια αναλογία κι αν ήταν τα συστατικά κατάφερε να μειώσει τη συγκέντρωση της γλυκόζης στον ορό και της αλβουμίνης στα ούρα, το οποίο είναι σημαντικό καθώς η αλβουμίνη είναι δείκτης της νεφρικής λειτουργίας. Παρ' όλα αυτά, δεν υπήρχε διαφορά στα επίπεδα της γλυκοζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης (Farvid *et al*, 2005).

Από τα παραπάνω συμπεραίνουμε ότι ακόμη είναι νωρίς για να κριθεί αν η λήψη αντιοξειδωτικών είναι ωφέλιμη για διαβητικούς ασθενείς. Χρειάζεται να γίνουν πολλές περισσότερες μελέτες, να ερευνηθούν και οι δράσεις κι άλλων στοιχείων όπως το σελήνιο και αν υπάρχει άμεση σχέση με την πρόοδο ή τη θεραπεία του διαβήτη.

2.7 Αντιοξειδωτικά και γήρανση

Η γήρανση μπορεί να οριστεί ως η βαθμιαία αλλαγή σε έναν οργανισμό που οδηγεί σε αυξημένο κίνδυνο αδυναμίας, νόσου και τον θάνατο. Λαμβάνει χώρα σε ένα κύτταρο, όργανο ή σε ολόκληρο τον οργανισμό καθ' όλη τη διάρκεια της ενήλικης ζωής οποιουδήποτε ζωντανού οργανισμού. Η θεωρία των ελεύθερων ριζών ως αίτιο της γήρανσης αναφέρθηκε πρώτη φορά το 1956 από τον Denham Harman ο οποίος έθεσε τη βάση για πληθώρα μελετών πάνω στην επίδραση των ελεύθερων ριζών στα βιολογικά συστήματα (Harman, 1956). Η θεωρία αυτή ανήκει στην γενικότερη θεωρία της συσσώρευσης βλαβών ως αιτία για τη γήρανση. Ο αντίποδας αυτής της θεωρίας είναι οι γενετικές θεωρίες (Fossel, 2003, Hayflick, 1998).

Όπως έχει αναφερθεί και στο πρώτο κεφάλαιο, η προσέγγιση των ελεύθερων ριζών αποδίδεται στις τυχαίες βλάβες που προκαλούν στο DNA, στα λιπίδια και τις πρωτεΐνες και οι οποίες μπορεί να συσσωρεύονται με το πέρασμα του χρόνου. Ακριβώς όπως ξεκινάει η ζωή του ανθρώπου, έτσι ξεκινάει και η γήρανσή του, ήτοι με τη λήψη του οξυγόνου. Ακόμα και σε ιδανικές περιπτώσεις υπολογίζεται ότι το 1 - 3 % του οξυγόνου που λαμβάνουν τα μιτοχόνδρια μετατρέπεται σε ελεύθερες ρίζες. Οι ρίζες αυτές επιδρούν πρώτα και κύρια στο μιτοχονδριακό DNA, το οποίο σε αντίθεση με αυτό του πυρήνα, δεν διορθώνεται εύκολα από τα επιδιορθωτικά ένζυμα του κυττάρου (Cadenas & Davies, 2000). Έτσι, η εκτενής βλάβη του μιτοχονδριακού

DNA συσσωρεύεται και οδηγεί στην παύση της λειτουργίας των μιτοχονδρίων, τον θάνατο των κυττάρων και άρα τη γήρανση του οργανισμού.

Στον ανθρώπινο οργανισμό το μέγεθος της οξειδωτικής βλάβης του DNA, όπως αυτό ελέγχεται από τους δείκτες εκτίμησης στα ούρα, μπορεί να διαμορφωθεί με βάση τον περιορισμό των θερμίδων και τη σύνθεση της διατροφής. Το πόσο αυξάνεται η οξειδωτική βλάβη του DNA με την αύξηση της ηλικίας έχει υπολογιστεί σε μια κλινική μελέτη όπου συμμετείχαν υγιείς άνθρωποι ηλικίας 15 – 91 χρόνων με την μέτρηση της συγκέντρωσης της 8-υδροξυ-δεοξυγουανωσίνης (8-OH-G). Τα αποτελέσματα έδειξαν αναλογική αύξηση των επιπέδων της 8-OH-G με την πρόοδο της ηλικίας (Barnett & King, 1995). Παραδόξως, άλλες μελέτες έδειξαν ότι τα επίπεδα των αντιοξειδωτικών καταλάση, γλουταθειόνη και SOD παραμένουν σταθερά σε ανάμεσα σε άτομα 35, 50 και 65 χρονών το οποίο υποδεικνύει ότι δεν είναι απαραίτητο ότι μειώνεται η αντιοξειδωτική ικανότητα των κυττάρων για να επέλθει η γήρανση αλλά πιθανόν τα κύτταρα να γίνονται πιο ευαίσθητα στη δράση των ROS (Valko *et al*, 2007). Παρ' όλα αυτά, η γήρανση προκαλείται από πολλούς, ίσως και ανεξάρτητους παράγοντες και η οξειδωτική βλάβη του DNA και των πρωτεϊνών είναι μόνο μικρό μέρος των παθοφυσιολογικών μονοπατιών της.

Αν και η πρόσληψη αντιοξειδωτικών μέσω της διατροφής δεν μπορεί να σταματήσει τη γήρανση συνηθίζεται οι ηλικιωμένοι να λαμβάνουν συμπληρώματα με βιταμίνες και ιχνοστοιχεία. Εν μέρει αυτό είναι λογικό και τους είναι απαραίτητα αφού όσο αυξάνεται η ηλικία τόσο μειώνεται η ικανότητα απορρόφησης των απαραίτητων στοιχείων μέσω της τροφής και εκτός αυτού πολλοί λαμβάνουν φάρμακα π.χ. διουρητικά τα οποία εμποδίζουν την περαιτέρω απορρόφηση των θεραπευτικών συστατικών (Sebastian *et al*, 2007). Μια εκτενής μελέτη, όμως τόνισε την σπουδαιότητα του μέτρου στην ποσότητα και τη φύση των συμπληρωμάτων καθώς στα άτομα που λάμβαναν βιταμίνες E, A και β-καροτένιο παρατηρήθηκε αύξηση της θνησιμότητας (Bjelakovic *et al*, 2004).

Εντούτοις, κάποιες αντιοξειδωτικές ουσίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην πρόληψη ασθενειών σχετικών με τη γήρανση όπως η οστεοπόρωση και ο καρκίνος. Συμπλήρωμα ψευδαργύρου έχει χρησιμοποιηθεί σε πολλές μελέτες αποδεικνύοντας ότι μπορεί να προστατεύσει από την εμφάνιση οστεοπόρωσης, διατηρώντας ή αυξάνοντας την οστική πυκνότητα σε άντρες ή γυναίκες (Freudenheim *et al*, 1986, Hyun *et al*, 2004). Στην περίπτωση που οι γυναίκες είχαν ήδη οστεοπόρωση ο ψευδάργυρος δεν επέδειξε ιδιαίτερη αλλαγή στην οστική πυκνότητα όταν χρησιμοποιήθηκε μόνος του (New *et al*, 1997) αλλά όταν χρησιμοποιήθηκε σε συνδυασμό με άλλα συστατικά όπως το ασβέστιο (Strause *et al*, 1994). Το σελήνιο, από την άλλη, εμποδίζει την ογκογένεση και προστατεύει τους ηλικιωμένους από την ανάπτυξη καρκίνου (Clark *et al*, 1996).

Από το σύνολο αυτού του κεφαλαίου βλέπουμε ότι η διατροφή και η λήψη βιταμινών, μεταλλικών στοιχείων και άλλων συστατικών είναι πολύ σημαντική για την πορεία της υγείας στη ζωή του ανθρώπου. Ακόμα πιο σημαντικό είναι αυτή η λήψη να γίνεται με φυσικό τρόπο δηλαδή μέσα από μια πλήρη και ισορροπημένη διατροφή. Είναι ευρέως γνωστό και παραδεκτό ότι πρότυπο τέτοιας διατροφής αποτελεί η Μεσογειακή. Η Μεσογειακή διατροφή, εκτός των άλλων, έχει αποδειχτεί ότι μπορεί να προσφέρει σε όποιον την ακολουθεί μακροβιότητα και καλή ποιότητα ζωής (Perez – Lopez *et al*, 2013).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Αντιοξειδωτικές ουσίες και διατροφή

Όπως φαίνεται από το σύνολο του δεύτερου κεφαλαίου είναι σημαντικό η πρόσληψη των αντιοξειδωτικών ουσιών να γίνεται με φυσικό τρόπο δηλαδή με τη διατροφή. Οι τροφές περιέχουν ποικιλία αντιοξειδωτικών, ιδιαίτερα τα φρούτα και τα λαχανικά και έτσι ο οργανισμός λαμβάνει πληθώρα τους και όχι μεμονωμένα ή συνδυασμό δύο - τριών όπως γίνεται με τα συμπληρώματα. Επίσης, η απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών μέσω του πεπτικού συστήματος, τουλάχιστον σε υγιείς οργανισμούς, είναι απόλυτα ελεγχόμενη και σε ισορροπία ώστε να λαμβάνει ο κάθε οργανισμός αυτά που χρειάζεται. Αυτό, βέβαια, αν θεωρήσουμε δεδομένο ότι ο άνθρωπος φορντίζει ώστε η διατροφή του να έχει την ποικιλία που χρειάζεται από όλες τις ομάδες τροφίμων.

3.1 Μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των τροφών

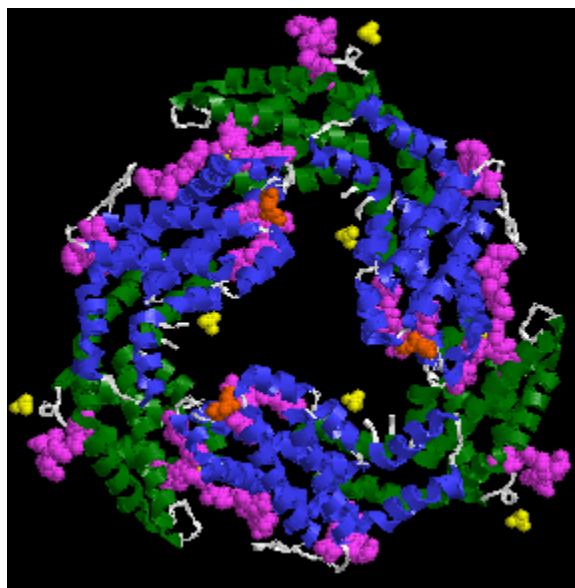
Για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας των τροφών έχουν αναπτυχθεί ποικίλες μέθοδοι οι οποίες προέκυψαν από: α) τη δυσκολία της μέτρησης κάθε αντιοξειδωτικού συστατικού ξεχωριστά και β) την αλληλεπίδραση διαφόρων αντιοξειδωτικών μεταξύ τους (Packer, 1999). Επίσης, για τη βιομηχανία των τροφίμων είναι απαραίτητο να υπάρχει γνώση για την αντιοξειδωτική δυνατότητα των φυσικών συστατικών για να χρησιμοποιούνται στην προστασία των τροφών, να αποφεύγονται επικίνδυνες αλλαγές στα τρόφιμα όπως και για να διατηρείται η εμπορική και διατροφική τους αξία (Halliwell *et al*, 1995, De la Torre Boronat & Lopez Tamames, 1997, Halliwell, 1997).

Σε γενικές γραμμές η αντιοξειδωτική δυνατότητα των τροφών μετριέται στο κατά πόσο αναστέλλεται η οξείδωση κάποιων υποστρωμάτων και η αλλαγή αυτή προσδιορίζεται μέσα από χημικές ή αναλυτικές μεθόδους. Οι μέθοδοι μέτρησης αντιοξειδωτικής ικανότητας μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε δύο βασικές ομάδες: i) αυτές που εκτιμούν τη λιπιδική υπεροξείδωση και ii) αυτές που προσδιορίζουν τη δυνατότητα της δέσμευσης των ελεύθερων ριζών (Sanchez – Moreno, 2002).

Μέθοδος ORAC

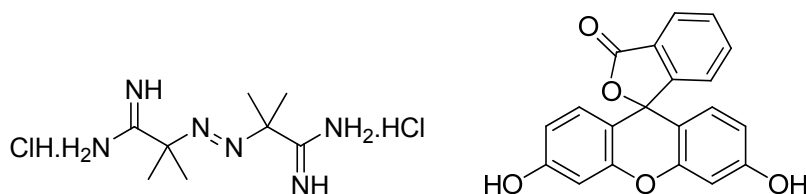
Η μέθοδος ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity / Ικανότητα Απορροφητικότητας Ριζών Οξυγόνου) είναι από τις δημοφιλείς μεθόδους μέτρησης αντιοξειδωτικής ικανότητας και αναπτύχθηκε από τους Cao, Alessio, και Cutler το 1993. Βασίζεται στην ελάττωση του φθορισμού της πρωτεΐνης β-φυκοερυθρίνη (β – PE, εικόνα 8) από την επίδραση ελεύθερων ριζών. Η β-PE επιλέχθηκε λόγω των μήκων κύματος στα οποία απορροφά, την μεγάλη απόδοση σε φθορισμό, την ευαισθησία της στις ROS και την καλή διαλυτότητά της στο νερό (MacDonald-Wicks *et al*, 2006). Η μέθοδος μετρά την ικανότητα των αντιοξειδωτικών να προστατεύουν την πρωτεΐνη από την οξείδωση. Όμως, η β-φυκοερυθρίνη παρουσίασε αρκετά μειονεκτήματα όπως διαφορά μεταξύ των παρτίδων παραγωγής, φωτοευαισθησία και

αντιδρούσε με φαινολικές ενώσεις οπότε αντικαταστάθηκε αργότερα από τη φλουοροσκεΐνη (εικόνα 9), μια οργανική φθορίζουσα ουσία (Ou *et al*, 2001).



Εικόνα 8 Τρισδιάστατη δομή της β-φυκοερυθρίνης.

Ως πηγή ελεύθερων ριζών στη μέθοδο ORAC χρησιμοποιούνται το 2,2'-αζοδις-(2-αμιδινοπροπανο)διϋδροχλωρίδιο (AAPH, εικόνα 9) που παράγει κυρίως υπερόξυ ρίζες, το σύμπλοκο δισθενούς χαλκού με υπεροξείδιο του υδρογόνου που παράγει υδροξυλικές ρίζες και ο μονοσθενής χαλκός ο οποίος λειτουργεί ένα οξειδωτικό μέταλλο μεταπτώσεως (Sanchez – Moreno, 2002). Η δοκιμασία ORAC έχει το πλεονέκτημα ότι υπολογίζει και το χρόνο που διαρκεί η αναστολή της οξείδωσης και το ποσοστό της αναστολής από τη δράση των αντιοξειδωτικών. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε μονάδες ORAC. Ένα κύριο μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι θεωρείται δεδομένο ότι τόσο η οξειδωτική βλάβη όσο και η αντιοξειδωτική επανόρθωση της β-PE μπορεί να μιμηθεί κρίσιμα βιολογικά υποστρώματα (Frankel & Meyer, 2000). Εκτός από την αξιολόγηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας σε δείγματα φρούτων και λαχανικών, διατροφικά συμπληρώματα, κρασιά, χυμούς, και άλλα τρόφιμα, η δοκιμασία ORAC χρησιμοποιείται και σε δείγματα πλάσματος ή ορού (Prior *et al*, 2003).



Εικόνα 9 Δομές της AAPH (αριστερά) και φλουοροσκεΐνης (δεξιά).

Ένα άλλο πλεονέκτημα της προσέγγισης ORAC είναι ότι λειτουργεί εξίσου καλά τόσο για τα αντιοξειδωτικά που εμφανίζουν διακριτές λανθάνουσες φάσεις όσο και

εκείνων που δεν έχουν λανθάνουσες φάσεις. Αυτό χρησιμεύει ιδιαίτερα για τα δείγματα τα οποία περιέχουν συχνά πολλά συστατικά και έχουν περίπλοκη κινητική της αντίδρασης. Η φλουορεσκεΐνη είναι αρκετά οικονομική ενώ ο εξοπλισμός και η μέθοδος μέτρησης του φθορισμού είναι αρκετά αυτοματοποιημένη το οποίο κάνει τη μέθοδο ORAC προσβάσιμη (Huang *et al*, 2002). Επίσης, είναι πολύ σημαντικό που σε αυτή τη μέθοδο υπάρχει η δυνατότητα χρήσης διαφορετικών πηγών ελεύθερων ριζών ή οξειδωτικών ουσιών καθώς η ικανότητα κάθε αντιοξειδωτικού εξαρτάται και από την ελεύθερη ρίζα που αντιμετωπίζει. Για παράδειγμα, η χρήση της AAPH γίνεται κυρίως για να μετρηθεί η αντιοξειδωτική ικανότητα των κλασικών αντιοξειδωτικών όπως το ασκορβικό οξύ, η α -τοκοφερόλη και η γλουταθειόνη ενώ το σύμπλοκο Cu^{2+} - H_2O_2 χρησιμοποιείται κυρίως για ενώσεις όπως η μαννιτόλη, το ουρικό οξύ και χηλικούς παράγοντες μετάλλων (Cao *et al*, 1997). Από την άλλη, η μέθοδος ORAC μετράει την αντιοξειδωτική ικανότητα μόνο ενάντια στις υπερόξυ και υδρόξυ ρίζες του οξυγόνου ενώ αν και με τη φλουορεσκεΐνη αντιμετωπίστηκαν κάποια μειονεκτήματα της β -PE αποδείχτηκε ότι είναι ευαίσθητη στο pH και χρειάζεται προσοχή στη χρήση της (MacDonald-Wicks *et al*, 2006).

Όπως ήταν αρχικά σχεδιασμένη η μέθοδος ORAC υπήρχε η δυνατότητα να μετρηθεί μόνο η ικανότητα των υδρόφιλων αντιοξειδωτικών ενάντια μόνο στις υπερόξυ και υδρόξυλο αλυσίδες. Όμως, πολλά αντιοξειδωτικά είναι λιπόφιλα και μάλιστα, όπως είδαμε και στο πρώτο κεφάλαιο, είναι πολύ σημαντικά για την προστασία των λιπιδίων όπως επίσης και άλλες δραστικές ρίζες. Είναι επίσης γνωστό ότι η αντιοξειδωτική δυνατότητα μιας ουσίας εξαρτάται και από το μέσο στο οποίο δρα, οπότε ήταν απαραίτητο να βρεθεί μια παραλλαγή της μεθόδου με οργανικό διαλύτη. Η λύση ήρθε από τον Huang και τους συνεργάτες του (2002) ο οποίος ανέπτυξε μια μέθοδο για λιπόφιλα συστατικά χρησιμοποιώντας τη μεθυλιωμένη β -κυκλοδεξτρίνη για την αύξηση της διαλυτότητας. Με αυτόν τον τρόπο, είναι δυνατή η μέτρηση της πλήρους αντιοξειδωτικής ικανότητας τόσο των λιπόφιλων όσο και των υδρόφιλων συστατικών οπότε έτσι θα είναι και περισσότερο ακριβής η μέθοδος (Wu *et al*, 2004).

Μέθοδος TRAP

Η μέθοδος TRAP (Total Peroxyl Radical-Trapping Potential / Συνολικό Δυναμικό Παγίδευσης Ριζών Υπεροξειδίου) είναι επίσης μια δημοφιλής τεχνική η οποία βασίζεται στην αντίδραση υπεροξειδικών ριζών σε διάφορα υποστρώματα και η μέτρηση γίνεται είτε με φθορισμομετρία ή με χημειοφωταύγεια (Prior *et al*, 2005). Ως πηγή υπεροξειδίων χρησιμοποιείται το AAPH και ως υπόστρωμα οξείδωσης η R-φυκοερυθρίνη, το 2,2'-αζινοδις(3-αιθυλβενζοδιαζολιν-6-σουλφονικό οξύ) (ABTS, εικόνα 10) με τη μέθοδο της φθορισμομετρίας (DeLange *et al*, 1989, Bartosz *et al*, 1998) και η λουμινόλη (Εικόνα 10) με χημειοφωταύγεια (Whitehead *et al*, 1992). Οι αντιδράσεις ουσιαστικά είναι οι ίδιες με της ORAC και βασικές προϋποθέσεις είναι: α) το υπόστρωμα να είναι ευαίσθητο σε μικρές συγκεντρώσεις $\text{ROO}\cdot$, β) να υπάρχει μεγάλη φασματοσκοπική διαφορά ανάμεσα στο αυθεντικό και το οξειδωμένο

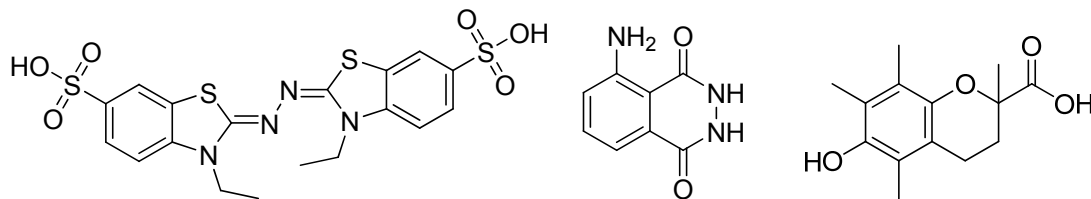
υπόστρωμα και γ) να μην λαμβάνει χώρα καμία αλυσιδωτή αντίδραση παραγωγής ριζών μετά την οξειδωση του υποστρώματος (Prior *et al*, 2005).

Στην περίπτωση όπου χρησιμοποιείται ως υπόστρωμα οξείδωσης η λουμινόλη, η μέθοδος ανάλυσης είναι η χημειοφωταύγεια καθώς η ουσία αυτή εκπέμπει φως. Όταν οξειδώνεται, το φως σταδιακά μειώνεται και επανέρχεται μετά την επίδραση των αντιοξειδωτικών οπότε και μετράται η δράση τους (Whitehead *et al*, 1992). Προσφάτως, μελετήθηκαν και άλλες ουσίες ως υποστρώματα σε αυτή τη μέθοδο αλλά με λιγότερο καλά αποτελέσματα όπως η λουσιγενίνη (Murphy & Sies, 1990). Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου TRAP ουσιαστικά συγκεντρώνονται στα εξής: α) την μεγάλη ευαισθησία της και β) ότι μπορεί να γίνει καλή μέτρηση σε ορό ή πλάσμα των μη ενζυμικών αντιοξειδωτικών λόγω της εξειδίκευσης σε αυτά (Wayner *et al*, 1987). Το μεγαλύτερο μειονέκτημά της είναι η μεγάλη της δύναμη οπότε δημιουργούνται πολλά τελικά σημεία και είναι αδύνατον να υπάρχουν συγκρίσιμα αποτελέσματα μεταξύ των εργαστηρίων. Για παράδειγμα, το ηλεκτρόδιο οξυγόνου που χρησιμοποιείται στη μέθοδο είναι άκρως ευαίσθητο και η ανάλυση πρέπει να γίνεται μέσα σε δύο ώρες ανά δείγμα ώστε να διατηρήσει τη σταθερότητά του (Apak *et al*, 2007).

Άλλο μειονέκτημα της μεθόδου αυτής είναι ότι προσδιορίζεται η αντιοξειδωτική ικανότητα μέσω της λανθάνουσας φάσης που συνδέεται με την διακοπή της συσσώρευσης των οξειδωμένων προϊόντων λόγω της παρουσίας των αντιοξειδωτικών (Apak *et al*, 2007) ενώ είναι γεγονός ότι δεν έχουν όλα τα αντιοξειδωτικά εμφανείς λανθάνουσες φάσεις (Magalhaes *et al*, 2008). Αυτό υποτιμά την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα κάποιων τροφίμων ή δειγμάτων γενικά αφού η αντιοξειδωτική αξία μετά το πέρας της λανθάνουσας φάσης αγνοείται (Prior *et al*, 2005). Όπως και στη μέθοδο ORAC έτσι και σε αυτήν η όλη οξειδοαναγωγική αντίδραση του φθορίζοντος / φωτεινού υποστρώματος δεν είναι απαραίτητο ότι μιμείται κρίσιμα βιολογικά υποστρώματα (Frankel & Meyer, 2000).

Μέθοδος TEAC

Η μέθοδος TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity / Αντιοξειδωτική Ικανότητα σε Ισοδύναμα Trolox) εφευρέθηκε από τον Miller και τους συνεργάτες του (1993) και βασίζεται στη μέτρηση της ικανότητας των αντιοξειδωτικών να αδρανοποιούν το ριζικό κατιόν ABTS^{•+} (Εικόνα 10) το οποίο χρωματίζεται έντονα και έχει ένα χαρακτηριστικό φάσμα απορρόφησης με μέγιστη απορρόφηση στα 415 nm και δευτερεύουσες στα 660, 734, και 820 nm. Η αρχική μέθοδος βασίστηκε στην ενεργοποίηση της μυοσφαιρίνης, που ενεργεί ως υπεροξειδάση, με H₂O₂ μέσω του σχηματισμού της οξειδωσης του ιόντος σιδήρου η οποία στη συνέχεια οξειδώνει το ABTS προς την αντίστοιχη κατιονική ρίζα του η οποία όταν επιδρούν τα αντιοξειδωτικά αποχρωματίζεται και έτσι μετριέται η δράση τους σε μονάδες Trolox (Roginsky & Lissi 2005).



Εικόνα 10 Δομές του ABTS (αριστερά), της λουμινόλης (κέντρο) και του Trolox (δεξιά).

Το Trolox είναι μια αντιοξειδωτική υδατοδιαλυτή ουσία ανάλογη της βιταμίνης E η οποία χρησιμοποιείται ως μονάδα μέτρησης σε αυτή τη μέθοδο, τα λεγόμενα ισοδύναμα Trolox (Re *et al*, 1999). Έκτοτε, η μέθοδος έχει βελτιωθεί και πλέον για να δοκιμαστεί ένα δείγμα πρώτα παράγεται ένα ποσοστό του κατιόντος και η εναπομείνουσα συγκέντρωση μετά την επίδραση των αντιοξειδωτικών μετρίεται για μεγαλύτερη ακρίβεια (Magalhaes *et al*, 2008). Σε άλλες εκδόσεις της μεθόδου TEAC το κατιόν του ABTS παράγεται με χημική αντίδραση π.χ. με διοξειδίο του μαγγανίου ή AAPH (Schlesier *et al*, 2002). Ωστόσο, οι χημικές αντιδράσεις χρειάζονται αρκετό χρόνο για να ολοκληρωθούν ή υψηλή θερμοκρασία ενώ η δράση των ενζύμων είναι ταχύτερη και οι συνθήκες ηπιότερες (Prior *et al*, 2005).

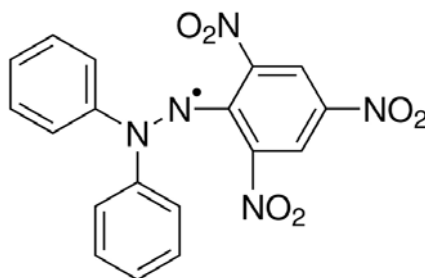
Η κατιονική ρίζα του ABTS είναι διαλυτή τόσο σε υδατικούς διαλύτες όσο και σε οργανικούς ενώ δεν επηρεάζεται από το ιοντικό τους φορτίο και αυτό είναι θετικό καθώς μπορεί να συμμετέχει στις μετρήσεις λιπόφιλων και υδρόφιλων αντιοξειδωτικών (Amao, 2000). Η μέθοδος TEAC που βασίζεται στην παραγωγή ριζών από μυοσφαρίνη και H_2O_2 μετρά μόνο τα υδρόφιλα αντιοξειδωτικά και για τα λιπόφιλα χρησιμοποιείται αυτή με το διοξειδίο του μαγγανίου. Επίσης, αν ως διαλύτης χρησιμοποιηθεί αιθανόλη τότε μπορούν να μετρηθούν και τα δύο είδη αντιοξειδωτικών (Schlesier *et al*, 2002). Η μέθοδος TEAC είναι εύκολη στην πραγματοποίησή της ενώ επιτρέπει ένα μεγάλο εύρος pH παρόλο που συνήθως χρησιμοποιείται στα pH 7.4 (Ozgen *et al*, 2006).

Όσον αφορά τα μειονεκτήματα αυτής της μεθόδου, πρώτα από όλα είναι ότι η μέτρηση γίνεται πάνω στη δυνατότητα του δείγματος να αντιδρά με τη ρίζα ABTS και όχι την αναστολή της οξειδωτικής διαδικασίας. Δεύτερον, η μέθοδος αυτή είναι πολύ αργή για πολλά φαινορικά και άλλα φυσικά δείγματα οπότε μπορεί να υπάρξει σφάλμα αν διακοπεί η μέτρηση πριν το σωστό τελικό σημείο (Huang *et al*, 2005). Τέλος, η ρίζα αυτή ξανά δεν βρίσκεται σε βιολογικά συστήματα οπότε είναι και αυτό ένας περιορισμός στη χρήση της μεθόδου (MacDonald-Wicks *et al*, 2006).

Μέθοδος DPPH

Η ρίζα DPPH (2,2-διφαινυλ-1-πικριλδραζύλιο) είναι μια σταθερή οργανική ελεύθερη ρίζα η οποία δίνει ένα χαρακτηριστικό χρώμα που απορροφά στα 520 nm (Εικόνα 11). Η σταθερότητά του οφείλεται στην μετακίνηση του ηλεκτρονίου σε όλο το μόριο μέσω των αζώτων και των βενζολικών δακτυλίων ενώ παράλληλα δεν

διμερίζεται όπως συμβαίνει με τις περισσότερες ρίζες (Pisoschi & Negulescu, 2011). Το DPPH είναι εμπορικά διαθέσιμο και έτοιμο προς χρήση. Με την επίδραση των αντιοξειδωτικών η ρίζα ανάγεται και το βιολετί χρώμα μετατρέπεται προς ελαφρύ κίτρινο ενώ η δράση τους μετριέται με φασματοφωτομετρία (Karadag *et al*, 2009).



Εικόνα 11 Δομή της ρίζας DPPH.

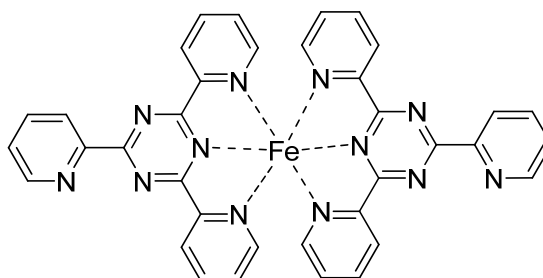
Εκτός από φασματοφωτομετρία, για τη δοκιμασία αυτή χρησιμοποιείται και φασματοσκοπία συντονισμού spin ηλεκτρονίων η οποία βασίζεται στο γεγονός ότι η ένταση του σήματος της DPPH είναι αντιστρόφως ανάλογη με τη συγκέντρωση και το χρόνο αντίδρασης των αντιοξειδωτικών (Sanchez – Moreno, 2002). Οι πιο συχνοί και καλύτεροι διαλύτες για την μέθοδο αυτή είναι η αιθανόλη και η μεθανόλη το οποίο είναι θετικό για τα λιπόφιλα αντιοξειδωτικά αλλά εμποδίζει την εύρεση της δράσης των υδρόφιλων (Arnao, 2000). Η μέθοδος DPPH χρησιμοποιείται ευρέως για την μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας διάφορων φαινολικών ενώσεων και τροφίμων, όμως η διαδικασία πρέπει να γίνεται με προσοχή καθώς η απορρόφηση της DPPH επηρεάζεται και από την επίδραση του φωτός (Ozcelik *et al*, 2003), τη συγκέντρωση του οξυγόνου και από τον τύπο του διαλύτη (Apak *et al*, 2007) εκτός από τη δράση των αντιοξειδωτικών. Επίσης, το ποσοστό της υγρασίας που βρίσκεται στο διαλύτη παίζει ρόλο αφού παρουσία νερού το DPPH σχηματίζει σύμπλοκα και δεν είναι προσβάσιμο εύκολα από τα αντιοξειδωτικά (Magalhaes *et al*, 2008). Πολύ σημαντικό μειονέκτημα της μεθόδου αυτής είναι το DPPH είναι αρκετά ανόμοιο με τις ρίζες του οξυγόνου οπότε ενώ πολλά αντιοξειδωτικά δρουν ταχύτατα με τις υπερόξυ ρίζες, με τη ρίζα DPPH να παρουσιάζουν αργή δράση ή /και καθόλου. Ακόμα, όταν μετριοούνται αντιοξειδωτικά με απορρόφηση κοντά στα 515 nm όπως τα καροτενοειδή, η φασματομετρία δεν ενδείκνυται για τη μέτρησή τους με αυτή τη μέθοδο (Prior *et al*, 2005).

Τέλος, η μέθοδος DPPH είναι τεχνικά αρκετά απλή και γρήγορη και χρειάζεται μόνο ένα φασματοφωτόμετρο ορατού – υπεριώδους. Γι'αυτό το λόγο η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται ευρέως για τη μέτρηση αντιοξειδωτικών ουσιών σε χυμούς φρούτων (Pisoschi *et al*, 2009), τσάι (Yen & Chen, 1995) και διάφορα λαχανικά (Miller *et al*, 2000, Du Toit *et al*, 2001).

Μέθοδος FRAP

Η μέθοδος FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power / Αντιοξειδωτική Ισχύς Αναγωγής Τρισθενούς Σιδήρου) βασίζεται στην ιδιότητα των αντιοξειδωτικών ενώσεων να ανάγουν το σύμπλοκο τρισθενούς σιδήρου – τριπυριδυλτριαζίνης (Fe(III)-TPTZ) χρώματος κίτρινου προς το αντίστοιχο δισθενούς (Εικόνα 12) χρώματος κυανού (Benzie *et al*, 1999). Η αλλαγή του χρώματος μετριέται φασματοφωτομετρικά με το μπλε χρώμα να εμφανίζεται στα 593 nm ενώ ως οξειδωτικό χρησιμοποιείται άλας του σιδήρου το οποίο εμφανίζει παρόμοια δράση με το ABTS. Αν και οι δύο μέθοδοι FRAP και TEAC εμφανίζουν κάποιες ομοιότητες, η τεχνική FRAP χρειάζεται όξινο περιβάλλον pH= 3.6 για να διατηρείται η διαλυτότητα του σιδήρου το οποίο δεν εφαρμόζεται στα βιολογικά συστήματα. Μια μονάδα FRAP ισοδυναμεί με την αναγωγή ενός mol Fe(III) προς Fe(II) (Huang *et al*, 2005). Η μέθοδος FRAP είναι απλή, ταχεία, ανέξοδη, και ισχυρή ενώ δεν απαιτεί εξειδικευμένο εξοπλισμό και μπορεί να αυτοματοποιείται (Prior *et al*, 2005).

Η μέθοδος FRAP ως μέθοδος εκτίμησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας τροφίμων βασίζεται στο γεγονός ότι καθώς ο δισθενής σίδηρος είναι προ-οξειδωτικό αυτό σημαίνει ότι οι ενώσεις που αναστέλλουν τη δράση του είναι αντιοξειδωτικές αλλά αυτό δεν ισχύει για όλες αυτές τις ενώσεις (Prior & Cao, 1999). Αυτό σημαίνει ότι κάθε ουσία που δρα ως δότης ηλεκτρονίων μπορεί να συνεισφέρει στη μέτρηση της FRAP ακόμα και αν δεν είναι αντιοξειδωτική και έτσι να προκύψει σφάλμα (Nilsson *et al*, 2005). Από την άλλη, αντιοξειδωτικά τα οποία δεν μπορούν να ανάγουν τον σίδηρο όπως η γλουταθειόνη, η τεχνική αυτή δεν τα μετράει (Prior & Cao, 1999). Η μέθοδος αυτή έχει αρκετά ελαττώματα όπως το ότι τα ισοδύναμα FRAP δεν αντιστοιχούν με τον αριθμό ηλεκτρονίων που μεταφέρονται (MacDonald-Wicks *et al*, 2006). Για παράδειγμα, το ασκορβικό οξύ και η χολερυθρίνη είναι δότες δύο ηλεκτρονίων αλλά τα αποτελέσματα της FRAP δείχνουν ότι το ασκορβικό οξύ ανάγει δύο άτομα σιδήρου και η χολερυθρίνη τέσσερα οπότε η μέθοδος χάνει την αξιοπιστία της (Huang *et al*, 2005). Επίσης, θεωρείται ότι η αντιοξειδωτική δράση είναι ταχεία και έχει ολοκληρωθεί σε τέσσερα λεπτά αλλά αυτό δεν ισχύει πάντα καθώς ο Pulido και οι συνεργάτες του έδειξαν ότι για πολλές φαινολικές ενώσεις η αντίδραση συνεχίστηκε για ώρες αργότερα οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι τα καθιερώμενα τελικά σημεία μπορεί να μην είναι τα πραγματικά (Pulido *et al*, 2000).



Εικόνα 12 Δομή του συμπλόκου του σιδήρου με TPTZ.

3.2 Οι αντιοξειδωτικές ουσίες στη διατροφή μας

Είναι ευρέως διαδεδομένο ότι η Μεσογειακή διατροφή που ακολουθείται στην Ελλάδα και σε άλλες μεσογειακές χώρες είναι η ιδανικότερη για να προσφέρει την καλύτερη υγεία σε ένα λαό. Η Μεσογειακή διατροφή περιλαμβάνει μεγάλη κατανάλωση ωμών λαχανικών και φρούτων, ελαιολάδου, οσπρίων, δημητριακών, ψαριών και γαλακτοκομικών προϊόντων. Στη βιβλιογραφία υπάρχουν πολλές κλινικές μελέτες που αποδεικνύουν τη σημασία της Μεσογειακής διατροφής στην εξέλιξη ή διατήρηση της υγείας ανθρώπων με συγκεκριμένες ασθένειες όπως το έμφραγμα του μυοκαρδίου (Panagiotakos *et al*, 2009), η νόσος του Alzheimer (Scarmeas *et al*, 2006) και ο καρκίνος (Benettou *et al*, 2008).

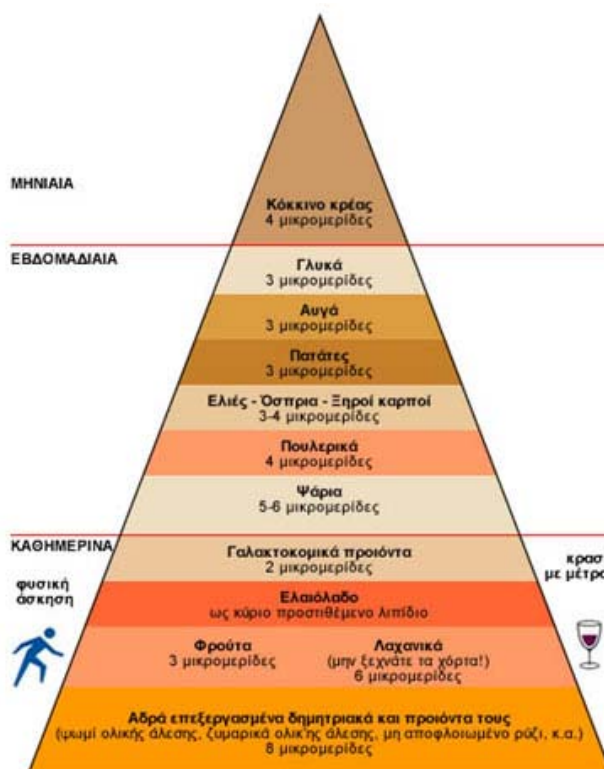
Πιο συγκεκριμένα το μοντέλο της Μεσογειακής διατροφής περιλαμβάνει:

- (α) την καθημερινή κατανάλωση μη επεξεργασμένων δημητριακών και άλλων προϊόντων (όπως το ψωμί ολικής άλεσης, ζυμαρικά, ρύζι κ.λπ., 8 μερίδες / ημέρα),
- (β) τα λαχανικά (2 με 3 μερίδες / ημέρα) και τα φρούτα (4 με 6 μερίδες / ημέρα),
- (γ) το ελαιόλαδο (σε καθημερινή μαγειρική ως η κύρια πηγή λιπαρών υλών)
- (δ) άπαχα ή χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά γαλακτοκομικά προϊόντα (όπως το τυρί, το γιαούρτι και το γάλα, 1 με 2 μερίδες / ημέρα),
- (ε) εβδομαδιαία κατανάλωση της πατάτας (4 με 5 μερίδες / εβδομάδα),
- (ζ) τα ψάρια (4 με 5 μερίδες / εβδομάδα),
- (η) ελιές, όσπρια και ξηροί καρποί (> 4 μερίδες / εβδομάδα) και
- (θ) πιο σπάνια πουλερικών (1 με 3 μερίδες / εβδομάδα), τα αυγά και γλυκά (1 με 3 μερίδες / εβδομάδα) και
- (ι) μηνιαία κατανάλωση κόκκινου κρέατος και προϊόντων κρέατος (4 με 5 μερίδες / μήνα).

Επίσης, υπάρχει και μέτρια κατανάλωση κρασιού (1 με 2 κρασιού-ποτήρια ημέρα), η οποία συνήθως συνοδεύει τα γεύματα. Επιπλέον, κύρια χαρακτηριστική πηγή γαλακτοκομικών είναι και η φέτα, η οποία συνοδεύει τα κυρίως γεύματα (Panagiotakos *et al*, 2006). Όπως είναι φυσικό η Μεσογειακή διατροφή συνοδεύεται από καθημερινή άσκηση (Εικόνα 13).

Έχει φανεί ήδη από το πρώτο κεφάλαιο ότι τα φρούτα και τα λαχανικά είναι τα περισσότερο πλούσια σε αντιοξειδωτικές ουσίες αλλά έχουν μελετηθεί για τη ολική αντιοξειδωτική τους ικανότητα όλες οι διατροφικές ομάδες. Δυστυχώς, κάθε εργαστηριακή ομάδα χρησιμοποιεί διαφορετική μέθοδο μέτρησης και υπολογισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας οπότε είναι αδύνατον να γίνει σύγκριση των αποτελεσμάτων. Η Pellegrini με τους συνεργάτες της (2003) ανέλυσαν πολλά δείγματα λαχανικών και φρούτων χρησιμοποιώντας τρεις μεθόδους ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, τις FRAP, TRAP και TEAC. Στον πίνακα 11 φαίνονται τα αποτελέσματά τους για τις δύο τελευταίες μεθόδους τα οποία εκφράζονται σε mmol Trolox / kg φρέσκου τροφίμου. Από τα αποτελέσματα αυτά παρατηρούμε ότι οι δύο μέθοδοι παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές ως προς την ολική αντιοξειδωτική

ικανότητα, π.χ. με τη μέθοδο TRAP τη μεγαλύτερη τιμή έχουν τα σπαράγγια ενώ με τη μέθοδο TEAC το σπανάκι.



Εικόνα 13 Διατροφική πυραμίδα της Μεσογειακής διατροφής.

	TRAP	TEAC		TRAP	TEAC
Αγκινάρα	6.85	1.55	Πιπεριά κόκκινη	5.47	8.40
Ρόκα	4.22	3.55	Τομάτα	1.31	1.65
Σπαράγγια	9.71	3.92	Γογγύλια	6.62	5.52
Παντζάρι	7.67	2.94	Κολοκύθια	-	2.86
Μπρόκολο	3.07	3.04	Μήλο κόκκινο	2.23	1.59
Καρότα	0.70	0.44	Βερύκοκα	2.29	1.44
Κουνουπίδι	1.61	1.10	Μπανάνα	1.05	0.64
Αγγούρια	-	0.43	Σύκα	2.06	2.47
Μελιτζάνα	2.82	1.10	Σταφύλια άσπρα	1.59	2.48
Μαρούλι	2.31	1.33	Ακτινίδιο	2.30	2.28
Μανιτάρια	6.26	4.93	Ελιές μαύρες	18.08	14.73
Κρεμμύδι	2.43	1.82	Ελιές πράσινες	14.64	10.43
Πατάτα	0.85	0.80	Δαμάσκηνο	8.09	5.11
Κολοκύθα	-	3.71	Φράουλες	8.56	10.94
Ραπανάκι	3.62	2.22	Μανταρίνια	2.76	4.16
Σπανάκι	5.79	8.49	Πεπόνι	0.46	0.69

Πίνακας 11 Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα φρούτων και λαχανικών (Pellegrini *et al*, 2003).

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων αυτών φαίνεται ότι διατροφικά συστατικά όπως η ρόκα, το δαμάσκηνο, οι φράουλες, το μπρόκολο, τα παντζάρια και η κόκκινη πιπεριά που υπάρχουν στη Μεσογειακή διατροφή έχουν υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα και συμβάλλουν στην αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού. Επιπλέον, η μεγάλη αντιοξειδωτική δυνατότητα των ελιών «προδίδει» την αντίστοιχη ικανότητα του ελαιολάδου στην αντιοξειδωτική προστασία του ανθρώπινου οργανισμού αφού είναι κυρίαρχο συστατικό της Μεσογειακής διατροφής.

Σε μια μελέτη αργότερα ο Wu και οι συνεργάτες του (2004) χρησιμοποίησαν τη μέθοδο ORAC τόσο για λιπόφιλα συστατικά (L-ORAC) όσο και για υδρόφιλα (H-ORAC) για να ερευνήσουν την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα διάφορων ομάδων τροφίμων όπως φρέσκα λαχανικά, ξηρούς καρπούς, ξηρά φρούτα και ρύζι ολικής αλέσεως. Η μέτρηση γίνεται σε μmol ισοδύναμων Trolox ανά g τροφίμου. Μέσα από τον πίνακα 12 φαίνεται καθαρά ότι η μέτρηση λιπόφιλων και υδρόφιλων αντιοξειδωτικών δίνει μια πλήρη εικόνα της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των τροφίμων αν και τα λιπόφιλα συστατικά παίζουν ρόλο κυρίως στους ξηρούς καρπούς και στα τρόφιμα ολικής άλεσης περισσότερο παρά στα φρέσκα φρούτα και λαχανικά. Από τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης φαίνεται ότι η κατανάλωση ξηρών καρπών και ξηρών φρούτων μπορεί να συμβάλλει σημαντικά στην προστασία του οργανισμού από την οξείδωση.

	L-ORAC	H-ORAC		L-ORAC	H-ORAC
Δαμάσκηνο	0.17	62.22	Μπρόκολο	1.72	14.18
Πεπόνι	0.19	1.23	Αμύγδαλα	1.72	42.82
Ακτινίδιο	0.24	8.58	Φυστίκι αιγίνης	4.25	75.57
Φράουλες	0.36	35.41	Κάσιους	4.16	15.23
Τομάτα	0.24	3.13	Σταφίδες ξηρές	0.35	30.02
Ραπανάκι	0.26	9.28	Δαμάσκηνα ξηρά	1.79	85.98
Πατάτα	0.51	12.72	Ρύζι ολ. άλεσης	154.7	88.17
Καρότα	0.59	11.56			

Πίνακας 12 Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα διάφορων τροφίμων (Wu *et al*, 2004).

Μια πιο πρόσφατη και ολοκληρωμένη μελέτη περιλαμβάνει και άλλες ομάδες τροφίμων όπως το κρέας, τα γαλακτοκομικά προϊόντα και τα δημητριακά, και χρησιμοποιεί τη μέθοδο FRAP για την μέτρηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητάς του ενώ τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mmol/ 100 g τροφίμου (Carlsen *et al*, 2010). Η μελέτη αυτή αν και πιο πλήρης είναι περισσότερο γενική αφού δίνει την αντιοξειδωτική ικανότητα των ομάδων τροφίμων και όχι για κάθε τρόφιμο ξεχωριστά (Πίνακας 13). Αυτός ο τρόπος αν και περιορισμένος μπορεί να

χρησιμοποιηθεί για υπολογισμό της εβδομαδιαίας ή μηνιαίας πρόσληψης σε αντιοξειδωτικά βάσει της πυραμίδας της Μεσογειακής διατροφής.

	mmol / 100g		mmol / 100g
Δημητριακά	1.09	Όσπρια	0.48
Σοκολάτες-γλυκά	4.93	Προϊόντα κρέατος	0.31
Γαλακτοκομικά προϊόντα	0.14	Καρποί	4.57
Επιδόρπια – πάστες	0.45	Πουλερικά	0.23
Αυγά	0.04	Σνακ – μπισκότα	0.58
Ψάρια – θαλασσινά	0.11	Μπαχαρικά	29.02
Φρούτα – χυμοί	1.25	Λαχανικά	0.80
Προϊόντα ολικής άλεσης	0.34	Συμπληρώματα βιταμινών	98.58
Βότανα	91.72	Λιπαρά – έλαια	0.51

Πίνακας 13 Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα ομάδων τροφίμων (Carlsen *et al*, 2010).

Μέσα από όλες αυτές τις μετρήσεις αλλά και άλλες οι οποίες δεν παρατίθενται εδώ, μαζί με κλινικές μελέτες που αποδεικνύουν ότι τα άτομα που ακολουθούν το πρότυπο της Μεσογειακής διατροφής είναι πιο υγιή ή αντιμετωπίζουν μια ασθένεια με μεγαλύτερη ευκολία, φαίνεται πως η διατροφή η οποία παρέχει τα απαραίτητα αντιοξειδωτικά συμβάλλει στην υγεία του ανθρώπου. Η διατροφή, όμως είναι ένα μέρος μόνο της διατήρησης της καλής υγείας. Σημαντικό ρόλο παίζει επίσης, και η καθημερινή άσκηση, το ευχάριστο ηλιόλουστο κλίμα των χωρών της Μεσογείου όπως και η διαδικασία λήψης της τροφής στο οικογενειακό ή/ και φιλικό τραπέζι (Perez – Lopez *et al*, 2013).

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ahamad, M.N., Saleemullah M., Shah H.U., Khalil I.A. and Saljoqi A.U.R. (2007). Determination of beta carotene content in fresh vegetables using high performance liquid chromatography, *Sarhad J. Agric.*, **23**, 767-770.
- Alves, C.M., Marzocchi-Machado C.M., Louzada-Junior P., Azzolini A.E., Polizello A.C., de Carvalho I.F. and Lucisano-Valim Y.M. (2008). Superoxide anion production by neutrophils is associated with prevalent clinical manifestations in systemic lupus erythematosus, *Clin Rheumatol*, **27**, 701–8.
- Anderson, E.J., Lustig M.E., Boyle C.E., et al. (2009). Mitochondrial H₂O₂ emission and cellular redox state link excess fat intake to insulin resistance in both rodents and humans, *Journal of Clinical Investigation*, **119**, 573–581.
- Annuk, M., Fellstrom B., Akerblom O., Zilmer K., Vihalemm T. and Zilmer M. (2001). Oxidative stress markers in pre-uremic patients. *Clin Nephrol.*, **56**, 308-314.
- Annunziata, M. G., Attico, A., Woodrow, P., Oliva, M. A., Fuggi, A. and Carillo, A. (2012). An improved fluorimetric HPLC method for quantifying tocopherols in *Brassica rapa* L. subsp. *sylvestris* after harvest, *Journal of Food Composition and Analysis*, **27**, 145–150.
- Apak, R., Guclu K., Demirata B., Ozyurek M., Celik S.E., Bektasoglu B. et al. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay, *Molecules*, **12**, 1496-1547.
- Araujo, G.S., Matos, L.J.B.L., Fernandes, J.O., Cartaxo, S.J.M., Goncalves, L.R.B., Fernandes, F.A.N., and Farias, W.R.L. (2013). Extraction of lipids from microalgae by ultrasound application: Prospection of the optimal extraction method, *Ultrasonics Sonochemistry*, **20**, 95–98.
- Arnao M.B. (2000). Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case, *Trends Food Sci Technol*, **11**, 419-421.
- Aryaeian, N., Shahram, F., Djalali, M., et al. (2009). Effect of conjugated linoleic acids, vitamin E and their combination on the clinical outcome of Iranian adults with active rheumatoid arthritis, *International Journal of Rheumatic Diseases* **12**, 20–28.
- Bae, S., Kim, S. and Sung, M. (2003). Inadequate antioxidant nutrient intake and altered plasma antioxidant status of rheumatoid arthritis patients, *Journal of the American College of Nutrition*, **22**, 311–315.
- Bartosz G., Janaszewska A., Ertel D. and Bartosz M. (1998) Simple determination of peroxy radical-trapping capacity. *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **46**, 519-528.
- Baskol G., Atmaca H., Tanriverdi F., Baskol M., Kocer D. and Bayram F. (2007) Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in patients with hypothyroidism before and after treatment, *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, **115**, 522–6.
- Battino M., Littarru G.P., Gorini A. and Villa R.F. (1996). Coenzyme Q, peroxidation and cytochrome oxidase features after Parkinson's-like disease by MPTP toxicity in intra-synaptic and non-synaptic mitochondria from *Macaca fascicularis* cerebral cortex and hippocampus: Action of dihydroergocriptine, *Neurochem. Res.*, **21**, 1505–1514.
- Barbas, C., Gomez-Coronado, D.J.M., Ibynez, E. and Ruperez, F.J. (2004). Tocopherol measurement in edible products of vegetable origin, *Journal of Chromatography A*, **1054**, 227–233.

- Barbas C. and Herrera E. (2001). Vitamin E: action, metabolism and perspectives, *Journal of Physiology and Biochemistry*, **57**, 43–56.
- Bardet E., Martin L., Calais G., Tuchais C., Bourhis J., Rhein B., et al. (2002). Preliminary data of the GORTEC 2000-02 phase III trial comparing intravenous and subcutaneous administration of amifostine for head and neck tumors treated by external radiotherapy, *Sem Oncol*, **29**, 57–60.
- Bardia A., Tleyjeh I.M., Cerhan J., Sood A.K., et al. (2008). Efficacy of antioxidant supplementation in reducing primary cancer incidence and mortality: systematic review and met-analysis, *Mayo Clin Proc.*, **83**, 23-34.
- Barnett, Y.A., and King, C.M. (1995). Investigation of antioxidant status. DNA-repair capacity and mutation as a function of age in humans, *Mut. Res.*, **338**, 115–128.
- Beal M.F. (2004). Mitochondrial dysfunction and oxidative damage in Alzheimer's and Parkinson's diseases and coenzyme Q10 as a potential treatment, *J. Bioenerg. Biomembr.*, **36**, 381–386.
- Benetou V., Trichopoulou A., Orfanos P., Naska A., Lagiou P., Boffetta P. and Trichopoulos D. (2008). Conformity to traditional Mediterranean diet and cancer incidence: the Greek EPIC cohort, *British Journal of Cancer*, **99**, 191–195.
- Benzie I.F.F., Chung W.Y. and Strain J.J. (1999). Antioxidant (reducing) efficiency of ascorbate in plasma is not affected by concentration, *J Nutr Biochem*, **10**, 146-150.
- Bergeron C., Gafner S., Clausen E., and Carrier D.J. (2005). Comparison of the Chemical Composition of Extracts from *Scutellaria lateriflora* Using Accelerated Solvent Extraction and Supercritical Fluid Extraction versus Standard Hot Water or 70% Ethanol Extraction, *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 3076-3080.
- Bergendi L., Benes L., Durackova Z., Ferencik M., Chemistry, physiology and pathology of free radicals, *Life Science*, **65** (1999), 1865-1874.
- Berry, C.E. and Hare J.M. (2004). Xanthine oxidoreductase in the cardiovascular system: Molecular mechanisms and pathophysiologic implications, *J. Physiol.*, **555**, 589–606.
- Bhabak K.P. and Mugesh G. (2010). Functional Mimics of Glutathione Peroxidase: Bioinspired Synthetic Antioxidants, *Acc. Chem. Res.*, **43**, 1408–1419.
- Bjelakovic, G., Nikolova, D., Simonetti, R.G. and Gluud, C. (2004). Antioxidant supplements for preventing gastrointestinal cancers." *Cochrane Database of Systematic Reviews* 4, CD004183–389.10.1002/ 14651858.CD004183.pub2.
- Blake C.J. (2007). Analytical procedures for water-soluble vitamins in foods and dietary supplements: a review, *Anal. Bioanal. Chem.*, **389**, 63-76.
- Ble-Castillo J.L., Carmona-Díaz E., Méndez J.D. et al. (2005). Effect of [alpha]-tocopherol on the metabolic control and oxidative stress in female type 2 diabetics, *Biomed Pharmacother*, **59**, 290-295.
- Boaz M., Smetana S., Weinstein T., et al. (2000). Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in endstage renal disease (SPACE): randomised placebo controlled trial, *Lancet*, **356**, 1213-1218.
- Brizel D.M., Wasserman T.H., Henke M., Strnad V., Rudat V., Monnier A., et al. (2000). Phase III randomized trial of amifostine as a radioprotector in head and neck cancer, *J Clin Oncol*, **18**, 3339–3345.
- Buettner G.R. (1993). The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, [alpha]-tocopherol, and ascorbate, *Arch. Biochem. Biophys.*, **300**, 535–543.
- Buettner G.R. and Jurkiewicz B.A. (1996) Catalytic metals, ascorbate and free radicals: combinations to avoid, *Radiat. Res.*, **145**, 532–541.

- Burton G.W. and Ingold K.U. (1984). β -carotene: an unusual type of lipid antioxidant, *Science*, **224**, 569-573.
- Bush A. I. (2003). The metallobiology of Alzheimer's disease, *Trends Neurosci.*, **26**, 207-214.
- Butterfield D. A., Castegna A., Lauderback C. M. and Drake J., (2002). Evidence that amyloid beta-peptide-induced lipid peroxidation and its sequelae in Alzheimer's disease brain contribute to neuronal death, *Neurobiol. Aging*, **23**, 655-664.
- Cadenas E. (1997). Basic mechanisms of antioxidant activity, *Biofactors*, **6**, 391-397.
- Cadenas E. and Davies K. J. A. (2000). Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic. Biol. Med.*, **29**, 222-230.
- Cadenas E. and Sies H. (1998). The lag phase, *Free Radic. Res.*, **28**, 601-609.
- Cadet J., Delatour T., Douki T., Gasparutto D., Pouget J.P., Ravanat J.L. and Sauvaigo S. (1999). Hydroxyl radicals and DNA base damage, *Mutat Res*, **424**, 9-21.
- Candan F., Gultekin F. and Candan F. (2002). Effect of vitamin C and zinc on osmotic fragility and lipid peroxidation in zinc-deficient haemodialysis patients, *Cell Biochem Funct*, **20**, 95-98.
- Cao G., Alessio H.M. and Cutler R.G. (1993). Oxygenradical absorbance capacity assay for antioxidants, *Free Radical Biology and Medicine*, **14**, 303-311.
- Cao G., Sofic E. and Prior R. L. (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships, *Free Radical Biol. Med.*, **22**, 749-760.
- Carlsen M.H., Halvorsen B.L., Holte K., Bohn S.K., et al. (2010). The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide, *Nutrition Journal*, **9**, 3.
- Casani S., Gomez-Pastor R., Matallana E. and Paricio N. (2013). Antioxidant compound supplementation prevents oxidative damage in a Drosophila model of Parkinson's disease, *Free Rad. Biol. Med.*, **61**, 151-160.
- Ceriello A, Giugliano D, Quatraro A et al. (1991) Vitamin E reduction of protein glycosylation in diabetes. New prospect for prevention of diabetic complications?, *Diabetes Care*, **14**, 68-72.
- Chang S., Ma T. R., Miranda R. D., Balestra M. E., Mahley R. W. and Huang Y., (2005). Lipid- and receptor-binding regions of apolipoprotein E4 fragments act in concert to cause mitochondrial dysfunction and neurotoxicity, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **102**, 18694-18699.
- Chao J., Leung Y., Wang M. and Chang R C-C. (2012). Nutraceuticals and their preventive or potential therapeutic value in Parkinson's disease, *Nutrition Reviews*, **70**, 373-386.
- Chao J.C.J., Yuan M.D., Chen P.Y. et al. (2002). Vitamin C and E supplements improve the impaired antioxidant status and decrease plasma lipid peroxides in hemodialysis patients, *J Nutr Biochem*, **13**, 653-663.
- Chen Q., Espey M.G., Krishna M.C., Mitchell J.B., Corpe C.P., Buettner G.R., Shacter E. and Levine M. (2005) Pharmacologic ascorbic acid concentrations selectively kill cancer cells: action as a pro-drug to deliver hydrogen peroxide to tissues, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **102**, 13604-13609.
- Chen H., Karne R.J., Hall G. et al. (2006). High-dose oral vitamin C partially replenishes vitamin C levels in patients with type 2 diabetes and low vitamin C levels but does not improve endothelial dysfunction or insulin resistance, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **290**, H137-45.

- Chitra S. and Shamalaya Devi C.S. (2008). Effects of radiation and alpha-tocopherol on saliva flow rate, amylase activity, total protein and electrolyte levels in oral cavity cancer, *Indian J Dent Res*, **19**, 213–218.
- Choi, E.J., Bae, S.C., Yu, R., Youn, J. and Sung, M.K. (2009). Dietary vitamin E and quercetin modulate inflammatory responses of collagen-induced arthritis in mice, *Journal of Medicinal Food*, **12**, 770–775.
- CIQUAL, 2012, <http://www.ansespro.fr/TableCIQUAL/index.htm>.
- Clark, L.C., Combs Jr., G.F., Turnbull, B.W., et al. (1996). Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. A randomized controlled trial, *Nutritional Prevention of Cancer Study Group. Journal of the American Medical Association*, **276**, 1957–1963.
- Clark L.C., Combs G.F. Jr, Turnbull B.W., et al. Nutritional Prevention of Cancer Study Group. (1996). Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin: a randomized controlled trial [διόρθωση έχει δημοσιευτεί στο JAMA. 277 (1997), 1520], *JAMA*, **276**, 1957-1963.
- Cleren C., Yang L., Lorenzo B., Calingasan N.Y., Schomer A., Sireci A., Wille E.J. and Beal M.F. (2008). Therapeutic effects of coenzyme Q10 (CoQ10) and reduced CoQ10 in the MPTP model of Parkinsonism, *J. Neurochem.*, **104**, 1613–1621.
- Cook D.G., Carey I.M., Whincup P.H., Papacosta O., Chirico S., Bruckdorfer K.R., et al. (1997) Effect of fresh fruit consumption on lung function and wheeze in children, *Thorax*, **52**, 628-633.
- Crapo J.D., Oury T., Rabouille C., Slot J.W. and Chang L.Y., (1992). Copper, zinc superoxide dismutase is primarily α cytosolic protein in human cells, *Proc Nat Acad Sci USA*, **89**, 10405-10409.
- Crozier A., Clifford M.N. and Ashihara H., 2006, *Plant secondary metabolites. Occurrence, structure and role in the human diet*, Blackwell Publishing.
- Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, et al. (1987) Oxygen radicals and human disease, *Ann Intern Med.*, **107**, 526-545.
- Cruz R. and Casal S. (2013). Validation of a fast and accurate chromatographic method for detailed quantification of vitamin E in green leafy vegetables, *Food Chemistry*, **141**, 1175 – 1180.
- Cuajungco M. P. and Faget K. Y. (2003). Zinc takes the center stage: Its paradoxical role in Alzheimer's disease, *Brain Res. Rev.*, **41**, 44–56.
- Cunningham J.J., Mearkle P.L., Brown R.G. (1994). Vitamin C: an aldose reductase inhibitor that normalizes erythrocyte sorbitol in insulin-dependent diabetes mellitus, *J Am Coll Nutr*, **13**, 344.
- Deepak P., Vivekananthan D.P., Penn M.S., Sapp S.K, Hsu A. and Topol E.J. (2003). Use of antioxidant vitamins for the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of randomised trials, *Lancet*, **361**, 2017-2023.
- DeLange R. J. and Glazer A. N. (1989). Phycoerythrin fluorescence-based assay for peroxy radicals: a screen for biologically relevant protective agents, *Anal. Biochem.*, **28**, 300-306
- De la Torre Boronat M.C. Lopez Tamames E. (1997). El papel de los antioxidantes: 1. En la tecnología de los alimentos 2. En la biodegradación oxidativa del organismo, *Alimentaria Junio*, 19–27.
- Devereux G, McNeill G, Newman G, Turner S, Craig L, Martindale S, et al. (2007). Early childhood wheezing symptoms in relation to plasma selenium in pregnant mothers and neonates, *Clin Exp Allergy*, **37**, 1000-1008.

- Diepeveen S.H., Verhoeven G.H., van der Palen J., Dikkeschei B.L., van Tits L.J., Kolsters G., et al. (2004). Oxidative stress in patients with end-stage renal disease prior to the start of renal replacement therapy, *Nephron Clin Pract.*, **98**, c3-7.
- Dikalov S. I., Vitek M. P. and Mason R. P. (2004). Cupric-amyloid beta peptide complex stimulates oxidation of ascorbate and generation of hydroxyl radical, *Free Radic. Biol. Med.*, **36**, 340–347.
- Dizdarglu M., Jaruga P., Birincioglu M. and Rodriguez H. (2002). Free radical-induced damage to DNA: Mechanisms and measurement, *Free Rad Biol Med*, **32**, 1102-1115.
- Dos Santos Silva I., Mangtani P., McCormack V., Bhakta D., Sevak L. and McMichael A.J. (2002). Lifelong vegetarianism and risk of breast cancer: a population-based case-control study among South Asian migrant women living in England, *Int J Cancer*, **99**, 238–244.
- Drisko J.A., Chapman J. and Hunter V.J., (2003). The use of antioxidants with first-line chemotherapy in two cases of ovarian cancer, *J. Am. Coll. Nutr.*, **22**, 118–123.
- Droge W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function, *Physiol. Rev.*, **82**, 47–95.
- Du J., Martin S.M., Levine M., Wagner B.A., Buettner G.R., Wang S.H., Taghiyev A.F., Du C., Knudson C.M. and Cullen J.J. (2010). Mechanisms of ascorbate-induced cytotoxicity in pancreatic cancer, *Clin. Cancer Res.*, **16**, 509–520.
- Dugdale 2011 <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/000816.htm>
- Du Toit R., Volsteadt Y. and Apostolides Z. (2001). Comparison of the antioxidant content of fruits, vegetables and teas measured as vitamin C equivalents, *Toxicology*, **166**, 63–69.
- Dworski R., Roberts L.J. II, Murray J.J., Morrow J.D., Hartert T.V. and Sheller J.R. (2001). Assessment of oxidant stress in allergic asthma by measurement of the major urinary metabolite of F2-isoprostane, 15-F2t-IsoP (8-iso-PGF2alpha), *Clin Exp Allergy*, **31**, 387–390.
- Δημοσθενόπουλος X., «Συνέντευξη Q10: Τι είναι, που το βρίσκουμε και πόσο σημαντικό είναι για την υγεία μας», 2004, <http://www.iatronet.gr/diatrofi/threptikes-oysies/article/634/synenzymo-q10-ti-einai-poy-to-vriskoyme-kai-poso-simantiko-einai-gia-tin-ygeia-mas.html>
- Edmonds S.E., Winyard P.G., Guo R., et al. (1997). Putative analgesic activity of repeated oral doses of vitamin E in the treatment of rheumatoid arthritis. Results of a prospective placebo controlled double blind trial, *Annals of Rheumatic Disease* **56**, 649–655.
- Eiselt J, Racek J, Opatrny Jr K et al. (2006). The effect of intravenous iron on oxidative stress in hemodialysis patients at various levels of vitamin C, *Blood Purif*, **24**, 531–537.
- El-Kadi A.O.S., Gharavi N. and Haggarty S. (2007). Chemoprotective and carcinogenic effects of tert-butylhydroquinone and its metabolites, *Current Drug Metabolism*, **8**, 1-7.
- El-Kholy MS, Gas Allah MA, El-Shimi S, El-Baz F, El-Tayeb H and Andel-Hamid MS. (1990). Zinc and copper status in children with bronchial asthma and atopic dermatitis, *J Egypt Public Health Assoc*, **65**, 657-668.
- Ermis B, Armutcu F, Gurel A, Kart L, Demircan N, Altin R, et al. (2004). Trace elements status in children with bronchial asthma, *Eur J Gen Med*, **1**, 4-8.

- Escribano-Bailón M.T., Santos-Buelga C., 2003, "Polyphenol Extraction from Food", *Methods in Polyphenol Analysis*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, U.K., 1-16.
- Espey M.G., Chen P., Chalmers B., Drisko J., Sun A.Y., Levine M. and Chen Q. (2011). Pharmacologic ascorbate synergizes with gemcitabine in preclinical models of pancreatic cancer, *Free Radic. Biol. Med.*, **50**, 1610–1619.
- Fang Y.Z., Yang S. and Wu G. (2002). Free radicals, antioxidants and nutrition, *Nutrition*, **18**, 872-879.
- Fahn S. (2010). Parkinson's disease: 10 years of progress, 1997–2007, *Mov Disord.* **25**, S2–S14.
- Farvid MS, Jalali M, Siassi F. and Hosseini M. (2005). Comparison of the effects of vitamins and/or mineral supplementation on glomerular and tubular dysfunction in type 2 diabetes, *Diabetes Care*, **28**, 2458-2464.
- Fariss M.W. and Zhang J-G. (2003). Vitamin E therapy in Parkinson's disease, *Toxicology*, **189**, 129-146.
- Feng Y. and Wang X. (2012). Antioxidant therapies for Alzheimer's disease, *Oxid. Med. Cel. Long.*, Article ID 472932.
- Fink S.P., Reddy G.R. and Marnett L.J., (1997). Mutagenicity in Escherichia Coli of the major DNA adduct derived from the endogenous mutagen malondialdehyde, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 10895-10900.
- Florkowski C.M., Molyneux S.L., George P.M., Pilbrow A.P., Frampton C.M., Lever M. and Richards A.M. (2008). Coenzyme Q10 : An Independent Predictor of Mortality in Chronic Heart Failure, *Journal of the American College of Cardiology*, **52**, 1435–1441.
- Folkers K., Morita M. and McRee J., (1993). The activities of coenzyme Q10 and vitamin B6 for immune responses, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **193**, 88–92.
- Foote C.S. and Denny R.W. (1968). Chemistry of singlet oxygen. VII. Quenching by β -carotene, *J. Am. Chem. Soc.*, **90**, 6233-6235.
- Fossel, M., 2003, *Cells, Aging and Human Disease*. New York: Oxford University Press.
- Foti M. and Ruberto G. (2001). Kinetic Solvent Effects on Phenolic Antioxidants Determined by Spectrophotometric Measurements, *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 342-348.
- Frankel, E. N. and Meyer, A. S. (2000). The problems of using one dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants, *J. Sci. Food Agric.*, **80**, 1925-1941.
- Fraser G.E. (1999). Associations between diet and cancer, ischemic heart disease, and all-cause mortality in non-Hispanic white California Seventh-day Adventists, *Am J Clin Nutr*, **70**, 532S–538S.
- Frei B., England L. and Ames B.N. (1989). Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **86**, 6377–6381.
- Freudenberg K. & Nash A.C. (eds), 1968 *Constitution and Biosynthesis of Lignin*. Berlin: Springer-Verlag.
- Freudenheim, J.L., Johnson, N.E. and Smith, E.L. (1986). Relationships between usual nutrient intake and bone-mineral content of women 35–65 years of age: longitudinal and cross-sectional analysis, *American Journal of Clinical Nutrition* **44**, 863–876.

- Fuchs-Tarlovsky V., Bejarano M., Gutierrez G., Casillas M.A., Lopez J.C. and Caballos G.M. (2011). Effect of antioxidant supplementation on oxidative stress and quality of life in cervical cancer, *Nutr Hosp*, **26**, 819–826.
- Galle J. (2001). “Oxidative stress in chronic renal failure.” *Nephrology Dialysis Transplantation*, **16**, 2135–2137.
- Gelderman, K. A., Hultqvist, M., Olsson, L. M., Bauer, K., Pizzolla, A., Olofsson, P., Ghafourifar P., Cadenas E., (2005) “Mitochondrial nitric oxide synthase”, *Trends Pharmacol. Sci.*, **26**, 190–195.
- Ghafourifar P, Mousavizadeh K, Parihar MS, Nazarewicz RR, Parihar A, Zenebe WJ. (2008) “Mitochondria in multiple sclerosis.” *Front Biosci*, **13**, 3116–26.
- Giardini O, Taccone-Gallucci M, Lubrano R et al. (1984) “Effects of alphas-tocopherol administration on red blood cell membrane lipid peroxidation in hemodialysis patients.” *Clin Neph*, **21**, 174–177.
- Gimeno, E., E. Calero, A. I. Castellote, R. M. Lamuela-Raventos, M. C. de la Torre, Lopez-Sabater M.C., (2000) “Simultaneous determination of α -tocopherol and β -carotene in olive oil by reversed-phase high-performance liquid chromatography” *J. Chromatogr. A.*, **881**, 255–259.
- GISSI Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell’ Infarto miocardico. “Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial.” (1999) *Lancet* **354**, 447–455.
- GISSI, Marchioli R, Levantesi G, Macchia A, Marfisi RM, Nicolosi GL, Tavazzi L, Tognoni G, Valagussa F. (2006) “Vitamin E increases the risk of developing heart failure after myocardial infarction: Results from the GISSI-Prevenzione trial.” *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* **7**, 347–350.
- Goel S, Agarwal SB, Mandal A-K, Singhal K, Agarwal T. (1999) “Emerging role of ascorbic acid in the management of advanced breast carcinoma as a chemosensitizer.” *Asian J Surg*, **22**, 333–6.
- Goodsell DS., 2004, "Catalase". *Molecule of the Month*. RCSB Protein Data Bank.
- Graumlich J.F., Ludden T.M., Conry-Cantilena C., Cantilena L.R.J., Wang Y., Grogan M, Thomas G, Melamed I, Wong FL, Pearcey RG, Joseph PK, et al. (1999) “The importance of hemoglobin levels during radiotherapy for carcinoma of the cervix.” *Cancer*, **86**, 1528–1536.
- Groner Y., Elroy-Sterol O., Avraham K.B., Schickler M., Knobler H., Minc-Golomb D., Bar-Peled O., Yarom R., Rotshenker S., (1994) “Cell damage by excess CuZnSOD and down's syndrome”, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **48**, 231–237.
- Guzman, I., Yousef, G. G., & Brown, A. F., (2012) “Simultaneous extraction and quantitation of carotenoids, chlorophylls, and tocopherols in brassica vegetables”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **60**, 7238–7244.
- Hagfors, L., Leanderson, P., Skoldstam, L., Andersson, J., Johansson, G.,. (2003) “Antioxidant intake, plasma antioxidants and oxidative stress in a randomized, controlled, parallel, Mediterranean dietary intervention study on patients with rheumatoid arthritis”. *Nutrition Journal*, **2**, AG5
- Halliwell B., (1999) “Oxygen and nitrogen are pro-carcinogens. Damage to DNA by reactive oxygen, chlorine and nitrogen species: measurement, mechanism and the effects of nutrition.” *Mutation Research*, **443**, 37–52.
- Halliwell B. (1997) “Antioxidants and human disease: a general introduction.” *Nutrition Reviews* **5**, 544–552.

- Halliwell B., (1994) "Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence?", *Lancet*, **344**, 721-724.
- Halliwell B., (2006) "Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now?", *J Neurochem.*, **97**, 1634–1658.
- Halliwell B. 2001 Free Radicals and other reactive species in disease. *Encyclopedia of life sciences*, UK, Nature Publishing Group, 1-7
- Halliwell B., Evans P., (2001) "Micronutrients: oxidant/antioxidant status", *Brit. J. Nutr.*, **85**, S67-S74.
- Halliwell B., Gutteridge M.C., 1998, *Free radicals in biology and medicine*, UK, Oxford Science Publications Third Edition.
- Halliwell B., Murcia M.A., Chirico S., Aruoma O.I. (1995) "Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work." *Crit Rev Food Sci Nutr* **35**, 7-20.
- Halliwell B., Whiteman M., (2004) "Measuring reactive oxygen species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?" *Br J Pharm*, **142**, 231-255.
- Hare, J. M., & Stamler, J. S. (2005) "NO/redox disequilibrium in the failing heart and cardiovascular system." *J. Clin. Invest.*, **115**, 509–517.
- Harman, D. (1956) "Aging—A theory based on free-radical and radiation-chemistry." *J. Gerontol.*, **11**, 298–300.
- Harrison D.G., Fukai T., Gravanis M., Murphy N., Wilson D.S., Wall S.M., Ozumi K., Martin W.D., Guzik T.J., Landmesser U., Lob H.E., Gongora M.C., (2008) "Loss of Extracellular Superoxide Dismutase Leads to Acute Lung Damage in the Presence of Ambient Air: A Potential Mechanism Underlying Adult Respiratory Distress Syndrome", *The American Journal of Pathology*, **173**, 915–926.
- Hasnain S.S., Antonyuk S.V., Strange R.W., Marklund S.L., (2009) "The structure of human extracellular copper-zinc superoxide dismutase at 1.7 Å resolution: insights into heparin and collagen binding", *J. Mol. Biol*, **388**, 310-326.
- Hassan MQ, Hussain SA, Zaki MA et al. (1995) "Protective effects of antioxidants against uraemia-induced lipid peroxidation and glutathione depletion in humans." *Pharmacol Toxicol*, **77**, 407–411.
- Hawkins C.L., Morgan P.E., Davies M.J., (2009) "Quantification of protein modification by oxidants", *Free Rad Biol Med*, **46**, 965-988.
- Hayflick, L. "How and why we age." *Exp. Gerontol.*, **33** (1998), 639–653.
- Helmenstein A.M., 2014, "Chemistry of BHA and BHT Food Preservatives", <http://chemistry.about.com/od/foodcookingchemistry/a/bha-bht-preservatives.htm>
- Henriksen E.J., 2013, "Role of Oxidative Stress in the Pathogenesis of Insulin Resistance and Type 2 Diabetes", *Bioactive food as dietary interventions for diabetes*, Elsevier Inc. 1-15.
- Henriksen, E.J., (2002) "Invited review: effects of acute exercise and exercise training on insulin resistance." *Journal of Applied Physiology* **93**, 788–796.
- Herbert Y.L., 2011 <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/000471.htm>
- Hercberg S, Galan P, Preziosi P, et al. (2004) "The SU.VI.MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals" [διόρθωση έχει δημοσιευτεί στο *Arch Intern Med.*, **165** (2005), 286]. *Arch Intern Med.*, **164**, 2335-2342.

- Hertog M.G.L., Hollman P.C.H., Katan M.B., (1992) "Content of potentially anti-carcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands", *J. Agric. Food. Chem.*, **40**, 2379-2383.
- Himmelfarb J, McMonagle E. (2001) "Albumin is the major plasma protein target of oxidant stress in uremia." *Kidney Int.*, **60**, 358-363.
- Hodkova M, Dusilova-Sulkova S, Skalicka A et al. (2005) "Influence of parenteral iron therapy and oral vitamin E supplementation on neutrophil respiratory burst in chronic hemodialysis patients." *Ren Fail*, **27**, 135-141.
- Holmdahl R., (2007) "Rheumatoid arthritis: the role of reactive oxygen species in disease development and therapeutic strategies", *Antioxid. Redox Signaling* **9**, 1541-1567.
- Ho J.-N., Watson R.R., Lee J., 2013, "Dietary Supplements, Immune Modulation, and Diabetes Control", *Bioactive Food as Dietary Interventions for Diabetes*, Elsevier Inc, 111- 119.
- Hong JH, Kim MJ, Park MR, Kwang AJ, Lee IS, Byun BH, et al. (2004) "Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin induced diabetic rats." *Clinic Chimic Acta*, **340**, 107-115.
- Howard L.A., Wong A.D., Perry A.K., Klein B.P., (1999) "β-Carotene and ascorbic acid retention in fresh and processed vegetables", *J. Food Science*, **64**, 929-936.
- Huang D., Ou B., Hampsch-Woodill M., Flanagan J., Deemer E., (2002) "Development and validation of oxygen radical absorbance capacity assay for lipophilic antioxidants using randomly methylated β-cyclodextrin as the solubility enhancer." *J. Agric. Food Chem.* **50**, 1815-1821.
- Huang D., Ou B., Prior R.L., (2005) "The chemistry behind antioxidant capacity assays." *J Agric Food Chem* **53**, 1841-1856.
- Huang F.F., Zhao Y.F., Li J.G., Wu Y.N., (2011) "Determination of polybrominated diphenyls ethers in human serum using solid-phase extraction and gas chromatography coupled negative chemical ionisation mass spectrometry", *Chin. J. Chromatogr.*, **29**, 743-749.
- Huang SL, Pan WH. (2001) "Dietary fats and asthma in teenagers: analysis of the first Nutrition and Health Survey in Taiwan (NAHSIT)." *Clin Exp Allergy*, **31**, 1875-1880.
- Huang T., Yang B., Zheng J., Li G., Wahlqvist M.L., Li D., (2012) "Cardiovascular disease mortality and cancer incidence in vegetarians: a metaanalysis and systematic review." *Ann Nutr Metab* **60**, 233-240.
- Hyun, T.H., Barrett-Connor, E., Milne, D.B., (2004) "Zinc intakes and plasma concentrations in men with osteoporosis: the Rancho Bernardo study." *American Journal of Clinical Nutrition* **80**, 715-721.
- Iverson F., (1995) "Phenolic antioxidants: health protection branch studies on butylated hydroxyanisole", *Cancer letters*, **93**, 49-54.
- Jankovic J., Tolosa E., 1998 "Parkinson's Disease and Movement Disorders", Williams & Wilkins: Baltimore, MD, USA, 67-103.
- Justesen U., Knuthsen P., Leth T., (1998) "Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruit, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection", *J. Chromat. A.*, **799**, 101-110.
- Kamat C. D., Gadgil S., Mhatre M., Williamson K. S., Pye Q. N., Hensley K., (2008) "Antioxidants in central nervous system diseases: preclinical promise and translational challenges," *Journal of Alzheimer's Disease*, **15**, 473-493.

- Kaplan L.A., Lau J.M., Stein E.A., (1990) "Carotenoid composition, concentrations and relationships in various human organs", *Clin. Physiol. Bioshem.*, **8**, 1-10.
- Karadag A., Oselik B., Saner S., (2009) "Review of methods to determine antioxidant capacities", *Food Anal. Methods* **2**, 41-60.
- Kaufman B.P., Cseke L.J., Warber S., Duke J.A., Brielamnn H.L., 1999, *Natural products from plants*, CRC Press.
- Kennedy T.A., Liebler D.C., (1992) "Peroxyl radical scavenging by β -carotene in lipid bilayers", *J. Biol. Chem.*, **267**, 4658-4663.
- Key T.J., Appleby P.N., Spencer E.A., Travis R.C., Allen N.E., Thorogood M. et al., (2009) "Cancer incidence in British vegetarians." *Br J Cancer* **7**, 192-197.
- Khan M.K., Huma Z.E., Dangles O., (2014) "A comprehensive review on flavanones, the major citrus polyphenols", *J. Food Comp. Anal.*, **33**, 85-104.
- Kirsh VA, Hayes R.B., Mayne S.T., Chatterjee N., Subar A.F., et al., (2006) "Supplemental and dietary vitamin E, beta-carotene, and vitamin C intakes and prostate cancer risk." *J Natl Cancer Inst* **98**, 245-254.
- Klaunig J.E., Kamendulis L.M., (2004) "The role of oxidative stress in carcinogenesis", *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, **44**, 239-67.
- Klein B.C., Walter C., Lange H.A., Buchholz R., (2012) "Microalgae as natural sources for antioxidative compounds", *J. Appl. Phycol.*, **24**, 1133-1139.
- Klein E.A., Thompson I.M., Tangen C.M., Crowley J.J., Lucia M.S., Goodman P.J., et al, (2011) "Vitamin E and the risk of prostate cancer: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT)." *JAMA* **306**, 1549-1556.
- Knekt P., Reunanen A., Jarvinen R., Seppanen R., Heliovaara M., Aromaa A., (1994) "Antioxidant vitamin intake and coronary mortality in a longitudinal population study". *Am. J. Epidemiol.*, **139**, 1180-1189.
- Knutson M.D., Walter P.B., Ames B.N., Viteri F.E., "Both iron deficiency and daily iron supplements increase lipid peroxidation in rats", *Journal of Nutrition* **130** (1999), 621-628.
- Zidenberg-Cherr S., Keen C.L., (1991), "Trace Elements, micronutrients, and free radicals", *Essential Trace Elements in Antioxidant Processes*, 107. Totowa, NJ: The Humana Press Inc.
- Kocabas CN, Adalioglu G, Coskun T, Tuncer A, Sekerel BE. (2006) "The relationship between serum selenium levels and frequent wheeze in children." *Turk J Pediatr*, **48**, 308-312.
- Koenig JS, Fischer M, Bulant E et al. (1997) "Antioxidant status in patients on chronic hemodialysis therapy: impact of parenteral selenium supplementation." *Wien Klin Wochenschr*, **109**, 13-19.
- Komaki R, Lee JS, Kaplan B, Allen P, Kelly JF, Liao Z, et al. (2002) "Randomized phase III study of chemo radiation with or without amifostine for patients with favorable performance status inoperable stage II and III non small cell lung cancer: preliminary results." *Semin Radiat Oncol*, **12**, 46-49.
- Koppula S., Kumar H., More S.V., Kim B.W., Kim I.S., Choi D.K., (2012) "Recent advances on the neuroprotective potential of antioxidants in experimental models of Parkinson's disease", *Int. J. Mol. Sci.*, **13**, 10608-10629.
- Κουτκιά-Μυλωνάκη Π., Αρχοντάκη Ι., Καρπαθίου Β., Κεχαγιά Ι., Λιδωρίκη Α., Τσιότσιου Ο., «Βιταμίνες. Ο ρόλος τους στη ζωή μας», http://www.hygeia.gr/page.aspx?p_id=955

- Κουφάκη Μ., 2002, «Αντιοξειδωτικά και καρδιαγγειακά νοσήματα», *Χημεία και Υγεία: η χημεία ως εργαλείο για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων*, 67 – 79, Αθήνα, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών.
- Kraus A., Roth H.P., Kirchgessner M., (1997) “Influence of vitamin C, vitamin E and beta-carotene on the osmotic fragility and the primary antioxidant system of erythrocytes in zinc-deficient rats”, *Archives fur Tierernahrung* **50**, 257-269.
- Kritharides L, Stocker R. (2002) “The use of antioxidant supplements in coronary heart disease.” *Atheroscler*, **164**, 211-219.
- Kukreja, R. C., & Hess, M. L. (1992) “The oxygen free-radical system—From equations through membrane–protein interactions to cardiovascular injury and protection.” *Cardiovasc. Res.*, **26**, 641–655.
- Kuruppu D., Hendrie H.C., Yang L., Gao S., (2013) “Selenium levels and hypertension: a systematic review”, *Public Health Nutrition*, 1- 11.
- Lau, A., Villeneuve, N. F., Sun, Z., Wong, P. K., Zhang, D. D., (2008) “Dual roles of Nrf2 in cancer”, *Pharmacol. Res.*, **58**, 262–270.
- Leonard, S. S., Harris, G. K., & Shi, X. (2004) “Metal-induced oxidative stress and signal transduction.” *Free Radic. Biol. Med.*, **37**, 1921–1942.
- Lester R.L., Crane F.L., (1959) “The natural occurrence of coenzyme Q and related compounds”, *J. Biol. Chem.*, **234**, 2169-2175.
- Levine M., (1997) “Pharmacokinetic model of ascorbic acid in healthy male volunteers during depletion and repletion”, *Pharm. Res.*, **14**, 1133–1139.
- Levine R.L., Garland G., Olivier C.N., Amici A., Climent I., Lenz A., (1990) “Determination of carbonyl content of oxidatively modified proteins”, *Meth Enzymol*, **186**, 464-478.
- Li, D.S., Warnock, G.L., Tu, H.J., et al., (2009) “Do immunotherapy and b cell replacement play a synergistic role in the treatment of type 1 diabetes?” *Life Sciences* **85**, 549–556.
- Li W, Xu B, Xu J, Wu XL. (2009) “Procyanidins produce significant attenuation of doxorubicin-induced cardiotoxicity via suppression of oxidative stress.” *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, **104**, 192–197.
- Λιανίδη Β., «Καροτενοειδή και β-καροτένιο», 2012, <http://www.rsts.gr/infobank/index.asp?xkey=348>
- Liochev S.I., Fridovich I., (1994) “The role of O₂ in the production of OH: In vitro and in vivo”, *Free Radic. Biol. Med.*, **16**, 29-33.
- Litonjua AA, Rifas-Shiman SL, Ly NP, Tantisira KG, Rich-Edwards JW, Camargo CA Jr, et al. (2006) “Maternal antioxidant intake in pregnancy and wheezing illnesses in children at 2 y of age.” *Am J Clin Nutr*, **84**, 903-911.
- Liu J., Hinkhouse M.M., Sun W., Weydert C.J., Ritchie J.M., Oberley L.W., Cullen J.J., (2004) “Redox regulation of pancreatic cancer cell growth: role of glutathione peroxidase in the suppression of the malignant phenotype”, *Hum. Gene Ther.*, **15**, 239–250.
- Lloret A., Bada M. C., Mora N. J., Pallard F. V., Alonso M. D., Viña J., (2009) “Vitamin e paradox in alzheimer’s disease: it does not prevent loss of cognition and may even be detrimental,” *Journal of Alzheimer’s Disease*, **17**, 143–149.
- Loft, S., & Poulsen, H. E. (1996) “Cancer risk and oxidative DNA damage in man.” *J. Mol. Med.*, **74**, 297–312.
- Lopez-Barea J., Barcena J.A., Bocanegra J.A., Martinez-Galisteo E., Peinado J., 1990, “Structure, mechanism, functions, and regulatory properties of glutathione

- reductase”, *Glutathione: metabolism and physiological functions*, CRC, Boca Raton, 105–116.
- Lorusso D, Ferrandina G, Greggi S, Gadducci A, Pignata S, Tateo S, et al. (2003) “Phase III multicenter randomized trial of amifostine as cytoprotectant in first-line chemotherapy in ovarian cancer patients.” *Ann Oncol*, **14**, 1086–1093.
- MacDonald-Wicks L.K., Wood L.G., Garg M.L., (2006) “Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review.” *J Sci Food Agric* **86**, 2046-2056
- MacPherson JC, Comhair SA, Erzurum SC, Klein DF, Lipscomb MF, et al. (2001) “Eosinophils are a major source of nitric oxide-derived oxidants in severe asthma: characterization of pathways available to eosinophils for generating reactive nitrogen species.” *J Immunol.*, **166**, 5763–5772.
- Mafra D, Santos FR, Lobo JC et al. (2009) “Alpha-tocopherol supplementation decreases electronegative low-density lipoprotein concentration [LDL(-)] in haemodialysis patients.” *Nephrol Dial Transplant*, **24**, 1587–1592.
- Magalhaes L.M., Segundo M.A., Reis S., Lima J.L.F.C. (2008) “Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties.” *Anal Chim Acta* **613**, 1-19.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., Jiménez L., (2004) “Polyphenols: food sources and bioavailability”, *Am J Clin Nutr* **79**, 727- 747.
- Mancuso C., Calabrese V., Cornelius C., Trovato-Salinaro A., Cambria M.T., Locascio M.S., et al, (2010) “The hermetic role of dietary antioxidants in free radical-related diseases”, *Curr. Pharm. Des.*, **16**, 877-883.
- Manzella D, Barbieri M, Ragno E, Paolisso G. (2001) “Chronic administration of pharmacologic doses of vitamin E improves the cardiac autonomic nervous system in patients with type 2 diabetes.” *Am J Clin Nutr*, **73**, 1052-1057.
- Marnett L.J., (2000) “Oxyradicals and DNA damage”, *Carcinogenesis*, **21**, 361-70.
- Marnett L.J., (1999) “Lipid peroxidation – DNA damage by malondialdehyde”, *Mut. Res.-Fund. Mol. Mech. Mutagen.*, **424**, 83-95.
- Martindale S, McNeill G, Devereux G, Campbell D, Russel G, Seaton A. (2005) “Antioxidant intake in pregnancy in relation to wheeze and eczema in the first two years of life.” *Am J Respir Crit Care Med*, **171**, 121-128.
- Masella R., Di Benedetto R., Vari R., Filesi C., Giovannini C., (2005) “Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes”, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **16**, 577-586.
- McCord J.M., Fridovich I., (1969) “Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte Hemocuprein”, *J.Biol.Chem.*, **244**, 6049-6055.
- McKeever TM, Lewis SA, Smit H, Burney P, Britton J, Cassano PA. (2004) “Serum nutrient markers and skin prick testing using data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey.” *J Allergy Clin Immunol*, **114**, 1398-1402.
- McNally T.J., Lebo S.E. Jr., Gargulak J.D., 2001, "Lignin" *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, John Wiley & Sons, Inc.
- Michiels C., Raes V., Toussaint O., Remacle J., (1994) “Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress”, *Free Rad Biol Med*, **17**, 235-248.
- Miller H.E., Rigelhof F., Marquart L., Prakash A., Kanter M. (2000) “Whole-grain products and antioxidants.” *Cereal Foods World* **45**, 59–63.

- Miller N.J., Diplock A. T., Rice-Evans C., Davies M.J., Gopinathan V., Milner A. (1993) "A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates." *Clin. Sci.*, **84**, 407-412.
- Mink P.J., Scrafford C.G., Barraj L.M., Harnack L., Hong C.P., Nettleton J.A., Jacobs D.R., Jr. (2007) "Flavonoid intake and cardiovascular disease mortality: A prospective study in postmenopausal women." *Am. J. Clin. Nutr.*, **85**, 895-909.
- Mira L., Fernandez M.T., Santos M., Rocha R., Florêncio M.H., Jennings K.R. (2002) "Interactions of Flavonoids with Iron and Copper Ions: A Mechanism for their Antioxidant Activity", *Free Radical Research*, **36**, 1199-1208.
- Mitic D., 2012, "Vitamin C", European Union Reference for Feed Additives.
- Miyake Y, Sasaki S, Tanaka K, Hirota Y. (2010) "Consumption of vegetables, fruit, and antioxidants during pregnancy and wheeze and eczema in infants." *Allergy*, **65**, 758-765.
- Montiel T., Quiroz-Baez R., Massieu L., Arias C., (2006) "Role of oxidative stress on β -amyloid neurotoxicity elicited during impairment of energy metabolism in the hippocampus: protection by antioxidants," *Experimental Neurology*, **200**, 496-508.
- Moraes Maria De Lourdes L., Vilegas J.H.Y., Lancas F.M. (1997) "Supercritical fluid extraction of glycosylated flavonoids from Passiflora leaves", *Phytochemical Analysis*, **8**, 257-260.
- Mortensen S.A., Kumar A., Dolliner P., et al. "The effect of coenzyme Q10 on morbidity and mortality in chronic heart failure. Results from the Q-SYMBIO study", Presented at Heart Failure Congress 2013 Final Programme Number 440
- Morton L.W., Caccetta R.A.A., Puddey I.B., Croft K.D., (2000) "Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: relevance to cardiovascular disease", *Clin Exper Pharm Phys.*, **27**, 152-156.
- Moon Y., Lee K.H., Park J.H., Geum D., Kim K., (2005) "Mitochondrial membrane depolarization and the selective death of dopaminergic neurons by rotenone: protective effect of coenzyme Q10", *J. Neurochem.*, **93**, 1199-1208.
- Muhammad, S., Bierhaus, A., Schwaninger, M., (2009) "Reactive oxygen species in diabetes-induced vascular damage, stroke, and Alzheimer's disease", *J. Alzheimers Dis.* **16**, 775-785.
- Multhaup, G., Ruppert, T., Schlicksupp, A., Hesse, L., Beher, D., Masters, C. L., Beyreuther, K., (1997) "Reactive oxygen species and Alzheimer's disease", *Biochem. Pharmacol.* **54**, 533-539.
- Murphy M., Sies H., (1990) "Visible-range low-level chemiluminescence in biological systems." *Methods Enzymol.*, **186**, 595-610.
- Nakamura, Y., Kumagai, T., Yoshida, C., Naito, Y., Miyamoto, M., Ohigashi, H., Osawa, T. and Uchida, K., (2003) "Pivotal role of electrophilicity in glutathione S-transferase induction by tert-butylhydroquinone", *Biochemistry*, **42**, 4300-4309.
- Nakashima H., Ishihara T., Yokota O. et al., (2004) "Effects of α -tocopherol on an animal model of tauopathies," *Free Radical Biology and Medicine*, **37**, 176-186.
- Νακοπούλου Α., 2010, «ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΠΑΘΟΓΕΝΗΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ & ΝΕΟΤΕΡΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ», Αθήνα, Εκδόσεις Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.
- Nath KA, Croatt AJ, Hostetter TH. (1990) "Oxygen consumption and oxidant stress in surviving nephrons." *Am J Physiol.* **258**, F1354-1362.
- Nerup J., Mandrup-Poulsen T., Molvig J., Helqvist S., Wogensén L., Egeberg J., (1988) "Mechanisms of pancreatic β -cell destruction in type I diabetes," *Diabetes Care*, **11**, 16-23.

- New, S.A., Bolton-Smith, C., Grubb, D.A., Reid, D.M., (1997) "Nutritional influences on bone mineral density: a cross-sectional study in premenopausal women." *American Journal of Clinical Nutrition* **65**, 1831–1839.
- Niizu P.Y., Rodriguez-Amaya D.B., (2005) "New data on the carotenoid composition of raw salad vegetables", *J. Food Comp. Anal.*, **18**, 739-749.
- Nilsson J., Pillai D., Onning G., Persson C., Nilsson A., Akesson B., (2005) "Comparison of the 2,2'-azinobis-3-ethylbenzotiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) methods to assess the total antioxidant capacity in extracts of fruit and vegetables." *Mol Nutr Food Res* **49**, 239-246.
- Nishikimi M., Fukuyama R., Minoshima S., Shimizu N., Yagi K., (1994) "Cloning and chromosomal mapping of the human nonfunctional gene for L-gulono-gamma-lactone oxidase, the enzyme for L-ascorbic acid biosynthesis missing in man", *J. Biol. Chem.*, **269**, 13685–13688.
- Oberley L.W., (2005) "Mechanism of the tumor suppressive effect of MnSOD overexpression", *Biomed. Pharmacother.*, **59**, 143–148.
- Olanow C. W., Tatton W. G., (1999) "Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease," *Annual Review of Neuroscience*, **22**, 123–144.
- Ono K., Hasegawa K., Naiki H., Yamada M., (2005) "Preformed beta-amyloid fibrils are destabilized by coenzyme Q10 in vitro", *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **330**, 111–116.
- Orrenius S. (2007) "Reactive oxygen species in mitochondria-mediated cell death." *Drug Metab Rev.* **39**, 443–55.
- Orsolic, N., Gajski, G., Garaj-Vrhovac, V., Dikic, D., Prskalo, Z.S., Sirovina, D., (2011) "DNA-protective effects of quercetin or naringenin in alloxan-induced diabetic mice." *European Journal of Pharmacology* **656**, 110–118.
- Ortona E., Margutti P., Matarrese P., Franconi F., Malorni W., (2008) "Redox state, cell death and autoimmune diseases: a gender perspective", *Autoimmunity reviews*, **7**, 579-584.
- Oteiza P.I., Olin K.L., Fraga C.G., Keen C.L., (1995) "Zinc deficiency causes oxidative damage to proteins, lipids and DNA in rat testes", *Journal of Nutrition* **125**, 823-829.
- Ou B, Woodill-Hampsch M, Prior RL, (2001) "Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe." *J Agric Food Chem* **49**, 4619-4626.
- Ozgen M., Reese R.N., Tulio A.Z., Scheerens J.C., Miller R. (2006) "Modified ABTS method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and DPPH methods." *J Agric Food Chem*, **54**, 1151-1157.
- Ozcelik B., Lee J.H., Min D.B. (2003) "Effects of light, oxygen, and pH on the absorbance of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)." *J Food Sci* **68**, 487-490.
- Ozkan Y, Yilmaz OK, Ihsan AO, Yasemin E. (2005) "Effects of triple antioxidant combination (vitamin E, vitamin C and a-lipoic acid) with insulin on lipid and cholesterol levels and fatty acid composition of brain tissue in experimental diabetic and non-diabetic rats." *Cell Biol Int*, **29**, 754-760.
- Packer L (ed.), 1999, "Methods in Enzymology", *Oxidants and Antioxidants (Part A)*, Academic Press, San Diego.

- Padayatty S.J., Riordan H.D., Hewitt S.M., Katz A., Hoffer L.J., Levine M., (2006) "Intravenously administered vitamin C as cancer therapy: three cases", *CMAJ* **174**, 937–942.
- Panagiotakos D.B., Dimakopoulou K., Katsouyanni K., et al, (2009) "Mediterranean diet and inflammatory response in myocardial infarction survivors", *Int. J. Epidemiol.* **38**, 856–866.
- Panagiotakos D.B., Pitsavos C., Stefanadis C., (2006) "Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk", *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* **16**, 559–568.
- Pastor N., Weinstein H., Jamison E., Brenowitz M., (2000) "A detailed interpretation of OH radical footprints in a TBP DNA complex reveals the role of dynamics in the mechanism of sequence-specific binding", *J Mol. Biol.*, **304**, 55–68.
- Pastore A., Federici G., Bertini E., Piemonte F., (2003) "Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification", *Clin. Chim. Acta*, **333**, 19–39.
- Pathak AK, Bhutani M, Guleria R, Bal S, Mohan A, Mohanti BK, et al. (2005) "Chemotherapy alone vs. chemotherapy plus high dose multiple antioxidants in patients with advanced non small cell lung cancer." *J Am Coll Nutr*, **24**, 16–21.
- Pavlik V. N., Doody R. S., Rountree S. D., Darby E. J., (2009) "Vitamin E use is associated with improved survival in an Alzheimer's disease cohort," *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, **28**, 536–540.
- Pellegrini N., Serafini M., Colombi B., et al, (2003) "Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays", *J. Nutr.*, 2812–2819.
- Peretz, A., Siderova, V., Neve, J., (2001) "Selenium supplementation in rheumatoid arthritis investigated in a double blind, placebo-controlled trial." *Scandinavian Journal of Rheumatology* **30**, 208–212.
- Pérez-López F.R., Fernández-Alonso A.M., Chedraui P., Simoncini T., "Mediterranean Lifestyle and Diet: Deconstructing Mechanisms of Health Benefits", *Bioactive food as dietary interventions for diabetes*, Elsevier Inc. 129–138.
- Peterhans E., Grob M., Burge T., Zannoni R., (1987) "Virus induced formation of reactive oxygen intermediates in phagocytic cells," *Free Radical Research Communications*, **3**, 39–46.
- Pisoschi A.M., Cheregi M.C., Danet A.F. (2009) "Total antioxidant capacity of some commercial fruit juices: electrochemical and spectrophotometrical approaches." *Molecules* **14**, 480–493.
- Pisoschi A.M., Negulescu G.P. (2011) "Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review." *Biochem & Anal Biochem* **1**, 106.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. (eds). Woodhead Publishing Limited, CRC Press, 22–70.
- Pourahmad, J., & O'Brien, P. J. (2001) "Biological reactive intermediates that mediate chromium VI toxicity." *Biol. React. Intermed. VI: Adv. Exp. Med. Biol.*, **500**, 203–207.
- Prasanthi J. R. P., Dasari B., Marwarha G. et al., (2010) "Caffeine protects against oxidative stress and Alzheimer's disease-like pathology in rabbit hippocampus induced by cholesterol-enriched diet," *Free Radical Biology and Medicine*, **49**, 1212–1220.

- Pratt D.E., Hudson B.J.F., 1990, "Natural Antioxidants not Exploited Commercially", *B.J.F. Hudson's Food Antioxidants*, Elsevier Science Publishers Ltd, London, U.K., 173- 179.
- Prior R.L., Wu X., Schaich K., (2005) "Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements", *J Agric. Food Chem.*, **53**, 4290-4302.
- Prior R.L. and Cao G., (1999) "In vivo antioxidant capacity: Comparison of different analytical methods." *Free Radical Biology and Medicine* **27**, 1173–1181.
- Prior R. L., Hoang H., Gu L., Wu X., Bacchiocca M., Howard L., Hampsch-Woodill M., Huang D., Ou B., Jacob R., (2003) "Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of plasma and other biological and food samples." *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 3273-3279.
- Pulido R., Bravo L., Saura-Calixto F. (2000) "Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/ antioxidant power assay." *J Agric Food Chem* **48**, 3396-3402.
- Punithavathi, V.R., Anuthama, R., Prince, P.S., (2008) "Combined treatment with naringin and vitamin C ameliorates streptozotocin-induced diabetes in male wistar rats." *Journal of Applied Toxicology* **28**, 806–813.
- Puoci, F., Cirillo, G., Curcio, M., Iemma, F., Spizzirri, U. G., Picci, N., (2007) "Molecularly imprinted solid phase extraction for the selective HPLC determination of α -tocopherol in bay leaves", *Analytica Chimica Acta*, **593**, 164–170.
- Quinn J. F., Bussiere J. R., Hammond R. S. et al., (2007) "Chronic dietary α -lipoic acid reduces deficits in hippocampal memory of aged Tg2576 mice," *Neurobiology of Aging*, **28**, 213–225.
- Rabinovitch A., (1998) "An update on cytokines in the pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus." *Diabetes/Metabolism Reviews* **14**, 129–151.
- Rains J.L., Jain S.K., (2011) "Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes." *Free Radical Biology & Medicine* **50**, 567–575.
- Ramos R, Martinez-Castelao A. (2008) "Lipoperoxidation and hemodialysis." *Metabolism*, **57**, 1369–1374.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C., (1999) "Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay." *Free Radical Biol.Med.*, **26**, 1231-1237.
- Rea H.M., Thomson C.D., Campbell D.R. et al., (1979) "Relation between erythrocyte selenium concentrations and glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9) activities of New Zealand residents and visitors to New Zealand". *Br J Nutr* **42**, 201–208.
- Remmen H.V., Muller F.L., Song W., Liu Y., Chaudhuri A., Pieke-Dahl S., Strong R., Huang T-T., Epstein C.J., et al., (2006) "Absence of CuZn superoxide dismutase leads to elevated oxidative stress and acceleration of age-dependent skeletal muscle atrophy", *Free Rad. Biol. Med.*, **40**, 1993-2004.
- Reuter S., Gupta S.C., Chaturvedi M.M., Aggarwal B.B., (2002) "Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked?", *Free Rad. Biol. Med.*, **49**, 1603-1616.
- Richard MJ, Ducros V, Foret M et al. (1993) "Reversal of selenium and zinc deficiencies in chronic hemodialysis patients by intravenous sodium selenite and zinc gluconate supplementation. Time -course of glutathione peroxidase repletion and lipid peroxidation decrease." *Biol Trace Elem Res*, **39**, 149–159.

- Rimm E.B., Stampfer M.J., Ascherio A., Giovannucci E., Colditz G.A., Willett W.C. (1993) "Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in men." *N. Engl. J. Med.*, **328**, 1450–1456.
- Roginsky V., Lissi E.A. (2005) "Review of methods to determine chainbreaking antioxidant activity in food." *Food Chem* **92**, 235-254.
- Romieu I., Mannino D.M., Redd S.C., McGeehin M.A., (2004) "Dietary intake, physical activity, body mass index, and childhood asthma in the Third National Health And Nutrition Survey (NHANES III)." *Pediatr Pulmonol*, **38**, 31-42.
- Roob J.M., Khoschsorur G., Tiran A. et al. (2000) "Vitamin E attenuates oxidative stress induced by intravenous iron in patients on hemodialysis." *J Am Soc Nephrol*, **11**, 539–549.
- Rosen G.M., Britigan B.E., Halpern H.J., Pou S., 1999, *Free Radicals. Biology and Detection by Spin Trapping*, New York, Oxford University Press.
- Rotelli, A.E., Guardia, T., Juarez, A.O., de la Rocha, N.E., Pelzer, L.E., (2003) "Comparative study of flavonoids in experimental models of inflammation." *Pharmacological Research* **48**, 601–606.
- Roy, P., & Saha, A. (2002) "Metabolism and toxicity of arsenic: A human carcinogen." *Curr. Sci.*, **82**, 38–45.
- Rubin R.N., Navon L., Cassano P.A. (2004) "Relationship of serum antioxidants to asthma prevalence in youth." *Am J Respir Crit Care Med*, **169**, 393-398.
- Sackesen C., Ercan H., Dizdar E., Soyer O., Gumus P., et al. (2008) "A comprehensive evaluation of the enzymatic and nonenzymatic antioxidant systems in childhood asthma." *J Allergy Clin Immunol.*, **122**, 78–85.
- Sahni N., Gupta K.L., Rana S.V., Prasad R., Bhalla A.K. (2012) "Intake of Antioxidants and their Status in Chronic Kidney Disease Patients." *J Ren Nutr.*, **22**, 389-399.
- Sakata T., Furuya R., Shimazu T. et al. (2008) "Coenzyme Q10 administration suppresses both oxidative and antioxidative markers in hemodialysis patients." *Blood Purif*, **26**, 371–378.
- Sakano K., Takahashi M., Kitano M., Sugimura T., Wakabayashi K., (2006) "Suppression of azoxymethane-induced colonic premalignant lesion formation by coenzyme Q10 in rats", *Asian Pac J Cancer Prev.*, **7**, 599-603.
- Salonen J.T., Nyyssönen K., Salonen R., et al. (2000) "Antioxidant supplementation in atherosclerosis prevention (ASAP) study: a randomized trial of the effect of vitamins E and C on 3-year progression of carotid atherosclerosis." *J Intern Med.*, **248**, 377-386.
- Samuel T., Fadalla K., Yehualaeshet T.E., (2010) "The flavonoid quercetin transiently inhibits the activity of taxol and nocodazole through interference with the cell cycle." *Nutr Cancer*, **62**, 1025–1035.
- Sanaka T., Takahashi C., Sanaka M. et al. (1995) "Accumulation of phosphatidylcholine-hydrogen peroxide in dialysis patients with diabetic nephropathy." *Clin Nephrol*, **44**, 533–537.
- Sanchez-Moreno C., (2002) "Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems", *Food Sci Tech Int*, **8**, 121–137.
- Sano M., Ernesto C., Thomas R. G. et al., (1997) "A controlled trial of selegiline, alpha-tocopherol, or both as treatment for Alzheimer's disease," *The New England Journal of Medicine*, **336**, 1216–1222.

- Sarter B., (2002) "Coenzyme Q10 and Cardiovascular Disease: A Review", *The Journal of cardiovascular nursing*, **16**, 9-20.
- Sayre L. M., Smith M. A., Perry G., (2001) "Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease", *Curr. Med. Chem.*, **8**, 721-738.
- Sato M, Matsumoto Y, Morita H et al. (2003) "Effects of vitamin supplementation on microcirculatory disturbance in hemodialysis patients without peripheral arterial disease." *Clin Nephrol*, **60**, 28-34.
- Schlesier K, Harwat M, Bohm V, Bitsch R (2002) "Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods." *Free Radic Res* **36**, 177-187.
- Scarmeas N., Stern Y., Mayeux R., Luchsinger J.A., (2006) "Mediterranean Diet, Alzheimer Disease, and Vascular Mediation" *Arch Neurol.*, **63**, 1709-1717.
- Schafer F.Q., Buettner G.R., (2001) "Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple", *Free Rad Biol Med*, **30**, 1191-1212.
- Schallreuter K.U., Wood J.M., Decker H., Hartmann H., Chavan B., Rokos H., Spencer J.D., Hasse S., Thornton M.J., Shalhaf M., Paus R., (2009) "Senile hair graying: H₂O₂-mediated oxidative stress affects human hair color by blunting methionine sulfoxide repair", *FASEB J.* **23**, 2065-2075.
- Schapira A.H., Agid Y., Barone P., et al., (2009) "Perspectives on recent advances in the understanding and treatment of Parkinson's disease", *Eur J Neurol.*, **16**, 1090-1099.
- Schapira A.H., (2008) "Mitochondria in the aetiology and pathogenesis of Parkinson's disease", *Lancet Neurol.*, **7**, 97-109.
- Schmidt M.M., Dringen R., (2012) "Glutathione (GSH) Synthesis and Metabolism", *Neural Metabolism In Vivo Advances in Neurobiology*, **4**, 1029-1050.
- Schonfeld P., Wojtczak L., (2008) "Fatty acids as modulators of the cellular production of reactive oxygen species." *Free Radical Biology & Medicine* **45**, 231-241.
- Schrauzer G.N., Sacher J., (1994) "Selenium in the maintenance and therapy of HIV-infected patients", *Chem-Biol Interact* **91**, 199 - 202.
- Scott, D.L., Wolfe, F., Huizinga, T.W., (2010) "Rheumatoid arthritis" *Lancet* **25**, 1094-1108.
- Sebastian R.S., Cleveland L.E., Goldman J.D., Moshfegh A.J., (2007) "Older adults who use vitamin/mineral supplements differ from nonusers in nutrient intake adequacy and dietary attitudes." *Journal of the American Dietetic Association* **107**, 1322-1332.
- Sesso H.D., Buring J.E., Christen W.G., Kurth T., Belanger C., MacFadyen J., Bubes V., Manson J.E., Glynn R.J., Gaziano J.M., (2008) "Vitamins E and C in the prevention of cardiovascular disease in men: The Physicians' Health Study II randomized controlled trial." *JAMA*, **300**, 2123-2133.
- Shaheen SO, Newson RB, Henderson AJ, Emmett PM, Sherriff A, Cooke M. (2004) "ALSPAC Study Team. Umbilical cord trace elements and minerals and risk of early childhood wheezing and eczema." *Eur Respir J*, **24**, 292-297.
- Shumskiy N.I., Selemenov V.F., Karpov S.I., Chirkin V.A., (2013) "Determination of fat-soluble vitamins in foods, vitamin and mineral formulations, feed premixes, and blood serum by reversed-phase HPLC", *J. Anal. Chem.*, **68**, 748-753.
- Singh R. B., Niaz M. A., Rastogi S. S., Rastogi S., (1996) "Usefulness of antioxidant vitamins in suspected acute myocardial infarction (the Indian Experiment of Infarct Survival-3)," *American Journal of Cardiology*, **77**, 232-236.

- Serrano J., Puupponen-Pimia R., Dauer A., Aura A.M., Saura-Calixto F., (2009) "Tannins: Current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects." *Molecular Nutrition & Food Research* **53**, S310–329.
- Shults C.W., Oakes D., Kieburtz K., Beal M.F., Haas R., Plumb S., Juncos J.L., Nutt J., Shoulson I., Carter J., Kompoliti K., Perlmutter J.S., Reich S., Stern M., Watts R.L., Kurlan R., Molho E., Harrison M., Lew M., (2002) "Effects of coenzyme Q10 in early Parkinson disease: evidence of slowing of the functional decline", *Arch. Neurol.* **59**, 1541–1550.
- Siems W.G., Grune T., Esterbauer H., (1995) "4-hydroxynonenal formation during ischemia and reperfusion of rat small-intestine", *Life Sci.*, **57**, 785-789.
- Sies H. and Stahl W., (1995) "Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants", *Am. J. Clin. Nutr.*, **62**, 1315S-1321S.
- Sies H., 1985, "Oxidative stress: introductory remarks", *Oxidative Stress*. Academic Inc.
- Small D.M., Morrison P.D., Jones O.A.H., Buddrick O., (2013) "Heptane as a less toxic option than hexane for the separation of vitamin E from food products using normal phase HPLC", *RSC Adv.*, **3**, 24063-24068.
- Soares N. M., Ferraz T.P.L., Fiuza M.C., dos Santos M.L.A., Pontes de Carvalho L., (2004) "Comparison of six methods for the extraction of lipids from serum in terms of effectiveness and protein preservation", *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, **58**, 187–193.
- Somayajulu M., McCarthy S., Hung M., Sikorska M., Borowy-Borowski H., Pandey S., (2005) "Role of mitochondria in neuronal cell death induced by oxidative stress; neuroprotection by coenzyme Q10", *Neurobiol. Dis.* **18**, 618–627.
- Spallholz J.E., Boylan L.M., 1991, "Glutathione peroxidase. The two selenium enzymes", *Peroxidases in chemistry and biology*. Vol I, CRC Press 259-291.
- Spencer A., Horvath N., Gibson J., Prince H.M., Herrmann R., Bashford J., et al, (2005) "Australasian Leukemia and Lymphoma Group. Prospective randomized trial of amifostine cytoprotection in myeloma patients undergoing high-dose melphalan conditioned autologous stem cell transplantation." *Bone Marrow Transplant*, **35**, 971–977.
- Sriraska N., Wattanathorn J., Muchimapura S., Tiamkao S., Brown K., Chaisiwamongkol K., (2012) "Cognitive- Enhancing effect of quercetin in rat model of Parkinson's disease induced by 6-hydroxydopamine", *Evid.-Based Complem. Altern. Med*, Article ID 823206.
- Stahl W., Schwarz W., Sundquist A.R., Sies H., (1992) "cis-trans isomers of lycopene and β -carotene in human serum and tissues", *Arch. Biochem. Biophys.*, **294**, 173-177.
- Strause L., Saltman P., Smith K.T., Bracker M., Andon M.B., (1994) "Spinal bone loss in postmenopausal women supplemented with calcium and trace minerals." *Journal of Nutrition* **124**, 1060–1064.
- Stampfer M.J., Hennekens C.H., Manson J.E., Colditz G.A., Rosner B., Willett W.C., (1993) "Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women." *N. Engl. J. Med.*, **328**, 1444–1449.
- Stayner L. T., Dankovic D. A., & Lemen R. A. (1996) "Occupational exposure to chrysotile asbestos and cancer risk: A review of the amphibole hypothesis." *Am. J. Public Health*, **86**, 179–186.

- Stone J., Doube A., Dudson D., Wallace J., (1997) "Inadequate calcium, folic acid, vitamin E, zinc, and selenium intake in rheumatoid arthritis patients: results of a dietary survey", *Seminars in Arthritis and Rheumatism* **27**, 180–185.
- Sultana B., Anwar F., (2008) "Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants", *Food Chem.*, **108**, 879-884.
- Sung M.-K., Bae S.-C., 2013, "Dietary Antioxidants and Rheumatoid Arthritis", *Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases*, Elsevier Inc., 515-526.
- Sung S., Yao Y., Uryu K. et al., (2004) "Early vitamin E supplementation in young but not aged mice reduces Abeta levels and amyloid deposition in a transgenic model of Alzheimer's disease," *The FASEB Journal*, **18**, 323–325.
- Suys B, de Beeck LO, Rooman R, Kransfeld S, Heuten H, Goovaerts I, et al. (2007) "Impact of oxidative stress on the endothelial dysfunction of children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: protection by superoxide dismutase?" *Pediatr Res* **62**, 456–61.
- Tahan F, Karakukcu C. (2006) "Zinc status in infantile wheezing." *Pediatr Pulmonol*, **41**, 630-634.
- Tantamango-Bartley Y., Jaceldo-Siegl K., Fan J. Fraser G., (2013) "Vegetarian diets and the incidence of cancer in a low-risk population." *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **22**, 286–294.
- Tarng D.C., Liu T.Y., Huang T.P. (2004) "Protective effect of vitamin C on 8-hydroxy- 20-deoxyguanosine level in peripheral blood lymphocytes of chronic hemodialysis patients." *Kidney Int*, **66**, 820–831.
- Therond P., Bonnefont-Rousselot D., Davit-Spraulc A., Contic M., Legrand A. (2000) "Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach", *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, **3**, 373-384.
- Tieu K., Ischiropoulos H., Przedborski S., (2003) "Nitric oxide and reactive oxygen species in Parkinson's disease", *IUBMB Life*, **55**, 329–335.
- Tiedge M., Lortz S., Drinkgern J., Lenzen S., (1997) "Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidative defense status of insulin-producing cells," *Diabetes*, **46**, 1733–1742.
- Tikko K., Sane M.S., Gupta C. (2011) "Tannic acid ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity and potentiates its anticancer activity: potential role of tannins in cancer chemotherapy." *Toxicol Appl Pharmacol*, **251**, 191–200.
- Touyz R. M., (2004) "Reactive oxygen species and angiotensin II signaling in vascular cells —implications in cardiovascular disease", *Braz. J. Med. Biol. Res.* **37**, 1263–1273.
- Traber, M.G., Stevens J.F., (2011) "Free Radical Biology and Medicine – Vitamins C and E: Beneficial effects from a mechanistic perspective". *Free Radical Biology and Medicine*, **51**, 1000–13.
- Travis R.C., Allen N.E., Appleby P.N., Spencer E.A., Roddam A., Wand Key T.J., (2008) "A prospective study of vegetarianism and isoflavone intake in relation to breast cancer risk in British women." *Int J Cancer* **122**, 705–710.
- Trojanowski J.Q., Lee V.M-Y., (2003) "Parkinson's disease and related α -synucleinopathies are brain amyloidoses", *Annals New York Academy of Sciences*, **991**, 107-110.
- Tsutsui H., Kinugawa S., Matsushima S., (2011) "Oxidative stress and heart failure", *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **301**, H2181-2190.

- Turunen M., Olsson J., Dallner G., (2004) "Metabolism and function of coenzyme Q", *Biochim. Biophys. Acta-Biomembranes*, **1660**, 171-199.
- Uzum A., Toprak O., Gumustas M.K. et al. (2006) "Effect of vitamin E therapy on oxidative stress and erythrocyte osmotic fragility in patients on peritoneal dialysis and hemodialysis." *J Nephrol*, **19**, 739–745.
- Valko M., Izakovic M., Mazur M., Rhodes C.J., Telser J., (2004) "Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence", *Mol Cell Biochem*, **266**, 37-56.
- Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M., Telser J., (2007) "Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease", *Int J Biochem Cell Biol* **9**, 44-84.
- Valko, M., Morris, H., & Cronin, M. T. D. (2005) "Metals, toxicity and oxidative stress." *Curr. Med. Chem.*, **12**, 1161–1208.
- Valsecchi A.E., Franchi S., Panerai A.E., Rossi A., Sacerdote P., Colleoni M., (2011) "The soy isoflavone genistein reverses oxidative and inflammatory state, neuropathic pain, neurotrophic and vasculature deficits in diabetes mouse model." *European Journal of Pharmacology* **650**, 694–702.
- Vekiari, S.A., Oreopoulou, V., Tzia, C. Thomopoulos, C.D. (1993) "Oregano flavonoids as lipid antioxidants", *JAOCs*, **70**, 483-487.
- Venkatraman J.T., Chu W., (1999) "Effects of dietary ω -3 and ω -6 lipids and vitamin E on serum cytokines, lipid mediator and anti-DNA antibodies in a mouse model for rheumatoid arthritis." *Journal of the American College of Nutrition* **18**, 602–613.
- Vermeris W., Nicholson R., 2006, *Phenolic compound biochemistry*, Springer.
- Vollbracht C., Schneider B., Leendert V., Weiss G., Auerbach L., Beuth J., (2011) "Intravenous vitamin C administration improves quality of life in breast cancer patients during chemo-/radiotherapy and aftercare: results of a retrospective, multicentre, epidemiological cohort study in Germany", *In Vivo*, **25**, 983–990.
- Vos T., (2012) "Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010". *Lancet* **380**, 2163–2196.
- Wagner, K.-H., Afaf K.-E., Ibrahim E, (2004) "Gamma-tocopherol-an underestimated vitamin?." *Annals of nutrition and metabolism*, **48**, 169–88.
- Wang W., Knovich M.A., Coffman L.G., Torti F.M., Torti S.V., (2010) "Serum ferritin: past, present and future", *Biochim. Biophys. Acta — Gen. Subj.*, **1800**, 760–769.
- Wang Y., Chun O.K., Song W.O., (2013) "Plasma and dietary antioxidant status as cardiovascular disease risk factors: a review of human studies", *Nutrients*, **5**, 2969-3004.
- Wang Y., Xu H., Fu Q., Ma R., Xiang J., (2011) "Protective effect of resveratrol derived from *Polygonum cuspidatum* and its liposomal form on nigral cells in parkinsonian rats", *J. Neurol. Sci.*, **304**, 29–34.
- Wayner D.D.M., Burton G.W., Ingold K.U., Barclay L.R.C., Locke S.J., (1987) "The relative contribution of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total peroxyl radical-trapping antioxidant activity of human blood plasma." *Biochim. Biophys. Acta*, **924**, 408-419.
- Webb A.L., McCullough M. L., (2005) "Dietary lignans: Potential role in cancer prevention", *Nutr Cancer*, **51**, 117-131.

- Wedes S.H., Khatri S.B., Zhang R., Wu W., Comhair S.A., et al. (2009) "Noninvasive markers of airway inflammation in asthma." *Clin Transl Sci*, **2**, 112–117.
- Weijl N.I., Elsendoorn T.J., Lentjes E.G.W.M., Hopman G.D., Wipkink-Bakker A., Zwinderman A.H., et al. (2004) "Supplementation with antioxidants micronutrients and chemotherapy-induced toxicity in cancer patients treated with cisplatin-based chemotherapy: a randomized, double-blind, placebo controlled study." *Eur J Cancer*, **40**, 1713–23.
- West I. C., (2000) "Radicals and oxidative stress in diabetes," *Diabetic Medicine*, **17**, 171–180.
- Whitehead T. P., Thorpe G.H.G., Maxwell S.R.J., (1992) "Enhanced chemiluminescent assay for antioxidant capacity in biological fluids." *Anal. Chim. Acta*, **266**, 265–277.
- Whittaker J.W., (2000) "Manganese superoxide dismutase", *Metal Ions Biol Syst*, **37**, 587–611.
- Wu X., Gu L., Holden J., Haytowitz D., Gebhardt S. E., Beecher G., Prior R. L., (2004) "Factors in the development of a database of food total antioxidant capacity using lipophilic and hydrophilic oxygen radical absorbance capacity (ORACFL): a preliminary study of 28 foods." *J. Food Compos. Anal.*, **17**, 407–422.
- Wu X., Gu L., Holden J., Haytowitz D.B. et al, (2004) "Development of a database for total antioxidant capacity in foods: a preliminary study", *J. Food Compos. Anal.*, **17**, 407–422.
- Wu W., Samoszuk M.K., Comhair S.A., Thomassen M.J., Farver C.F., et al. (2000) "Eosinophils generate brominating oxidants in allergen induced asthma." *J Clin Invest.*, **105**, 1455–1463.
- Yanishlieva-Maslarova, N.V., 2001, "Inhibiting oxidation", *Antioxidants in food. Practical applications*. Woodhead Publishing Limited, CRC Press, pp. 22–70.
- Yang L., Calingasan N.Y., Wille E.J., Cormier K., Smith K., Ferrante R.J., Beal M.F., (2009) "Combination therapy with coenzyme Q10 and creatine produces additive neuroprotective effects in models of Parkinson's and Huntington's diseases", *J. Neurochem.*, **109**, 1427–1439.
- Yiannakopoulou E., (2009) "Oxidative stress – antioxidant mechanisms: Clinical implications", *Archives of Hellenic Medicine*, **26**, 23–35.
- Yoshizumi M., Tsuchiya K., Tamaki, T., (2001) "Signal transduction of reactive oxygen species and mitogen-activated protein kinases in cardiovascular disease", *J. Med. Invest.*, **48**, 11–24.
- Yen G.-C., Chen H.-Y. (1995) "Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **43**, 27–32.
- Young I.S., Trouton T.G., Torney J.J., McMaster D., Callender M.E., Trimble E.R., (1994) "Antioxidant status and lipid peroxidation in hereditary haemochromatosis", *Free Radical Biology and Medicine* **16**, 393–397.
- Yukawa S., Sonobe M., Tone Y. et al. (1992) "Prevention of aortic calcification in patients on hemodialysis by long-term administration of vitamin E." *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 187–190.
- Zhang Z.-J., Cheang L.C.V., Wang M.-W., Li G.H., Chu I.K., Lin Z.-X., Lee S.M.Y., (2012) "Ethanol extract of fructus *Alpinia oxyphylla* protects against 6-hydroxydopamine-induced damage of PC12 cells *in vitro* and dopaminergic neurons in zebrafish", *Cell. Mol. Neurobiol.*, **32**, 27–40.