



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

**Η επίδραση της διατροφής της εμπλουτισμένης με αντιοξειδωτικά
στη θεραπευτική αντιμετώπιση των ασθενών που πάσχουν από
ιδιοπαθείς εμβοές των ώτων**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Άννα Πετρίδου

Διαιτολόγος-Διατροφολόγος, M.Med.Sci

Αθήνα, 2020

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:

Ιωάννης Ξενέλης, Ομότιμος Καθηγητής Πανεπιστημιακής ΩΡΛ Κλινικής του Ιπποκρατείου
Νοσοκομείου, ΕΚΠΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ:

Ιωάννης Ξενέλης, Ομότιμος Καθηγητής Α' Πανεπιστημιακής ΩΡΛ Κλινικής του
Ιπποκρατείου Νοσοκομείου, ΕΚΠΑ

Σταύρος Κορρές, Ομότιμος Καθηγητής Α' Πανεπιστημιακής ΩΡΛ Κλινικής του
Ιπποκρατείου Νοσοκομείου, ΕΚΠΑ

Ανδριάννα Καλιώρα, Επίκουρη Καθηγήτρια, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής,
Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Ιωάννης Ξενέλης, Ομότιμος Καθηγητής Α' Πανεπιστημιακής ΩΡΛ Κλινικής του
Ιπποκρατείου Νοσοκομείου, ΕΚΠΑ

Σταύρος Κορρές, Ομότιμος Καθηγητής Α' Πανεπιστημιακής ΩΡΛ Κλινικής του
Ιπποκρατείου Νοσοκομείου, ΕΚΠΑ

Ανδριάννα Καλιώρα, Επίκουρη Καθηγήτρια, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής,
Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Ευθύμιος Κυροδήμος, Επίκουρος Καθηγητής Α' Πανεπιστημιακής ΩΡΛ Κλινικής του
Ιπποκρατείου Νοσοκομείου, ΕΚΠΑ

Πάυλος Μαραγκουδάκης, Αναπληρωτής Καθηγητής Β' Πανεπιστημιακής ΩΡΛ Κλινικής του
Αττικού Νοσοκομείου, ΕΚΠΑ

Οδυσσέας Ανδρούτσος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Διατροφής και Διαιτολογίας,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Μαρία Γαζούλη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Τμήμα Μοριακής Βιολογίας, Ιατρική Σχολή,
ΕΚΠΑ

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το τμήμα Ιατρικής του
Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλώνει
και αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα.

Η Άννα Πετρίδου δηλώνω υπεύθυνα ότι:

- 1) Είμαι ο κάτοχος των πνευματικών δικαιωμάτων της πρωτότυπης αυτής εργασίας και από όσο γνωρίζω η εργασία μου δε συκοφαντεί πρόσωπα, ούτε προσβάλλει τα πνευματικά δικαιώματα τρίτων.
- 2) Αποδέχομαι ότι η Ιατρική Σχολή μπορεί, χωρίς να αλλάξει το περιεχόμενο της εργασίας μου, να τη διαθέσει σε ηλεκτρονική μορφή μέσα από τη ψηφιακή Βιβλιοθήκη της, να την αντιγράψει σε οποιοδήποτε μέσο ή/και σε οποιοδήποτε μορφότυπο καθώς και να κρατά περισσότερα από ένα αντίγραφα για λόγους συντήρησης και ασφάλειας.

Η παρούσα διατριβή υποστηρίζεται από την παρακάτω δημοσίευση σε έγκριτο διεθνές περιοδικό:

Petridou, A.I., Zagora, E.T., Petridis, P., Korres, G.S., Gazouli, M., Xenelis, I., Kyrodimos, E., Kontothanasi, G., Kaliora, A.C., 2019. The Effect of Antioxidant Supplementation in Patients with Tinnitus and Normal Hearing or Hearing Loss: A Randomized, Double-Blind, Placebo Controlled Trial. *Nutrients* 11.

Η παρούσα διατριβή υποστηρίζεται από την παρακάτω προφορική ανακοίνωση σε συνέδριο:

Η επίδραση της διατροφής της εμπλουτισμένης με αντιοξειδωτικά στη θεραπευτική αντιμετώπιση των ασθενών που πάσχουν από ιδιοπαθείς εμβοές των ωτών, 15ο Πανελλήνιο Συνέδριο Διατροφής & Διαιτολογίας & 4ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Διατροφής & Μεταβολισμού, 13-15 Δεκεμβρίου, Αθήνα, Ελλάδα, 2019.

Η παρούσα διατριβή υποστηρίζεται από τις παρακάτω αναρτημένες ανακοινώσεις σε συνέδριο:

1. Σωτήριος Αναστασόπουλος, Άννα Πετρίδου, Κωνσταντίνος Χαντζής, Κωνσταντίνος Πισκοπάκης, Ελένη Σταυριανού, Ιωάννης Ξενέλης «Επίδραση στις ακοολογικές παραμέτρους των ιδιοπαθών εμβοών μετά από χρήση αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων», 20ο Πανελλήνιο Συνέδριο ΩΡΛ, 24-27 Οκτωβρίου, Λάρισα, Ελλάδα, 2019.
2. Άννα Πετρίδου, Σωτήριος Αναστασόπουλος, Κωνσταντίνος Χρόνης, Ανδρέας Χατζίκος, Γεωργία Κοντοθανάση, Ευστράτιος Μοσχοβάκης «Προσκόλληση στη μεσογειακή διατροφή και η συσχέτιση της με τις ακοολογικές παραμέτρους των ιδιοπαθών εμβοών πριν και μετά τη λήψη αντιοξειδωτικής αγωγής», 20ο Πανελλήνιο Συνέδριο ΩΡΛ, 24-27 Οκτωβρίου, Λάρισα, Ελλάδα, 2019.

*‘Η ζωή είναι σύντομη, η τέχνη απέραντη, η ευκαιρία στιγμιαία και το πείραμα
αβέβαιο.’*

Ουμπέρτο Έκο, Το Νησί της Προηγούμενης Ημέρας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα Διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στην Α' ΩΡΛ Πανεπιστημιακή Κλινική του Ιπποκρατείου Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών σε συνεργασία με την ΩΡΛ Κλινική του Γενικού Κρατικού Νίκαιας, υπό την επίβλεψη του ομότιμου Καθηγητή της Α' Πανεπιστημιακής ΩΡΛ Κλινικής του Ιπποκρατείου Νοσοκομείου και Ιωάννη Ξενέλη.

Με το πέρας της διατριβής οφείλω να ευχαριστήσω από καρδιάς τον Επιβλέποντα Καθηγητή και Ιωάννη Ξενέλη, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε στην ανάθεση της παρούσας διατριβής και για την πολύτιμη καθοδήγηση του. Η κλινική και ερευνητική του εμπειρία του, καθώς και οι επιστημονικές του γνώσεις στο θέμα των εμβοών συνέβαλαν καθοριστικά στον επιτυχή σχεδιασμό και την υλοποίηση της μελέτης. Επίσης, ευχαριστώ θερμά τον ομότιμο Καθηγητή της Α' Πανεπιστημιακής ΩΡΛ Κλινικής του Ιπποκρατείου Νοσοκομείου και Σταύρο Κορρέ, για την υποστήριξη του καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης. Σημαντική συμβολή στην πραγματοποίηση της διδακτορικής μου διατριβής ήταν εκείνη της κας Ανδριάνας Καλιώρα, Επίκουρης Καθηγήτριας του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Την ευχαριστώ βαθύτατα, καθώς η ερευνητική της εμπειρία και οι γνώσεις της στο πεδίο των αντιοξειδωτικών συνέβαλαν καθοριστικά στον επιτυχή σχεδιασμό και τη διεκπεραίωση της μελέτης. Ευχαριστώ επίσης τον Τακτικό Καθηγητή ΩΡΛ του Πανεπιστημίου Αθηνών, και Ιωάννη Σέγγα, για την έγκριση που μου έδωσε να παρακολουθήσω τις εργασίες του Ακουστικού Νευροτολογικού Ιατρείου της Α' Πανεπιστημιακής ΩΡΛ Κλινικής του Ιπποκρατείου Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών, προκειμένου να οργανώσω τη μελέτη μου. Ευχαριστώ επίσης θερμά τον και Δημήτρη Κικίδη, ΩΡΛ γιατρό και ακαδημαϊκό υπότροφο της Α' Πανεπιστημιακής ΩΡΛ Κλινικής του Ιπποκρατείου Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών, για τις κατευθυντήριες οδηγίες του σχετικά με την αξιολόγηση των ασθενών με εμβοές πριν και μετά την παρέμβαση.

Παράλληλα θα ήθελα να ευχαριστήσω την αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μοριακής Βιολογίας της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ, και Μαρία Γαζούλη, για την πολύτιμη συμβολή της στη διεξαγωγή των εργαστηριακών μετρήσεων των δεικτών οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικής ικανότητας στο εργαστήριο Βιολογίας του ΕΚΠΑ. Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον και Ευστράτιο Μοσχοβάκη, Διευθυντή και επιστημονικά υπεύθυνο της ΩΡΛ Κλινικής του Γενικού Κρατικού Νίκαιας, για την έμπρακτη υποστήριξη του στην

πραγματοποίηση της παρούσας μελέτης, εγκρίνοντας την παρουσία μου στο Ακοολογικό - Νευροωτολογικό ιατρείο, απ' όπου έγινε η συλλογή του δείγματος. Ιδιαίτερη ευγνωμοσύνη οφείλω στη Διευθύντρια της ΩΡΛ Κλινικής του Γενικού Κρατικού Νίκαιας κα Γεωργία Κοντοθανάση, που ως επιστημονικά υπεύθυνη του Ακοολογικού-Νευροωτολογικού ιατρείου της ΩΡΛ Κλινικής του Γενικού Κρατικού Νίκαιας βοήθησε στη συλλογή του δείγματος μέσα από ένα σύνολο εκατοντάδων ασθενών που είχαν επισκεφθεί το ιατρείο με σύμπτωμα τις εμβοές την τελευταία ζετία. Η συμβολή της ήταν πολύτιμη στην επιλογή του δείγματος και την πραγματοποίηση των ακοολογικών μετρήσεων. Χωρίς την πολυετή εμπειρία της, την ενθάρρυνση, την ηθική συμπαράσταση και την καθοδήγηση της, η παρούσα μελέτη δε θα είχε ολοκληρωθεί. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την κα Ελένη Σταυριανού, Διευθύντρια της ΩΡΛ Κλινικής του Γενικού Κρατικού Νίκαιας, με μετεκπαίδευση στην Ακοολογία-Νευροωτολογία, για την έμπρακτη συμπαράσταση και καθοδήγηση της σε όλα τα στάδια της μελέτης.

Επίσης, ευχαριστώ την κα Ελευθερία Ζάγορα, γιατρό της ΩΡΛ Κλινικής του Γενικού Κρατικού Νίκαιας με μεταπτυχιακό στην ακοολογία-νευροωτολογία, για την πολύτιμη βοήθεια της στις ακοολογικές μετρήσεις καθώς και στο κείμενο του διδακτορικού. Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στους γιατρούς της ΩΡΛ Κλινικής του Γενικού Κρατικού Νίκαιας Σωτήρη Αναστασόπουλο, Κωνσταντίνο Χατζή, Ανδρέα Χατζίκο και Κωνσταντίνο Πισκοπάκη, οι οποίοι προσέφεραν την πολύτιμη συμβολή τους στην παρακολούθηση των ασθενών. Ευχαριστώ βαθύτατα την κα Ματίνα Συμεωνίδη, Γενική γιατρό του Γενικού Κρατικού Νίκαιας, για την πολύτιμη βοήθεια της στη συλλογή και επεξεργασία των εργαστηριακών αιματολογικών εξετάσεων των ασθενών. Επιπρόσθετα, ο ρόλος της Διευθύντριας του Αιματολογικού Τμήματος του Γενικού Κρατικού Νίκαιας κας Χρυσούλας Μπέλεσης και της παρασκευάστριας κας Σοφίας Μερκούρη ήταν καταλυτικός στην επεξεργασία των δειγμάτων αίματος. Ακόμη, ευχαριστώ τον Ομότιμο καθηγητή Βιοχημείας & Χημείας Τροφίμων του τμήματος Χημείας του ΕΚΠΑ, κο Κωνσταντίνο Δημόπουλο για την πολύτιμη βοήθεια του επί του κειμένου του διδακτορικού και τη βιοστατιστικό, κα Χάρα Τζαβάρα για την ουσιαστική συμβολή της στη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων. Ευχαριστώ επίσης τον Γιώργο Κορρέ, γιατρό ΩΡΛ και ακαδημαϊκό υπότροφο της Β' Πανεπιστημιακής ΩΡΛ Κλινικής του Αττικού νοσοκομείου, για την πολύτιμη βοήθεια του επί του κειμένου του διδακτορικού.

Και βέβαια, ευχαριστώ πολύ τους γονείς μου και τον αδερφό μου, γιατί χωρίς τη στήριξη, την αγάπη και την υπομονή τους, δε θα ήταν δυνατή η ολοκλήρωση αυτού του ταξιδιού.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	1
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
ABSTRACT	8
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	10
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ.....	12
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ	13
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ	14
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	15
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ	16
1.1 Εισαγωγή	16
1.2 Τι είναι οι ελεύθερες ρίζες	16
1.3 Πηγές παραγωγής ελεύθερων ριζών	17
1.3.1 Ενδογενείς πηγές.....	17
1.3.2 Εξωγενείς πηγές	20
1.4 Δράσεις ελεύθερων ριζών.....	20
1.4.1 Οξειδωτικές βλάβες λιποειδών.....	22
1.4.2 Οξειδωτικές βλάβες πρωτεϊνών.....	23
1.4.3 Οξειδωτικές βλάβες νουκλεϊκών οξέων.....	23
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ.....	25
2.1 Εισαγωγή	25
2.2 Ενδογενές αντιοξειδωτικό σύστημα	26
2.2.1 Ενζυμικά αντιοξειδωτικά.....	26
2.2.1.1 Δισμουτάσες του υπεροξειδίου (Superoxide dismutase - SOD).....	26
2.2.1.2 Καταλάση (Catalase - CAT)	26
2.2.1.3 Υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης (Glutathione peroxidases - GPxs)	26
2.2.1.4 Αναγωγάση της γλουταθειόνης (Glutathione reductase - GR).....	28
2.2.1.5 Αναγωγάσες της θειορεδοξίνης (Thioredoxin reductases – TrxRs)	28
2.2.1.6 Υπεροξειρεδοξίνες (Prx)	28
2.2.1.7 Μυελοϋπεροξειδάση (MPO).....	29
2.2.2 Μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά	29
2.2.2.1 Μεταλλοδεσμευτικές πρωτεΐνες	29

2.2.2.2 Συνένζυμο Q10 (CoQ10).....	30
2.2.2.3 Γλουταθειόνη (GSH)	30
2.2.2.4 Ουρικό οξύ	31
2.2.2.5 Μελατονίνη	31
2.2.2.6 Χολερυθρίνη.....	31
2.2.2.7 α-Λιποϊκό οξύ (ALA).....	31
2.3 Εξωγενές αντιοξειδωτικό σύστημα	34
2.3.1 Βιταμίνη C.....	34
2.3.2 Βιταμίνη E.....	35
2.3.3 Βιταμίνη A και καροτενοειδή.....	36
2.3.4 Φαινολικές ενώσεις.....	37
2.3.5 N-Ακετυλοκυστεΐνη (NAC).....	39
2.3.6 Σελήνιο (Se)	39
2.3.7 Χαλκός (Cu).....	40
2.3.8 Ψευδάργυρος (Zn).....	40
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ.....	42
3.1 Εισαγωγή	42
3.2 Μέθοδοι εκτίμησης του οξειδωτικού στρες	43
3.2.1 Εισαγωγή	43
3.2.2 Δείκτες λιποξειδικής υπεροξειδωσης.....	43
3.2.2.1 F2-Ισοπροσάνια (F2-IsoPs).....	43
3.2.2.2 Μηλονική Διαλδεΐδη (MDA).....	43
3.2.2.3 4-υδροξυ-2-νονενάλη (4-HNE)	44
3.2.3 Δείκτες οξειδωσης νουκλεϊκών οξέων	44
3.2.4 Δείκτες οξειδωσης πρωτεϊνών	44
3.2.4.1 Πρωτεϊνικά καρβονύλια, ALEs, and AGEs	44
3.2.4.2 Νιτροτυροσίνη.....	45
3.2.4.5 Προϊόντα προχωρημένης οξειδωσης πρωτεϊνών (AOPP).....	45
3.2.4.6 Οξειδωμένη LDL	45
3.2.5 Ενζυμικοί παράγοντες οξειδοαναγωγής	46
3.2.5.1 Γλουταθειομένες πρωτεΐνες	46
3.2.5.2 Γλουταθειόνη (GSH) και κυστεΐνη.....	46
3.2.5.3 Nrf-2, NF-Kb.....	47

3.2.5.4 Ένζυμα	47
3.2.6 Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC).....	48
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ANATOMIA KAI ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΩΤΟΣ	49
4.1 Ανατομία του ωτός.....	49
4.1.1 Εισαγωγή	49
4.1.2 Έξω ους.....	49
4.1.3 Μέσο ους.....	50
4.1.4 Έσω ους	51
4.1.4.1 Οστέινος λαβύρινθος	51
4.1.4.2 Υμενώδης λαβύρινθος.....	52
4.1.4.3 Όργανο του Corti.....	53
4.1.4.4 Τριχωτά κύτταρα	54
4.2 Κεντρική ακουστική οδός.....	56
4.3 Φυσιολογία της ακοής	57
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΕΜΒΟΕΣ.....	62
5.1 Τι είναι οι εμβοές	62
5.2 Επιδημιολογία των εμβοών	63
5.3 Επίδραση των εμβοών στην ποιότητα ζωής	63
5.4 Αιτιολογία των εμβοών	63
5.5 Πρεσβυακουσία	65
5.6 Παθοφυσιολογία των εμβοών	66
5.6.1 Εισαγωγή	66
5.6.2 Κοχλιακά μοντέλα δημιουργίας των εμβοών	66
5.6.3 Δυσλειτουργία της φυγόκεντρης ακουστικής οδού και συγκεκριμένα του ελαιοκοχλιακού δεματίου.....	67
5.6.4 Βιοχημικά μοντέλα	67
5.7 Διαγνωστική διερεύνηση των εμβοών.....	68
5.8 Ακοολογικές δοκιμασίες	68
5.9 Θεραπεία των εμβοών	68
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΣΤΟΝ ΚΟΧΛΙΑ ΚΑΙ ΣΤΙΣ ΕΜΒΟΕΣ	70
6.1 Εισαγωγή	70
6.2 Επίδραση των ROS στον κοχλία	70

6.3 Ο ρόλος της χορήγησης αντιοξειδωτικών στον κοχλία.....	74
6.4 Οξειδωτικό στρες στις εμβοές.....	76
6.5 Ο ρόλος της χορήγησης αντιοξειδωτικών στις εμβοές	76
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	78
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΗΣ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΕΝΗΣ ΜΕ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΠΟΥ ΠΑΣΧΟΥΝ ΑΠΟ ΙΔΙΟΠΑΘΕΙΣ ΕΜΒΟΕΣ ΤΩΝ ΩΤΩΝ	79
7.1 Σκοπός	79
7.2 Υλικό & Μέθοδος	80
7.2.1 Βιοηθική	80
7.2.2 Δείγμα.....	80
7.2.3 Σχεδιασμός της μελέτης	80
7.2.3.1 Στρατολόγηση ασθενών	80
7.2.3.2 Τυχαιοποίηση και τυφλοποίηση	82
7.2.3.3 Παρέμβαση.....	83
7.2.4 Αρχική αξιολόγηση συμμετεχόντων.....	86
7.2.4.1 Ιατρικό ιστορικό	86
7.2.4.2 Ερωτηματολόγιο κοινωνικο-δημογραφικών στοιχείων	86
7.2.4.3 Ακοολογικός έλεγχος και ειδικός ακοολογικός έλεγχος εμβοών	86
7.2.4.4 Αξιολόγηση της υποκειμενικής ενόχλησης των εμβοών	87
7.2.4.5 Ανθρωπομετρικά δεδομένα	89
7.2.4.6 Ψυχολογική αξιολόγηση	89
7.2.4.7 Αξιολόγηση της διατροφικής πρόσληψης και της σωματικής δραστηριότητας	90
7.2.4.8 Αιμοληψία και απομόνωση ορού	91
7.2.5 Παρακολούθηση και επανέλεγχος.....	91
7.2.6 Προσδιορισμός δεικτών οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικής ικανότητας.....	92
7.2.6.1 Προσδιορισμός της οξειδωμένης LDL ορού (ox.LDL).....	92
7.2.6.2 Προσδιορισμός της υπεροξειδικής δισμουτάσης ορού (SOD)	93
7.2.6.3 Προσδιορισμός ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας ορού (TAC)	95
7.2.7 Σχεδιασμός μεγέθους του δείγματος	97
7.2.8 Στατιστική ανάλυση.....	97
7.3 Αποτελέσματα.....	98
7.3.1 Αρχικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων.....	98

7.3.2 Αιματολογικοί/βιοχημικοί δείκτες και επίπεδα βιταμινών πριν και μετά την παρέμβαση.....	105
7.3.3 Ανθρωπομετρικά δεδομένα και διατροφικά στοιχεία πριν και μετά την παρέμβαση.....	108
7.3.4 Δείκτες οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικής ικανότητας πριν και μετά την παρέμβαση.....	110
7.3.5 Ακοολογικές παράμετροι εμβοών και υποκειμενική ενόχληση λόγω των εμβοών πριν και μετά την παρέμβαση.....	112
7.4 Συζήτηση.....	122
ΣΥΝΟΨΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	127
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	129
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1: ΣΥΜΦΩΝΗΤΙΚΟ ΕΘΕΛΟΝΤΙΚΗΣ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣ	156
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2: ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΕΜΒΟΩΝ ΚΑΙ ΙΑΤΡΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ	157
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 3: ΑΝΑΚΛΗΣΗ 24ΩΡΟΥ	160
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 4: MedDietScore.....	161
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 5: TINNITUS HANDICAP INVENTORY	162
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 6: ΚΛΙΜΑΚΑ VAS.....	164

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

Σύντμηση	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
ALA	A-Lipoic acid	α-λιποϊκό οξύ
MML	Minimum Masking Level	Ελάχιστο επίπεδο ηχοκάλυψης των εμβοών
THI	Tinnitus Handicap Inventory	
TFI	Tinnitus Functional Index	
VAS	Visual Analogue Scale	
TAC	Total Antioxidant Capacity	Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα
Ox.LDL	Oxidized LDL	Οξειδωμένη LDL
SOD	Superoxide dismutase	Δισμουτάση του υπεροξειδίου
ROS	Reactive Oxygen Species	Δραστικές μορφές οξυγόνου
O ₂ •-	Superoxide radicals	Ρίζες ανιόντος υπεροξειδίου
OH•	Hydroxyl radicals	Ρίζες υδροξυλίου
RO•	Alkoxy radicals	Ρίζες αλκοξειδίου
HO ₂ •	Hydroperoxyl radicals	Ρίζες υδροϋπεροξειδίου
H ₂ O ₂	Hydrogen peroxide	Υπεροξείδιο του υδρογόνου
CCl ₃ •	Trichloromethyl radicals	Ρίζες τριχλωρομεθυλίου
RS•	Sulfur radicals	Θειούχες ρίζες
COCl	Hydrochlorous acid	Υποχλωριώδες οξύ
RNS	Reactive nitrogen species	Δραστικές μορφές αζώτου
NO•	Nitrogen monoxide	Μονοξείδιο του αζώτου
NO ₂ •	Nitrogen dioxide	Διοξείδιο του αζώτου
HNO ₂	Nitrous oxide	Νιτρώδες οξύ
ONOO-	Peroxynitrite	Υπεροξυ-νιτρώδες ανιόν
ATP	Adenosine triphosphate	Τριφωσφορική αδενοσίνη
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide	Νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο
FADH ₂	Flavin adenine	Φλαβινο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο

	dinucleotide	
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	Φωσφορικό νικοτιναμινο-αδενοδινουκλεοτίδιο
O ₂	Singlet oxygen	Μονήρες οξυγόνο
XO	Xanthine oxidase	Οξειδάση της ξανθίνης
ADP	Adenosine diphosphate	Διφωσφορική αδενοσίνη
AMP	Adenosine monophosphate	Μονοφωσφορική αδενοσίνη
PMN	Polymorphonuclear leukocyte	Πολυμορφοπύρηνα ουδετερόφιλα
PUFA	Polyunsaturated Fatty Acids	Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα
LOO [•]	Lipid peroxy radical	Ρίζα λιποειδικού υπεροξειδίου
LOOH	Lipid hydroperoxides	Λιποειδικά υδροϋπεροξειδία
8-OHdG	8-hydroxy-2'-deoxyguanosine	8-ύδροξυ-2'-δεοξυγουανοσίνη
mtDNA	Mitochondrial DNA	Μιτοχονδριακό DNA
CAT	Catalase	Καταλάση
GPxs	Glutathione peroxidases	Υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης
GSH	Reduced form of glutathione	Ανηγμένη γλουταθειόνη
GR	Glutathione reductase	Αναγωγάση της γλουταθειόνης
GSSG	Oxidized form of glutathione	Οξειδωμένη γλουταθειόνη
TrxRs	Thioredoxin reductases	Αναγωγάσες της θειορεδοξίνης
Prx	Peroxiredoxins	Υπεροξειρεδοξίνες
MPO	Myeloperoxidase	Μυελουπεροξειδάση
CoQ	Coenzyme Q	Συνένζυμο Q
MDA	Malondialdehyde	Μηλονική διαλδεϋδη
DHLA	Dihydrolipoic acid	Διϋδρολιποϊκό οξύ
EFSA	European Food Safety Authority	Ευρωπαϊκή Αρχή Ασφάλειας Τροφίμων
LDL	Low protein lipoprotein	Χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη
GSE	Grape Seed Extract	Εκχύλισμα σπόρων κόκκινου

		σταφυλιού
OPC's	Oligomeric proanthocyanidins	Ολιγομερή των προανθοκυανιδινών
NAC	N-acetylcysteine	N-Ακετυλοκυστεΐνη
IDD	Iodothyronine deiodinases	Δειοδινάσες της ιωδοθυρονίνης
SEPP1	Selenoprotein P	Σεληνοπρωτεΐνη P
Se	Selenium	Σελήνιο
Cu	Copper	Χαλκός
Zn	Zinc	Ψευδάργυρος
F2-IsoPs	F2-Isoprostanes	F2-Ισοπροστάνια
TBARS	Thiobarbituric Reactive Substances	Ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ
TBA	Thiobarbituric Acid	Θειοβαρβιτουρικό οξύ
4-HNE	4-hydroxy-2-nonenal	4-υδροξυ-2-νονενάλη
HPLC	High-performance liquid chromatography	Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης
GC-MS	Gas chromatography–mass spectrometry	Αέρια χρωματογραφία συζευγμένη με φασματοσκοπία μάζας
8oxodG	8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine	7,8-διυδροξυ-8-οξο-2'-δεοξυγουανοσίνη
ALEs	Advanced Lipoxidation Endproducts	Τελικά προϊόντα προχωρημένης λιπιδικής υπεροξειδωσης
AGEs	Advanced Glycation End-Products	Τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης
3-NO-Tyr	3-Nitrotyrosine	3-νιτρο-τυροσίνη
AOPP	Advanced Oxidation Protein Products	Προϊόντα προχωρημένης οξειδωσης πρωτεϊνών
3-Cl-Tyr	3-chlorotyrosine	3-χλωρο-τυροσίνη
NOX	NADPH oxidase	Οξειδάση NADPH
GSTs	Glutathione S-transferases	Τρανσφεράσες γλουταθειόνης
NEAC	Nonenzymatic Antioxidant Capacity	Μη-ενζυματική αντιοξειδωτική ικανότητα

Nrf-2	Nuclear factor erythroid 2-related factor 2	Μεταγραφικός παράγοντας Nrf-2
NF-Kb	Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells	Πυρηνικός παράγοντας-ελαφράς-αλύσου-ενισχυτής ενεργοποιημένων B κυττάρων
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity	Ικανότητα Απορροφητικότητας Ριζών Οξυγόνου
TRAP	Total Radical-trapping Antioxidant Parameter	Συνολικό Δυναμικό Παγίδευσης Ριζών
TAS	Total Antioxidant Status	Ολικό Αντιοξειδωτικό Προφίλ
ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid	2,2'-αζινο-δισ(3-αιθυλβενζοθειαζολινο)- 6-σουλφονικό οξύ
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Potential	Αντιοξειδωτική Ισχύς Αναγωγής Σιδήρου
TEAC	Trolox equivalent antioxidant capacity	Αντιοξειδωτική ικανότητα ισοδύναμης με το Trolox
Trolox	6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid	6-υδροξυ-2,5,7,8-τετραμεθυλοχρωμανυλο-2-καρβοξυλικό οξύ
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay	Ενζυμική ανοσοδοκιμασία
NMDA	N-Methyl-d-aspartate	N-μέθυλο-D-ασπαραγινικό οξύ
MAPK	Mitogen-activated protein kinase	Πρωτεϊνική κινάση ενεργοποιούμενη από μιτογόνα
JNK	c-Jun N-terminal kinase	Κινάση c-Jun N-terminal
OHC	Outer Hair Cells	Έξω τριχωτά κύτταρα
IHC	Inner Hair Cells	Έσω τριχωτά κύτταρα
PON	Paraoxonase	Παραοξονάση
vWF	von Willebrand factor	Παράγοντας von Willebrand
PTA	Pure Tone Audiometry	Συμβατική ακοομετρία καθαρών τόνων
BSR	Auditory Brainstem Responses	Ακουστικά προκλητά δυναμικά του εγκεφαλικού στελέχους

MRI	Magnetic Resonance Imaging	Μαγνητική τομογραφία
NSAIDs	Nonsteroidal anti-inflammatory drugs	Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη
GMP	Good Manufacturing Practices	Ορθή Παρασκευαστική Πρακτική
PABA	Para-aminobenzoic Acid	Παρα-αμινο-βενζοϊκό οξύ
BMI	Body Mass Index	Δείκτης Μάζας Σώματος
CES-D	Center for Epidemiologic Studies Depression Scale	Κλίμακα Κέντρου Επιδημιολογικών Μελετών Κατάθλιψης
HADS	Hospital Anxiety and Depression Scale	Νοσοκομειακή Κλίμακα Άγχους και Κατάθλιψης
FFQ	Food Frequency Questionnaire	Ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων
IPAQ	International Physical Activity Questionnaire	Διεθνές Ερωτηματολόγιο Φυσικής Δραστηριότητας
AST	Aspartate Aminotransferase	Ασπαρτική αμινοτρανσφεράση
ALT	Alanine Aminotransferase	Αμινοτρανσφεράση της αλανίνης
γ-GT	Gamma-Glutamyl Transpeptidase	γ-γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάση
TKE		Ταχύτητα Καθίζησης Ερυθρών
HDL	High Density Lipoprotein	Υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη
CRP	C-Reactive Protein	C-αντιδρώσα πρωτεΐνη
HbA1c	Hemoglobin A1c	Γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη
HRP	Horseradish peroxidase	Υπεροξειδάση χρένου
TMB	3,3',5,5'-tetramethylbenzidine	3,3-5,5-τετραμεθυλο-βενζιδίνη
SABC	Streptavidin-Biotin Complex	Σύμπλοκο στρεπταβιδίνης-βιοτίνης
MET	Metabolic Equivalent	Μεταβολικά ισοδύναμα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι ιδιοπαθείς υποκειμενικές εμβοές των ώτων είναι η αντίληψη του ήχου χωρίς την ύπαρξη εξωτερικών ερεθισμάτων, χωρίς κάποια αναγνωρίσιμη αιτία. Το οξειδωτικό στρες πιθανά εμπλέκεται στην παθογένεσή τους και ποικίλες αντιοξειδωτικές ενώσεις έχουν μελετηθεί ως πιθανές θεραπευτικές προσεγγίσεις. Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της αποτελεσματικότητας των αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων που παρείχαν βιταμίνες, μέταλλα και φυτοχημικά σε συνδυασμό με α-λιποϊκό οξύ (ALA) στις παραμέτρους των εμβοών, την υποκειμενική ενόχληση λόγω αυτών και σε δείκτες οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικής ικανότητας σε ασθενείς με ιδιοπαθείς εμβοές.

Η παρούσα μελέτη αποτελεί μια τυχαιοποιημένη, διπλή-τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, κλινική δοκιμή. Οι ασθενείς (N=70) εντάχθηκαν τυχαία στην ομάδα αντιοξειδωτικών (N=35) ή την ομάδα του εικονικού φαρμάκου (placebo) (N=35) για 3 μήνες. Στην έναρξη της μελέτης, έγινε πλήρης αξιολόγηση δημογραφικών, ιατρικών, ανθρωπομετρικών, διατροφικών και αιματολογικών δεδομένων. Οι μεταβλητές που αξιολογήθηκαν ως προς τη μεταβολή τους μετά την παρέμβαση ήταν η ένταση, η συχνότητα και το ελάχιστο επίπεδο ηχοκάλυψης των εμβοών (MML), το σκορ στα ερωτηματολόγια υποκειμενικής ενόχλησης λόγω των εμβοών (THI, TFI, VAS) και η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα ορού (TAC), η οξειδωμένη LDL (ox.LDL). και η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD).

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ένταση και το MML των εμβοών μειώθηκαν σημαντικά μετά την παρέμβαση μόνο στην ομάδα των αντιοξειδωτικών ($p<0,001$) και ο βαθμός μεταβολής διέφερε σημαντικά μεταξύ των δύο ομάδων ($p<0,001$). Η συχνότητα των εμβοών δε μεταβλήθηκε σημαντικά σε καμία από τις δύο ομάδες. Επίσης, τα σκορ στα ερωτηματολόγια THI, VAS και στις υποκλίμακες TFI-χαλάρωση και TFI-συναισθήματα μειώθηκαν σημαντικά στην ομάδα των αντιοξειδωτικών ενώ καμία αλλαγή δεν παρατηρήθηκε στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου. Ο βαθμός μεταβολής των σκορ στο THI και στις υποκλίμακες TFI-χαλάρωση και TFI-συναισθήματα διέφερε σημαντικά μεταξύ των ομάδων. Επιπλέον, παρατηρήθηκαν σημαντικές μειώσεις στις ακουστικές οδούς στις συχνότητες των 250 Hz, 500 Hz, 1000 Hz, 2000 Hz και 6000 Hz μόνο στην ομάδα των αντιοξειδωτικών, ενώ καμία μεταβολή δεν παρατηρήθηκε στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου. Σχετικά με τις μεταβολές των δεικτών οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικής ικανότητας, τα επίπεδα TAC μειώθηκαν σημαντικά και στις δύο ομάδες, ενώ τα επίπεδα SOD και ox.LDL δεν άλλαξαν σε καμία από τις δύο ομάδες. Οι διαφορές μεταξύ των ομάδων στις μεταβολές των TAC, SOD και ox.LDL ορού μετά την παρέμβαση ήταν ασήμαντες.

Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έδειξαν ότι η χορήγηση αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων με βιταμίνες, μέταλλα, φυτοχημικά και ALA θα μπορούσε να ωφελήσει τα άτομα με ιδιοπαθείς εμβοές καθώς φάνηκε ότι μειώνει την ένταση και το MML των εμβοών καθώς και την υποκειμενική ενόχληση. Ωστόσο, η επίδραση των αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων σε δείκτες οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικής ικανότητας σε ασθενείς με εμβοές χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση.

Λέξεις κλειδιά: εμβοές, ιδιοπαθείς εμβοές, συμπληρώματα αντιοξειδωτικών, οξειδωτικό στρες, α-λιποϊκό οξύ, πολυβιταμινούχο συμπλήρωμα

ABSTRACT

Idiopathic subjective tinnitus is the perception of sound in the absence of any external stimulus, with no identifiable cause. Oxidative stress is possibly involved in its pathogenesis and a variety of antioxidant compounds have been studied as potential treatment approaches. The aim of the study was to explore the efficacy of antioxidant supplementation which provides vitamins, minerals and phytochemicals combined with α -lipoic acid on tinnitus parameters and subjective discomfort in idiopathic tinnitus patients. A second aim was to assess whether antioxidant administration had an impact on biomarkers of oxidative stress and antioxidant capacity.

This is a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. Patients (N=70) were randomly allocated to antioxidant supplementation (N=35) or to placebo (N=35) for a total of 3 months. Demographic, anthropometric, clinical and nutritional data were collected. Tinnitus loudness, frequency and Minimum Masking Level (MML), scores in Tinnitus Handicap Inventory questionnaire (THI), Tinnitus Functional Index (TFI) and Visual Analogue Scale (VAS) and Serum Total Antioxidant Capacity (TAC), oxidized LDL (ox.LDL) and Superoxide Dismutase (SOD), were evaluated at baseline and follow-up.

Results from psychoacoustic measurements of tinnitus revealed that loudness and MML significantly decreased from baseline to post measure ($p < 0.001$) only in the antioxidant group and the overall change was different between the two groups as indicated from the significant interaction effect of the analysis ($p < 0.001$). Tinnitus frequency did not significantly change in any of the two groups. Results from the tinnitus questionnaires before and after the intervention revealed that scores of THI, VAS, TFI-Relaxation (TFI-R) and TFI-Emotions (TFI-E) had a significant reduction in the antioxidant group, while no change was recorded in the placebo group. A significant interaction effect of group with time indicated a significant treatment difference for THI, TFI-R and TFI-E. Moreover, there was a significant decrease in the auditory threshold at the frequencies of 250 Hz, 500 Hz, 1000 Hz, 2000 Hz and 6000 Hz only in the antioxidant group whereas in the placebo group there was no significant change post intervention. As far as serum concentrations of biomarkers of oxidative stress and antioxidant capacity are concerned, serum TAC was decreased significantly in both groups, while SOD and ox.LDL did not change in either of the two groups. Differences between the groups in changes in serum TAC, SOD and oxLDL postintervention were insignificant.

Results of this study showed that antioxidant supplementation with vitamins, minerals, phytochemicals and ALA could exhibit favourable effects in tinnitus by reducing the subjective discomfort and tinnitus intensity. However, the effect of the antioxidant

supplementation in oxidative stress biomarkers in tinnitus patients needs further investigation.

Keywords: tinnitus, idiopathic tinnitus, antioxidant supplementation, oxidative stress, alpha-lipoic acid, multi-vitamin supplement

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 5.1 Ταξινόμηση των εμβοών (Πηγή: Esmaili and Renton, 2018)	62
Πίνακας 5.2 Καταστάσεις που συνδέονται με τις εμβοές	64
Πίνακας 7.1 Κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού	81
Πίνακας 7.2 Συστατικά πολυβιταμινούχου συμπληρώματος αντιοξειδωτικών	85
Πίνακας 7.3 Δημογραφικά χαρακτηριστικά και καπνιστικές συνήθειες των συμμετεχόντων στις 2 ομάδες κατά την ένταξή τους στη μελέτη.	98
Πίνακας 7.4 Συνοδά νοσήματα των συμμετεχόντων στις 2 ομάδες κατά την ένταξή τους στη μελέτη.....	99
Πίνακας 7.5 Αιματολογικοί και βιοχημικοί δείκτες των συμμετεχόντων στις 2 ομάδες κατά την ένταξή τους στη μελέτη.	100
Πίνακας 7.6 Ανθρωπομετρικά δεδομένα των συμμετεχόντων στις 2 ομάδες κατά την ένταξή τους στη μελέτη.....	101
Πίνακας 7.7 Σωματική δραστηριότητα των συμμετεχόντων στις 2 ομάδες κατά την ένταξή τους στη μελέτη.....	101
Πίνακας 7.8 Σκορ στις κλίμακες HADS και CES-D των συμμετεχόντων στις 2 ομάδες κατά την ένταξή τους στη μελέτη.....	101
Πίνακας 7.9 Ποιοτικά στοιχεία των εμβοών των συμμετεχόντων στις 2 ομάδες κατά την ένταξή τους στη μελέτη.....	102
Πίνακας 7.10 Στοιχεία εμβοών και κατηγοριοποίηση ακοής των συμμετεχόντων στις 2 ομάδες κατά την ένταξή τους στη μελέτη.	103
Πίνακας 7.11 MedDietScore και συχνότητα κατανάλωσης τροφίμων πλούσιων σε αντιοξειδωτικά των συμμετεχόντων στις 2 ομάδες κατά την ένταξή τους στη μελέτη.	104
Πίνακας 7.12 Μεταβολές στους αιματολογικούς και βιοχημικούς δείκτες στους συμμετέχοντες των 2 ομάδων μετά την παρέμβαση	106
Πίνακας 7.13 Μεταβολές στα επίπεδα βιταμινών και μετάλλων στο αίμα στους συμμετέχοντες των 2 ομάδων μετά την παρέμβαση	107
Πίνακας 7.14 Μεταβολές στα ανθρωπομετρικά στοιχεία στους συμμετέχοντες των 2 ομάδων μετά την παρέμβαση.....	108
Πίνακας 7.15 Μεταβολές στην πρόσληψη μακρο- και μικροθρεπτικών συστατικών στους συμμετέχοντες των 2 ομάδων μετά την παρέμβαση	109
Πίνακας 7.16 Μεταβολές στους δείκτες οξειδωτικού στρες στους συμμετέχοντες των 2 ομάδων μετά την παρέμβαση.....	111
Πίνακας 7.17 Δείκτες οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικής ικανότητας σε άτομα με χαμηλή ή υψηλή συμμόρφωση στη Μεσογειακή διατροφή (MedDietScore) πριν και μετά την παρέμβαση στην ομάδα αντιοξειδωτικών.	111

Πίνακας 7.18 Μεταβολές στα στοιχεία του ειδικού ακοολογικού ελέγχου των εμβοών στους συμμετέχοντες των 2 ομάδων μετά την παρέμβαση.	114
Πίνακας 7.19 Ένταση εμβοών σε άτομα με χαμηλή ή υψηλή συμμόρφωση στη Μεσογειακή διατροφή (MedDietScore) πριν και μετά την παρέμβαση στην ομάδα αντιοξειδωτικών. ..	115
Πίνακας 7.20 Μεταβολές στα σκορ των ερωτηματολογίων των εμβοών στις 2 ομάδες μετά την παρέμβαση.	117
Πίνακας 7.21 Ένταση, συχνότητα, MML και THI εμβοών σε άτομα με διάρκεια εμβοών μικρότερη ή μεγαλύτερη των 10 ετών πριν και μετά την παρέμβαση στην ομάδα εικονικού φαρμάκου.	118
Πίνακας 7.22 Ένταση, συχνότητα, MML και THI εμβοών σε άτομα με διάρκεια εμβοών μικρότερη ή μεγαλύτερη των 10 ετών πριν και μετά την παρέμβαση στην ομάδα των αντιοξειδωτικών.	119
Πίνακας 7.23 Μεταβολές στους ακουστικούς ουδούς τονικής ακοομετρίας (0.25 έως 12 kHz) στους συμμετέχοντες των 2 ομάδων μετά την παρέμβαση.	120

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1.1 Αντιδράσεις Fenton και Haber-Weiss	17
Εικόνα 1.2 Σταδιακή ροή ηλεκτρονίων μέσω της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων από NADH, ηλεκτρικό και FADH ₂ στο O ₂ (μπλε βέλη)	18
Εικόνα 1.3 Λιποειδική υπεροξειδωση	22
Εικόνα 2.1 Ο μηχανισμός της αντιοξειδωτικής προστασίας	25
Εικόνα 2.2 Ο ρόλος της καταλάσης και της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης στην απομάκρυνση υπεροξειδίων του υδρογόνου από τους ανθρώπινους ιστούς	27
Εικόνα 2.3 Χημικές δομές των ALA και DHLA	32
Εικόνα 2.4 Κύριοι μετασχηματισμοί του ζευγαριού οξειδοαναγωγής LA/DHLA. Μιτοχονδριακή σύνθεση του LA. Κυτταρική πρόσληψη εξωγενούς LA και εξωκυττάρια ελευθέρωση του. Η σχέση μεταξύ του συστήματος LA/DHLA και της κυτταρικής πρόσληψης κυστεΐνης και της σύνθεσης GSH.	32
Εικόνα 2.5 Αναγέννηση των αντιοξειδωτικών βιταμινών C και E και της GSH από το LA και το DHLA.	33
Εικόνα 2.6 Οξείδωση του ασκορβικού οξέος	34
Εικόνα 2.7 Αντίδραση της α-τοκοφερόλης κατά τη διάρκεια της οξείδωσης των ακόρεστων λιπαρών οξέων	35
Εικόνα 2.8 Η αντιοξειδωτική δράση των προανθοκυανιδινών μέσω της ρύθμισης συγκεκριμένων μορίων και μονοπατιών σηματοδότησης, +: ενισχύει, -: αναστέλλει	39
Εικόνα 3.1 Οξειδωτικό στρες: Ανισορροπία μεταξύ των οξειδωτικών και των αντιοξειδωτικών	42
Εικόνα 4.1 Ανατομία του ωτός	49
Εικόνα 4.2 Το έσω ους	51
Εικόνα 4.3 Διατομή του κοχλία.....	53
Εικόνα 4.4 Όργανο του Corti.....	54
Εικόνα 4.5 Έσω και έξω τριχωτά κύτταρα	55
Εικόνα 4.6 Νεύρωση τριχωτών κυττάρων	56
Εικόνα 4.7 Κεντρική ακουστική οδός.....	57
Εικόνα 4.8 Δόνηση της βασικής μεμβράνης του κοχλία ανάλογα με τη συχνότητα του ήχου (Τονοτοπία)	58
Εικόνα 4.9 Μηχανισμός διέγερσης τριχωτών κυττάρων	60
Εικόνα 5.1 Τυπική εικόνα ακοογράμματος σε πρεσβυακουσία	65
Εικόνα 6.1 Μοριακός μηχανισμός απόπτωσης στο τριχωτό κύτταρο	71

Εικόνα 6.2 Καμπύλη δόσης H_2O_2 και επιβίωση των έσω (A) και των έξω τριχωτών κυττάρων (B) της κορυφής, της μέσης και της βάσης του κοχλίου, 5 ημέρες μετά την έκθεση σε H_2O_2 . 72

Εικόνα 6.3 Χρώση με φαλλοϊδίνη (κόκκινο χρώμα) και Caspatag (πράσινο χρώμα). Επίδραση της επανειλημμένης έκθεσης H_2O_2 στην επιβίωση των τριχωτών κυττάρων (κόκκινο χρώμα) (A, B, C) και την ενεργοποίηση της κασπάσης (πράσινο χρώμα) (A, B). Συγκριτικές καλλιέργειες ελέγχου όπου φαίνεται η κανονική μορφή των έσω και έξω τριχωτών κυττάρων (D). 73

Εικόνα 6.4 Χρώση με φαλλοϊδίνη (κόκκινο χρώμα) του οργάνου του Corti που περιλαμβάνει τα έσω και έξω τριχωτά κύτταρα. Επίδραση της χορήγησης ALA στην επιβίωση των τριχωτών κυττάρων πριν και μετά την έκθεση ποντικών στη σισπλατίνη (CP). Το κόκκινο χρώμα αντιστοιχεί στα τριχωτά κύτταρα και οι λευκοί αστερίσκοι στα κύτταρα που έχουν εκφυλιστεί. 74

Εικόνα 6.5 Ιστολογική ανάλυση με χρώση αιματοξυλίνης και ηωσίνης των κυττάρων της αγγειώδους ταινίας (πάνω) και του σπειροειδούς γαγγλίου (κάτω). Επίδραση της χορήγησης ALA στο πάχος της αγγειώδους ταινίας και στον αριθμό των κυττάρων του σπειροειδούς γαγγλίου πριν και μετά την έκθεση ποντικών στη σισπλατίνη (CP). Τα διπλά βέλη αντιστοιχούν στο πάχος της αγγειώδους ταινίας και οι μαύροι αστερίσκοι στα εκφυλισμένα κύτταρα του σπειροειδούς γαγγλίου. 75

Εικόνα 7.1 Εικονικά φάρμακα A και B 83

Εικόνα 7.2 Συμπληρώματα αντιοξειδωτικών A. α-λιποϊκό οξύ, B. πολυβιταμινούχο με αντιοξειδωτικά 83

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 7.1 Διάγραμμα ροής της μελέτης 82

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ

Γράφημα 7.1 Μεταβολή των επιπέδων φυλλικού οξέος στις 2 ομάδες μετά την παρέμβαση	105
Γράφημα 7.2 Ένταση των εμβοών ανά ομάδα πριν και μετά την παρέμβαση με διαγράμματα πλαισίου απολήξεων (box plots). Η έντονη γραμμή στη μέση είναι η διάμεσος (median). Τα άνω και τα κάτω άκρα κάθε ορθογωνίου είναι το 1 ^ο (Q1) και το 3 ^ο τεταρτημόριο (Q3) αντίστοιχα. Τα κυκλάκια είναι οι έκτοπες τιμές.	112
Γράφημα 7.3 Συχνότητα των εμβοών ανά ομάδα πριν και μετά την παρέμβαση με διαγράμματα πλαισίου απολήξεων (box plots). Η έντονη γραμμή στη μέση είναι η διάμεσος (median). Τα άνω και τα κάτω άκρα κάθε ορθογωνίου είναι το 1 ^ο (Q1) και το 3 ^ο τεταρτημόριο (Q3) αντίστοιχα.	113
Γράφημα 7.4 MML των εμβοών ανά ομάδα πριν και μετά την παρέμβαση με διαγράμματα πλαισίου απολήξεων (box plots). Η έντονη γραμμή στη μέση είναι η διάμεσος (median). Τα άνω και τα κάτω άκρα κάθε ορθογωνίου είναι το 1 ^ο (Q1) και το 3 ^ο τεταρτημόριο (Q3) αντίστοιχα.	113
Γράφημα 7.5 TH1 των εμβοών ανά ομάδα πριν και μετά την παρέμβαση με διαγράμματα πλαισίου απολήξεων (box plots). Η έντονη γραμμή στη μέση είναι η διάμεσος (median). Τα άνω και τα κάτω άκρα κάθε ορθογωνίου είναι το 1 ^ο (Q1) και το 3 ^ο τεταρτημόριο (Q3) αντίστοιχα. Τα κυκλάκια είναι οι έκτοπες τιμές.	116
Γράφημα 7.6 Ακουστικοί ουδοί τονικής ακοομετρίας (μέσες τιμές) πριν και μετά την παρέμβαση στην ομάδα των αντιοξειδωτικών * $p \leq 0,05$ για την επίδραση της παρέμβασης, ** $p \leq 0,05$ μεταξύ των ομάδων.....	121
Γράφημα 7.7 Ακουστικοί ουδοί τονικής ακοομετρίας (μέσες τιμές) πριν και μετά την παρέμβαση στην ομάδα εικονικού φαρμάκου * $p \leq 0,05$ για την επίδραση της παρέμβασης, ** $p \leq 0,05$ μεταξύ των ομάδων.....	121

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ

1.1 Εισαγωγή

Οι ελεύθερες ρίζες ανακαλύφθηκαν σε βιολογικά υλικά λιγότερο από 50 χρόνια πριν (Commoner et al., 1954). Στη συνέχεια, ο Denham Harman υπέθεσε ότι οι ρίζες οξυγόνου προκύπτουν από ενζυμικές αντιδράσεις *in vivo*. Το 1956, περιέγραψε τις ελεύθερες ρίζες ως «κουτί της Πανδώρας» λόγω του ότι είναι υπεύθυνες για την κυτταρική φθορά και για τις μεταλλάξεις (Harman, 1981, 1956).

Λίγα χρόνια αργότερα, ανακαλύφθηκε το ένζυμο του υπεροξειδίου της δισμουτάσης (SOD) και οι ελεύθερες ρίζες εισήλθαν σε μία νέα εποχή όπου πλέον ο ρόλος τους ήταν αναγνωρισμένος στον τομέα της Βιολογίας (McCord and Fridovich, 1969). Αυτό σηματοδότησε και την έναρξη μιας έντονης ερευνητικής περιόδου γύρω από τις επιδράσεις των ελεύθερων ριζών στο DNA, τις πρωτεΐνες, τα λιπίδια και άλλα συστατικά του κυττάρου. Παράλληλα έγιναν και οι πρώτες αναφορές των θετικών επιδράσεων των ελεύθερων ριζών (Ignarro and Kadowitz, 1985; Mittal and Murad, 1977; White et al., 1976).

Μέχρι σήμερα έχουν γίνει πολυάριθμες μελέτες σχετικά με τις αρνητικές επιπτώσεις των ελεύθερων ριζών στον οργανισμό καθώς και το ρόλο τους στην εμφάνιση χρόνιων νοσημάτων (Dröge, 2002).

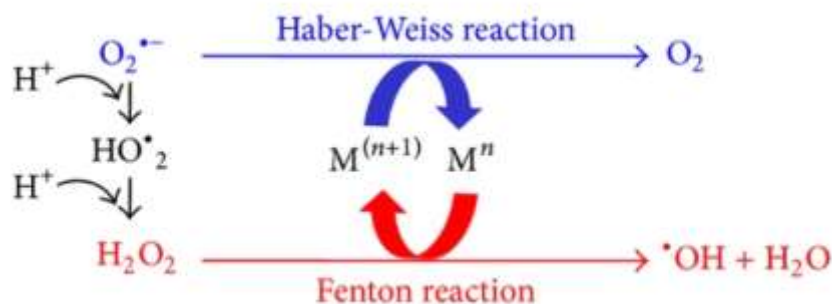
1.2 Τι είναι οι ελεύθερες ρίζες

Ελεύθερη ρίζα είναι ένα άτομο ή ομάδα ατόμων (ανόργανα ή οργανικά μόρια) που φέρουν ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο. Οι ελεύθερες ρίζες είναι εξαιρετικά ασταθείς και με σύντομη διάρκεια ζωής, καθώς αντιδρούν άμεσα με μόρια αποσπώντας από αυτά ένα ηλεκτρόνιο με στόχο να συζευχθεί με το δικό τους.

Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να αντιδρούν είτε μεταξύ τους και να παράξουν μία μη ρίζα, η οποία συνήθως είναι λιγότερο δραστική, είτε με διάφορα άλλα μόρια που δεν είναι ρίζες (όπως DNA, λιπίδια, πρωτεΐνες), όπου θα παράξουν νέες ρίζες που στη συνέχεια μπορούν να αντιδράσουν με άλλα μόρια (Zhang et al., 2019). Η διαδικασία αυτή μπορεί να συνεχιστεί αλυσιδωτά με δυσμενείς συνέπειες για τον οργανισμό (Zhang et al., 2019).

Ο πιο κοινά χρησιμοποιούμενος όρος για τις ελεύθερες ρίζες είναι ο όρος δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS), που αναφέρεται στις ελεύθερες ρίζες που έχουν σαν κεντρικό μόριο το οξυγόνο.

Οι κύριες ελεύθερες ρίζες περιλαμβάνουν τις ρίζες του ανιόντος υπεροξειδίου ($O_2^{\bullet-}$), του υδροξυλίου (OH^{\bullet}), του αλκοξειδίου (RO^{\bullet}) και του υδροϋπεροξειδίου (HO_2^{\bullet}). Η ρίζα OH^{\bullet} είναι η δραστικότερη ρίζα και σχηματίζεται από την αντίδραση Fenton, όπου ο ελεύθερος σίδηρος (Fe^{2+}) αντιδρά με το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), και την αντίδραση Haber-Weiss, όπου το $O_2^{\bullet-}$ αντιδρά με το σίδηρο (Fe^{3+}) (Εικόνα 1.1).



Εικόνα 1.1 Αντιδράσεις Fenton και Haber-Weiss

(Πηγή: Ayala et al., 2014)

Στην κατηγορία των ελευθέρων ριζών εντάσσονται και μη ριζικά παράγωγα του οξυγόνου όπως είναι το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), οι ρίζες τριχλωρομεθυλίου (CCl_3^{\bullet}), οι θειούχες ρίζες (RS^{\bullet}) και το υποχλωριώδες οξύ ($COCl$), καθώς και οι δραστικές μορφές αζώτου (RNS) όπως το μονοξείδιο του αζώτου (NO^{\bullet}), το διοξείδιο του αζώτου (NO_2^{\bullet}), το νιτρώδες οξύ (HNO_2) και το υπεροξυ-νιτρώδες ανιόν ($ONOO^-$) (Halliwell, 2006; Zhang et al., 2019).

1.3 Πηγές παραγωγής ελεύθερων ριζών

Οι ελεύθερες ρίζες παράγονται τόσο ενδογενώς όσο και εξωγενώς.

1.3.1 Ενδογενείς πηγές

Ένα μεγάλο ποσοστό των ελευθέρων ριζών παράγεται μέσα στα κύτταρα ως προϊόντα του μεταβολισμού.

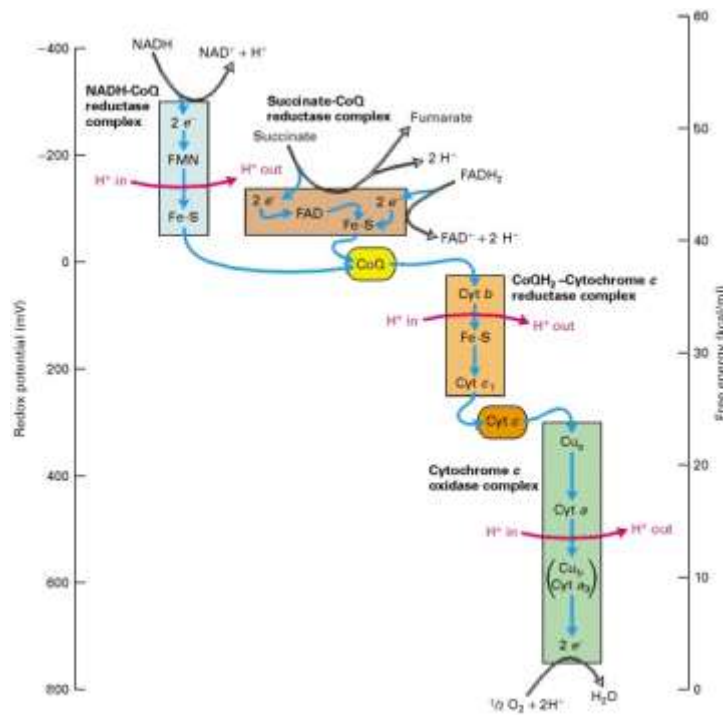
Οξειδωτική φωσφορυλίωση

Η οξειδωτική φωσφορυλίωση είναι η διαδικασία κατά την οποία παράγεται το μεγαλύτερο μέρος της ενέργειας σε μορφή τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) και πραγματοποιείται στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη των κυττάρων (Zhang et al., 2019).

Κατά τη διάρκεια παραγωγής ATP, μεταφέρονται ηλεκτρόνια από το νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο (NADH) ή και το φλαβινο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο (FADH₂) προς το O₂ δια μέσου μιας σειράς φορέων ηλεκτρονίων μέσω πρωτεϊνικών συμπλόκων της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης. Η ροή ηλεκτρονίων στο μοριακό οξυγόνο παράγει O₂^{•-}. Το O₂^{•-} ανάγεται σε H₂O₂ από τη μιτοχονδριακή υπεροξειδική δισμουτάση (Mn-SOD). Το O₂^{•-} μπορεί να αντιδράσει με το H₂O₂ προς παραγωγή OH[•] (Lodish et al., 2000) (Εικόνα 1.2).

Ενζυμικό σύστημα του κυτοχρώματος P450

Τα ένζυμα του συστήματος του κυτοχρώματος P450, τα οποία εντοπίζονται σχεδόν σε όλους τους ιστούς, αλλά κυρίως στα ηπατοκύτταρα, παράγουν ελεύθερες ρίζες κατά τον μεταβολισμό ξενοβιοτικών προς τον οργανισμό ουσιών (π.χ. φάρμακα), μεταφέροντας ηλεκτρόνια από το NADH ή το NADPH στο O₂ και οξειδώνοντας το ξενοβιοτικό (Zhang et al., 2019).



Εικόνα 1.2 Σταδιακή ροή ηλεκτρονίων μέσω της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων από NADH, ηλεκτρικό και FADH₂ στο O₂ (μπλε βέλη)

(Πηγή: Lodish et al., 2000)

Υπεροξυσωματία

Μια επιπλέον πηγή ενδογενών ROS αποτελούν τα *υπεροξυσωματία*. Τα υπεροξυσωματία είναι μικρά κυστίδια στο εσωτερικό των κυττάρων που αποτελούνται από μεμβράνη και με τη βοήθεια διαφόρων ενζύμων που διαθέτουν είναι υπεύθυνα για την οξείδωση ορισμένων υποστρωμάτων (κυρίως των λιπαρών οξέων) (Fransen et al., 2012). Κατά την οξείδωση παράγεται H_2O_2 και τα υπεροξυσωματία αδρανοποιούν το H_2O_2 μετά από μετατροπή του σε νερό με τη βοήθεια του ενζύμου καταλάση (Fransen et al., 2012).

Οξειδάση της ξανθίνης

Η οξειδάση της ξανθίνης (XO) αποτελεί ένζυμο που καταλύει την οξείδωση της υποξανθίνης σε ξανθίνη και στη συνέχεια σε ουρικό οξύ, με ταυτόχρονη αναγωγή του O_2 σε $O_2^{\bullet-}$ και H_2O_2 . Σε συνθήκες μειωμένης παροχής οξυγόνου (ισχαιμίας) και επαναιμάτωσης στους ιστούς, η τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP) αποφωσφορυλιώνεται σε διφωσφορική αδενοσίνη (ADP) και μονοφωσφορική αδενοσίνη (AMP), το οποίο στη συνέχεια μετατρέπεται σε υποξανθίνη, ξανθίνη και τελικά σε ουρικό οξύ (Cantu-Medellin and Kelley, 2013).

Ουδετερόφιλα

Τα πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα (PMN) είναι κύτταρα του αίματος που προστατεύουν τους ιστούς μετά από επίθεση ιών και βακτηρίων. Τα κατεστραμμένα κύτταρα εκλύουν χημειοτακτικούς παράγοντες και τα PMN συσσωρεύονται στην περιοχή τραυματισμού και απελευθερώνουν τα λυτικά ένζυμα και το $O_2^{\bullet-}$ κατά τη διάρκεια της φαγοκύτωσης. Αν και η διαδικασία αυτή αποτελεί έναν από τους βασικότερους μηχανισμούς άμυνας του οργανισμού, οι ROS και άλλα οξειδωτικά μόρια που απελευθερώνονται από τα ουδετερόφιλα μπορούν να προκαλέσουν δευτερογενή βλάβη όπως υπεροξείδωση των λιπιδίων (Mittal et al., 2014).

Αυτο-οξείδωση αιμοσφαιρίνης και άλλων μορίων

Έχει υπολογιστεί ότι το 3% περίπου της αιμοσφαιρίνης στον οργανισμό οξειδώνεται καθημερινά από οξυαιμοσφαιρίνη ($Fe^{+2} - O_2$) σε μεθαιμοσφαιρίνη (Fe^{+3}). Κάτω από συνθήκες αυξημένων απαιτήσεων του οργανισμού σε οξυγόνο (έντονη άσκηση), η αιμοσφαιρίνη μπορεί να αυτοοξειδωθεί και να οδηγήσει στην παραγωγή $O_2^{\bullet-}$ (Cooper et al., 2002). Το ίδιο μπορεί να συμβεί και με τη μυοσφαιρίνη, η οποία οδηγεί στην παραγωγή H_2O_2 . Πολλά άλλα μόρια όπως οι τετραϋδροπτερίνες, οι θειολικές ενώσεις, η ντοπαμίνη και πολλές άλλες, παρουσία O_2 , έχουν την ικανότητα αυτο-οξείδωσης, σχηματίζοντας $O_2^{\bullet-}$, το οποίο συμβάλλει στην περαιτέρω οξείδωση αυτών των ενώσεων.

Προ-οξειδωτικά μέταλλα

Η διαταραχή της ομοιόστασης των ιόντων μετάλλων στον οργανισμό, μπορεί να οδηγήσει στην υπερπαραγωγή ROS. Μέταλλα όπως ο σίδηρος, ο χαλκός, το χρώμιο, το κοβάλτιο συμμετέχουν σε οξειδο-αναγωγικές αντιδράσεις, με αποτέλεσμα το σχηματισμό ριζών και τον επακόλουθο σχηματισμό $O_2^{\bullet-}$, αναγεννώντας το μητρικό μόριο (redox cycling) (Jomova and Valko, 2011).

1.3.2 Εξωγενείς πηγές

Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να παραχθούν και από εξωγενείς πηγές που προέρχονται απ' το περιβάλλον. Η ηλιακή και ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, το όζον, η ατμοσφαιρική ρύπανση και τα βιομηχανικά απόβλητα είναι σημαντικοί οξειδωτικοί παράγοντες (Aseervatham et al., 2013). Επίσης, ελεύθερες ρίζες παράγονται από τη δράση φαρμάκων (όπως τα αντιβιοτικά τετρακυκλίνες και η παρακεταμόλη) και από ξενοβιοτικά όπως τοξίνες και εντομοκτόνα (Aseervatham et al., 2013). Το αλκοόλ, το κάπνισμα, ο καπνός του τσιγάρου, το στρες, η άσκηση και η διατροφή φτωχή σε αντιοξειδωτικές βιταμίνες και μέταλλα αποτελούν παράγοντες που αυξάνουν το οξειδωτικό στρες (Aseervatham et al., 2013).

1.4 Δράσεις ελεύθερων ριζών

Θετικές δράσεις

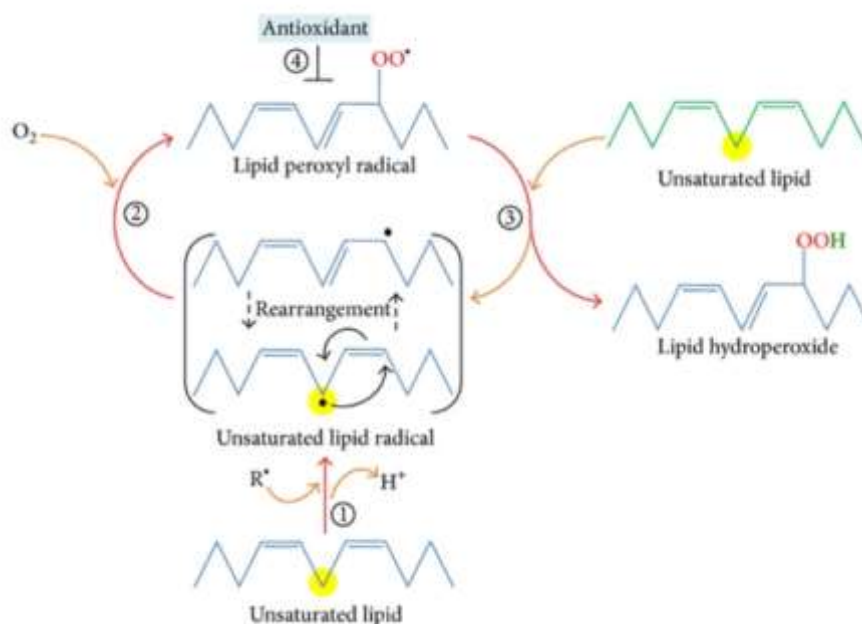
Οι ROS διαδραματίζουν θεμελιώδη ρόλο στον οργανισμό, καθώς είναι απαραίτητες σε πολλές κυτταρικές λειτουργίες και έχουν θετικές επιδράσεις σε χαμηλές ή μέτριες συγκεντρώσεις. Διαδραματίζουν ρυθμιστικό ρόλο στην ενδοκυτταρική σηματοδότηση σε κύτταρα όπως οι ινοβλάστες, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα αγγειακά κύτταρα λείων μυών, τα καρδιακά μυοκύτταρα και τα κύτταρα του θυρεοειδούς (Genestra, 2007). Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το μονοξείδιο του αζώτου (NO), το οποίο ρυθμίζει την αιματική ροή και τη νευρική δραστηριότητα (Pacher et al., 2007). Οι ROS συμμετέχουν επίσης στην κυτταρική διαφοροποίηση, την αναγέννηση των ιστών και την πρόληψη της γήρανσης, ελέγχοντας με αυτό τον τρόπο ασθένειες όπως την ογκογένεση, αυτοάνοσες παθήσεις αλλά και την κυτταρική γήρανση (Schieber and Chandel, 2014). Επίσης, συμμετέχουν στο ανοσοποιητικό σύστημα κατά τη διάρκεια της φαγοκυττάρωσης και της φλεγμονής (Gamaley and Klyubin, 1999; Yang et al., 2013) και εμπλέκονται στην ενζυμική ενεργοποίηση και τη μυϊκή σύσπαση (Powers et al., 2011).

Αρνητικές δράσεις

Όταν οι ελεύθερες ρίζες είναι σε αυξημένες συγκεντρώσεις, επηρεάζουν αρνητικά βασικά δομικά και λειτουργικά στοιχεία του οργανισμού όπως τα λιπίδια, οι πρωτεΐνες και τα νουκλεϊκά οξέα. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης χρόνιων και εκφυλιστικών παθήσεων όπως ο καρκίνος, ο καταρράκτης, τα καρδιαγγειακά, οι νευροεκφυλιστικές νόσοι (Alzheimer, Parkinson), ο διαβήτης, οι νεφρικές νόσοι και τα αναπνευστικά νοσήματα (Pizzino et al., 2017a).

1.4.1 Οξειδωτικές βλάβες λιποειδών

Οι κύριες ελεύθερες ρίζες που προσβάλλουν τα λιποειδή είναι οι ρίζες του υδροξυλίου (OH^\bullet) και του υδροϋπεροξειδίου (HO_2^\bullet), οι οποίες αντιδρούν κυρίως με τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA) που είναι συνδεδεμένα στα φωσφολιπίδια, τα οποία αποτελούν μέρος των κυτταρικών μεμβρανών και των λιποπρωτεϊνών (Ayala et al., 2014). Αυτή η διαδικασία είναι γνωστή ως λιποειδική υπεροξείδωση και οδηγεί σε μια αλληλουχία δημιουργίας ελευθέρων ριζών. Η έναρξη της υπεροξείδωσης πραγματοποιείται μετά από απόσπαση από μια ελεύθερη ρίζα ενός ατόμου υδρογόνου από μια ομάδα μεθυλενίου (CH_2), αφήνοντας ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο στο άτομο άνθρακα ($\bullet\text{CH}$) (Ayala et al., 2014; Yin et al., 2011). Η ρίζα άνθρακα που προκύπτει είναι ασταθής και σταθεροποιείται αφού ανασυνδυαστεί με ηλεκτρόνια από τους διπλανούς διπλούς δεσμούς και σχηματίζει συζυγή διένια (αλληλουχία διπλού-μονού-διπλού δεσμών) και μια νέα ελεύθερη ρίζα στο αντίστοιχο άτομο άνθρακα του διπλού δεσμού (Yin et al., 2011). Η ρίζα αυτή αντιδρά με ένα μόριο οξυγόνου σχηματίζοντας μια ρίζα λιποειδικού υπεροξειδίου (LOO^\bullet) (Εικόνα 1.3) (Yin et al., 2011). Τελικά, οι LOO^\bullet αποσπών άτομα υδρογόνου από άλλα λιπαρά οξέα σχηματίζοντας λιποειδικά υδροϋπεροξείδια (LOOH), τα οποία διασπώνται στη συνέχεια και παράγουν αναρίθμητα προϊόντα οδηγώντας σε αλυσιδωτές αντιδράσεις (Ayala et al., 2014).



Εικόνα 1.3 Λιποειδική υπεροξείδωση

(Πηγή: Ayala et al., 2014)

Η λιποειδική υπεροξειδωση δημιουργεί αρνητικές επιπτώσεις στα κύτταρα, καθώς προκαλεί αύξηση της ρευστότητας και της διαπερατότητας των μεμβρανών σε μόρια όπως το Ca_2^+ και τα H^+ (Volinsky and Kinnunen, 2013), επηρεάζει πολλές κυτταρικές λειτουργίες, απενεργοποιεί μεμβρανικά ένζυμα, εμπλέκεται στους μηχανισμούς της φλεγμονής και μπορεί να οδηγήσει σε προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση) (Fruhirth and Hermetter, 2008; Gaschler and Stockwell, 2017).

1.4.2 Οξειδωτικές βλάβες πρωτεϊνών

Οι πρωτεΐνες του αίματος, οι δομικές πρωτεΐνες και τα αμινοξέα προσβάλλονται από τις ROS και σχηματίζονται πρωτεϊνικά καρβονύλια και οξειδωμένα αμινοξέα (Stadtman and Levine, 2000). Οι ROS έχουν επίσης την ικανότητα να αναστέλλουν το πρωτεολυτικό σύστημα, που αποτελεί κύριο μονοπάτι αποικοδόμησης των πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα τη συσσώρευση οξειδωμένων πρωτεϊνών σε συσσωματώματα μεγάλου μοριακού βάρους, τα οποία μπορούν να μεταβάλλουν τις κυτταρικές λειτουργίες και να οδηγήσουν σε νέκρωση ή απόπτωση (Davies, 2001).

Η οξείδωση των πρωτεϊνών επιφέρει σοβαρές επιπτώσεις στη λειτουργικότητα τους όταν προσβληθούν απαραίτητα αμινοξέα ή προσθετικές ομάδες στο ενεργό τους κέντρο. Η συγκέντρωση της πρωτεΐνης σε ευαίσθητα αμινοξέα, ο ρόλος των οξειδωμένων αμινοξέων στη δράση της και η ικανότητα των κυττάρων να διορθώσουν τη βλάβη, καθορίζουν την επίπτωση των ROS στη λειτουργικότητα της πρωτεΐνης (Cecarini et al., 2007).

Οι επιπτώσεις της πρωτεϊνικής οξείδωσης μπορεί να είναι απώλεια της ενζυμικής λειτουργίας, τροποποίηση των κυτταρικών λειτουργιών όπως η παραγωγή ενέργειας και τροποποίηση της κυτταρικής σηματοδότησης και της δομής των κυττάρων (Cecarini et al., 2007). Επίσης, μπορεί να δημιουργηθούν βλάβες σε πρωτεΐνες μεταγραφής και επιδιόρθωσης του DNA που μπορεί να οδηγήσουν σε μεταλλάξεις (Krisko and Radman, 2019) και διέγερση της ανοσολογικής απόκρισης, με επακόλουθο τη δημιουργία αντισωμάτων που μπορεί να σχετίζονται με την αυτοανοσία (Ryan et al., 2014).

1.4.3 Οξειδωτικές βλάβες νουκλεϊκών οξέων

Το DNA και το RNA είναι ιδιαίτερα ευάλωτα στις ROS. Η ρίζα υδροξυλίου (OH^*) προσβάλλει τις βάσεις του DNA γουανίνη και αδεΐνη με επακόλουθο τον σχηματισμό των 8-υδροξυ-2'-δεοξυγουανωσίνης (8-OHdG) και 8-υδροξυαδεΐνης αντίστοιχα (Cadet and Wagner, 2013). Το μιτοχονδριακό DNA (mtDNA) και το RNA είναι πιο ευάλωτα απ' το πυρηνικό DNA, καθώς δεν έχουν συμπαγή διάταξη και δε συνδέονται με ιστόνες. Επίσης, το μιτοχονδριακό DNA βρίσκεται κοντά στην αναπνευστική αλυσίδα, κύρια πηγή δραστικών μορφών οξυγόνου (Cadet and Wagner, 2013).

Η οξείδωση των νουκλεϊκών οξέων οδηγεί σε αλλοίωση των δομών τους (οξειδωμένες βάσεις ή σχάσεις στη μονή αλλά και στη διπλή αλυσίδα), με αποτέλεσμα την αναστολή της αντιγραφής, της μεταγραφής και της μετάφρασης στην έκφραση των πρωτεϊνών. Επίσης, προκαλεί μεταλλάξεις, οι οποίες μπορούν να οδηγήσουν σε καρκινογένεση και γήρανση (Pagès and Fuchs, 2002; Pizzino et al., 2017b).

Το DNA έχει την ικανότητα να επιδιορθώνεται διαθέτοντας πολλούς μηχανισμούς επιδιόρθωσης (Sancar et al., 2004). Στις περιπτώσεις ανεπαρκούς επιδιόρθωσης, αυξάνονται οι πιθανότητες εμφάνισης ασθενειών που σχετίζονται με τη γήρανση (Pizzino et al., 2017b).

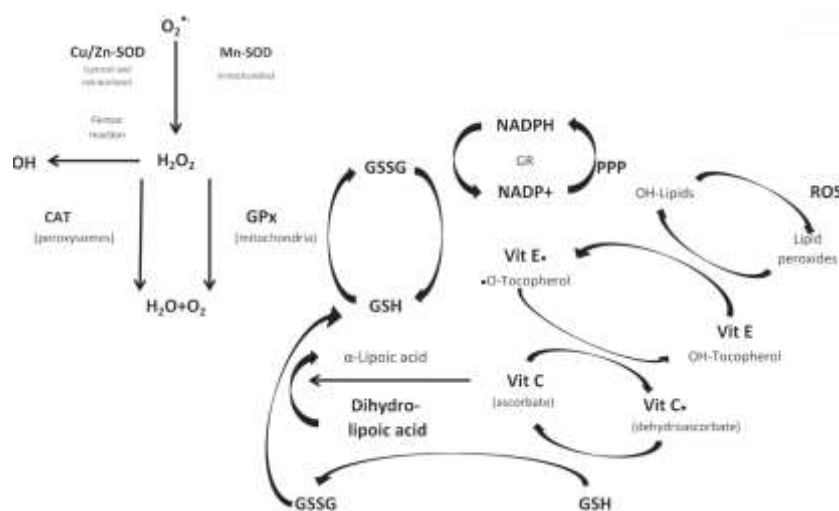
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ

2.1 Εισαγωγή

Ως αντιοξειδωτικό μπορεί να οριστεί κάθε ουσία, η οποία όταν βρίσκεται σε μικρή συγκέντρωση συγκριτικά μ' ένα προς οξείδωση υπόστρωμα, καθυστερεί ή αναστέλλει σημαντικά την οξείδωση του υποστρώματος αυτού (Halliwell, 1995).

Οι πρώτοι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί που αναγνωρίστηκαν ήταν αυτοί που εμποδίζουν την εμφάνιση ROS και εκείνοι που μπλοκάρουν ή αντιδρούν με τις ρίζες που σχηματίζονται (Cheeseman and Slater, 1993). Αυτοί οι μηχανισμοί βρίσκονται στα υδατικά και μεμβρανικά διαμερίσματα των κυττάρων και κατηγοριοποιούνται σε ενζυμικούς και μη-ενζυμικούς (Εικόνα 2.1).

Άλλοι σημαντικοί μηχανισμοί εμπλέκονται σε διαδικασίες επιδιόρθωσης, μέσω των οποίων απομακρύνονται τα βιολογικά μόρια που έχουν καταστραφεί, πριν συσσωρευθούν και επηρεάσουν τον μεταβολισμό του κυττάρου (Cheeseman and Slater, 1993). Αυτό συμβαίνει στην περίπτωση των οξειδωμένων νουκλεϊκών οξέων από ειδικά ένζυμα, την απομάκρυνση οξειδωμένων πρωτεϊνών από πρωτεολυτικά συστήματα και την επιδιόρθωση οξειδωμένων λιποειδών από φωσφολιπάσες, υπεροξειδάσες ή ακυλοτρασφεράσες (Hitchon and El-Gabalawy, 2004). Η πτώση των μηχανισμών επιδιόρθωσης θεωρείται ο κυριότερος παράγοντας που οδηγεί στην εμφάνιση παθήσεων που σχετίζονται με την γήρανση, συγκριτικά με τις μικρές αλλαγές στην αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού κατά της εμφάνισης ROS (Pérez et al., 2009).



Εικόνα 2.1 Ο μηχανισμός της αντιοξειδωτικής προστασίας

(Πηγή: Mironczuk-Chodakowska et al., 2018)

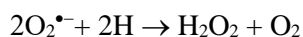
2.2 Ενδογενές αντιοξειδωτικό σύστημα

Το ενδογενές αντιοξειδωτικό σύστημα του οργανισμού περιλαμβάνει τα αντιοξειδωτικά ένζυμα όπως τις δισμουτάσες του υπεροξειδίου (SOD), την καταλάση (CAT), την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) και τις υπεροξειρεδοξίνες (Prx) καθώς και μη ενζυμικές ενώσεις όπως γλουταθειόνη, πρωτεΐνες (φερριτίνη, τρανσφερίνη, σερουλοπλασμίνη και λευκοματίνη) και ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους, όπως το ουρικό οξύ, το συνένζυμο Q και το λιποϊκό οξύ (Pisoschi and Pop, 2015).

2.2.1 Ενζυμικά αντιοξειδωτικά

2.2.1.1 Δισμουτάσες του υπεροξειδίου (Superoxide dismutase - SOD)

Οι δισμουτάσες του υπεροξειδίου (SOD) αποτελούν την πρώτη γραμμή άμυνας απέναντι στις ρίζες υπεροξειδίου και καταλύουν την αντίδραση μετατροπής του ανιόντος υπεροξειδίου ($O_2^{\bullet-}$) σε υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) (McCord and Fridovich, 1969).



Στα θηλαστικά υπάρχουν τρεις τύποι SOD. Η SOD1 βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου, η SOD2 στη μιτοχονδριακή μήτρα και η SOD3 στον εξωκυττάριο χώρο. Οι SOD 1 και 3 απαιτούν χαλκό-ψευδάργυρο ως συμπαραγόντες, ενώ η SOD2 χρησιμοποιεί μαγνήσιο ως συμπαραγόντα (McCord and Fridovich, 1969).

2.2.1.2 Καταλάση (Catalase - CAT)

Η καταλάση (CAT) είναι ένα ένζυμο που καταλύει την διάσπαση του H_2O_2 σε H_2O και O_2 (Loew, 1900) (Εικόνα 2.2). Αποτελείται από τέσσερις υπομονάδες, οι οποίες περιέχουν μία ομάδα αίμης η κάθε μία στην ενεργό περιοχή τους και ένα μόριο NADPH, το οποίο συμβάλλει στη σταθερότητα του ενζύμου (Glorieux and Calderon, 2017). Εντοπίζεται κυρίως στα υπεροξυσώματα, αλλά σε μικρές ποσότητες υπάρχει και στα μιτοχόνδρια και το κυτταρόπλασμα (Glorieux and Calderon, 2017).

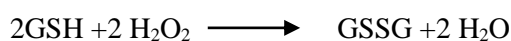
2.2.1.3 Υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης (Glutathione peroxidases - GPxs)

Οι υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης (GPxs) είναι μια οικογένεια ενζύμων που ανάγουν τα λιποειδικά υδροϋπεροξείδια προς τις αντίστοιχες αλκοόλες και το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) σε νερό (Lubos et al., 2011). Έχουν εντοπιστεί πέντε είδη υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης, με την GPx-1 να βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου. Οι GPxs εντοπίζονται στα μιτοχόνδρια, το κυτταρόπλασμα και τον εξωκυττάριο χώρο. Περιέχουν στο ενεργό τους κέντρο το

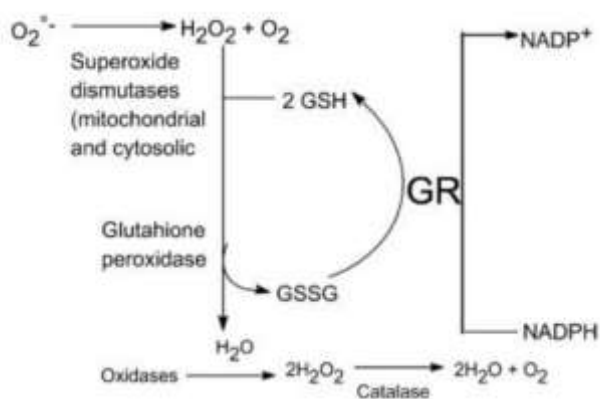
ιχνοστοιχείο σελήνιο με τη μορφή της σεληνοκυστεΐνης, η οποία είναι βασική για τη δράση τους και εξαρτάται από τη διαιτητική πρόσληψη σεληνίου (Lubos et al., 2011) .

Το GPx-1 αναγνωρίστηκε το 1957 για πρώτη φορά ως ένζυμο των ερυθροκυττάρων που προστατεύει την αιμοσφαιρίνη από οξειδωτική βλάβη (Mills, 1957). Το GPx-1 είναι ένα κρίσιμο αντιοξειδωτικό ένζυμο που προλαμβάνει τη συσσώρευση του υπεροξειδίου του υδρογόνου μέσα στο κύτταρο. Εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα και στα μιτοχόνδρια των κυττάρων, καθώς και στα υπεροξυσωμάτια κάποιων κυττάρων και είναι αποτελεσματικότερο από την καταλάση στην απομάκρυνση των ενδοκυτταρικών υπεροξειδίων σε πολλές περιπτώσεις (Lubos et al., 2011).

Η κυριότερη αντίδρασή του αφορά τη μετατροπή του H₂O₂ σε H₂O με ταυτόχρονη οξείδωση δύο μορίων γλουταθειόνης (GSH), η οποία οξειδώνεται σε δισουλφίδιο της γλουταθειόνης (GSSG).



Το GPx-1 διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην προστασία των κυττάρων από οξειδωτική βλάβη, στη ρύθμιση του μεταβολισμού και της μιτοχονδριακής λειτουργίας και στον έλεγχο των κυτταρικών διεργασιών, όπως η απόπτωση, η ανάπτυξη και η σηματοδότηση μέσω της ρύθμισης των επιπέδων του υπεροξειδίου του υδρογόνου μέσα στο κύτταρο και της συνολικής ενδοκυτταρικής οξειδοαναγωγικής ισορροπίας (Lubos et al., 2011) (**Εικόνα 2.2**). Η ισορροπία μεταξύ των ενδοκυτταρικών οξειδωτικών και των αντιοξειδωτικών είναι καθοριστική για τις επιδράσεις του GPx-1 και μια μεγάλη μεταβολή της ισορροπίας αυτής μπορεί να οδηγήσει σε οξειδωτικό ή αναγωγικό στρες (Lubos et al., 2011).



Εικόνα 2.2 Ο ρόλος της καταλάσης και της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης στην απομάκρυνση υπεροξειδίων του υδρογόνου από τους ανθρώπινους ιστούς

(Πηγή: Tapiero et al., 2003)

2.2.1.4 Αναγωγή της γλουταθειόνης (Glutathione reductase - GR)

Η αναγωγή της γλουταθειόνης (GR) είναι ένα βασικό ένζυμο που ανακυκλώνει την οξειδωμένη γλουταθειόνη στην ανηγμένη της μορφή (Couto et al., 2016). Είναι λοιπόν υπεύθυνο για την διατήρηση των επιπέδων ανηγμένης γλουταθειόνης, μιας από τις αναγωγικές θειόλες που βρίσκονται σε αφθονία στα περισσότερα κύτταρα. Η GR καταλύει την αναγωγή της οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSSG) σε GSH, διατηρώντας με αυτόν τον τρόπο την αναλογία GSSG:GSH σε φυσιολογικά επίπεδα στο εσωτερικό του κυττάρου, έτσι ώστε η γλουταθειόνη να εκπληρώσει το ρόλο της ως αντιοξειδωτική ουσία (Couto et al., 2016). Η GR αποτελείται από δύο υπομονάδες, οι οποίες περιέχουν στην ενεργό περιοχή τους ένα FAD, το οποίο ανάγεται απ' το NADPH. Το NADPH μεταφέρει τα ηλεκτρόνια του FAD στη δισουλφιδική γέφυρα σχηματίζοντας δύο σουλφυδρυλομάδες οι οποίες αντιδρούν με την GSSG και την ανάγουν σε 2 μόρια GSH (Couto et al., 2016).

2.2.1.5 Αναγωγάσες της θειορεδοξίνης (Thioredoxin reductases – TrxRs)

Οι αναγωγάσες της θειορεδοξίνης (TrxRs) καταλύουν τη μετατροπή της οξειδωμένης θειορεδοξίνης (ox.Trx) σε ανηγμένη θειορεδοξίνη (red.Trx) και των οξειδωμένων μορφών ασκορβικού σε ανηγμένο ασκορβικό χρησιμοποιώντας το NADPH σαν παράγοντα (Mustacich and Powis, 2000). Στη συνέχεια, η red.Trx παρέχει αναγωγικά ισοδύναμα στην υπεροξειδάση της θειορεδοξίνης, η οποία διασπά το H₂O₂ σε νερό (Mustacich and Powis, 2000). Με αυτόν τον τρόπο, οι TrxRs ρυθμίζουν την οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου. Επίσης, συμμετέχουν και σε άλλες κυτταρικές λειτουργίες όπως η μεταφορά μηνυμάτων, η ρύθμιση της κυτταρικής ανάπτυξης και η αποτροπή της απόπτωσης (Mustacich and Powis, 2000).

Οι TrxRs είναι ομοδιμερή και κάθε υπομονάδα έχει ειδικές δομικές περιοχές για τη σύνδεση του FAD και του NADPH και στο ενεργό τους κέντρο, το άτομο του θείου σε μία από τις κυστεΐνες έχει αντικατασταθεί από ένα σελήνιο (Se). Η διαθεσιμότητα του Se είναι βασικός παράγοντας που προσδιορίζει την δραστηριότητα των TrxRs (Mustacich and Powis, 2000).

2.2.1.6 Υπεροξειρεδοξίνες (Prx)

Οι Υπεροξειρεδοξίνες (Prx) είναι μια οικογένεια ενζύμων υπεροξειδασών, τα οποία εξαρτώνται από την κυστεΐνη και δεν απαιτούν κάποιο συμπαράγοντα για τη δράση τους (Perkins et al., 2015). Προστατεύουν το κύτταρο απ' το οξειδωτικό στρες ανάγοντας το H₂O₂ αλλά και άλλα οργανικά υπεροξειδία με δύο ηλεκτρόνια, σε H₂O και αλκοόλες, αντίστοιχα. Ως δότες ηλεκτρονίων χρησιμοποιούν τις θειολικές ομάδες της θειορεδοξίνης. Οι Prx είναι

από τα πιο σημαντικά ένζυμα καθώς ανάγουν περισσότερο από το 90% των κυτταρικών υπεροξειδίων (Perkins et al., 2015).

2.2.1.7 Μυελοϋπεροξειδάση (MPO)

Η μυελοϋπεροξειδάση (MPO) είναι ένα ένζυμο που περιέχει αίμη και εντοπίζεται κυρίως στα αζουρόφιλα κοκκία των ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων (Pattison et al., 2012). Η MPO χρησιμοποιεί το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) και καταλύει τον σχηματισμό του υποχλωριώδους (HOCL) και του υποθειακυανικού οξέος, τα οποία καταστρέφουν τα βακτήρια, τους ιούς και άλλες βλαβερές ουσίες για τον οργανισμό (Pattison et al., 2012).

2.2.2 Μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά

Τα μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά είναι λιποδιαλυτά ή και υδατοδιαλυτά μικρά μόρια τα οποία διακόπτουν την αλυσιδωτή αντίδραση των δραστικών ριζών λαμβάνοντας ηλεκτρόνιο από μια ρίζα ή δίνοντας ηλεκτρόνιο προς σχηματισμό σταθερών παραπροϊόντων. Αυτό οδηγεί στην οξειδωση του αντιοξειδωτικού, το οποίο αναγεννάται ή αντικαθίσταται. Η αντιοξειδωτική ρίζα που σχηματίζεται είναι σχετικά αδρανής και δεν μπορεί να αντιδράσει με άλλα μόρια (Pisoschi and Pop, 2015).

2.2.2.1 Μεταλλοδεσμευτικές πρωτεΐνες

Οι μεταλλοδεσμευτικές πρωτεΐνες είναι εξωκυττάριας ή εσωκυττάριας πρωτεΐνες οι οποίες διαδραματίζουν ενεργό ρόλο στην αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος. Σε αυτές περιλαμβάνονται η αλβουμίνη, η σερυλοπλασμίνη, οι μεταλλοθειονίνες, η φερριτίνη, η μυοσφαιρίνη, η τρανσφερίνη και η γαλακτοφερρίνη (Mirończuk-Chodakowska et al., 2018).

Η αντιοξειδωτική τους δράση οφείλεται στην ικανότητά τους να δεσμεύουν μεταλλικά ιόντα. Τα ιόντα Cu^{2+} και Fe^{2+} μπορούν να δράσουν ως προ-οξειδωτικά, δηλαδή μπορούν να αντιδράσουν με το υπεροξείδιο του υδρογόνου και να οδηγήσουν στον σχηματισμό ROS με την αντίδραση Fenton (Mirończuk-Chodakowska et al., 2018).

Η τρανσφερίνη, η φερριτίνη και η γαλακτοφερρίνη είναι χηλικοί παράγοντες του ενεργού οξειδοαναγωγικού σιδήρου (Fe^{2+}), αναστέλλοντας έτσι τον σχηματισμό ελευθέρων ριζών κατά την αντίδραση Fenton. Η σερυλοπλασμίνη και η αλβουμίνη δεσμεύουν χαλκό (Cu^{2+}) και ιόντα σιδήρου (Fe^{2+}) (Mirończuk-Chodakowska et al., 2018).

Χαμηλά επίπεδα τρανσφερίνης και σερυλοπλασμίνης οδηγούν σε διαταραχές στον μεταβολισμό του σιδήρου και του χαλκού, συμβάλλοντας στην αύξηση του οξειδωτικού στρες (Mirończuk-Chodakowska et al., 2018).

Η αλβουμίνη λειτουργεί ως άμεσος εκκαθαριστής των ROS και ως έμμεσος, δεσμεύοντας τη χολερυθρίνη και τα ακόρεστα λιπαρά οξέα, αποτρέποντας έτσι την οξειδωση τους. Η αλβουμίνη ως αντιοξειδωτικό κατέχει πρωτεύοντα ρόλο σε διάφορες χρόνιες ασθένειες (Taverna et al., 2013).

Οι μεταλλοθειονίνες παίζουν σημαντικό ρόλο στην προστασία των κυττάρων από το κάδμιο. Επίσης δεσμεύουν χαλκό, ψευδάργυρο και σίδηρο (Nielson et al., 1985). Σε καταστάσεις φλεγμονής διεγείρεται η σύνθεση τους και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε διάφορα νοσήματα (Waeytens et al., 2009).

2.2.2.2 Συνένζυμο Q10 (CoQ10)

Το συνένζυμο Q10 (CoQ10) ή αλλιώς ουβικινόνη, συντίθεται σε όλους τους ιστούς και βασικός του ρόλος είναι η μεταφορά ηλεκτρονίων στην αναπνευστική αλυσίδα των μιτοχονδρίων αλλά και έξω από τα μιτοχόνδρια (Bentinger et al., 2010). Το CoQ10 συμμετέχει στις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις των αφυδρογονασών, των κυτοχρωμάτων ή άλλων μη αιμικών πρωτεϊνών. Η ανηγμένη μορφή του CoQ10, η ουβικινόλη, βοηθάει στη δέσμευση υδρογόνου στις ελεύθερες ρίζες, το οποίο οδηγεί στο μετασχηματισμό της ουβινοκινόλης και στο σχηματισμό της ρίζας ουβισεμικινόνης (Bentinger et al., 2010). Η ουβισεμικινόνη έχει επίσης αντιοξειδωτική δράση αντιδρώντας με μοριακό οξυγόνο και άλλες ελεύθερες ρίζες. Η ουβινοκινόλη μπορεί επίσης να μειώσει την οξειδωμένη ατοκοφερόλη. Η ανηγμένη τοκοφερόλη έχει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση (Bentinger et al., 2010).

Τα χαμηλά επίπεδα του CoQ10 έχουν συνδεθεί με τη γήρανση, την υπέρταση, την καρδιαγγειακή νόσο, τον σακχαρώδη διαβήτη και τον καρκίνο (Mirończuk-Chodakowska et al., 2018).

Το CoQ10 πέρα από το ότι συντίθεται ενδογενώς, παρέχεται και από τη διατροφή. Η απορρόφηση του από τα τρόφιμα εκτιμάται ότι είναι γύρω στο 10%. Βασικές πηγές του αποτελούν το χοιρινό και το μοσχαρίσιο κρέας, τα πουλερικά, τα ψάρια και τα έλαια (Mirończuk-Chodakowska et al., 2018).

2.2.2.3 Γλουταθειόνη (GSH)

Η γλουταθειόνη (GSH) είναι μια ένωση χαμηλού μοριακού βάρους που αποτελείται από τα αμινοξέα γλυκίνη, κυστεΐνη και γλουταμικό οξύ και συντίθεται σε όλους τους ιστούς αλλά κυρίως στα ηπατοκύτταρα. Η GSH είναι ένα υδατοδιαλυτό αντιοξειδωτικό, το οποίο στην ανηγμένη του μορφή βρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στο κυτταρόπλασμα, τα μιτοχόνδρια και τον πυρήνα και λιγότερο στο ενδοπλασματικό δίκτυο (Kosower and

Kosower, 1978). Σε μικρότερες συγκεντρώσεις βρίσκεται στο πλάσμα, κυρίως στην οξειδωμένη του μορφή (GSSG).

Η GSH συμμετέχει σε διάφορες γραμμές άμυνας έναντι των ROS. Πέρα από το ότι εκκαθαρίζει τις ROS, συμμετέχει και στην αποκατάσταση των κατεστραμμένων πρωτεϊνών, λιπιδίων και νουκλεϊκών οξέων. Επίσης, αναγεννά τις οξειδωμένες βιταμίνες C και E και συμμετέχει στη διατήρηση των σουλφυδρυλικών ομάδων των πρωτεϊνών στην ανηγμένη τους κατάσταση (Mironczuk-Chodakowska et al., 2018).

2.2.2.4 Ουρικό οξύ

Το ουρικό οξύ είναι ένα υδρόφιλο αντιοξειδωτικό, το οποίο αντιπροσωπεύει τα δύο τρίτα της αντιοξειδωτικής ικανότητας του ορού του αίματος (Lippi et al., 2008). Παράγεται κατά τη διάρκεια του μεταβολισμού των πουρινών. Επίσης, συμβάλλει στην προστασία των αντιοξειδωτικών ενζύμων SOD1 και SOD3. Απ' την άλλη πλευρά, κάποιες μελέτες έχουν δείξει ότι το ουρικό οξύ μπορεί να έχει και προ-οξειδωτική δράση. Αυξημένα επίπεδα ουρικού οξέος ενδεχομένως αποτελούν παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακές παθήσεις, όπως σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη (Zurlo et al., 2016).

2.2.2.5 Μελατονίνη

Η μελατονίνη αποτελεί μια χαμηλού μοριακού βάρους ένωση η οποία έχει αντιοξειδωτική δράση, εκκαθαρίζοντας τις ROS και εμποδίζοντας τον σχηματισμό τους ρυθμίζοντας την δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων και επάγοντας τη δραστηριότητα των ενδογενών αντιοξειδωτικών (Hardeland et al., 2011). Η μελατονίνη παρουσιάζει αντιοξειδωτική προστασία τόσο σε υδρόφιλο όσο και σε λιπόφιλο περιβάλλον. Η μειωμένη σύνθεση της συνδέεται με τη γήρανση (Bonfont-Rousselot and Collin, 2010). Επίσης, διαδραματίζει ευεργετικό ρόλο σε διάφορες νόσους όπως νευροεκφυλιστικές ασθένειες, καρκίνο και καρδιακή προσβολή (Bonfont-Rousselot and Collin, 2010).

2.2.2.6 Χολερυθρίνη

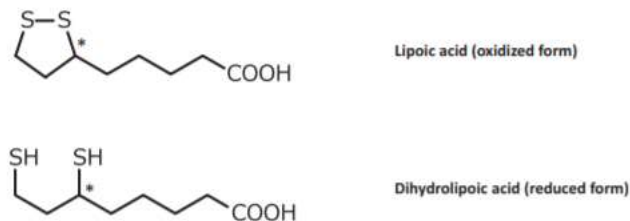
Η χολερυθρίνη αποτελεί προϊόν αποικοδόμησης της αιμοσφαιρίνης και άλλων αιμικών πρωτεϊνών. Όταν βρίσκεται σε μέτρια επίπεδα έχει αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτική δράση (Hatfield and Barclay, 2004).

2.2.2.7 α-Λιποϊκό οξύ (ALA)

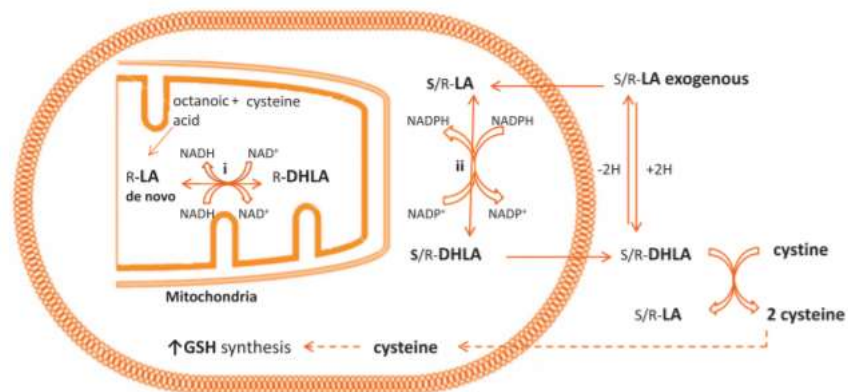
Το α-λιποϊκό οξύ (ALA), γνωστό και ως θειοκτικό οξύ, είναι ένα θειούχος παράγοντας που συντίθεται στον ανθρώπινο οργανισμό από τα λιπαρά οξέα και την κυστεΐνη (Rochette et al., 2015). Εντοπίζεται κυρίως στο συκώτι, τους νεφρούς και την καρδιά. Το

ALA προσλαμβάνεται και από την τροφή σε μικρές ποσότητες. Πηγές του αποτελούν το κόκκινο κρέας, τα εντόσθια, το μπρόκολο, το σπανάκι, οι ντομάτες, οι πατάτες και τα μπιζέλια.

Το ALA υπάρχει στην οξειδωμένη και την ανηγμένη του μορφή, το διϋδρολιποϊκό οξύ (DHHLA) (Rochette et al., 2015). Οι χημικές δομές των ALA και DHHLA φαίνονται στην παρακάτω εικόνα (Εικόνα 2.3). Οι κύριοι μετασχηματισμοί του ζευγαριού οξειδοαναγωγής ALA/DHHLA, η μιτοχονδριακή σύνθεση του καθώς και η πρόσληψη εξωγενούς LA φαίνονται στην παρακάτω εικόνα (Εικόνα 2.4).



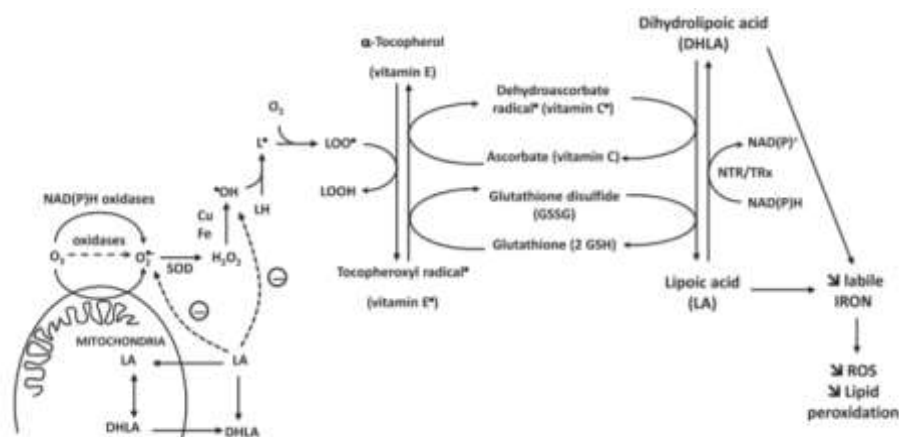
Εικόνα 2.3 Χημικές δομές των ALA και DHHLA
(Πηγή: Rochette et al., 2015)



Εικόνα 2.4 Κύριοι μετασχηματισμοί του ζευγαριού οξειδοαναγωγής LA/DHHLA. Μιτοχονδριακή σύνθεση του LA. Κυτταρική πρόσληψη εξωγενούς LA και εξωκυττάρια ελευθέρωση του. Η σχέση μεταξύ του συστήματος LA/DHHLA και της κυτταρικής πρόσληψης κυστεΐνης και της σύνθεσης GSH.

(Πηγή: Rochette et al., 2015)

Το ALA έχει τόσο υδρόφιλες όσο και υδρόφοβες ιδιότητες και κατανέμεται τόσο στις κυτταρικές μεμβράνες όσο και στο κυτταρόπλασμα, έχοντας δράση και στα δύο. Το ALA μαζί με το DHLA έχουν αντιοξειδωτική δράση στο κυτταρόπλασμα και την κυτταρική μεμβράνη, σε αντίθεση με τις βιταμίνες C και E που έχουν μεμονωμένη αντιοξειδωτική δράση στο κυτταρόπλασμα ή τη μεμβράνη αντίστοιχα. Το DHLA δρα άμεσα δίνοντας ηλεκτρόνια σε οξειδωμένα μόρια, αναγεννά την ανηγμένη βιταμίνη C από το διυδροασκορβικό οξύ όπως και την βιταμίνη E από την οξειδωμένη της μορφή (Εικόνα 2.5) (Tibullo et al., 2017). Επίσης, το α-λιποϊκό οξύ έχει την ικανότητα εκκαθάρισης των ελεύθερων ριζών όπως οι υδροξυλικές ρίζες, το υποχλωριώδες οξύ, το μονήρες οξυγόνο και των ριζών υπεροξειδίου καθώς και χηλίωσης των μετάλλων όπως σίδηρο και χαλκό (Tibullo et al., 2017). Μια επίσης βασική ιδιότητα του ALA είναι ότι ανακυκλώνει τα ενδογενή επίπεδα της GSH, μέσω της αναγέννησης της από την GSSG και συμμετέχει στην παραγωγή της GSH, παρέχοντας το αμινοξύ κυστεΐνη (Εικόνα 2.5) (Tibullo et al., 2017).



Εικόνα 2.5 Αναγέννηση των αντιοξειδωτικών βιταμινών C και E και της GSH από το LA και το DHLA.

(Πηγή: Rochette et al., 2015)

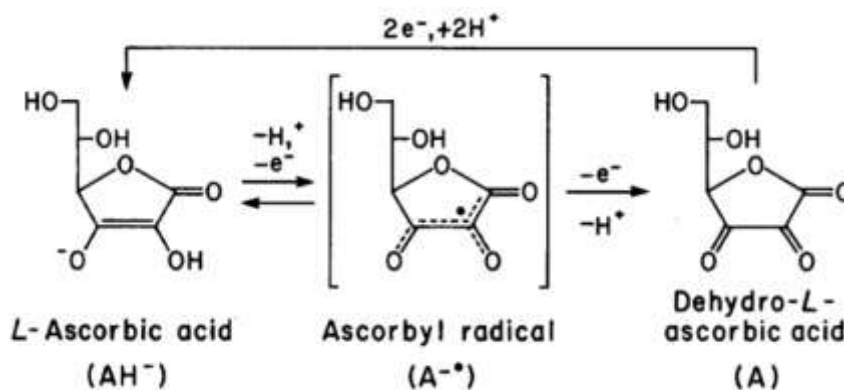
Ενώ η *in vitro* αντιοξειδωτική δράση του ALA έχει επιβεβαιωθεί, η αντιοξειδωτική αποτελεσματικότητα του στους ανθρώπους διερευνάται. Κάποιες μελέτες έχουν δείξει ότι η συμπληρωματική χορήγηση 300-1200mg την ημέρα για 3 έως 6 μήνες έχει θετική επίδραση σε δείκτες οξειδωτικού στρες όπως MDA, SOD, GPx, PGF2α-ισοπροστάδιο και 8-υδροξυ-2-δεοξυγουανουσίνη (Derosa et al., 2016; Porasuphatana et al., 2012).

2.3 Εξωγενές αντιοξειδωτικό σύστημα

Το εξωγενές αντιοξειδωτικό σύστημα περιλαμβάνει ουσίες που περιέχονται στα τρόφιμα και οι οποίες βοηθούν τη δράση της ενδογενούς αντιοξειδωτικής άμυνας, όπως η βιταμίνη Α (ρετινόλη), η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ), η βιταμίνη Ε (τοκοφερόλη), τα φλαβονοειδή και μικροσυστατικά όπως ο σίδηρος, ο χαλκός, ο ψευδάργυρος, το σελήνιο και το μαγνήσιο (Pisoschi and Pop, 2015).

2.3.1 Βιταμίνη C

Η βιταμίνη C ή ασκορβικό οξύ είναι μια υδατοδιαλυτή βιταμίνη που έχει σημαντική αντιοξειδωτική δράση στα εξωκυττάρια υγρά αλλά και στο κυτταρόπλασμα. Έχει την ιδιότητα να δίνει ηλεκτρόνια σε ένζυμα και σε οξειδωτικές ενώσεις, πριν την έναρξη της οξειδωτικής βλάβης των λιποειδών στις λιποπρωτεΐνες και τις κυτταρικές μεμβράνες. Έτσι, ανάγει το υπεροξείδιο, τις υδροξυλικές ρίζες, το υποχλωριώδες οξύ καθώς και άλλες δραστικές μορφές οξυγόνου εντός και εκτός των κυττάρων μετατρέπόμενο σε διϋδροασκορβικό οξύ (**Εικόνα 2.6**) (Kojo, 2004). Επίσης, παγιδεύει ιόντα χαλκού, τα οποία έχουν πολύ ισχυρή οξειδωτική δράση και παίζει σημαντικό ρόλο στην αναγέννηση της ατοκοφερόλης (Pisoschi and Pop, 2015). Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Αρχή Ασφάλειας Τροφίμων (EFSA), η βιταμίνη C συμβάλλει στην προστασία των κυττάρων απ' το οξειδωτικό στρες (EFSA Panel on Dietetic Products, 2009a).



Εικόνα 2.6 Οξείδωση του ασκορβικού οξέος

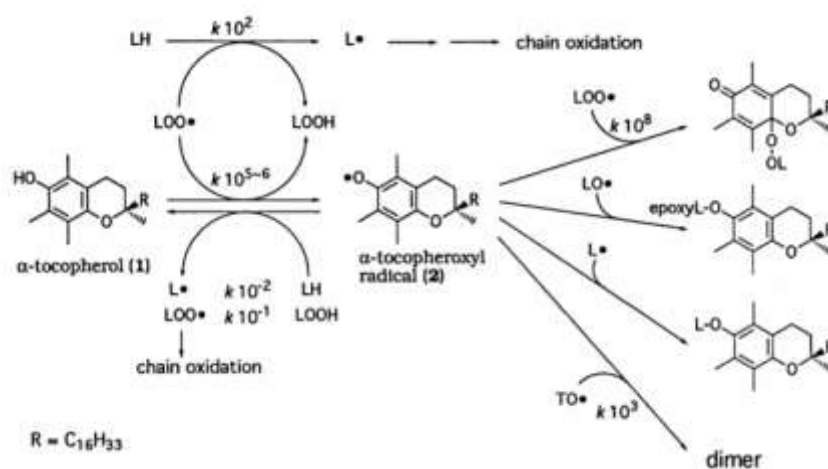
(Πηγή: Bendich et al., 1986)

Η βιταμίνη C περιέχεται στα φρούτα και τα λαχανικά. Πλούσιες πηγές της βιταμίνης αποτελούν τα εσπεριδοειδή (πορτοκάλια, λάιμ, λεμόνια), οι ντομάτες, οι πατάτες, η παπάγια, οι πράσινες και κόκκινες πιπεριές, τα ακτινίδια, οι φράουλες και τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά όπως μπρόκολο, σπανάκι και λαχανάκια Βρυξελλών, το λάχανο, τα εμπλουτισμένα δημητριακά και οι χυμοί φρούτων (Institute of Medicine (US) Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds, 2000).

Η συνιστώμενη ημερήσια ποσότητα για τους ενήλικες είναι 90 mg για τους άντρες και 80 mg για τις γυναίκες (EFSA Panel on Dietetic Products, 2017). Η βιταμίνη C παρουσιάζει χαμηλή τοξικότητα σε υψηλές δόσεις. Ανεπιθύμητες ενέργειες έχουν παρατηρηθεί σε δόσεις μεγαλύτερες των 3 g/ημέρα (EFSA Panel on Dietetic Products, 2017).

2.3.2 Βιταμίνη E

Η βιταμίνη E ανακαλύφθηκε το 1922 από τους Evans και Bishop (Evans and Bishop, 1922). Το όνομα τοκοφερόλη της δόθηκε μετά από την παρατήρηση ότι όταν υπήρχε έλλειψη της στη διατροφή των επίμυων, ο θηλυκός επίμυς που κυοφορούσε πάθαινε εσωτερική αποβολή (Evans et al., 1974). Η βιταμίνη E είναι μια λιποδιαλυτή βιταμίνη και αποτελείται από 8 δομικά ισομερή τοκοφερολών (α, β, γ, δ) και τοκοτριενολών (α, β, γ, δ), με πιο δραστική και σε μεγαλύτερη ποσότητα την α-τοκοφερόλη (Fuchs et al., 2003). Εντοπίζεται στις μεμβράνες του κυτταροπλάσματος και των μιτοχονδρίων και αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας έναντι της λιποξειδικής υπεροξειδωσής που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες, σταματώντας την αλυσιδωτή αντίδραση και σχηματίζοντας ένα παράγωγο χαμηλής ενεργότητας (Halliwell and Gutteridge, 2015) (**Εικόνα 2.7**). Προστατεύει με αυτόν τον τρόπο τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα που βρίσκονται στις μεμβράνες των φωσφολιπιδίων και στις λιποπρωτεΐνες του πλάσματος.



Εικόνα 2.7 Αντίδραση της α-τοκοφερόλης κατά τη διάρκεια της οξειδωσής των ακόρεστων λιπαρών οξέων

(Πηγή: Yamauchi, 1997)

Επίσης, έχει την ικανότητα να αναγεννάται από την οξειδωμένη της μορφή αλληλεπιδρώντας με τα αντιοξειδωτικά όπως βιταμίνη C, GSH, β-καροτένιο ή λιποϊκό οξύ (Coombes et al., 2001). Επίσης, προστατεύει τη βιταμίνη A από την οξείδωση. Πέρα από τον αντιοξειδωτικό της δράση, η βιταμίνη E συμβάλλει στη σταθεροποίηση των μεμβρανών (Wang and Quinn, 1999). Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Αρχή Ασφάλειας Τροφίμων (EFSA),

η βιταμίνη E συμβάλλει στην προστασία των κυττάρων απ' το οξειδωτικό στρες (EFSA Panel on Dietetic Products, 2010).

Ωστόσο, σ' ένα οξειδωτικό περιβάλλον, η άλφα-τοκοφερόλη μπορεί να δράσει και προ-οξειδωτικά, καθώς η ρίζα τοκοφεροξυλίου που σχηματίζεται ενδέχεται να μην ανακυκλωθεί στα μη ριζικά είδη (Neuzil et al., 1997).

Η βιοσύνθεση της βιταμίνης E γίνεται μόνο στα φυτά, με αποτέλεσμα τα 8 ομόλογα της να περιέχονται σε μεγαλύτερες ποσότητες στις φυτικές τροφές, και κυρίως στα φυτικά έλαια. Πλούσιες πηγές βιταμίνης E αποτελούν τα φυτικά λίπη (π.χ ελαιόλαδο, αραβοσιτέλαιο, σογιέλαιο, ηλιέλαιο, σησαμέλαιο, καρυδέλαιο, φοινικέλαιο), οι ξηροί καρποί, οι σπόροι, τα εμπλουτισμένα δημητριακά και τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά. Οι ιστοί των ζώων περιέχουν μικρές σχετικά ποσότητες βιταμίνης E, αποθηκευμένες κυρίως στον λιπώδη ιστό τους.

Η συνιστώμενη ημερήσια δόση για τους ενήλικες είναι 13mg για τους άντρες και 11mg για τις γυναίκες ημερησίως (EFSA Panel on Dietetic Products and Allergies (NDA), 2015). Όταν η βιταμίνη E λαμβάνεται από διαιτητικές πηγές, δεν παρουσιάζει κάποια τοξικότητα. Ωστόσο, έρευνες έχουν δείξει ότι η βιταμίνη E μπορεί να εμφανίσει προοξειδωτική δράση όταν λαμβάνεται σε μεγάλες δόσεις μέσω συμπληρωμάτων (>1000 mg/ημέρα) (Di Mascio et al., 1991). Η δράση της βιταμίνης E εξαρτάται από την παρουσία κι άλλων παραγόντων που λαμβάνονται μέσω της τροφής όπως η βιταμίνη C, η βιταμίνη B3 και το σελήνιο (Rizvi et al., 2014). Επίσης, η απορρόφηση της αυξάνεται με την παρουσία λίπους, καθώς τα λίπη διεγείρουν την έκκριση χολικών, με αποτέλεσμα να αυξάνεται το μέγεθος και η σταθερότητα των μικυλλίων.

2.3.3 Βιταμίνη A και καροτενοειδή

Η βιταμίνη A είναι μια ομάδα οργανικών ενώσεων που περιλαμβάνουν τη ρετινόλη, τη ρετινάλη, το ρετινοϊκό οξύ και τα καροτενοειδή που αποτελούν πρόδρομο της βιταμίνης A (κυρίως το β-καροτένιο).

Τα καροτενοειδή είναι ένα σύνολο από περισσότερες από 600 λιπόφιλες ενώσεις που αποτελούν φυσικές χρωστικές των φυτών και προσδίδουν το χαρακτηριστικό κόκκινο, πορτοκαλί και κίτρινο χρώμα στα φρούτα και τα λαχανικά. Πενήντα από αυτά αποτελούν πρόδρομες ενώσεις της βιταμίνης A ή ρετινόλης, με πιο γνωστό και σημαντικό από αυτά το β-καροτένιο. Στην ομάδα των καροτενοειδών ανήκουν τα α-, β-, γ-καροτενοειδή, η λουτεΐνη, η ζεαξανθίνη, η κρυπτοξανθίνη και το λυκοπένιο.

Η αντιοξειδωτική δράση της βιταμίνης A και των καροτενοειδών οφείλεται στην υδρόφοβη αλυσίδα μονάδων πολυενίου που διαθέτουν. Έτσι, μπορούν να καταστείλουν το απλό οξυγόνο, να εξουδετερώσουν τις θειολικές ρίζες και να σταθεροποιήσουν τις ρίζες

υπεροξειδίου (Palace et al., 1999). Τα καροτενοειδή εντοπίζονται στο υδρόφοβο εσωτερικό μέρος των κυτταρικών μεμβρανών και δρουν κατά των ελεύθερων ριζών, αντιδρώντας με λιποειδικές ρίζες (LOO[•]) και σχηματίζουν μια ενδιάμεση ρίζα του καροτενίου, που είτε μπορεί να αντιδράσει με μία άλλη λιποειδική ρίζα και να σχηματίσει ένα σταθερό παράγωγο ή να αντιδράσει με οξυγόνο και να σχηματιστεί ένα παράγωγο που έχει προ-οξειδωτική δράση. Το αν θα λειτουργήσει αντιοξειδωτικά ή προ-οξειδωτικά, εξαρτάται από το δυναμικό οξειδοαναγωγής του περιβάλλοντος στο οποίο δρα (Palozza et al., 2003). Για παράδειγμα, σε συνθήκες αυξημένης πίεσης οξυγόνου, δρα προ-οξειδωτικά.

Η βιταμίνη Α, με τη μορφή ρετινόλης και εστέρων ρετινόλης περιέχεται σε ζωικές τροφές όπως γαλακτοκομικά, αυγά, ψάρια, κρέας και συκώτι. Πηγές των καροτενοειδών αποτελούν τα φρούτα όπως βερίκοκα, ροδάκινα, πορτοκάλια, καρπούζι και τα λαχανικά όπως μπρόκολο, λάχανο, αρακάς, μαρούλι, σπανάκι, αγγούρι, πιπεριά, πράσο, γλυκοπατάτα, καρότο, λαχανάκια Βρυξελλών και ντομάτα (Hart and Scott, 1995). Η ντομάτα καθώς και τα προϊόντα της όπως σάλτσα ή χυμός ντομάτας αποτελούν αποκλειστική πηγή του λυκοπενίου (Hart and Scott, 1995).

Η απορρόφηση της βιταμίνης Α και των καροτενοειδών αυξάνεται με την παρουσία λίπους, καθώς τα λίπη διεγείρουν την έκκριση χολικών, με αποτέλεσμα να αυξάνεται το μέγεθος και η σταθερότητα των μικυλλίων.

Η συνιστώμενη ημερήσια ποσότητα για τους ενήλικες είναι 750 μgRAE για τους άντρες και 650 μgRAE για τις γυναίκες (EFSA Panel on Dietetic Products and Allergies (NDA), 2015b). Τα RAE αντιστοιχούν σε ισοδύναμα δραστηριότητας της ρετινόλης και χρησιμοποιούνται ως μονάδα μέτρησης λόγω της διαφορετικότητας στη βιοδραστικότητα της ρετινόλης και των καροτενοειδών.

2.3.4 Φαινολικές ενώσεις

Οι φαινολικές ενώσεις είναι μία μεγάλη ομάδα ενώσεων που αποτελούνται από ένα ή περισσότερα υδροξύλια, τα οποία είναι συνδεδεμένα σ' έναν ή περισσότερους αρωματικούς ή και ετεροκυκλικούς δακτυλίους. Κατατάσσονται σε δύο κατηγορίες: στις απλές φαινόλες που αποτελούνται από ένα φαινολικό δακτύλιο και στις πολυφαινόλες που διαθέτουν δύο ή περισσότερους φαινολικούς δακτυλίους.

Στις απλές φαινόλες ανήκουν τα φαινολικά οξέα όπως το γαλλικό, κουμαρικό, πρωτοκατεχικό και καφεϊκό οξύ που βρίσκεται κυρίως στον καφέ και οι φαινολικές αλκοόλες όπως η τυροσόλη και υδροξυ-τυροσόλη, που βρίσκονται κυρίως στο ελαιόλαδο.

Στις πολυφαινόλες ανήκουν τα μη φλαβονοειδή και τα φλαβονοειδή. Τα μη φλαβονοειδή περιλαμβάνουν τις λιγνάνες και τα στυλβένια, με κυριότερο εκπρόσωπο τη ρεσβερατρόλη η οποία περιέχεται στη φλούδα των κόκκινων σταφυλιών. Τα φλαβονοειδή

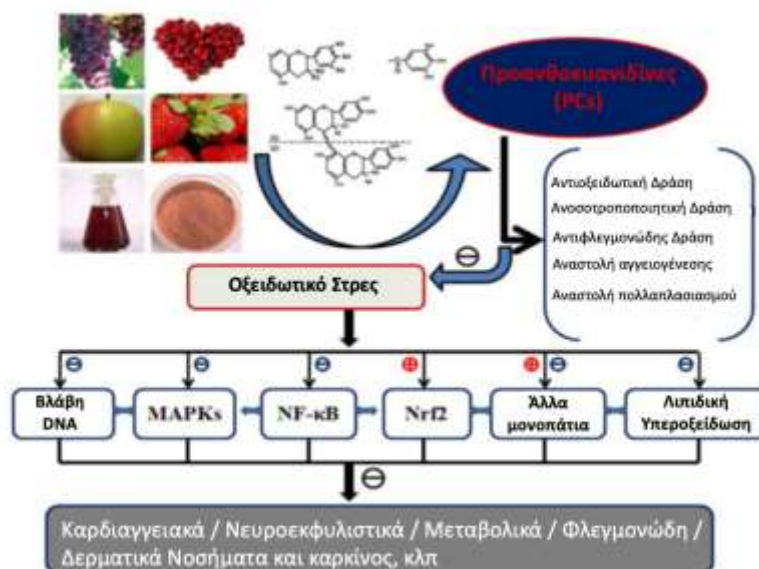
περιλαμβάνουν τις φλαβονόλες (με κύριο εκπρόσωπο την κερκετίνη), φλαβόνες, φλαβονόνες, ισοφλαβόνες, ανθοκυανιδίνες και φλαβανόλες (κατεχίνες και προκυανιδίνες).

Πηγές των φαινολικών ενώσεων αποτελούν το ελαιόλαδο, τα βότανα, τα λαχανικά, τα φρούτα (κυρίως τα εσπεριδοειδή και τα κόκκινα φρούτα όπως μούρα, φράουλες και ρόδι), τα όσπρια, η σόγια, η σοκολάτα, οι ξηροί καρποί, το τσάι και το κόκκινο κρασί.

Οι φαινολικές ενώσεις έχουν λόγω του αρωματικού δακτυλίου που διαθέτουν την ικανότητα να δρουν ως αντιοξειδωτικά μόρια, δηλαδή ως δότες υδρογόνου ή ηλεκτρονίου. Πειράματα *in-vitro* έχουν επιβεβαιώσει την ισχυρή αντιοξειδωτική τους δράση (Fernandez-Pancho et al., 2008), η οποία μάλιστα υπερτερεί των βιταμινών E, C και των καροτενοειδών (Rice-Evans et al., 1997). Η υδροξυτυροσόλη, η τυροσόλη και η ρεσβερατρόλη (Gimeno et al., 2002) έχει βρεθεί ότι αναστέλλουν την οξείδωση της LDL χοληστερόλης. Σύμφωνα με την EFSA, η ημερήσια πρόσληψη 20 γρ. ελαιολάδου (με περιεκτικότητα 5 mg υδροξυτυροσόλης και παραγώγων της) συμβάλλει στην προστασία των λιπιδίων του αίματος από το οξειδωτικό στρες (EFSA Panel on Dietetic Products, 2011a).

Η αρνητική συσχέτιση της πρόσληψης φρούτων και λαχανικών με τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών και νευροεκφυλιστικών ασθενειών, του καρκίνου και του διαβήτη έχει αποδοθεί εν μέρει στις φαινολικές ενώσεις (Scalbert et al., 2007). Στη ρεσβερατρόλη, δραστική ουσία που περιέχεται στο κόκκινο κρασί, αποδίδεται το «γαλλικό παράδοξο», δηλαδή η χαμηλή συχνότητα εμφάνισης των καρδιαγγειακών στους Γάλλους παρά την υψηλή κατανάλωση κορεσμένου λίπους (Renaud and de Lorgeril, 1992).

Το εκχύλισμα σπόρων κόκκινου σταφυλιού (GSE) αποτελεί πλούσια πηγή φαινολικών ενώσεων, καθώς έχουν εντοπιστεί 17 ενώσεις που περιλαμβάνουν το γαλλικό και το πρωτοκατεχικό οξύ, μονομερή της κατεχίνης και επικατεχίνης, ολιγομερή των προανθοκυανιδινών (oligomeric proanthocyanidins - OPC's) και γαλλικούς εστέρες προκυανιδινών (Stanković et al., 2008). Το GSE έχει βρεθεί ότι μειώνει το οξειδωτικό στρες *in vitro* και η δράση του αυτή είναι 50πλάσια των βιταμινών C και E (Bagchi et al., 1997; Stanković et al., 2008). Οι προανθοκυανιδίνες μειώνουν το οξειδωτικό στρες μέσω της επιδιόρθωσης της βλάβης του DNA, παρεμποδίζοντας την υπεροξείδωση των λιποειδών και τροποποιώντας τις οδούς σηματοδότησης (Nrf2, MAPKs, NF-kB), προσφέροντας όφελος σε ασθένειες σχετιζόμενες με το οξειδωτικό στρες όπως καρδιαγγειακές παθήσεις, νευροεκφυλιστικές διαταραχές ή καρκίνος (**Εικόνα 2.8**) (Yang et al., 2018).



Εικόνα 2.8 Η αντιοξειδωτική δράση των προανθοκυανιδινών μέσω της ρύθμισης συγκεκριμένων μορίων και μονοπατιών σηματοδότησης, +: ενισχύει, -: αναστέλλει (Πηγή: Yang et al., 2018)

2.3.5 N-Ακετυλοκυστεΐνη (NAC)

Η N-Ακετυλοκυστεΐνη (NAC) είναι το N-ακετυλο-παράγωγο της κυστεΐνης. Η αντιοξειδωτική του δράση είναι έμμεση καθώς δρα ως πρόδρομος της ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH), έχοντας την ικανότητα να αναπληρώνει τα επίπεδα της GSH, αλλά και άμεση έναντι των ριζών NO₂ και HOX, σε περιπτώσεις εξάντλησης των ενδογενών επιπέδων της γλουταθειόνης και της κυστεΐνης (Aldini et al., 2018). Η αντιοξειδωτική του δράση έχει επιβεβαιωθεί in vitro και in vivo (Aldini et al., 2018).

2.3.6 Σελήνιο (Se)

Το σελήνιο (Se) είναι ένα ιχνοστοιχείο που αποτελεί βασικό συστατικό των αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως οι υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης (GPxs), οι αναγωγάσες της θειορεδοξίνης (TrxRs) και οι δειοδινάσες της ιωδοθυρονίνης (IDD) καθώς και πολλών άλλων σεληνοπρωτεϊνών και σεληνοενζύμων με αντιοξειδωτική δράση (Tinggi, 2008). Το σελήνιο βρίσκεται με τη μορφή της σεληνοκυστεΐνης, ενός αμινοξέος το οποίο είναι ανάλογο της κυστεΐνης, όπου ένα άτομο θείου αντικαθίσταται από το σελήνιο. Η σεληνοπρωτεΐνη P (SEPP1) ρυθμίζει τη μεταφορά και την ομοιοστάση του σεληνίου και η συγκέντρωση της στο πλάσμα αντανακλά τα επίπεδα σεληνίου στον οργανισμό (Tinggi, 2008). Η αντιοξειδωτική δράση των σεληνοενζύμων και σεληνοπρωτεϊνών εξαρτάται από την διατροφική πρόσληψη του σεληνίου και βελτιώνεται όταν το σελήνιο χορηγηθεί συμπληρωματικά (EFSA Panel on

Dietetic Products, 2009b). Το σελήνιο συμβάλλει στην προστασία των κυττάρων απ' το οξειδωτικό στρες (EFSA Panel on Dietetic Products, 2009b; Papp et al., 2007) .

Το σελήνιο προσλαμβάνεται από την τροφή και περιέχεται κυρίως με τη μορφή των οργανικών ενώσεων όπως η L-σεληνομεθειονίνη και L-σεληνοκυστεΐνη. Καλές πηγές του αποτελούν τα θαλασσινά, το κρέας, τα καρύδια Βραζιλίας, τα αυγά, τα γαλακτοκομικά και τα δημητριακά. Η συνιστώμενη ημερήσια ποσότητα για τους ενήλικες είναι 70 μg για τους άντρες και τις γυναίκες (EFSA Panel on Dietetic Products, 2014a).

2.3.7 Χαλκός (Cu)

Ο χαλκός (Cu) είναι ένα ιχνοστοιχείο που αποτελεί βασικό συστατικό μεταλλοενζύμων που δρουν ως οξειδάσες για τη μείωση του μοριακού οξυγόνου, όπως η οξειδάση του κυτοχρώματος c και η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD 1 και 3), που περιέχει τον χαλκό και τον ψευδάργυρο ως συμπαραγόντες (Klotz et al., 2003). Η αντιοξειδωτική δράση της SOD εξαρτάται από τη διαιτητική πρόσληψη του χαλκού. Επίσης, η σερουλοπλασμίνη αποτελεί την βασικότερη πρωτεΐνη που μεταφέρει χαλκό και η οποία μπορεί να έχει αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Σύμφωνα με την EFSA, ο χαλκός συμβάλλει στην προστασία των κυττάρων απ' το οξειδωτικό στρες (EFSA Panel on Dietetic Products, 2009c).

Ο χαλκός προσλαμβάνεται από την τροφή και πηγές του αποτελούν τα θαλασσινά, το κρέας, οι σπόροι και οι ξηροί καρποί, τα δημητριακά, τα ολικής άλεσης προϊόντα και η σοκολάτα. Η συνιστώμενη ημερήσια ποσότητα για τους ενήλικες είναι 900 μg για τους άντρες και τις γυναίκες (EFSA Panel on Dietetic Products, 2015).

2.3.8 Ψευδάργυρος (Zn)

Ο ψευδάργυρος (Zn) είναι ένα ιχνοστοιχείο με αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Προστατεύει τις πρωτεΐνες από την οξείδωση προσδεδεμένος στις ομάδες θειολών, μειώνει το σχηματισμό του OH απ' το H₂O₂ ανταγωνιζόμενος τον σίδηρο και τον χαλκό και επάγει το σχηματισμό των μεταλλοθειονίνων στο συκώτι, τους νεφρούς και το έντερο (Powell, 2000). Οι μεταλλοθειονίνες είναι πρωτεΐνες πλούσιες σε κυστεΐνη, οι οποίες δρουν έναντι των ριζών OH[•] και απελευθερώνουν ψευδάργυρο σε συνθήκες μεταβολής της οξειδοαναγωγικής κατάστασης του κυττάρου (Powell, 2000). Επίσης, ο ψευδάργυρος αυξάνει τη δραστηριότητα της καταλάσης, αποτελεί συμπαραγόντα της SOD και αναστέλλει τη δράση της οξειδάσης του φωσφορικού νικοτιναμίδο-αδενο δινουκλεοτίδιου (NADPH), οδηγώντας σε μειωμένη παραγωγή ROS (Bao et al., 2010; Prasad, 2014). Σύμφωνα με την EFSA, ο ψευδάργυρος συμβάλλει στην προστασία των κυττάρων απ' το οξειδωτικό στρες (EFSA Panel on Dietetic Products, 2009d).

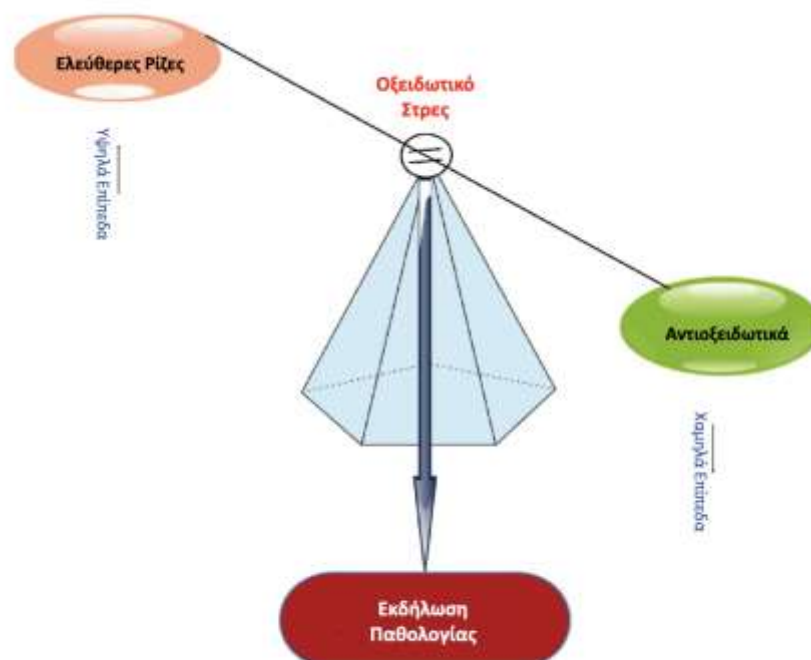
Ο ψευδάργυρος προσλαμβάνεται από την τροφή και πηγές του αποτελούν τα θαλασσινά, το κρέας, οι ξηροί καρποί, τα δημητριακά και τα ολικής άλεσης προϊόντα. Η

συνιστώμενη ημερήσια ποσότητα για τους ενήλικες είναι 9,4-16,3 mg για τους άντρες και 7,5-12,7 mg για τις γυναίκες (EFSA Panel on Dietetic Products, 2014b).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

3.1 Εισαγωγή

Το οξειδωτικό στρες ορίζεται ως «μία ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών υπέρ των οξειδωτικών, που οδηγεί σε διαταραχή της οξειδοαναγωγικής σηματοδότησης και/ή μοριακή βλάβη» (**Εικόνα 3.1**) (Sies and Jones, 2007).



Εικόνα 3.1 Οξειδωτικό στρες: Ανισορροπία μεταξύ των οξειδωτικών και των αντιοξειδωτικών

(Πηγή: Ighodaro and Akinloye, 2018)

Οι βιοδείκτες οξειδωτικού στρες είναι σημαντικοί για την αξιολόγηση της κατάστασης της νόσου και της επίδρασης των αντιοξειδωτικών στην υγεία. Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι εκτίμησης του οξειδωτικού στρες: (1) ROS σε λευκοκύτταρα και αιμοπετάλια με κυτταρομετρία ροής, (2) δείκτες που βασίζονται σε τροποποιηθείσες λιπιδίων, πρωτεϊνών και DNA λόγω των ROS, (3) ενζυματικοί παράγοντες οξειδοαναγωγής και (4) ολική αντιοξειδωτική ικανότητα σε βιολογικά δείγματα. Ωστόσο, δεν υπάρχει ομοφωνία σχετικά με το ποια μέθοδος είναι η καλύτερη, γιατί η κάθε μια έχει τους δικούς της μεθοδολογικούς περιορισμούς. Γι' αυτό, συστήνεται η χρήση περισσότερων του ενός δεικτών (Marrocco et al., 2017).

3.2 Μέθοδοι εκτίμησης του οξειδωτικού στρες

3.2.1 Εισαγωγή

Τους βιοδείκτες του οξειδωτικού στρες αποτελούν μόρια τα οποία τροποποιούνται αφού αλληλεπιδράσουν με τις ROS ή μόρια του αντιοξειδωτικού συστήματος τα οποία μεταβάλλονται σε συνθήκες αυξημένου οξειδωτικού στρες (Ho et al., 2013). Το αυξημένο οξειδωτικό στρες επηρεάζει άμεσα τη λειτουργία των μορίων όπως το DNA, τα λιπίδια, τις πρωτεΐνες και τους υδατάνθρακες ή μεταβάλλει το οξειδωτικό στρες στο περιβάλλον του κυττάρου. Αξιόπιστοι βιοδείκτες του οξειδωτικού στρες αποτελούν οι δείκτες εκείνοι που συνδέονται με τις λειτουργικές αλλαγές που προκαλεί το οξειδωτικό στρες στο κύτταρο, στο όργανο ή τη λειτουργία του συστήματος (Ho et al., 2013). Σημαντικοί επίσης παράμετροι για τους δείκτες αποτελούν η ευκολία λήψης βιολογικού δείγματος, η σταθερότητα του κατά τη φύλαξη του δείγματος και την προετοιμασία του και η ειδικότητα, η ευαισθησία και η επαναληψιμότητα του kit (Ho et al., 2013).

3.2.2 Δείκτες λιποειδικής υπεροξειδωσης

3.2.2.1 F2-Ισοπροστανία (F2-IsoPs)

Τα F2-Ισοπροστανία αποτελούν χημικώς σταθερά ισομερή που μοιάζουν με προσταγλανδίνες και παράγονται από την αντίδραση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων των φωσφολιπιδίων των μεμβρανών με τις ελεύθερες ρίζες (Marocco et al., 2017). Αρχικά σχηματίζονται στις μεμβράνες των λιπιδίων και στη συνέχεια απελευθερώνονται σε ελεύθερη μορφή με τη δράση της φωσφολιπάσης. Μπορούν να μετρηθούν σε βιολογικά υγρά, στον εκπνεόμενο αέρα ή σε ιστούς όπου βρίσκονται σε εστεροποιημένη μορφή παρέχοντας έτσι πληροφορία για την ποσότητα του οξειδωτικού στρες σε συγκεκριμένους ιστούς (Marocco et al., 2017). Η χρησιμότητα των F2-ισοπροστανίων για την εκτίμηση του οξειδωτικού στρες είναι εξαιρετικά περιορισμένη, λόγω του υψηλού κόστους που απαιτεί ο συνδυασμός των τεχνικών HPLC και φασματοσκοπίας μάζας (GC-MS) (Marocco et al., 2017).

3.2.2.2 Μηλονική Διαλδεΰδη (MDA)

Η μηλονική διαλδεΰδη (MDA) αποτελεί από τα πιο γνωστά τελικά προϊόντα της λιποειδικής υπεροξειδωσης και αντιδρά με προϊόντα του θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBARS) (Ayala et al., 2014). Η ανάλυση TBARS είναι μια απλή φασματοφωτομετρική μέθοδος η οποία μετράει ένα έγχρωμο προϊόν που παράγεται της αντίδρασης του θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA) με την MDA. Η ανάλυση αυτή είναι από τις πιο κοινές μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της λιποειδικής υπεροξειδωσης, γιατί η MDA είναι σχετικά σταθερή και ανιχνεύεται εύκολα στα βιολογικά υγρά (Ayala et al., 2014). Ωστόσο, έχει μειονεκτήματα. Το TBA μπορεί να αντιδράσει με αρκετές ενώσεις,

συμπεριλαμβανομένων των σακχάρων, των αμινοξέων, της χολερυθρίνης και της λευκωματίνης, επηρεάζοντας τη μέτρηση (Marrocco et al., 2017). Ένα επιπλέον μειονέκτημα είναι η παρεμπόδιση της αιμόλυσης, που αυξάνει ψευδώς τα μετρούμενα επίπεδα MDA (Marrocco et al., 2017).

3.2.2.3 4-υδροξυ-2-νονενάλη (4-HNE)

Η 4-υδροξυ-2-νονενάλη (4-HNE) αποτελεί από τα πιο γνωστά τελικά προϊόντα της λιποειδικής υπεροξειδωσης. Μπορεί να ανιχνευθεί στα βιολογικά υγρά με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) ή με αέρια χρωματογραφία συζευγμένη με φασματοσκοπία μάζας (GC-MS) ή μέσω ανοσολογικών τεχνικών που χρησιμοποιούν ειδικά αντι-HNE αντισώματα (Marrocco et al., 2017).

3.2.3 Δείκτες οξειδωσης νουκλεϊκών οξέων

Η ρίζα υδροξυλίου (OH•) μπορεί να αντιδράσει με όλες τις βάσεις πουρίνης και πυριμιδίνης, καθώς και με τον σκελετό της δεοξυριβόζης, δημιουργώντας διάφορα προϊόντα, το πιο συνηθισμένο απ' τα οποία είναι το 7,8-διυδροξυ-8-οξο-2'-δεοξυγουανοσίνη (8oxodG) (Marrocco et al., 2017). Ο δείκτης 8oxodG είναι ο πιο συνηθισμένος βιοδείκτης της οξειδωσης του DNA. Η πιο αξιόπιστη μέτρηση είναι η χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματοσκοπία μάζας (Marrocco et al., 2017),

Η καταστροφή του DNA μπορεί επίσης να προκληθεί από την επίθεση προϊόντων που προκύπτουν από τις τροποποιήσεις που προκαλούν οι ROS σε άλλα μόρια, όπως τα λιπίδια. Σε αυτή την περίπτωση, σχηματίζονται τα 1, N (6) -αιθeno-2'-δεοξυαδενοσίνη (edA) και 3, N (4) -αιθeno-2'-δεοξυκυτιδίνη (edC) που χρησιμοποιούνται ως βιοδείκτες οξειδωτικού στρες (Marrocco et al., 2017).

3.2.4 Δείκτες οξειδωσης πρωτεϊνών

3.2.4.1 Πρωτεϊνικά καρβονύλια, ALEs, and AGEs

Οι ομάδες καρβονυλίου προκύπτουν απ' την οξειδωτική διάσπαση του πρωτεϊνικού σκελετού, ιδιαίτερα στο επίπεδο των πλευρικών αλυσίδων γλουταμυλίου, απ' την οξειδωτική αποαμίνωση της λυσίνης και απ' την επίθεση των ριζών HO στην προλίνη, τη λυσίνη, την αργινίνη και τις πλευρικές αλυσίδες θρεονίνης (Stadtman and Levine, 2003). Τα πρωτεϊνικά καρβονύλια είναι ο πλέον διαδεδομένος δείκτης οξειδωτικής πρωτεϊνικής βλάβης και οι ιστοί που τραυματίζονται από οξειδωτικό στρες περιέχουν γενικά αυξημένες συγκεντρώσεις καρβονυλιωμένων πρωτεϊνών (Marrocco et al., 2017). Ο προσδιορισμός τους πραγματοποιείται με τις Elisa και HPLC.

Οι πρωτεΐνες μπορούν επίσης να αντιδράσουν με διάφορα προϊόντα που προκύπτουν απ' την οξείδωση των PUFA και υδατανθράκων από τις ROS, δημιουργώντας ανενεργά παράγωγα τα οποία ταξινομούνται στα τελικά προϊόντα προχωρημένης λιπιδικής υπεροξειδωσης (Advanced Lipoxidation Endproducts, ALEs) και τα τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (Advanced Glycation End-Products, AGEs). Τα AGEs αυξάνονται με τη γήρανση και έχουν συνδεθεί με τον διαβήτη, την παχυσαρκία και την αθηροσκλήρωση (Marrocco et al., 2017).

3.2.4.2 Νιτροτυροσίνη

Η 3-νιτρο-τυροσίνη (3-NO-Tyr) προκύπτει απ' την οξείδωση της τυροσίνης, που μπορεί να εμφανιστεί είτε εντός ενός πολυπεπτιδίου είτε σε ελεύθερα υπολείμματα τυροσίνης, μέσω της αντίδρασης με ROS και RNS όπως το ONOO⁻ και NO₂[•] (Marrocco et al., 2017). Ο ακριβής προσδιορισμός της σε βιολογικά δείγματα γίνεται χρησιμοποιώντας τεχνικές αέριας ή υγρής χρωματογραφίας σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας και περιέχει μεθοδολογικούς περιορισμούς.

3.2.4.5 Προϊόντα προχωρημένης οξείδωσης πρωτεϊνών (AOPP)

Η 3-χλωρο-τυροσίνη (3-Cl-Tyr) και 3,5-διχλωρο-τυροσίνη αποτελούν τα κύρια προϊόντα αντίδρασης των πρωτεϊνών με χλωριωμένα οξειδωτικά όπως το υποχλωριώδες οξύ. Η 3-χλωρο-τυροσίνη (3-Cl-Tyr) είναι ένας εξειδικευμένος βιοδείκτης που μπορεί να ανιχνευθεί με πολύ ευαίσθητες μεθόδους όπως η φασματομετρία μάζας και έχει ανιχνευθεί σε ασθενείς με αθηροσκλήρωση και ρευματοειδή αρθρίτιδα (Marrocco et al., 2017).

3.2.4.6 Οξειδωμένη LDL

Οι λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (LDL) μπορούν να υποστούν οξειδωτική τροποποίηση και αυτό έχει δειχθεί από έρευνες ότι συνδέεται με την αθηροσκλήρωση και τις καρδιαγγειακές παθήσεις. Η οξείδωση της LDL εκτιμάται με δύο βιοδείκτες, χρησιμοποιώντας διαφορετικές αναλυτικές προσεγγίσεις: Τα επίπεδα οξειδωμένης LDL (ox-LDL), που προσδιορίζονται *in vivo* με ELISA με μονοκλωνικά αντισώματα ως ιχνηθέτες και η *ex vivo* αντίσταση της LDL σε καθορισμένη προ-οξειδωτική πρόκληση, χρησιμοποιώντας κυρίως ιόντα δισθενούς χαλκού υπό τυποποιημένες συνθήκες (Winklhofer-Roob et al., 2017).

Τα επίπεδα ox-LDL εκτιμώνται με μεθόδους που χρησιμοποιούν παρόμοια αλλά διαφορετικά μονοκλωνικά αντισώματα, με ειδικότερο το αντίσωμα 4E6, καθώς και διαφορετικές στρατηγικές ELISA και πρότυπα υλικά. Έτσι, οι τιμές OxLDL που λαμβάνονται με αυτές τις μεθόδους δε μπορούν να συγκριθούν άμεσα. Τα αυξημένα επίπεδα ox-LDL έχουν συσχετιστεί θετικά με τη σοβαρότητα των οξέων στεφανιαίων συνδρόμων,

την αστάθεια της αθηρωματικής πλάκας, τη διαβητική νεφροπάθεια και το μεταβολικό σύνδρομο (Winklhofer-Roob et al., 2017).

3.2.5 Ενζυμικοί παράγοντες οξειδοαναγωγής

Οι παράγοντες των οποίων η απορρύθμιση οδηγεί σε οξειδωτικό στρες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση του οξειδωτικού στρες του οργανισμού. Σε αυτούς περιλαμβάνονται τα ένζυμα που παράγουν ROS και τα αμυντικά αντιοξειδωτικά συστήματα του οργανισμού (Marrocco et al., 2017). Πιο συγκεκριμένα, περιλαμβάνονται η γλουταθειόνη/οξειδωμένη γλουταθειόνη, οι μεταγραφικοί παράγοντες που ρυθμίζουν τις ROS (Nrf-2, NF-Kb), τα ένζυμα που παράγουν ROS (NOX, MPO, XO, NOS) και τα αντιοξειδωτικά ένζυμα (SOD, CAT, GPX, GR).

3.2.5.1 Γλουταθειομένες πρωτεΐνες

Η αναστρέψιμη S-γλουταθειονυλίωση μπορεί να συμβεί είτε υπό φυσιολογικές συνθήκες, εντός οδών οξειδοαναγωγής, είτε ως αποτέλεσμα της αντιοξειδωτικής δραστηριότητας της GSH μέσω της μείωσης των οξειδωμένων καταλοίπων κυστεΐνης και του σχηματισμού μικτής δισουλφιδικής γέφυρας μεταξύ ενός αμινοξέος κυστεΐνης και της γλουταθειόνης. Η γλουταθειονυλίωση της κυστεΐνης μπορεί να λειτουργήσει προστατευτικά εμποδίζοντας την περαιτέρω μη αναστρέψιμη οξείδωση σε σουλφινικά ή σουλφονικά οξέα (Shelton et al., 2005).

Η μέτρηση της S-γλουταθειονυλίωσης λειτουργικών σημαντικών πρωτεϊνών είναι ένας βιοδείκτης που δεν μπορεί εύκολα να μετρηθεί λόγω της δυσκολίας στην πρόσβαση του ιστού στον οποίο προκύπτουν αυτές οι λειτουργικές τροποποιήσεις και λόγω της μεγάλης προσοχής που απαιτείται στον χειρισμό και την προετοιμασία των δειγμάτων (Marrocco et al., 2017). Η μέτρηση της S-γλουταθειονυλίωσης των πρωτεϊνών στα κυκλοφορούντα κύτταρα γίνεται ευκολότερα. Η γλουταθειονυλίωση της αιμοσφαιρίνης έχει προταθεί ως δείκτης οξειδωτικού στρες και φαίνεται ότι είναι αυξημένη σε ασθενείς με διαβήτη, υπερλιπιδαιμία και νεφρική ανεπάρκεια.

3.2.5.2 Γλουταθειόνη (GSH) και κυστεΐνη

Η GSH λειτουργεί αντιοξειδωτικά εκκαθαρίζοντας τις ROS μέσω της αναστρέψιμης οξείδωσης σε GSSG. Η GR καταλύει την αναγωγή της GSSG σε GSH, διατηρώντας με αυτόν τον τρόπο την αναλογία GSSG:GSH σε φυσιολογικά επίπεδα στο εσωτερικό του κυττάρου. Η χρήση της ως δείκτη οξειδωτικού στρες είναι περιορισμένη λόγω του ότι η σύνθεση της εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα των κυστεϊνών και λόγω μεθοδολογικών περιορισμών (Marrocco et al., 2017).

3.2.5.3 Nrf-2, NF-Kb

Ο Nrf-2 είναι ένας παράγοντας μεταγραφής που αποτελεί τον κύριο ρυθμιστή του συστήματος αντιοξειδωτικής απόκρισης ελέγχοντας την έκφραση περισσότερων από 250 γονιδίων. Σε βασικές συνθήκες, ο Nrf-2 οδηγείται σε πρωτεασωματική αποικοδόμηση μέσω του κυτταροπλασματικού του αναστολέα, Keap1, ενώ σε συνθήκες οξειδωτικού στρες, η αποικοδόμηση του Nrf2 δεν είναι δυνατή και ο Nrf2 εισέρχεται στον πυρήνα ώστε να ενεργοποιήσει τη μεταγραφή αντιοξειδωτικών γονιδίων (Lee and Johnson, 2004). Παραδείγματα γονιδίων τα οποία επάγονται από την ενεργοποίηση του Nrf2 είναι, μεταξύ άλλων, η δισμουτάση του σουπεροξειδίου (SOD), η καταλάση (CAT), η οξυγονάση της αίμης 1 (HO1), τα λεγόμενα ένζυμα της φάσης II, η μεταφοράση της γλουταθειόνης (GSH-S-transferase), η NAD(P)H:οξειδοαναγωγή (NQO1), καθώς και ένζυμα που εμπλέκονται στη σύνθεση της γλουταθειόνης (Marrocco et al., 2017). Έχει παρατηρηθεί ότι η δραστηριότητα του Nrf-2 μειώνεται με την ηλικία καθώς και με τις εκφυλιστικές διαταραχές. Ο NF-kB εμπλέκεται στη μεταγραφή των ενζύμων που παράγουν ROS και δημιουργούν φλεγμονή.

3.2.5.4 Ένζυμα

Σε συνθήκες οξειδωτικού στρες, ένζυμα που παράγουν ROS απελευθερώνονται στην κυκλοφορία και αποτελούν δείκτες οξειδωτικού στρες. Σε αυτά περιλαμβάνονται η συνθάση του μονοξειδίου του αζώτου (NOS) και η οξειδάση NADPH (NOX) (Marrocco et al., 2017). Επίσης, η MPO παράγει ROS καταλύοντας τη μετατροπή του H₂O₂ σε HClO και τα υψηλά επίπεδα της έχουν σχετιστεί με καρδιαγγειακές παθήσεις, χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια και Alzheimer. Επιπρόσθετα, η οξειδάση της ξανθίνης (XO) καταλύει την οξείδωση της υποξανθίνης και της ξανθίνης σε ουρικό οξύ, το οποίο επίσης οδηγεί στην παραγωγή O₂^{•-}. Η αυξημένη δραστηριότητα της XO μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση των επιπέδων του ουρικού οξέος στον ορό, του οξειδωτικού στρες και της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας (Marrocco et al., 2017)..

Τα πιο σημαντικά αντιοξειδωτικά ένζυμα είναι οι δισμουτάσες του υπεροξειδίου (SOD), η καταλάση (CAT), οι υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης (GPX), η αναγωγή της γλουταθειόνης (GR) και οι μεταφοράσες γλουταθειόνης (GSTs).

Η μέτρηση της δραστηριότητας των SOD βασίζεται στην αναστολή του ρυθμού αναγωγής ενός άλατος τετραζολίου από το O₂^{•-}, που παράγεται μέσω ενός ενζυμικού συστήματος ξανθίνης/XO. Η δραστηριότητα της CAT μπορεί να μετρηθεί με αρκετές χρωματομετρικές ή φασματοφωτομετρικές μεθόδους. Η δραστηριότητα των GPX μετράται

έμμεσα μέσω μιας συζευγμένης αντίδρασης με την αναγωγή της γουταθειόνης (Marrocco et al., 2017).

Υπάρχουν αντικρουόμενα αποτελέσματα σχετικά με τα επίπεδα ή τη δραστικότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων σε διάφορα νοσήματα. Για παράδειγμα, η δραστικότητα των SOD ήταν υψηλότερη σε περιπτώσεις ατόμων με υπέρταση, διαβήτη τύπου 2 ή καρδιαγγειακή νόσο συγκριτικά με υγιή άτομα (Marrocco et al., 2017). Έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι η αύξηση των αντιοξειδωτικών ενζύμων μπορεί να αντιπροσωπεύει μια αντισταθμιστική απάντηση σε αυξημένο οξειδωτικό στρες (Turk et al., 2002).

3.2.6 Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC)

Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) ή αλλιώς μη-ενζυματική αντιοξειδωτική ικανότητα (NEAC), ορίζεται ως τα μόρια των οξειδωτικών που εξουδετερώνονται από ένα λίτρο σωματικών υγρών (Lettieri-Barbato et al., 2013). Στο πλάσμα, τα ενδογενή (π.χ. ουρικό οξύ, χολερυθρίνη και θειόλες) και τα διατροφικά (π.χ., τοκοφερόλες, ασκορβικό οξύ, καροτενοειδή και φαινόλες) αντιοξειδωτικά αποτελούν τα μη-ενζυματικά αντιοξειδωτικά. Οι μέθοδοι μέτρησης της TAC μετρούν είτε την εκκαθάριση των ROS είτε την ικανότητα αναγωγής. Οι πιο γνωστές μέθοδοι είναι η Ικανότητα Απορροφητικότητας Ριζών Οξυγόνου (ORAC), το Συνολικό Δυναμικό Παγίδευσης Ριζών (TRAP), το Ολικό Αντιοξειδωτικό Προφίλ (TAS), η Ισοδύναμη Αντιοξειδωτική Ικανότητα Trolox (TEAC) και η μέθοδος Αντιοξειδωτική Ισχύς Αναγωγής Σιδήρου (FRAP) (Marrocco et al., 2017).

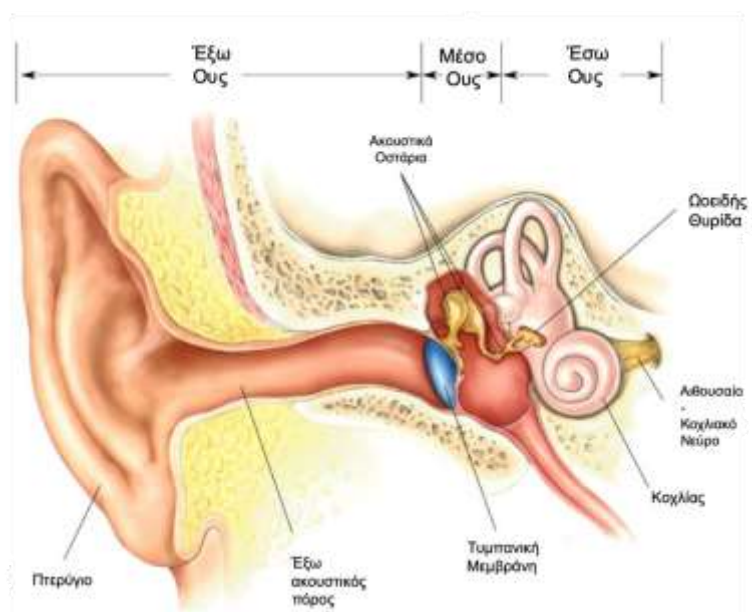
Οι μέθοδοι TAC προσφέρουν το πλεονέκτημα της μέτρησης της συνολικής αντιοξειδωτικής δράσης διαφορετικών ενώσεων οι οποίες έχουν προσθετική, συνεργιστική ή ανταγωνιστική αλληλεπίδραση (Bartosz, 2010). Ωστόσο, υπάρχουν μειονεκτήματα στις μεθόδους αυτές (Bartosz, 2010). Διαφορετικές μέθοδοι μπορεί να δώσουν διαφορετικά αποτελέσματα σε περιπτώσεις νοσημάτων και παρεμβάσεων με αντιοξειδωτικά (Lettieri-Barbato et al., 2013). Επίσης το ουρικό οξύ είναι ένας παράγοντας που επηρεάζει τις τιμές TAC στο πλάσμα κατά 60-80% (Peluso and Raguzzini, 2016). Επιπρόσθετα, η συλλογή και η επεξεργασία του δείγματος μπορεί να επηρεάσουν τα αποτελέσματα των μετρήσεων (Ghiselli et al., 2000). Λόγω των μεθοδολογικών αυτών περιορισμών και λόγω του ότι οι μέθοδοι αυτές δε συμπεριλαμβάνουν τη δράση των αντιοξειδωτικών ενζύμων, ενδεχόμενη αύξηση ή μείωση των τιμών TAC χρειάζεται να αξιολογηθεί με προσοχή (Fraga et al., 2014).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΩΤΟΣ

4.1 Ανατομία του ωτός

4.1.1 Εισαγωγή

Το αυτί αποτελείται από τρία μέρη: Το έξω, το μέσο και το έσω ους (Davies and Davies, 1967). Το έξω και το μέσο ους αποτελούν επικουρικά μέρη, με μοναδικό κύριο ρόλο τη μεταβίβαση των ηχητικών κυμάτων, ενώ το έσω ους, που εδράζεται εντός της λιθοειδούς μοίρας του κροταφικού οστού, είναι το κύριο όργανο της ακοής και της ισορροπίας (**Εικόνα 4.1**).



Εικόνα 4.1 Ανατομία του ωτός

(Πηγή: Δανηλίδης & Ασημακόπουλος, 2006)

4.1.2 Έξω ους

Το έξω ους περιλαμβάνει το πτερύγιο, τον έξω ακουστικό πόρο και τον τυμπανικό υμένα (Davies and Davies, 1967). Το πτερύγιο συνίσταται απ' τον πτερυγιάιο χόνδρο, ο οποίος καλύπτεται από δέρμα και προσφύεται μέσω συνδέσμων και μυών στα πλάγια της βάσης του κρανίου. Η περιφέρεια της πρόσθιας επιφάνειας του πτερυγίου καλείται έλικα. Η κύμμη αντιστοιχεί στη βαθύτερη περιοχή, η οποία διαιρείται στην κύμμη προς τα άνω και στην κοιλότητα της κόγχης προς τα κάτω. Ο τράγος, ένα τριγωνικού σχήματος αποπλατυσμένο έπαρμα, εντοπίζεται στο πρόσθιο χείλος του έξω ακουστικού πόρου (Davies and Davies, 1967).

Ο έξω ακουστικός πόρος συνιστά οστεοχόνδρινη δομή σωληνωτής διαμόρφωσης, μήκους περίπου 23-25 χιλιοστών. Εκτείνεται απ' την κοιλότητα της κόγχης του ωτικού

πτερυγίου έως τον τυμπανικό υμένα. Η πορεία του είναι τοξοειδής, με το κυρτό προς τα άνω και πίσω. Ο έξω ακουστικός πόρος διακρίνεται στη χόνδρινη μοίρα του, η οποία έχει μήκος 8 χιλιοστά και αποτελεί την προς τα έσω συνέχεια του πτερυγίου, και την οστέινη μοίρα προς τα έσω, με μήκος περίπου 16 χιλιοστά (Davies and Davies, 1967).

Ο τυμπανικός υμένας αποτελεί το όριο μεταξύ έξω και μέσου ωτός και αποφράσσει τον πυθμένα του έξω ακουστικού πόρου. Παρουσιάζει την εξωτερική επιφάνεια, η οποία επαλείφεται από τη δερματική στιβάδα του έξω ακουστικού πόρου και την εσωτερική που καλύπτεται από το βλεννογόνο του μέσου ωτός (Davies and Davies, 1967). Μεταξύ αυτών υπάρχει η ινώδης στιβάδα, η οποία εκλείπει στο άνω τρίτο περίπου του τυμπανικού υμένα.

4.1.3 Μέσο ους

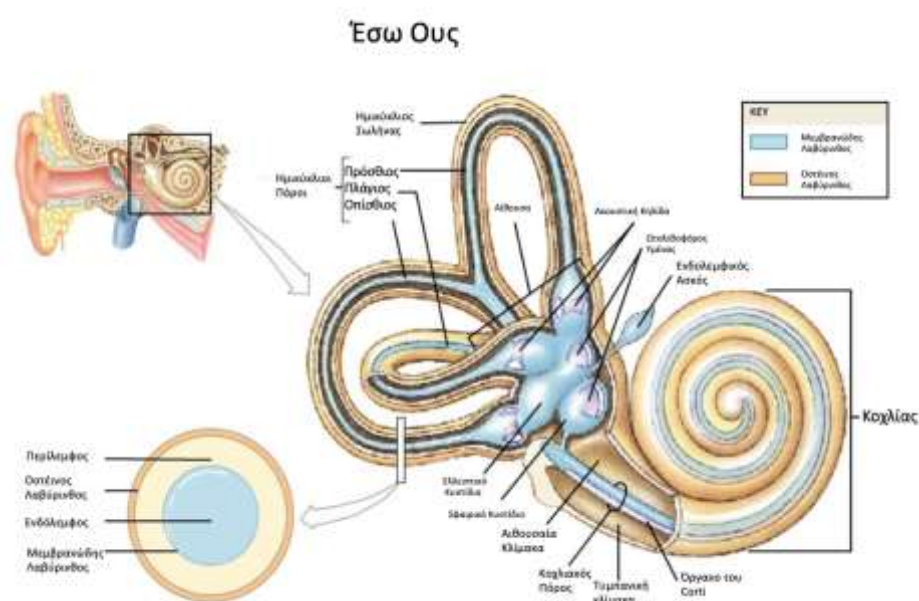
Το μέσο ους είναι μια αεροφόρος κοιλότητα, η οποία συνίσταται απ' το κοίλο του τυμπάνου, την ευσταχιανή σάλπιγγα και απ' το μαστοειδές άντρο. Το κοίλο του τυμπάνου οριοθετείται από έξι τοιχώματα: το έξω, το έσω, το άνω ή οροφή, το κάτω, το πρόσθιο και το οπίσθιο (Davies and Davies, 1967). Το έξω τοίχωμα αποτελείται ουσιαστικά από τον τυμπανικό υμένα. Το έσω τοίχωμα αντιστοιχεί στο λαβύρινθο. Σημαντικές δομές του έσω τοιχώματος είναι το ακρωτήριο, η ωοειδής θυρίδα και η στρογγυλή θυρίδα. Το ακρωτήριο αντιστοιχεί στην βασική έλικα του κοχλίου. Η ωοειδής θυρίδα αποφράσσεται από τη βάση του αναβολέα, ενώ η στρογγυλή θυρίδα εντοπίζεται πίσω και κάτω του ακρωτηρίου και αποφράσσεται απ' τον δευτερεύοντα τυμπανικό υμένα (Davies and Davies, 1967). Η ωοειδής θυρίδα αντιστοιχεί στην αιθουσαία κλίμακα, ενώ η στρογγυλή θυρίδα αντιστοιχεί στην τυμπανική κλίμακα του κοχλίου. Στο πρόσθιο τοίχωμα εντοπίζεται το τυμπανικό στόμιο της ευσταχιανής σάλπιγγας και στο οπίσθιο τοίχωμα βρίσκεται ένα μικρό άνοιγμα, μέσω του οποίου το κοίλο του τυμπάνου επικοινωνεί με το άντρο των μαστοειδών κυψελών. Η οροφή ή άνω τοίχωμα και το κάτω τοίχωμα αποτελούνται από ένα λεπτό οστέινο πέταλο που χωρίζει την κοιλότητα του μέσου ωτός απ' την κρανιακή κοιλότητα και τον βολβό της σφαγίτιδας φλέβας αντίστοιχα (Davies and Davies, 1967).

Το κοίλο του τυμπάνου φιλοξενεί την ακουστική άλυσο και τρία οστά τα οποία κατά σειρά από έξω προς τα μέσα αποτελούν η σφύρα, ο άκμονας και ο αναβολέας. Τα οστά συνάπτουν την τυμπανική μεμβράνη με το έσω ους (Davies and Davies, 1967).

Η ευσταχιανή σάλπιγγα είναι ένας αεραγωγός σωλήνας με μήκος περίπου 3,5 εκατοστά, μέσω του οποίου το μέσο ους επικοινωνεί με το ρινοφάρυγγα και κατ' επέκταση με τον εξωτερικό αέρα, συμβάλλοντας έτσι στην εξίσωση της ατμοσφαιρικής πίεσης και στις δύο πλευρές του τυμπανικού υμένα. Σε κατάσταση ηρεμίας παραμένει κλειστή, ενώ διανοίγεται κατά τη μάσηση, την κατάποση και το χασμουρητό (Davies and Davies, 1967).

4.1.4 Έσω ους

Το έσω ους ή λαβύρινθος είναι το όργανο της ακοής και της ισορροπίας και αποτελείται απ' τον οστέινο και τον περικλειόμενο σ' αυτόν υμενώδη λαβύρινθο (Davies and Davies, 1967). Μεταξύ οστέινου και υμενώδους λαβυρίνθου βρίσκεται ο περιλεμφικός χώρος, ο οποίος περιέχει την έξω λέμφο ή περίλεμφο. Η περίλεμφος έχει χημική σύσταση παρόμοια με αυτή του εξωκυττάριου υγρού, με υψηλή περιεκτικότητα σε ιόντα Na^+ και χαμηλή περιεκτικότητα σε ιόντα K^+ , προερχόμενη απ' το εγκεφαλονωτιαίο υγρό και τα αιμοφόρα αγγεία του λαβυρίνθου (Εικόνα 4.2).



Εικόνα 4.2 Το έσω ους

(Πηγή: Biga et al., 2017)

4.1.4.1 Οστέινος λαβύρινθος

Ο οστέινος λαβύρινθος αποτελείται απ' τον κοχλία, την αίθουσα και τους ημικύκλιους σωλήνες (Davies and Davies, 1967). Η αίθουσα βρίσκεται στο κέντρο, έχοντας τους ημικύκλιους σωλήνες προς τα πίσω και τον κοχλία προς τα εμπρός. Ο οστέινος κοχλίας είναι ένας κυλινδρικός σωλήνας, ο οποίος ελίσσεται σπειροειδώς 2,5 φορές γύρω από κώνο, την άτρακτο. Οι οστέινοι ημικύκλιοι σωλήνες είναι τρεις και διακρίνονται σε πρόσθιο κάθετο, οπίσθιο κάθετο και οριζόντιο ημικύκλιο σωλήνα. Οι δύο κάθετοι σωλήνες έχουν τέτοια διάταξη στο χώρο ώστε τα επίπεδα τους να είναι κάθετα μεταξύ τους και επίσης κάθετα στο επίπεδο του οριζόντιου ημικύκλιου σωλήνα. Το επίπεδο του οριζόντιου

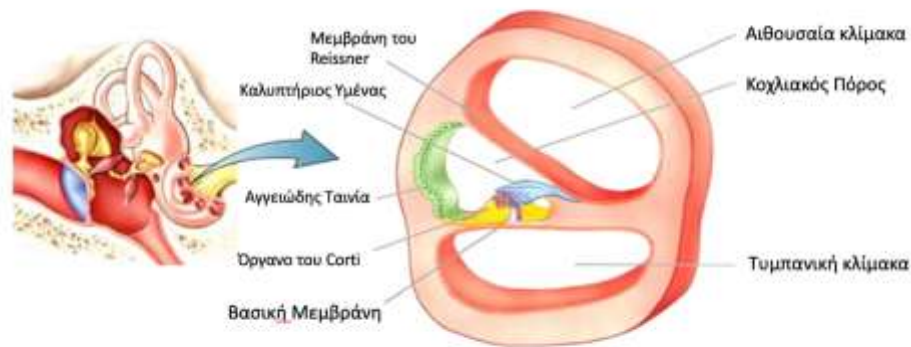
ημικύκλιου σωλήνα έχει κλίση προς τα κάτω και πίσω κατά 30 μοίρες (Davies and Davies, 1967).

4.1.4.2 Υμενώδης λαβύρινθος

Ο υμενώδης λαβύρινθος, ο οποίος περικλείεται από τον οστέινο, αποτελείται από την υμενώδη αίθουσα, τους υμενώδεις ημικύκλιους σωλήνες και τον υμενώδη κοχλία (Davies and Davies, 1967). Οι δομές αυτές επικοινωνούν μεταξύ τους και πληρούνται από την έσω λέμφο ή ενδόλεμφο, η οποία πιστεύεται ότι παράγεται από την αγγειώδη ταινία και έχει σύσταση παρόμοια του ενδοκυττάριου υγρού. Αντίθετα με την περίλεμφο, η ενδόλεμφος παρουσιάζει περιεκτικότητα χαμηλή σε ιόντα Na^+ και υψηλή σε ιόντα K^+ . Η ενδόλεμφος έρχεται σε επικοινωνία με τον υποσκληρίδιο χώρο μέσω του ενδολεμφικού σάκου, ενώ η έξω λέμφος με τον υπαραχοειδή χώρο μέσω του υδραγωγού του κοχλία (Davies and Davies, 1967). Η αιμάτωση του κοχλία γίνεται από την κοχλιακή αρτηρία, που είναι κλάδος της έσω ακουστικής αρτηρίας, η οποία εκφύεται από τη βασική και συχνά από την πρόσθια κάτω παρεγκεφαλιδική αρτηρία.

Ο υμενώδης κοχλίας ή κοχλιακός πόρος έχει σχήμα τριγωνικό και εμφανίζει τρία τοιχώματα: α) Το έξω τοίχωμα, το οποίο αποτελείται απ' το περίστωο και περιέχει πολυάριθμα αιμοφόρα αγγεία που αποτελούν την αγγειώδη ταινία και η οποία παράγει ενδόλεμφο μέσα στον κοχλία, β) Το άνω τοίχωμα ή αιθουσαίος υμένας του Reissner, που αποτελείται από στιβάδες πλακώδους επιθηλίου και γ) Το κάτω τοίχωμα ή τυμπανικό όπου υπάρχει η βασική μεμβράνη.

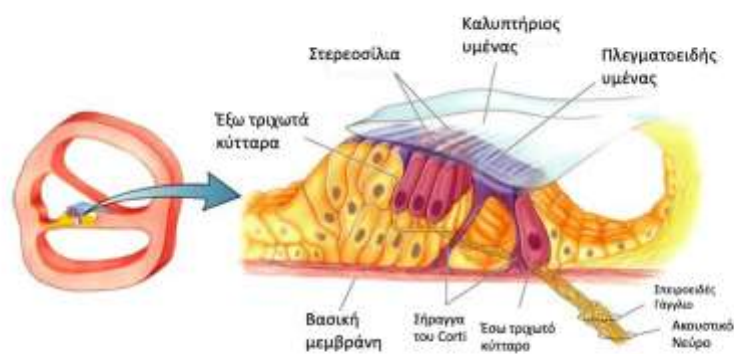
Ο κοχλιακός πόρος προσφύεται στον οστέινο κοχλιακό σωλήνα και δημιουργεί δύο χώρους εντός του οστέινου κοχλία (Davies and Davies, 1967). Ο ένας είναι πάνω απ' τον κοχλιακό πόρο και καλείται αιθουσαία κλίμακα και ο άλλος κάτω απ' τον κοχλιακό πόρο και καλείται τυμπανική κλίμακα. Η αιθουσαία κλίμακα αρχίζει απ' την άνω μοίρα της αίθουσας και διατρέχει κατά μήκος του οστέινου κοχλία, πάνω από τον κοχλιακό πόρο προς την κορυφή, όπου μεταπίπτει στην τυμπανική κλίμακα. Η τυμπανική κλίμακα διατρέχει προς τα κάτω κατά μήκος του οστέινου κοχλία και κάτω από τον κοχλιακό πόρο και τελειώνει στην στρογγυλή θυρίδα (Davies and Davies, 1967). Το σημείο στην κορυφή του οστέινου κοχλία όπου η αιθουσαία κλίμακα μεταπίπτει στην τυμπανική καλείται ελικότρημα. Ο υμενώδης κοχλίας επικοινωνεί με το σφαιρικό κυστίδιο στο κάτω άκρο του **(Εικόνα 4.3)**.



Εικόνα 4.3 Διατομή του κοχλίου
(Πηγή: Møller, 1994)

4.1.4.3 Όργανο του Corti

Στον υμενώδη κοχλία, ο οποίος αντιπροσωπεύει την κοχλιακή μοίρα του ακουστικού νεύρου εντοπίζεται το αισθητήριο όργανο της ακοής, το όργανο του Corti (**Εικόνα 4.4**). Το όργανο του Corti είναι ένας νευροεπιθηλιακός σχηματισμός και απαρτίζεται από επιθηλιακά στηρικτικά κύτταρα (κύτταρα Claudius, Hensen και Deiters), τον δικτυωτό υμένα και τον καλυπτήριο υμένα. Τα στηρικτικά κύτταρα σχηματίζουν σε διατομή έναν τριγωνικό χώρο, τη σήραγγα του Corti, η οποία είναι γεμάτη από κορτικολέμφο. Μεταξύ των επιθηλιακών κυττάρων ανευρίσκονται τα νευροαισθητηριακά ή τριχωτά κύτταρα (έσω και έξω) (Sproendlin, 1966). Ο καλυπτήριος υμένας εκφύεται από την άνω επιφάνεια του οστέινου ελικοειδούς πετάλου, την ελικοειδή στεφάνη. Ο καλυπτήριος υμένας εκτείνεται οριζοντίως και επικαλύπτει το όργανο του Corti, με τις τρίχες των τριχωτών κυττάρων του οποίου έρχεται σε στενή συσχέτιση. Στη βάση των τριχωτών κυττάρων καταλήγουν οι περιφερικές ίνες του ελικοειδούς γαγγλίου, το οποίο είναι το αισθητικό γάγγλιο του κοχλιακού νεύρου (Sproendlin, 1966). Το όργανο του Corti δεν έχει αγγεία και τρέφεται από την έσω λέμφο και την κορτικολέμφο, οι οποίες το περιβάλλουν. Η κορτικολέμφος έχει ίδια σύσταση με την περίλεμφο.



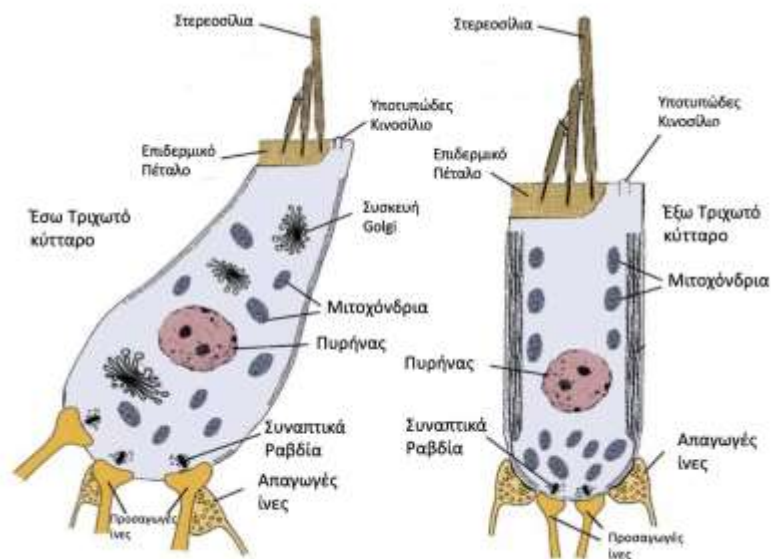
Εικόνα 4.4 Όργανο του Corti

(Πηγή: Møller, 1994)

4.1.4.4 Τριχωτά κύτταρα

Τα νευροαισθητηριακά κύτταρα καλούνται τριχωτά, επειδή στην ελεύθερη άνω επιφάνειά τους, φέρουν δέσμη ινιδίων, που καλούνται ακουστικές τρίχες. Η κορυφή της υψηλότερης ακουστικής τρίχας πιθανότατα σχετίζεται με τους διαύλους ιόντων της κυτταρικής μεμβράνης των τριχωτών κυττάρων (Spoendlin, 1966). Τα τριχωτά κύτταρα είναι δύο ειδών, τα έσω και τα έξω (**Εικόνα 4.5**).

Τα έσω τριχωτά κύτταρα έχουν σχήμα απιοειδές και διατάσσονται σ' ένα στοίχο στο έσω τμήμα του οργάνου του Corti. Αριθμούν περίπου 3500 και περιβάλλονται πλήρως, εκτός από την άνω επιφάνειά τους, απ' τα στηρικτικά κύτταρα. Απ' το άνω άκρο τους προέχουν περίπου 50-60 τρίχες, που λέγονται στερεοτριχίδια (στερεοσίλια) ή ακουστικές τρίχες. Όλες οι τρίχες συνδέονται μεταξύ τους μέσω μιας γέφυρας με πολύ λεπτά ινίδια. Η μεμβράνη που περιβάλλει την κάθε τρίχα είναι συνέχεια της κυτταρικής μεμβράνης του τριχωτού κυττάρου. Στο κάτω άκρο του τριχωτού κυττάρου, κάτω απ' τον πυρήνα, παρατηρείται πυκνή συγκέντρωση μιτοχονδρίων. Στο άνω άκρο του κυτταροπλάσματος υπάρχει εκτεταμένο δίκτυο από μικροσωληνάρια, συσκευές Golgi και κυστίδια (**Εικόνα 4.5**). Στο κάτω μέρος των έσω τριχωτών κυττάρων εντοπίζονται τα συναπτικά κυστίδια που απελευθερώνουν νευροδιαβιβαστές. Το άνω μέρος των τριχωτών κυττάρων χρησιμεύει για την μετατροπή της μηχανικής ενέργειας σε ηλεκτρομηχανική και το κάτω μέρος χρησιμεύει για την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστικών ουσιών που θα ερεθίσουν τους δενδρίτες των νευρικών ινών του ακουστικού νεύρου (Spoendlin, 1966).

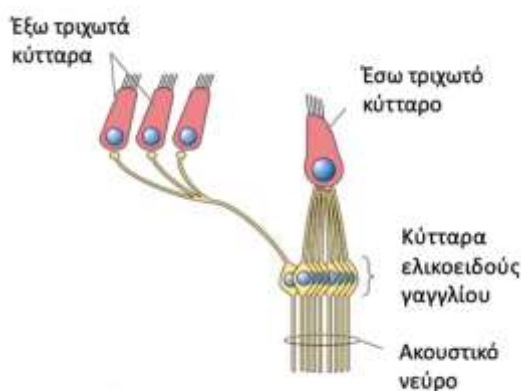


Εικόνα 4.5 Έσω και έξω τριχωτά κύτταρα
(Πηγή: Samuelson et al., 2016)

Τα έξω τριχωτά κύτταρα έχουν κυλινδρικό σχήμα, διατάσσονται σε 3 έως 5 στοίχους στο έξω τμήμα του οργάνου του Corti και αριθμούν περίπου 12000 (Sroendlin, 1966). Στην ελεύθερη επιφάνεια τους έχουν 3 ή 4 στοίχους από στερεοτριχίδια και το ύψος τους αυξάνει σταδιακά απ' τα έσω προς τα έξω. Έρχονται σε επαφή με τα στηρικτικά κύτταρα μόνο στη βάση τους, με αποτέλεσμα το μεγαλύτερο μέρος της μάζας τους να κινείται ελεύθερα μέσα στην λέμφο. Κάτω από την κυτταρική μεμβράνη, φέρουν ένα στρώμα από μεμβρανώδεις σχηματισμούς, που ονομάζονται υποεπιφανειακές δεξαμενές (Sroendlin, 1966). Οι δεξαμενές αυτές περιέχουν πλήθος μιτοχονδρίων, η υψηλότερη συγκέντρωση των οποίων παρατηρείται μεταξύ του πυρήνα και της βάσης του κυττάρου, γεγονός που υποδηλώνει ότι έχουν έντονη μεταβολική δραστηριότητα. Στη βάση του έξω τριχωτού κυττάρου βρίσκονται πολυάριθμα κυστίδια, τα συναπτικά κυστίδια, εύρημα που υποδηλώνει την έντονη συναπτική δραστηριότητα των έξω τριχωτών κυττάρων (**Εικόνα 4.5**). Τέλος, τα έξω τριχωτά κύτταρα φέρουν συσταλτές πρωτεΐνες, όπως η ακτίνη, η μυοσίνη, η φιμπρίνη και η τροπομυοσίνη, που χρησιμεύουν για την κίνηση των στερεοτριχιδίων (Sroendlin, 1966).

Η πιο σημαντική διαφορά ανάμεσα στα έσω και στα έξω τριχωτά κύτταρα είναι ο τρόπος νεύρωσης τους (**Εικόνα 4.6**). Κάθε έσω τριχωτό κύτταρο συνδέεται στον κάτω πόλο του με 17-24 προσαγωγές ίνες, όπου η κάθε μία αντιπροσωπεύει ένα δενδρίτη του σπειροειδούς γαγγλίου (Ballantyne and Groves, 1971). Αυτές οι προσαγωγές ίνες αντιπροσωπεύουν το 90-95% των ιών του ακουστικού νεύρου. Αντίθετα, οι προσαγωγές

ίνες απ' τα έξω τριχωτά κύτταρα αποτελούν το 5-10% του συνόλου των προσαγωγών ιών του ακουστικού νεύρου και έτσι η απαγωγός νεύρωση είναι πιο εκτεταμένη (Ballantyne and Groves, 1971).



Εικόνα 4.6 Νεύρωση τριχωτών κυττάρων

(Πηγή: Carlson, 2019)

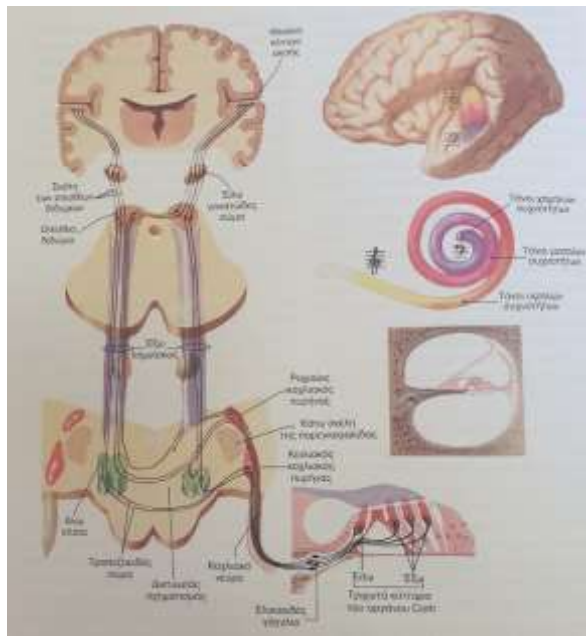
4.2 Κεντρική ακουστική οδός

Στη βάση των τριχωτών κυττάρων υπάρχουν οι περιφερικές αποφυάδες του ελικοειδούς γαγγλίου, οι κεντρικές αποφυάδες του οποίου ενωμένες σχηματίζουν το κοχλιακό νεύρο. Το ελικοειδές γάγγλιο αποτελεί τον πρώτο αισθητικό εκφυτικό νευρώνα.

Το κοχλιακό νεύρο εισέρχεται στο εγκεφαλικό στέλεχος. Μετά την είσοδό του στη γέφυρα, οι νευρικές ίνες υποδιαιρούνται σε δύο κλάδους και καταλήγουν στο ραχιαίο και κοιλιακό κοχλιακό πυρήνα (Ballantyne and Groves, 1971). Οι κοχλιακοί πυρήνες αποτελούν το δεύτερο αισθητικό νευρώνα. Οι ίνες από τους κοχλιακούς πυρήνες καταλήγουν στον οπίσθιο πυρήνα του τραπεζοειδούς σώματος και στον άνω ελαϊκό πυρήνα. Οι νευρικές ίνες που αρχίζουν απ' τους δύο αυτούς πυρήνες, χιαζόμενες με τις ίνες της αντίθετης πλευράς κατά το πλείστον, οδηγούνται στον έξω λημνίσκο και στη συνέχεια στο έσω γονατάδες και τα οπίσθια διδύμια, όπου καταλήγουν και οι μη χιασθείσες ίνες (Ballantyne and Groves, 1971). Με τον τρόπο αυτό, τα ακουστικά ερεθίσματα απ' το ένα αυτί φέρονται μέσω της κεντρικής ακουστικής οδού στο ακουστικό κέντρο και των δυο εγκεφαλικών ημισφαιρίων (ακουστικός φλοιός), κυρίως όμως του ημισφαιρίου της αντίθετης πλευράς (**Εικόνα 4.7**). Το κύριο ακουστικό κέντρο εντοπίζεται στον κροταφικό λοβό, στις εγκάρσιες έλικες του Heschle, της άνω επιφανείας του λοβού (περιοχές 41,42 κατά Brodmann) (Ballantyne and Groves, 1971).

Όλες αυτές οι δομές είναι σταθμοί αναμετάδοσης των ακουστικών πληροφοριών απ' τον κοχλία προς τον εγκέφαλο (προσαγωγές οδοί) (Rasmussen, 1964). Υπάρχουν όμως και

απαγωγές ακουστικές οδοί, ένα περίπλοκο σύστημα κατιουσών ινών. Αυτές συμπορεύονται με τις ανιούσες και συνδέουν τον ακουστικό φλοιό με τα κατώτερα ακουστικά κέντρα και τον κοχλία (ελαιοκοχλιακό δεμάτιο). Οι ίνες αυτές έχουν διεγερτική και ανασταλτική δραστηριότητα και σημαντικές επιπτώσεις στη λειτουργία της ακουστικής οδού (Rasmussen, 1964).



Εικόνα 4.7 Κεντρική ακουστική οδός

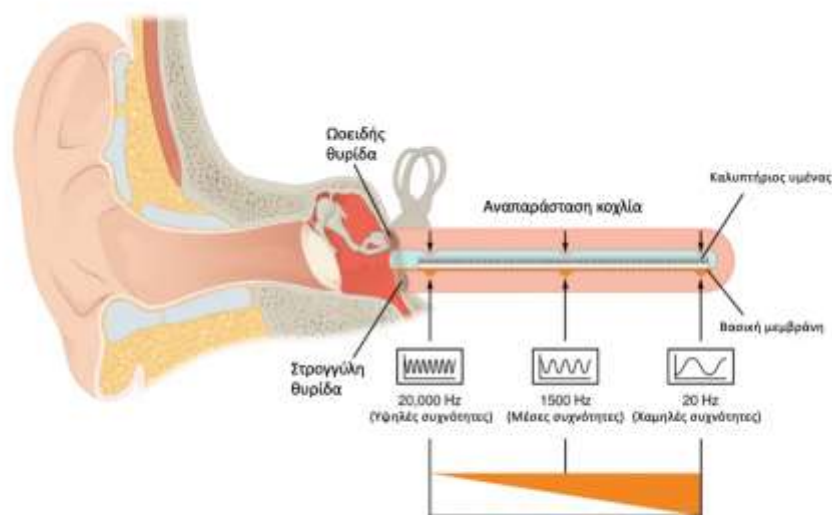
(Πηγή: Δανηλίδης & Ασημακόπουλος, 2006)

4.3 Φυσιολογία της ακοής

Τα ηχητικά κύματα, μέσω του έξω ακουστικού πόρου, προσπίπτουν στην τυμπανική μεμβράνη την οποία και θέτουν σε δόνηση. Η δόνηση αυτή μεταβιβάζεται μέσω της σφύρας και του άκμονα στον αναβολέα (ακουστική αλυσος) και μέσω της βάσης του αναβολέα στην έξω λέμφο (έσω ους) (Ballantyne and Groves, 1971). Η μεταβίβαση του ηχητικού κύματος από αέριο (αέρας) σε υγρό μέσο (έξω λέμφος), με την παρεμβολή στέρεων δομών (οστάρια ακουστικής αλύσου), έχει σαν αποτέλεσμα την αντανάκλαση (απώλεια) του ήχου σε ποσοστό 99,9%, που αντιστοιχεί σε ένταση ήχου 30db περίπου. Η μεγάλη όμως αυτή απώλεια αντισταθμίζεται με τη δράση του μέσου ωτός ως μηχανικού μετασχηματιστή. Αυτό επιτυγχάνεται με δύο τρόπους. Πρώτα, το μήκος της λαβής της σφύρας, όντας μεγαλύτερο απ' το μήκος της μακράς απόφυσης του άκμονα, έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία μοχλού, ο οποίος αυξάνει την ένταση του ήχου κατά 1,3 φορές που ισοδυναμεί με 2-3dB. Έπειτα, η σχέση εμβαδού των δύο δονούμενων επιφανειών, δηλαδή του τυμπανικού υμένα και της βάσης αναβολέα, είναι 14:1, γεγονός που αντιστοιχεί σε αύξηση της εντάσεως του

προσπίπτοντος στον τυμπανικό υμένα ηχητικού κύματος κατά 23dB. Επομένως, η συνολική ενίσχυση του ήχου με τη δράση του μέσου ωτός είναι 25-27dB και έτσι αντirroπείται η κατά 30dB αντανακλώμενη στον τυμπανικό υμένα ενέργεια του ηχητικού κύματος (Ballantyne and Groves, 1971).

Η προς τα μέσα κίνηση της βάσης του αναβολέα θα μεταβιβάσει τις ηχητικές δονήσεις στην έξω λέμφο και στη συνέχεια μέσω του υμένα του Reissner στην έσω λέμφο και κατά συνέπεια και στο βασικό υμένα που στηρίζει το όργανο του Corti (Ballantyne and Groves, 1971). Η προς τα κάτω, δηλαδή προς την πλευρά της τυμπανικής κλίμακας μετατόπιση του βασικού υμένα λόγω των ασυμπίεστων υγρών, θα προκαλέσει μετατόπιση του υμένα της στρογγυλής θυρίδας προς τα έξω. Η μετακίνηση του αναβολέα προς τα έξω, έχει το αντίθετο αποτέλεσμα και μετατοπίζει τον υμένα της στρογγυλής θυρίδας προς τα μέσα. Ο ήχος κάθε συχνότητας προκαλεί διαφορετικού εύρους μετατόπιση του βασικού υμένα και σε διαφορετικές θέσεις αυτού. Έτσι, υψηλής συχνότητας ήχοι προκαλούν μετατόπιση του βασικού υμένα, που αντιστοιχεί τοπογραφικά στη βασική έλικα, ενώ το μέγιστο εύρος μετατοπίσεως του βασικού υμένα από ήχους χαμηλής συχνότητας αντιστοιχεί στην κορυφαία έλικα του κοχλίου (Ballantyne and Groves, 1971). Μ' αυτόν τον τρόπο, αναλύεται το φάσμα των ήχων από τον κοχλία (**Εικόνα 4.8**).



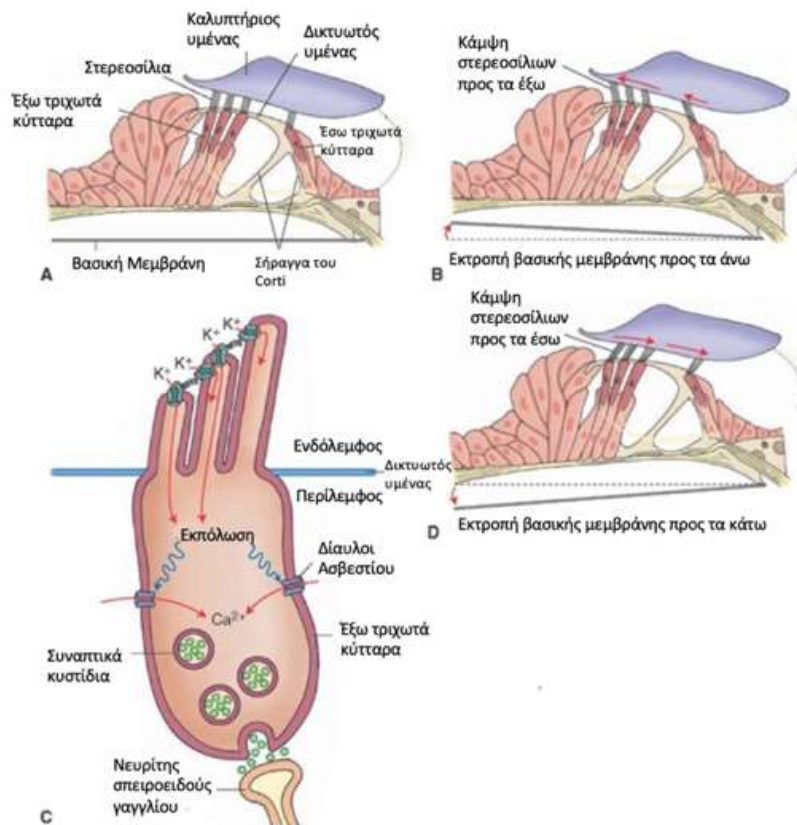
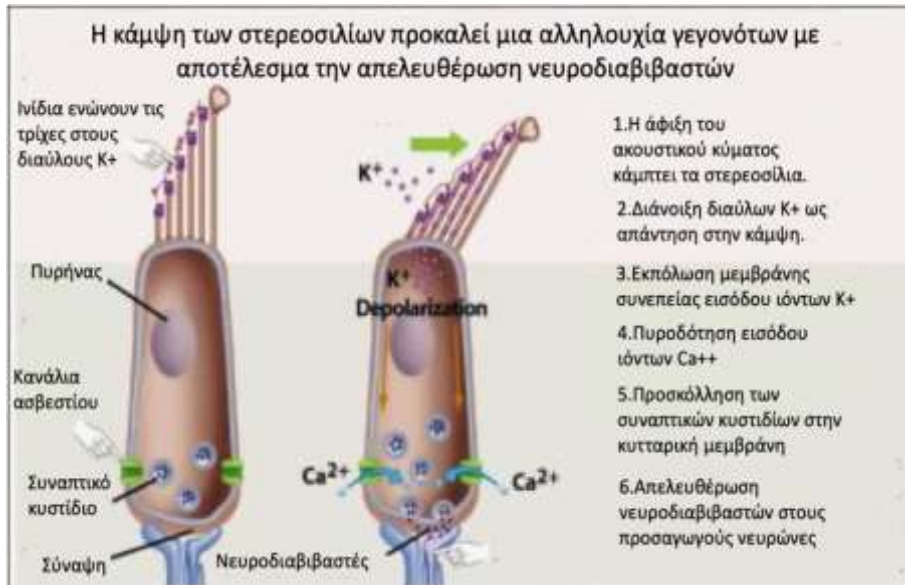
Εικόνα 4.8 Δόνηση της βασικής μεμβράνης του κοχλίου ανάλογα με τη συχνότητα του ήχου (Τονοτοπία)

(Πηγή: Biga et al., 2017)

Με τη δόνηση του βασικού υμένα του κοχλίου, δονείται συγχρόνως και το όργανο του Corti, οι τρίχες των τριχωτών κυττάρων κάμπτονται και διολισθαίνουν πάνω στον καλυπτήριο υμένα, με αποτέλεσμα τη μετατροπή του ηχητικού ερεθίσματος σε βιοηλεκτρικά δυναμικά (Eybalin and Altschuler, 1990) (Εικόνα 4.9). Οι νευρικές ακουστικές ίνες δεν αντιδρούν άμεσα στη μηχανική κάμψη των τριχών των τριχωτών κυττάρων. Για την έναρξη των νευρικών ώσεων στις ίνες του ακουστικού νεύρου είναι υπεύθυνα τα τριχωτά κύτταρα, που θεωρούνται ως βιολογικοί μετατροπείς και μετατρέπουν τη μηχανική ενέργεια σε ηλεκτρική ενέργεια. Η μεταβολή του ηλεκτρικού δυναμικού του κυττάρου έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών. Οι ηλεκτρικές αυτές ώσεις μεταβιβάζονται έτσι, μέσω της κεντρικής ακουστικής οδού, προς τον ακουστικό φλοιό, όπου θα γίνει η αντίληψη του ήχου σαν αίσθημα πλέον της ακοής (Eybalin and Altschuler, 1990).

Το σώμα των τριχωτών κυττάρων διαβρέχεται από την κορτικόλεμφο, που έχει παρόμοια σύσταση με την περίλεμφο, ενώ οι τρίχες διαμέσου του δικτυωτού υμένα εισέρχονται στη μέση κλίμακα και περιβάλλονται από την ενδόλεμφο (Gitter et al., 1992). Η συγκέντρωση ιόντων στην περίλεμφο και την ενδόλεμφο είναι διαφορετική. Στην περίλεμφο υπάρχει υψηλή συγκέντρωση ιόντων Na^+ και χαμηλή συγκέντρωση ιόντων K^+ , ενώ στην ενδόλεμφο ισχύει το αντίθετο. Μια ιοντική αντλία διατηρεί σταθερή την ισορροπία των ιόντων κατά μήκος της κυτταρικής μεμβράνης, έτσι ώστε το δυναμικό στο κατώτερο μέρος του κυττάρου σε κατάσταση ηρεμίας να είναι πάντα αρνητικό (δυναμικό ηρεμίας) (Gitter et al., 1992).

Η κάμψη των τριχών προς την αγγειώδη ταινία έχει ως αποτέλεσμα τη διάνοιξη των διαύλων που βρίσκονται στην κορυφή των τριχών διαμέσου των οποίων διέρχονται ιόντα K^+ . Η εισροή των θετικών ιόντων K^+ προκαλεί εκπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης στο ανώτερο τμήμα της και το δημιουργούμενο κύμα δυναμικού διαχέεται ταχέως στη βάση του τριχωτού κυττάρου, όπου υπάρχουν διάυλοι Ca^+ (Crawford et al., 1991). Κατά την διάρκεια της εκπόλωσης, οι διάυλοι αυτοί ανοίγουν και τα ιόντα Ca^+ εισέρχονται επίσης στη βάση του τριχωτού κυττάρου. Τα ιόντα K^+ επηρεάζουν τα προσυναπτικά κυστίδια που απελευθερώνουν το περιεχόμενό τους στον συναπτικό χώρο μεταξύ της κυτταρικής μεμβράνης και των δενδριτών των κεντρομόλων ακουστικών ιών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την πυροδότηση των κεντρικών ιών και τη δημιουργία νευρικών ώσεων που μεταφέρονται μέσω της ακουστικής οδού στον ακουστικό φλοιό (Crawford et al., 1991).



Εικόνα 4.9 Μηχανισμός διέγερσης τριχωτών κυττάρων

(Πηγή: Carlson, 2019)

Η κίνηση των τριχών μακριά από την αγγειώδη ταινία κλείνει τους διαύλους για τα ιόντα K^+ και οδηγεί σε υπερπόλωση των τριχωτών κυττάρων. Η υπερπόλωση των κυττάρων

έχει ως αποτέλεσμα το κλείσιμο των διαύλων ασβεστίου και έτσι αναστέλλεται η έναρξη της διαδικασίας για τον ερεθισμό των ινών του κοχλιακού νεύρου (Crawford et al., 1991).

Όταν τα τριχωτά κύτταρα βρίσκονται σε κατάσταση ηρεμίας, λίγοι διάυλοι ασβεστίου ανοίγουν και κλείνουν αυτόματα, με αποτέλεσμα την ύπαρξη νευροδιαβιβαστών σε ποσότητα αρκετή ώστε να δημιουργείται αυτόματα πυροδότηση των ακουστικών νευρώνων (Eybalin and Altschuler, 1990). Η μεταβολή του ηλεκτρικού δυναμικού του κυττάρου έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών. Οι ηλεκτρικές αυτές ώσεις μεταβιβάζονται έτσι, μέσω της κεντρικής ακουστικής, προς τον ακουστικό φλοιό, όπου θα γίνει η αντίληψη του ήχου σαν αισθήματος πλέον ακοής (Eybalin and Altschuler, 1990).

Το γλουταμινικό οξύ πιστεύεται ότι είναι ο νευροδιαβιβαστής που χρησιμοποιείται στις προσαγωγές συνάψεις στα έσω τριχωτά κύτταρα (Eybalin and Altschuler, 1990). Η ακετυλοχολίνη και το GABA (γ-αμινοβουτυρικό οξύ) είναι οι κύριοι απαγωγί νευροδιαβιβαστές. Ο ανωτέρω τύπος νεύρωσης, σύμφωνα με τον οποίο τα έσω τριχωτά κύτταρα συνδέονται κατά κύριο λόγο με προσαγωγές ίνες ενώ τα έξω τριχωτά κύτταρα με απαγωγές ίνες, ενίσχυσε την υπόθεση ότι τα έσω τριχωτά κύτταρα είναι οι κύριοι ακουστικοί υποδοχείς, ενώ τα έξω τριχωτά κύτταρα παρέχουν τη λεγόμενη λεπτή ρύθμιση της ακουστικής λειτουργίας (Eybalin and Altschuler, 1990).

Ο τρόπος αυτός μεταβιβάσεων των ηχητικών κυμάτων στο έσω ους καλείται «αγωγή δια του αέρος» (Ballantyne and Groves, 1971). Εκτός αυτού του μηχανισμού, υπάρχει κι εκείνος ο οποίος καλείται «αγωγή δια των οστών». Κατά τον τρόπο αυτό, τα ηχητικά κύματα που προσκρούουν επί του κρανίου, θέτουν τα οστά του κρανίου σε δόνηση και οι δονήσεις αυτές μεταβιβάζονται στο έσω ους, όπου θέτουν σε κίνηση τα υγρά της λέμφου κατά τον ίδιο τρόπο που γίνεται η κίνηση της λέμφου μέσω της αγωγής δια του αέρος (Ballantyne and Groves, 1971).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΕΜΒΟΕΣ

5.1 Τι είναι οι εμβοές

Εμβοή (ή αλλιώς βουητό) χαρακτηρίζεται η αντίληψη ήχου στα ώτα ή το κεφάλι, ενώ απουσιάζει εξωτερικό ηχητικό ερέθισμα (Jastreboff, 1990). Στην αγγλική βιβλιογραφία χρησιμοποιείται ο όρος tinnitus, ο οποίος έχει ρίζα τη λατινική λέξη «tinnire» που σημαίνει κουδονίζω, υιοθετώντας μια απ' τις περιγραφές των ασθενών για τους ήχους που αντιλαμβάνονται.

Η ετερογένεια των εμβοών καθιστά δύσκολη την ταξινόμηση τους. Η ταξινόμηση τους μπορεί να βασίζεται στο είδος του ήχου, στη διάρκεια τους, στο αν είναι αντιληπτές ή όχι από τον εξεταστή ή αν αναγνωρίζεται ή όχι κάποια υποκείμενη αιτία (Esmaili and Renton, 2018). Στον παρακάτω πίνακα περιγράφονται ορισμένες από αυτές τις ταξινομήσεις (Πίνακας 5.1).

Συχνότερες εμβοές είναι οι υποκειμενικές, οι οποίες μπορούν να διακριθούν σε δευτεροπαθείς ή πρωτοπαθείς (ιδιοπαθείς), ανάλογα με το αν υπάρχει υποκείμενη αιτία ή όχι (Tunkel et al., 2014). Οι πρωτοπαθείς ή ιδιοπαθείς εμβοές αναφέρονται στις εμβοές όπου δεν υπάρχει κάποια υποκείμενη αιτία και μπορούν ή όχι να συνοδεύονται από συμμετρική νευροαισθητήρια βαρηκοΐα (Tunkel et al., 2014).

Πίνακας 5.1 Ταξινόμηση των εμβοών (Πηγή: Esmaili and Renton, 2018)

Είδη εμβοών	Ορισμός
Υποκειμενικές	Είναι ακουστές μόνο από τον πάσχοντα.
Αντικειμενικές	Οι εμβοές είναι ακουστές απ' τον εξεταστή.
Σφύζουσες	Οι εμβοές περιγράφονται σαν ήχος σταθερών παλμών.
Μη σφύζουσες ή συνεχείς	Οι εμβοές δεν έρχονται με ώσεις αλλά είναι συνεχείς.
Πρωτοπαθείς ή ιδιοπαθείς	Εμβοές όπου δεν υπάρχει υποκείμενη αιτία και μπορούν ή όχι να συνοδεύονται από συμμετρική νευροαισθητήρια βαρηκοΐα.
Δευτεροπαθείς	Εμβοές όπου υπάρχει υποκείμενη αιτία
Οξείες ή πρόσφατης έναρξης	Διάρκεια < 6 μήνες
Χρόνιες	Διάρκεια > 6 μήνες

5.2 Επιδημιολογία των εμβοών

Η επίπτωση των εμβοών προσδιορίζεται περίπου στο 10-15% του ενήλικου πληθυσμού των Ηνωμένων Πολιτειών όπως προκύπτει από διάφορες επιδημιολογικές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί (Adams et al., 1999, Kochkin et al., 2011, Nondahl et al., 2011, Shargorodsky et al., 2010). Σε μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε διαφορετικούς πληθυσμούς βρέθηκε σχετικά παρόμοια επίπτωση από 4,6% έως 30% (Jalessi et al., 2013, Quaranta et al., 1996, Sindhusake et al., 2003, Park and Moon, 2014, Khedr et al., 2010).

Η επίπτωση φαίνεται να αυξάνεται με την ηλικία (Baguley et al. 2013). Η επίδραση του φύλου ποικίλλει στις διάφορες μελέτες. Υπάρχουν μελέτες που αναδεικνύουν μεγαλύτερη επίπτωση στις γυναίκες (Leske, 1981; Coles, 1984; Nondahl et al., 2007) και μεγαλύτερη ψυχολογική επιβάρυνση λόγω των εμβοών συγκριτικά με τους άντρες (Seydel et al, 2013). Σε άλλη μελέτη παρατηρήθηκε ότι οι εμβοές ήταν συχνότερες στις γυναίκες ηλικίας κάτω από 40 ετών, ενώ στις ηλικίες μεταξύ 40-70 ετών ήταν συχνότερες στους άντρες (Axelsson, 1999).

5.3 Επίδραση των εμβοών στην ποιότητα ζωής

Οι εμβοές φαίνεται να επηρεάζουν δυσμενώς την ποιότητα ζωής των πασχόντων (Zarenoe R and Ledin T, 2014). Οι γυναίκες φαίνεται να επηρεάζονται περισσότερο από τους άντρες. Συναισθηματικές διαταραχές όπως κατάθλιψη και άγχος καθώς και αϋπνία συνυπάρχουν σε μεγάλο ποσοστό με τις εμβοές. Η επίδραση των εμβοών στην ποιότητα ζωής έχει μεγάλο εύρος, από ελάχιστη ενόχληση μέχρι και σοβαρή διαταραχή της καθημερινότητας του ασθενούς (Baguley et al., 2013). Οι γυναίκες φαίνεται να έχουν μεγαλύτερη ψυχολογική επιβάρυνση λόγω των εμβοών συγκριτικά με τους άντρες (Seydel et al, 2013). Μια μεγάλη μελέτη, με πληθυσμό 2800 ατόμων, κατέγραψε σαφείς συσχετίσεις μεταξύ των εμβοών και μειωμένης ποιότητας ζωής σε ανθρώπους μεγαλύτερης ηλικίας (Nondahl et al., 2007).

5.4 Αιτιολογία των εμβοών

Η αιτιολογία των εμβοών συχνά παραμένει άγνωστη (πρωτοπαθείς ή ιδιοπαθείς εμβοές) και οι θεραπευτικές προσεγγίσεις κατευθύνονται στο να βοηθήσουν τους πάσχοντες να τις διαχειριστούν παρά να αντιμετωπιστεί η αιτία τους (Cima et al., 2019). Ωστόσο, οι εμβοές μπορεί να αποτελέσουν σύμπτωμα (δευτεροπαθείς εμβοές), καθώς η εμφάνισή τους έχει συνδεθεί με διάφορες καταστάσεις ή νοσολογικές οντότητες (**Πίνακας 5.2**) (Cima et al., 2019).

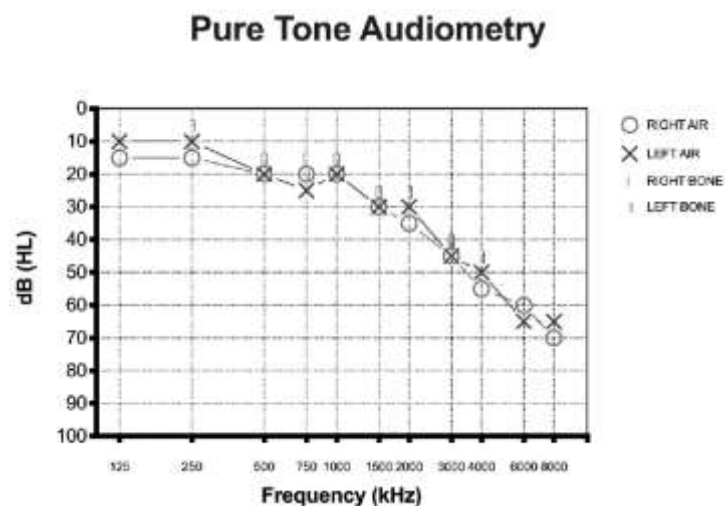
Πίνακας 5.2 Καταστάσεις που συνδέονται με τις εμβοές

Σημείο προσβολής	Κατάσταση που συνδέεται με τις εμβοές
Έξω ους	Βύσμα κυψελίδος Εξωτερική ωτίτιδα Εξοστώσεις έξω ακουστικού πόρου
Μέσο ους	Οξεία μέση ωτίτιδα Ωτοσκλήρυνση
Έσω ους	Πρεσβυακουσία Απώλεια ακοής λόγω θορύβου Νόσος Meniere Αιφνίδια απώλεια ακοής Ακουστικό νευρίωμα Αυτοάνοσα νοσήματα αιθουσοκοχλιακού συστήματος Λαβυρινθίτιδα
Μυικό σύστημα	Μυόκλονος των μυών του μέσου ωτός, της υπερώας ή του φάρυγγα Δυσλειτουργία ευσταχιανής σάλπιγγας
Καρδιαγγειακό σύστημα	Στένωση αορτικής βαλβίδας Παρααγγλίωμα σφαγίτιδος
Φαρμακολογικά	Διακοπή βενζοδιαζεπινών Λήψη ωτοτοξικών φαρμάκων (ακετυλοσαλικυλικό οξύ, κυτταροστατικά, αμινογλυκοσίδες, NSAIDs)
Μεταβολικά	Υπερθυρεοειδισμός Διαβήτης Υπέρταση
Αιματολογικά	Αναιμία
Αρθρώσεις	Δυσλειτουργία κροταφογοναθικής άρθρωσης Κάκωση αυχένα
Ψυχολογικές/Ψυχιατρικές διαταραχές	Κατάθλιψη Αγχώδεις διαταραχές Ψυχολογικό τραύμα
Τραύμα	Τραυματισμός εγκεφάλου Νευροχειρουργικές επεμβάσεις

	Κάταγμα κροταφικού οστού
Νευρολογικά νοσήματα	Σκλήρυνση κατά πλάκας Ενδοκράνια υπέρταση Αγγειακές ανατομικές ανωμαλίες εγκεφάλου

5.5 Πρεσβυακουσία

Η πρεσβυακουσία αποτελεί τη συνηθέστερη νοσολογική οντότητα με την οποία συνυπάρχουν οι εμβοές, καθώς και τη συνηθέστερη αιτία νευροαισθητήριας βαρηκοΐας στους ηλικιωμένους. Το ένα τρίτο των ενηλίκων πάνω απ' τα 65 έτη πάσχουν από απώλεια ακοής (Loughrey et al, 2018). Η βαρηκοΐα αυτή έχει δυσμενή επίπτωση στη φυσική και νοητική υγεία, τη νόηση, τη λεκτική επικοινωνία και συνεπώς στην ποιότητα ζωής των πασχόντων (Chen et al., 2015; Cherko et al., 2016; Deal et al., 2017a, b). Ως πρεσβυακουσία ορίζεται η προοδευτική συμμετρική νευροαισθητήρια βαρηκοΐα που σχετίζεται με την αύξηση της ηλικίας, εφόσον έχουν αποκλεισθεί άλλοι παράγοντες, όπως έκθεση σε θόρυβο ή σε ωτοτοξικούς παράγοντες, ωτολογική νόσος όπως ωτοσκλήρυνση, καθώς και παθολογικές καταστάσεις όπως διαβήτης (Ralli et al., 2019). Η βαρηκοΐα της πρεσβυακουσίας συνδέεται με εκφυλιστικές αλλοιώσεις του κοχλίου. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την πτώση της ακοής στις υψηλές συχνότητες (**Εικόνα 5.1**). Η πρεσβυακουσία μπορεί να ταξινομηθεί σε έξι τύπους: αισθητηριακή, νευρική, αγγειώδους ταινίας, κοχλιακή, μικτή και ενδιάμεση. Κατά τη γήρανση, μπορεί να συνυπάρχουν διάφοροι τύποι πρεσβυακουσίας (Howarth and Shone, 2006).



Εικόνα 5.1 Τυπική εικόνα ακοογράμματος σε πρεσβυακουσία

(Πηγή: Ralli et al., 2019)

5.6 Παθοφυσιολογία των εμβοών

5.6.1 Εισαγωγή

Οι πιθανοί μηχανισμοί δημιουργίας των εμβοών έχουν διερευνηθεί σε ζωικά μοντέλα, καθώς η έρευνα σε ανθρώπους δεν είναι εφικτή λόγω του ότι το σημείο βλάβης παραμένει άγνωστο και δε μπορεί να ληφθούν βιοψίες απ' το έσω ους. Οι έρευνες στηρίζονται στη μελέτη γνωστών παθήσεων που συνοδεύονται από εμβοές όπως πρεσβυακουσία, ωτοτοξικότητα και έκθεση στο θόρυβο. Επίκεντρο των ερευνών αποτελεί η κατανόηση των μεταβολών που μπορεί να συμβαίνουν σε μοριακό, κυτταρικό και νευρικό επίπεδο και που μπορούν να εξηγήσουν την ύπαρξη των εμβοών.

Ο Zenner (1998) υποστήριξε ότι οι εμβοές μπορεί να προέρχονται από οποιαδήποτε δομή της ακουστικής οδού, απ' το ους ως και την κεντρική ακουστική οδό. Σήμερα, έχει εδραιωθεί η άποψη ότι οι εμβοές είναι μία αλληλεπίδραση μεταξύ περιφερικών και κεντρικών μηχανισμών εντός της ακουστικής οδού (Noreña and Farley, 2013). Ως εκλυτικοί παράγοντες θεωρούνται η έκθεση σε θόρυβο, η απώλεια ακοής και το συναισθηματικό στρες (Shore et al., 2007). Οι εμβοές θεωρούνται παθολογία της νευρικής πλαστικότητας, μοριακής και συστηματικής προέλευσης (Guitton, 2012; Satar et al., 2003). Η μοριακή προέλευση, που εντοπίζεται στον κοχλία, σχετίζεται με την αρχική δημιουργία των εμβοών, ενώ η συστηματική προέλευση, που εντοπίζεται κεντρικά, σχετίζεται με τη μακροχρόνια συντήρηση των εμβοών (Guitton, 2012; Satar et al., 2003).

Δυσλειτουργίες των έσω και των έξω τριχωτών κυττάρων ή του ακουστικού νεύρου, αύξηση της αυτόματης νευρικής δραστηριότητας, μεταβολές του χρονικού προτύπου των νευρικών ώσεων ή μεταβολές της τονοτοπικής οργάνωσης των κεντρικών δομών αποτελούν πιθανούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στην παθογένεση των εμβοών.

5.6.2 Κοχλιακά μοντέλα δημιουργίας των εμβοών

Ανέκαθεν ο κοχλίας είχε θεωρηθεί ο τόπος δημιουργίας των εμβοών, καθώς σχεδόν όλες οι ωτολογικές παθήσεις συνοδεύονται από αυτές και λόγω του ότι ο κοχλίας αποτελεί το όργανο λήψης και παραγωγής ήχου.

Στον υγιή κοχλία είναι δυνατή η καταγραφή χαμηλής έντασης ήχων (αυτόματες ωτοακουστικές εκπομπές) απουσία κάποιου ηχητικού ερεθίσματος, σε ποσοστό 38-60% των ατόμων που έχουν φυσιολογική ακοή (Gold et al., 1948). Η ανακάλυψη αυτή οδήγησε στη θεωρία ότι οι εκπομπές αυτές μπορεί να αποτελέσουν αντικειμενική καταγραφή των υποκειμενικών εμβοών. Οι μετέπειτα όμως έρευνες δε μπόρεσαν να ενισχύσουν αυτή την άποψη. Αν και σε μεγάλο ποσοστό ανθρώπων καταγράφονται αυτές οι εκπομπές, σπάνια γίνονται αντιληπτές (Wilson and Sutton, 1981). Σε ασθενείς με εμβοές, στους οποίους καταγράφηκαν αυτόματες εκπομπές, δε φάνηκε να υπάρχει συσχέτιση των συχνοτήτων των

εκπομπών με αυτή των εμβοών (Penner M. J. and Burns E. M., 1987). Επίσης, η χορήγηση σαλικυλικού καταστέλλει την ύπαρξη των αυτόματων ωτοακουστικών εκπομπών, γεγονός που δεν επιβεβαιώνεται για τις εμβοές (Penner and Coles, 1992).

Μια δυσλειτουργία των έσω ή έξω τριχωτών κυττάρων μπορεί να αποτελέσει αιτία γένεσης των εμβοών εντός του κοχλία. Ένα ακουστικό τραύμα, μια διαταραχή της αγγειακής τροφοδοσίας τους ή η ωτοτοξικότητα οδηγεί σε αποκόλληση των κορυφαίων συνδέσεων και τυχαία κίνηση των στερεοοκροστών των έσω τριχωτών κυττάρων (Stypulkowski, 1990). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μεταβάλλεται η διαπερατότητα της κυτταρικής τους μεμβράνης, με υπέρμετρη απελευθέρωση γλουταμινικού οξέος εντός της συναπτικής σχισμής και αυξημένη κεντρομόλο νευρική δραστηριότητα. Η χρόνια αυτή αυτόματη εκπόλωση μπορεί να δημιουργεί την αίσθηση των εμβοών (Zenner and Ernst, 1993). Στην περίπτωση της δυσλειτουργίας των έξω τριχωτών κυττάρων, διαταράσσεται η λειτουργική ισορροπία των έξω και έσω τριχωτών κυττάρων (Jastreboff, 1990). Αυτό οδηγεί στην ελάττωση του επιπέδου της κοχλιακής διέγερσης και κατά συνέπεια της νευρικής διέγερσης του ακουστικού νεύρου. Το τελικό αποτέλεσμα είναι να καταργείται η ανασταλτική δράση του ελαιοκοχλιακού δεματίου και έτσι να υπάρχει υπερδιέγερση των νευρώνων του στο κεντρικό νευρικό σύστημα (Noreña and Eggermont, 2003). Η βλάβη αυτή διαφαίνεται απ' το ότι η συχνότητα των εμβοών σε ασθενείς με νευροαισθητήρια βαρηκοΐα συμπίπτει με τη συχνότητα εμφάνισης της βαρηκοΐας και απ' το ότι οι τιμές των ωτοακουστικών εκπομπών στους ασθενείς με εμβοές είναι μειωμένες (Paglialonga et al., 2011).

5.6.3 Δυσλειτουργία της φυγόκεντρης ακουστικής οδού και συγκεκριμένα του ελαιοκοχλιακού δεματίου.

Το έσω ελαιοκοχλιακό δεμάτιο δρα ανασταλτικά στη λειτουργία των έξω τριχωτών κυττάρων προστατεύοντας τα από ακουστικούς τραυματισμούς. Δυσλειτουργία του έσω ελαιοκοχλιακού δεματίου οδηγεί σε απώλεια της αναστολής αυτής και αυξημένη νευρική δραστηριότητα. Οι Maison et al. (2002), μετά από χειρουργική εκτομή του ελαιοκοχλιακού δεματίου της ακουστικής οδού των πειραματόζωων, τα κατέστησαν πιο ευάλωτα στην ανάπτυξη εμβοών. Οι Veuille et al. (1992) μελέτησαν την πιθανή αυτή συσχέτιση μετρώντας την κατασταλτική δράση της χορήγησης ετερόπλευρου θορύβου στις παροδικές ωτοακουστικές εκπομπές σε άτομα με μονόπλευρες εμβοές. Η αναμενόμενη μικρότερη κατασταλτική δράση στο ούς με τις εμβοές δεν υποστηρίχθηκε πλήρως (Veuille et al., 1992).

5.6.4 Βιοχημικά μοντέλα

Βιοχημικές μεταβολές στο περιφερικό ακουστικό σύστημα έχουν προταθεί ως πιθανός μηχανισμός γένεσης των εμβοών, βασιζόμενοι στη νευροχημεία του κοχλία και στην κλινική παρατήρηση ότι οι πάσχοντες βιώνουν στρες, άγχος και ταραχή. Σημαντικός φαίνεται ο ρόλος του γλουταμινικού οξέος. Η υπερέκθεση σε θόρυβο οδηγεί σε υπέρμετρη

εξωκυττάρωση γλουταμινικού στη συναπτική σχισμή (Pujol, 1994). Αυτό προκαλεί υπερβολική διέγερση του κυττάρου και κατά συνέπεια εισροή ασβεστίου στα έσω τριχωτά κύτταρα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της ATP, η οποία αυξάνει τις ROS μεταξύ των συνάψεων των έσω τριχωτών κυττάρων και των νευρώνων των σπειροειδών γαγγλίων (Sahley et al., 2013). Η αύξηση των ROS οδηγεί σε διαδοχικά μεταβολικά γεγονότα τα οποία οδηγούν στον εκφυλισμό ή θάνατο των νευρώνων των σπειροειδών γαγγλίων, οδηγώντας σε εμβοές (Parsons and Raymond, 2014). Επίσης, η χορήγηση συναγωνιστών ντοπαμίνης ασκεί προστατευτική δράση στην τοξικότητα από γλουταμινικό, προφυλάσσοντας από εμβοές που προκαλούνται από θόρυβο. Οι δυνορφίνες, ενδογενή οπιοειδή που σχετίζονται με το στρες, απελευθερώνονται εντός της συναπτικής σχισμής και επάγουν την υπερευαισθησία των υποδόχμων του γλουταμινικού (NMDA), αυξάνοντας την πιθανότητα για ανάπτυξη εμβοών. Επίσης, οι υποδοχείς αυτοί δεσμεύονται απ' την καραβορίνη και το διαιθυλικό εστέρα του γλουταμινικού οξέος, ουσίες με προστατευτική δράση έναντι της ωτοτοξικότητας και των εμβοών στον άνθρωπο (Denk et al., 1997; Ehrenberger and Felix, 1995).

5.7 Διαγνωστική διερεύνηση των εμβοών

Η διαγνωστική προσέγγιση των εμβοών περιλαμβάνει τη λήψη ενός λεπτομερούς ιστορικού του ασθενούς. Ο ασθενής ερωτάται για το είδος των εμβοών, τη διάρκεια τους καθώς και για συνοδά συμπτώματα, όπως και για το ιατρικό του ιστορικό. Η κλινική εξέταση περιλαμβάνει τον ωτοσκοπικό έλεγχο υπό τη χρήση μικροσκοπίου και τις δοκιμασίες με τονοδότες. Επίσης, περιλαμβάνει τον ακοολογικό έλεγχο (τονική και ομιλητική ακοομετρία) και κατά περίπτωση πραγματοποιείται ηλεκτροφυσιολογικός ή ακτινολογικός έλεγχος, μαγνητική τομογραφία, τρίπλεξ αγγείων τραχήλου ή αξονική αγγειογραφία ή και εργαστηριακές εξετάσεις αίματος (Crummer and Hassan, 2004).

5.8 Ακοολογικές δοκιμασίες

Η ακοομετρία περιλαμβάνει συμβατική τονική ακοομετρία και ακοομετρία υψηλών συχνοτήτων (Katz, 2015). Η ακοομετρία αποτελεί την κύρια δοκιμασία καθορισμού του ουδού ακοής, όπου καθορίζεται ο βαθμός, ο τύπος και η μορφή της βαρηκοΐας. Πρόκειται για μια υποκειμενική, συμπεριφορική μέτρηση του ουδού της ακοής, η οποία εξαρτάται από την αντίδραση του συμμετέχοντος σε ερέθισμα καθαρού τόνου. Ο ειδικός ακοολογικός έλεγχος των εμβοών περιλαμβάνει ψυχοακουστικές δοκιμασίες, όπου προσδιορίζονται η συχνότητα, η ένταση και το ελάχιστο επίπεδο ηχοκάλυψης (MML) των εμβοών (Henry and Meikle, 2000).

5.9 Θεραπεία των εμβοών

Για τη σωστή αντιμετώπιση των ιδιοπαθών εμβοών, θα ήταν απαραίτητη η γνώση των ακριβών μηχανισμών και του τόπου παραγωγής αυτών. Αυτό θα είχε σαν αποτέλεσμα η αγωγή να κατευθύνεται προς την αιτία, παρά προς τις αρνητικές συνέπειες αυτών. Υπάρχει

όμως η εγγενής δυσκολία στην πραγματοποίηση επιδημιολογικών μελετών όσον αφορά την αντιμετώπιση των εμβοών λόγω του υποκειμενικού τους χαρακτήρα. Λόγω αυτού του στοιχείου, οι διάφορες μέθοδοι αξιολόγησης των εμβοών βασίζονται στην αυτοαξιολόγηση των ίδιων των ασθενών. Παρά λοιπόν την έλλειψη συγκεκριμένων αιτιών στην βιβλιογραφία, έχουν ερευνηθεί διάφορες θεραπευτικές μέθοδοι. Ο Noble (2008) αναγνώρισε τέσσερις μεγάλες κατηγορίες μεθόδων αντιμετώπισης των εμβοών: τη φαρμακευτική, την ακουστική, τη ψυχολογική και συνδυασμό των παραπάνω. Σε αυτές, θα μπορούσαν να προστεθούν ιατρικές παρεμβάσεις και χειρουργικές επεμβάσεις καθώς και εναλλακτικές αγωγές. Μια πληθώρα φαρμακευτικών ουσιών διαφόρων κατηγοριών έχουν εξεταστεί στη βιβλιογραφία (Langguth et al., 2009). Σε αυτές περιλαμβάνονται τα αγχολυτικά, τα αντικαταθλιπτικά, τα αντιεπιληπτικά, τα αντιϊσταμινικά, τα αναισθητικά (όπως η λιδοκαΐνη), τα αντιγλουταμινεργικά, τα ντοπαμινεργικά αλλά και αντιντοπαμινεργικά, οι προσταγλαδίνες, η μισοπροστόλη, η ατορβαστατίνη, τα αγγειοδιασταλτικά (όπως η φλουραναζίνη και η β-ιστίνη), τα διουρητικά της αγκύλης (όπως η φουροσεμίδη) και η σκοπολαμίνη. Επίσης, έχει χρησιμοποιηθεί με αμφιλεγόμενα αποτελέσματα η συστηματική και ενδοτυμπανική χορήγηση κορτιζόνης. Παρόλο που η αποτελεσματικότητά τους στην ελάττωση της επίδρασης των εμβοών δεν έχει αποδειχθεί, κάποια φάρμακα από τα παραπάνω (κυρίως τα αγγειοδιασταλτικά) χρησιμοποιούνται στην καθημερινή κλινική πρακτική.

Εκτός των φαρμακευτικών ουσιών, στο στόχο των ερευνητών έχουν βρεθεί βότανα (όπως το *Gingko Biloba* και σπιρουλίνα), μέταλλα (όπως ο ψευδάργυρος, το σελήνιο και το μαγνήσιο), η μελατονίνη καθώς και πληθώρα αντιοξειδωτικών ουσιών (όπως βιταμίνες C, E, β-καροτένιο, ρεσβερατρόλη, συνένζυμο Q και α-λιποϊκό οξύ). Η αποτελεσματικότητα των ουσιών αυτών δεν έχει αποδειχθεί (Cima et al., 2019).

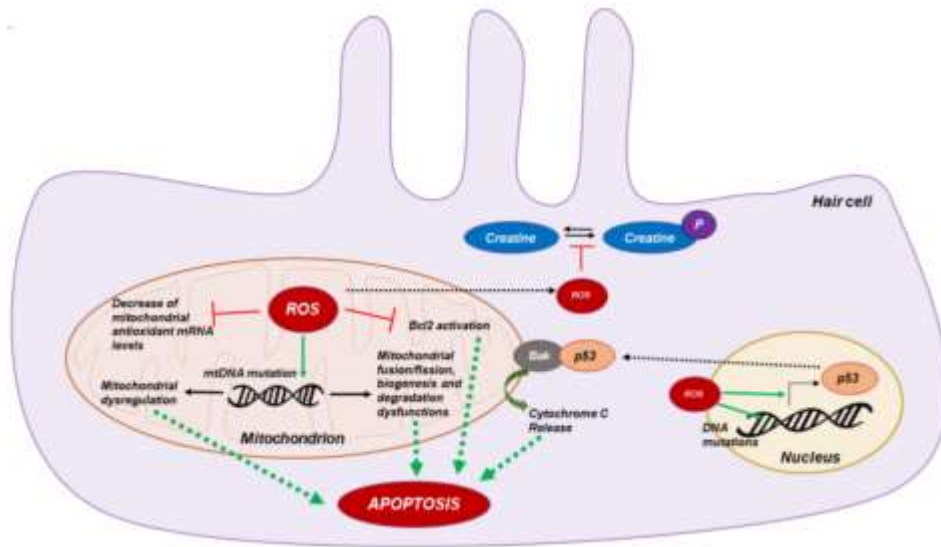
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΣΤΟΝ ΚΟΧΛΙΑ ΚΑΙ ΣΤΙΣ ΕΜΒΟΕΣ

6.1 Εισαγωγή

Ο κοχλίας είναι εξαιρετικά ευάλωτος στο οξειδωτικό στρες εξαιτίας των υψηλών μεταβολικών απαιτήσεων των τριχωτών κυττάρων λόγω της απόκρισης τους στη διέγερση του ήχου. Το οξειδωτικό στρες είναι γνωστό ότι δημιουργείται στα τριχωτά κύτταρα μετά από την έκθεση τους σε ωτοτοξικά φάρμακα (σισπλατίνη, γενταμυκίνη), στον θόρυβο αλλά και λόγω της γήρανσης (Poitrier et al., 2010; Ciorba et al., 2013; Gonzalez-Gonzalez, 2017). Οι εμβοές και/ή η απώλεια ακοής αποτελούν συχνό σύμπτωμα των περιπτώσεων αυτών. Οι μηχανισμοί με τους οποίους το οξειδωτικό στρες επηρεάζει τα τριχωτά κύτταρα έχουν μελετηθεί σε ζωικά μοντέλα σε συνθήκες γήρανσης, τραύματος θορύβου και ωτοτοξικότητας (Ciorba et al., 2013; Hu and Henderson 2014).

6.2 Επίδραση των ROS στον κοχλία

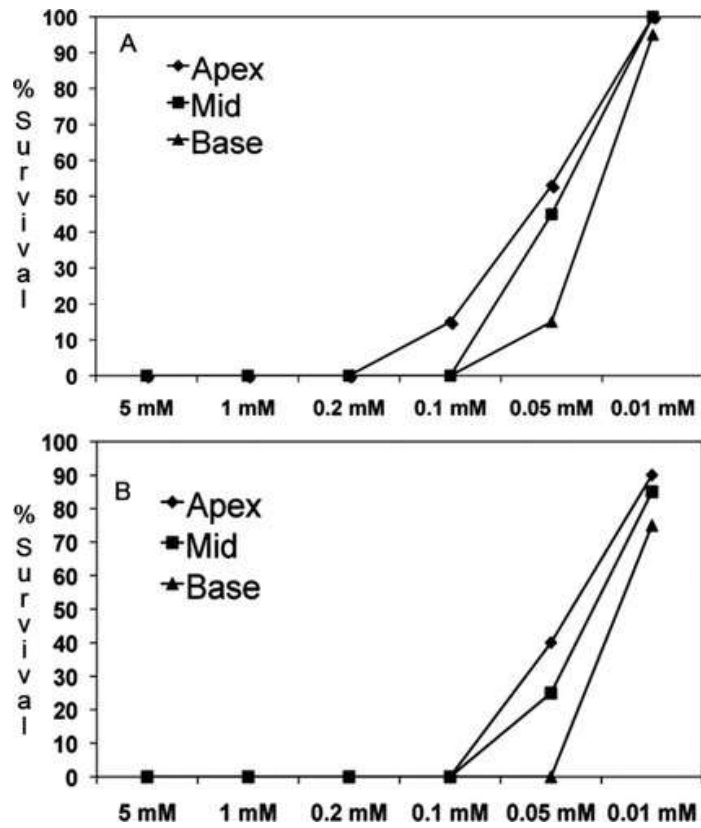
Το φαινόμενο της επίδρασης των ROS στα τριχωτά κύτταρα, έχει μελετηθεί καλά στο πειραματικό μοντέλο της έκθεσης στο αντιβιοτικό γενταμυκίνη (Ciorba et al., 2013). Σε αυτή την περίπτωση, η αυξημένη συγκέντρωση ενδοκυττάρων ROS προκύπτει απ' την ενεργοποίηση της μεταβολικής πορείας βιοσύνθεσης του μονοξειδίου του αζώτου στους ιστούς του εσωτερικού αυτιού. Στη συνέχεια, ξεκινάει ο μηχανισμός του κυτταρικού θανάτου (απόπτωσης) και ενεργοποιούνται οι G πρωτεΐνες (Ras και Rac). Τα γεγονότα αυτά πυροδοτούν την ενεργοποίηση των πρωτεϊνικών κινασών που συνδέονται με το στρες, όπως η πρωτεϊνική κινάση ενεργοποιούμενη από μιτογόνα (MAPK) και η κινάση c-Jun N-terminal (JNK) (Ciorba et al., 2013; Sha et al., 2009). Οι ενδοκυτταρικές συγκεντρώσεις ασβεστίου αυξάνονται και ακολουθεί η απελευθέρωση του κυτοχρώματος c απ' τα μιτοχόνδρια. Το κυτόχρωμα c προκαλεί βλάβη στη μιτοχονδριακή μεμβράνη κυρίως λόγω του σχηματισμού πόρων και ενεργοποιεί την οδό της κασπάσης, προάγοντας τον αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο (Ciorba et al., 2013; Sha et al., 2009). Επίσης, το οξειδωτικό στρες αναστέλλει την αντι-αποπτωτική πρωτεΐνη bcl-2, τη δράση της κρεατινικής κινάσης και ενεργοποιεί τον προ-αποπτωτικό πυρηνικό μεταγραφικό παράγοντα p53 (Gonzalez-Gonzalez, 2017). Ο παράγοντας p53 ενεργοποιείται απ' την οξειδωτική βλάβη του DNA και στη συνέχεια μετατοπίζεται στα μιτοχόνδρια, όπου συνδέεται άμεσα με την προ-αποπτωτική πρωτεΐνη Bak, απελευθερώνοντας το κυτόχρωμα c (Gonzalez-Gonzalez, 2017) (**Εικόνα 6.1**).



Εικόνα 6.1 Μοριακός μηχανισμός απόπτωσης στο τριχωτό κύτταρο
(Πηγή: Gonzalez-Gonzalez, 2017)

Λόγω των παραπάνω μηχανισμών, τα τριχωτά κύτταρα του εσωτερικού αυτιού παθαίνουν βλάβες και στη συνέχεια καταστρέφονται (Ciorba et al., 2013). Οι βλάβες και η απώλεια των τριχωτών κυττάρων μπορεί να οδηγήσει σε μείωση των περιφερικών διεργασιών του ακουστικού νεύρου και σταδιακό εκφυλισμό των νευρώνων του σπειροειδούς γαγγλίου (Poirrier et al., 2010).

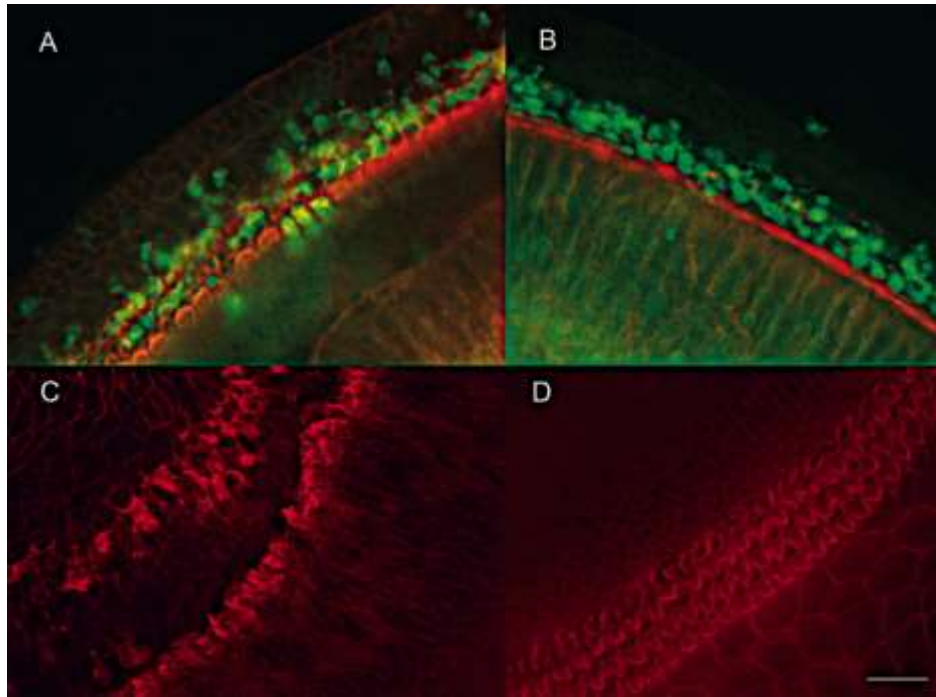
Εκτός απ' την απόπτωση, το οξειδωτικό στρες οδηγεί επίσης σε μιτοχονδριακή βλάβη, η οποία διαταράσσει τον μεταβολισμό των κυττάρων με αποτέλεσμα την αδυναμία παραγωγής ενέργειας και την επακόλουθη νέκρωση (Baker and Staecker, 2012). Μελέτη που χρησιμοποίησε ένα in vitro μοντέλο οξειδωτικού στρες κατέδειξε τον κεντρικό ρόλο της μιτοχονδριακής βλάβης των τριχωτών κυττάρων μετά από ήπια έκθεση σε ROS (Baker and Staecker, 2012). Στη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκαν καλλιέργειες οργάνου του Corti όπου διερευνήθηκε η αλληλεπίδραση χαμηλών δόσεων H_2O_2 με τα τριχωτά κύτταρα (Baker and Staecker, 2012). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ακόμα και χαμηλές δόσεις H_2O_2 προκάλεσαν απώλεια των τριχωτών κυττάρων, μεταλλάξεις του mtDNA στα τριχωτά κύτταρα, απώλεια του δυναμικού της μιτοχονδριακής μεμβράνης και αλλαγές στην έκφραση των μιτοχονδριακών γονιδίων (Baker and Staecker, 2012). Ωστόσο, όσο μεγαλύτερες ήταν οι δόσεις H_2O_2 , τόσο μικρότερο το ποσοστό επιβίωσης των τριχωτών κυττάρων (Baker and Staecker, 2012) (**Εικόνα 6.2**).



Εικόνα 6.2 Καμπύλη δόσης H₂O₂ και επιβίωση των έσω (A) και των έξω τριχωτών κυττάρων (B) της κορυφής, της μέσης και της βάσης του κοιλία, 5 ημέρες μετά την έκθεση σε H₂O₂

(Πηγή: Baker and Staecker, 2012)

Επίσης, τα τριχωτά κύτταρα που επιβίωσαν από την απόπτωση εμφάνισαν μόνιμη βλάβη στα μιτοχόνδρια, η οποία τα κατέστησε ευάλωτα σε επόμενη έκθεση σε ROS λόγω της μειωμένης σύνθεσης των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών (**Εικόνα 6.3**) (Baker and Staecker, 2012).



Εικόνα 6.3 Χρώση με φαλλοϊδίνη (κόκκινο χρώμα) και Caspatag (πράσινο χρώμα). Επίδραση της επανειλημμένης έκθεσης H_2O_2 στην επιβίωση των τριχωτών κυττάρων (κόκκινο χρώμα) (A, B, C) και την ενεργοποίηση της κασπάσης (πράσινο χρώμα) (A, B). Συγκριτικές καλλιέργειες ελέγχου όπου φαίνεται η κανονική μορφή των έσω και έξω τριχωτών κυττάρων (D).

(Πηγή: Baker and Staecker, 2012)

Σε πειραματικό μοντέλο έκθεσης σε θόρυβο, φάνηκε ότι το οξειδωτικό στρες μπορεί επίσης να προκαλέσει δυσλειτουργία της κοχλιακής μικροκυκλοφορίας προκαλώντας βλάβες στο τοίχωμα των αιμοφόρων αγγείων μέσω μηχανισμών απόπτωσης των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων της αγγειώδους ταινίας (Shi and Nuttall, 2003). Η ροή αίματος του πλευρικού τοιχώματος του κοχλία είναι κρίσιμη για τη διατήρηση του ενδοκοχλιακού δυναμικού, της μεταφοράς ιόντων και για τη ρύθμιση της ισορροπίας των υγρών της ενδόλεμφου (Shi and Nuttall, 2003).

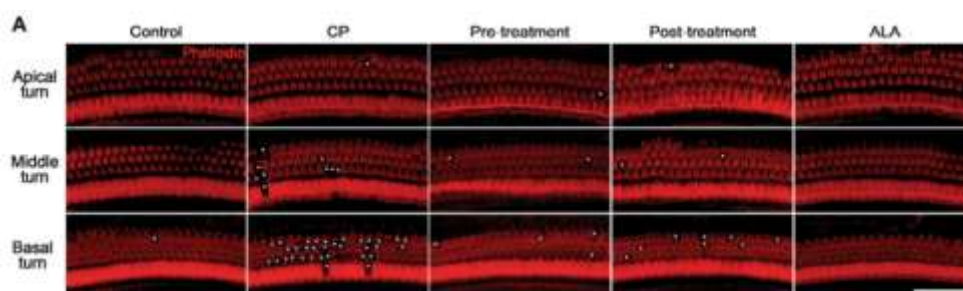
Έχει παρατηρηθεί πρόσφατα ότι τα κύτταρα του κοχλία δεν είναι το ίδιο ευάλωτα στον τραυματισμό που προκαλείται από τις ROS. Τα έξω τριχωτά κύτταρα (OHC), ειδικότερα εκείνα που βρίσκονται στη βάση του κοχλία φαίνεται να είναι πιο ευαίσθητα στη βλάβη των ROS συγκριτικά με τα κύτταρα που βρίσκονται στην κορυφή του κοχλία (Sha et al., 2009; Baker and Staecker, 2012). Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η γλουταθειόνη, το υπόστρωμα με το οποίο οι τρανσφεράσες της γλουταθειόνης εκκαθαρίζουν τις ROS, εκφράζεται περισσότερο στα τριχωτά κύτταρα της κορυφής και η οξειδάση NADPH

(NOX3), υπεύθυνη για την παραγωγή του υπεροξειδίου, εκφράζεται περισσότερο στα τριχωτά κύτταρα της βάσης του κοχλίου και τους νευρώνες του σπειροειδούς γάγγλιου (Sha et al., 2009). Επίσης, τα στηρικτικά κύτταρα και τα έσω τριχωτά κύτταρα (IHC) είναι περισσότερο ανθεκτικά συγκριτικά με τα αισθητήρια κύτταρα (Sha et al., 2009).

6.3 Ο ρόλος της χορήγησης αντιοξειδωτικών στον κοχλία

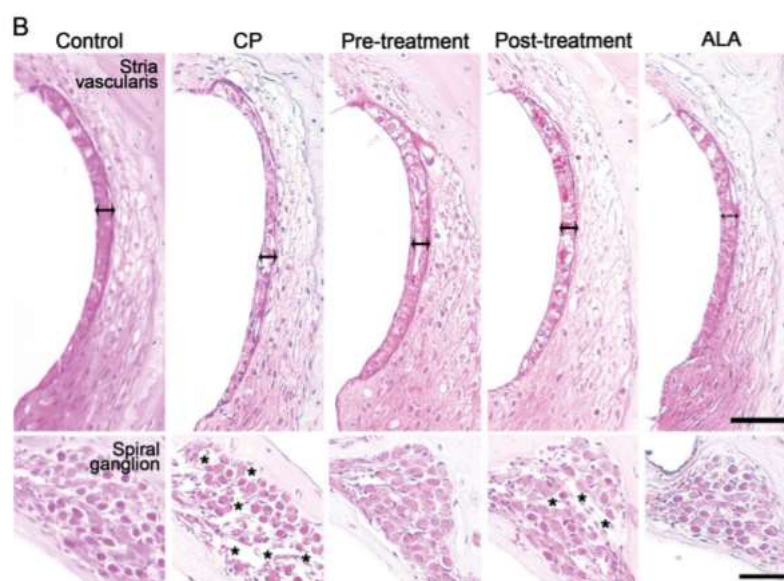
Οι εξωγενείς αντιοξειδωτικές ουσίες ασκούν προστατευτική δράση έναντι της βλάβης των κοχλιακών τριχωτών κυττάρων που προκαλείται από τις ROS. Η δράση των ουσιών αυτών έχει επαληθευτεί από πειράματα που χρησιμοποιούν ζωικά μοντέλα, δοκιμές in-vitro ή κυτταρικές σειρές του ακουστικού συστήματος σε περιπτώσεις ωτοτοξικότητας, γήρανσης ή έκθεσης σε θόρυβο. Μια πρόσφατη μελέτη που χρησιμοποίησε κυτταρική καλλιέργεια μοσχεύματος κοχλίου από ποντικούς έδειξε ότι η ρεσβερατρόλη, το DL- α -λιποϊκό οξύ και η α -τοκοφερόλη προστατεύσαν απ' την απώλεια τριχωτών κυττάρων που προκαλείται από τη γενταμυκίνη (Noack et al., 2017). Σε μελέτες που χρησιμοποίησαν κυτταρικές σειρές του ακουστικού συστήματος, η θεραπεία με D- α -τοκοφερόλη ή επικατεχίνη μείωσε την επαγόμενη από τη σισπλατίνη αύξηση των ROS και μείωσε την κυτταρική νέκρωση και απόπτωση (Kim et al., 2016; Lee et al., 2010).

Σε in vivo πειράματα με ζωικά μοντέλα, η θεραπεία ποντικών με βιταμίνες E ή C οδήγησε σε καλύτερη ακουστική ευαισθησία και λιγότερες μεταλλάξεις του mtDNA λόγω γήρανσης (Seidman, 2000). Επίσης, το ALA συνέβαλε στην προστασία των τριχωτών κυττάρων (Εικόνα 6.4) και των κυττάρων του σπειροειδούς γάγγλιου (Εικόνα 6.5) όταν χορηγήθηκε πριν αλλά και μετά την έκθεση ποντικών στον ωτοτοξικό παράγοντα σισπλατίνη (Kim et al., 2018).



Εικόνα 6.4 Χρώση με φαλλοϊδίνη (κόκκινο χρώμα) του οργάνου του Corti που περιλαμβάνει τα έσω και έξω τριχωτά κύτταρα. Επίδραση της χορήγησης ALA στην επιβίωση των τριχωτών κυττάρων πριν και μετά την έκθεση ποντικών στη σισπλατίνη (CP). Το κόκκινο χρώμα αντιστοιχεί στα τριχωτά κύτταρα και οι λευκοί αστερίσκοι στα κύτταρα που έχουν εκφυλιστεί.

(Πηγή: Kim et al., 2018)



Εικόνα 6.5 Ιστολογική ανάλυση με χρώση αιματοξυλίνης και ηωσίνης των κυττάρων της αγγειώδους ταινίας (πάνω) και του σπειροειδούς γαγγλίου (κάτω). Επίδραση της χορήγησης ALA στο πάχος της αγγειώδους ταινίας και στον αριθμό των κυττάρων του σπειροειδούς γαγγλίου πριν και μετά την έκθεση ποντικών στη σισπλατίνη (CP). Τα διπλά βέλη αντιστοιχούν στο πάχος της αγγειώδους ταινίας και οι μαύροι αστερίσκοι στα εκφυλισμένα κύτταρα του σπειροειδούς γαγγλίου.

(Πηγή: Kim et al., 2018)

Πείραμα σε ινδικά χοιρίδια έδειξε ότι τα έσω και έξω τριχωτά κύτταρα του κοχλία δεν εμφάνισαν καμία αλλαγή μετά από έκθεση σε σισπλατίνη λόγω της χορήγησης ρεσβερατρόλης (Yumusakhuylu et al., 2012). Επίσης, η βιταμίνη E καθώς και το ALA σε ινδικά χοιρίδια μείωσαν την προκαλούμενη από θόρυβο μείωση των τριχωτών κυττάρων και αύξηση της κοχλιακής μαλονδιαλδεϋδης (Xiong et al., 2012). Επιπλέον, ο συνδυασμός των βιταμινών B1, B2, B6, E και C ήταν αποτελεσματικός στην προστασία έναντι της ωτοτοξικότητας λόγω σισπλατίνης (Tokgöz et al., 2012) και το ALA ανέστειλε την επαγόμενη από την καναμυκίνη υψηλή έκφραση των φωσφορυλιωμένων κινασών p38 και JNK, οι οποίες μεσολαβούν στην απόπτωση των κοχλιακών τριχωτών κυττάρων σε ποντίκια (Wang et al., 2012).

Η προστατευτική δράση των αντιοξειδωτικών έχει επιβεβαιωθεί και από κάποιες κλινικές μελέτες. Η χορήγηση ALA ήταν αποτελεσματική στην πρόληψη της απώλειας ακοής λόγω θορύβου (Quaranta et al., 2012), ενώ η βιταμίνη E συνέβαλε στη θεραπευτική αντιμετώπιση της ιδιοπαθούς αφονίδιας απώλειας ακοής (Joachims et al., 2003). Ωστόσο, τα

θετικά αποτελέσματα που προκύπτουν από τις κλινικές μελέτες είναι περιορισμένα, ίσως λόγω του ότι συγκριτικά με τα πειράματα στα ζωικά μοντέλα, ο έλεγχος του πειράματος στην κλινική μελέτη είναι δυσκολότερος και η αντιοξειδωτική δόση που φθάνει πραγματικά στον κοχλία μετά από συστηματική χορήγηση μπορεί να μην είναι η βέλτιστη.

6.4 Οξειδωτικό στρες στις εμβοές

Το οξειδωτικό στρες διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην παθογένεση των εμβοών, καθώς μπορεί να οδηγήσει σε κυτταρικές αλλαγές στα τριχωτά κύτταρα και στην απόπτωσή τους (Ciorba et al., 2013; Gonzalez-Gonzalez, 2017; Poirrier et al., 2010). Μελέτες που έχουν γίνει σε άτομα με εμβοές έχουν δείξει ότι το οξειδωτικό στρες στον ορό είναι υψηλότερο και η αντιοξειδωτική ικανότητα του ορού χαμηλότερη συγκριτικά με άτομα χωρίς εμβοές. Τα άτομα με εμβοές έχει δειχθεί ότι έχουν υψηλότερα επίπεδα λιπιδικών υδροπεροξειδίων (Celik and Koyuncu, 2018) και υψηλότερο δείκτη οξειδωτικού στρες (Celik and Koyuncu, 2018; Ekinci and Kamasak, 2019; Κοç et al., 2016) με ταυτόχρονη χαμηλότερη αντιοξειδωτική κατάσταση (Celik and Koyuncu, 2018; Κοç et al., 2016) και χαμηλότερα επίπεδα του αντιοξειδωτικού ενζύμου παραοξονάσης 1 (PON) (Κοç et al., 2016). Επίσης, υψηλότερα επίπεδα των δεικτών οξειδωτικού στρες MDA, 4-HNE και MPO και χαμηλότερα επίπεδα του αντιοξειδωτικού ενζύμου GPX παρατηρήθηκαν στο αίμα της έσω σφαγίτιδας φλέβας στα άτομα με εμβοές συγκριτικά με τα άτομα χωρίς (Neri et al., 2006). Εκτός του οξειδωτικού στρες, έχει παρατηρηθεί μειωμένη παραγωγή νιτρικού οξειδίου και αύξηση των επιπέδων της L-αργινίνης, της θρομβομουντουλίνης και του παράγοντα vWF, τα οποία υποδεικνύουν την παρουσία ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας στα άτομα με εμβοές συγκριτικά με τα άτομα χωρίς εμβοές (Neri et al., 2006).

6.5 Ο ρόλος της χορήγησης αντιοξειδωτικών στις εμβοές

Τα ερευνητικά δεδομένα σχετικά με την αποτελεσματικότητα των αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων στις εμβοές είναι περιορισμένα και αντικρουόμενα. Προκαταρκτικά αποτελέσματα μιας πιλοτικής μελέτης σε άτομα με ιδιοπαθείς εμβοές έδειξαν ότι μια παρέμβαση 18 εβδομάδων με μίγμα αντιοξειδωτικών (β-καροτένιο, βιταμίνες C και E) και φωσφολιπιδίων μείωσε την υποκειμενική ενόχληση και ένταση των εμβοών (Savastano et al., 2007). Το *Ginkgo Biloba* έχει εκτενώς μελετηθεί για το πιθανό όφελος του στις εμβοές, λόγω του ότι εκτός των αντιοξειδωτικών φλαβονοειδών, περιέχει και άλλα ενεργά συστατικά που θα μπορούσαν να βοηθήσουν, όπως τερπένες, οι οποίες ενισχύουν την αιματική κυκλοφορία στον εγκέφαλο και γκινγκολίδες, οι οποίες δρουν σαν ανταγωνιστές του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (Luo and Smith, 2004). Κάποιες μελέτες παρέμβασης έχουν δείξει ότι το *Ginkgo Biloba* μειώνει την υποκειμενική ενόχληση και ένταση των εμβοών (Morgenstern και Biermann, 2002, Procházková et al., 2018).

Ωστόσο, άλλες μελέτες απέτυχαν να αποδείξουν κάποιο όφελος. Ανασκόπηση τριών μελετών παρέμβασης με ψευδάργυρο δεν έδειξε κάποιο όφελος στις εμβοές (Person et al., 2016), ενώ μετα-ανάλυση πέντε διπλών-τυφλών τυχαιοποιημένων και ελεγχόμενων με εικονικό φάρμακο μελετών κατέληξε ότι το *Gingko Biloba* δεν προσφέρει κάποιο όφελος στις εμβοές (Rejali et al., 2004). Επίσης, εξάμηνη παρέμβαση με ALA και βιταμίνη C δεν είχε κάποιο αποτέλεσμα στην υποκειμενική ενόχληση λόγω των εμβοών (Polanski et al., 2016).

Λόγω των περιορισμένων ερευνητικών δεδομένων σχετικά με το όφελος των αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων στις εμβοές, η Αμερικάνικη Ακαδημία Ωτορινολαρυγγολογίας – Χειρουργικής δε συμπεριλαμβάνει τη χρήση τους στις συστάσεις αντιμετώπισης των εμβοών (Tunkel et al., 2014).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΗΣ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΕΝΗΣ ΜΕ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΠΟΥ ΠΑΣΧΟΥΝ ΑΠΟ ΙΔΙΟΠΑΘΕΙΣ ΕΜΒΟΕΣ ΤΩΝ ΩΤΩΝ

7.1 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας Διδακτορικής διατριβής ήταν η μελέτη των πιθανών ευεργετικών επιδράσεων των αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων στις ιδιοπαθείς εμβοές. Για να επιτευχθεί ο ερευνητικός στόχος, σχεδιάστηκε και υλοποιήθηκε μια τρίμηνη τυχαιοποιημένη, διπλή-τυφλή κλινική μελέτη, ελεγχόμενη με ομάδα εικονικού φαρμάκου (placebo). Η επίδραση των αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων στις εμβοές εξετάστηκε πολύπλευρα μετρώντας τους δείκτες των εμβοών και την υποκειμενική ενόχληση που προκαλείται λόγω αυτών στην καθημερινότητα. Επίσης, μελετήθηκε η επίδραση των αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων σε δείκτες οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικής ικανότητας.

Τα αντιοξειδωτικά συμπληρώματα που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη περιείχαν ουσίες οι οποίες έχουν φανεί σε *in vitro* και *in vivo* μελέτες ότι προστατεύουν τον κοχλία απ' τις ελεύθερες ρίζες. Επισημαίνεται ότι είναι η πρώτη φορά που επιχειρείται η μελέτη της επίδρασης της χορήγησης μίγματος πολλών και διαφορετικών αντιοξειδωτικών ουσιών σε ασθενείς με ιδιοπαθείς εμβοές. Επίσης, είναι η πρώτη φορά που διερευνάται ο ρόλος των αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων στην οξειδοαναγωγική κατάσταση των ασθενών με ιδιοπαθείς εμβοές, μετρώντας δείκτες τόσο οξειδωτικού στρες όσο και αντιοξειδωτικής ικανότητας.

7.2 Υλικό & Μέθοδος

7.2.1 Βιοηθική

Η μελέτη αυτή έχει εγκριθεί απ' την επιστημονική επιτροπή του Τμήματος Ιατρικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών καθώς και απ' το Επιστημονικό Συμβούλιο και την Επιτροπή Έρευνας των νοσοκομείων του Ιπποκρατείου Αθηνών και του Γενικού Κρατικού Νίκαιας του Πειραιά. Το πρωτόκολλο της μελέτης πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις αρχές της Διακήρυξης του Ελσίνκι του 1989.

7.2.2 Δείγμα

Το δείγμα της μελέτης αποτέλεσαν ασθενείς που είχαν επισκεφθεί την ΩΡΛ Κλινική με κύριο σύμπτωμα τις εμβοές. Οι ασθενείς αυτοί κλήθηκαν να προσέλθουν ώστε να διερευνηθεί αν πληρούν τα κριτήρια εισαγωγής για τη μελέτη. Τα κριτήρια εισαγωγής και αποκλεισμού φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (**Πίνακας 7.1**).

7.2.3 Σχεδιασμός της μελέτης

Πρόκειται για μια τυχαιοποιημένη, διπλή-τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο κλινική μελέτη. Η μελέτη είναι εγγεγραμμένη στη βάση δεδομένων για τις κλινικές μελέτες ClinicalTrials.gov (Αριθμός: NCT04105426). Στο παρακάτω σχήμα φαίνεται αναλυτικά το διάγραμμα ροής της μελέτης (**Σχήμα 7.1**).

7.2.3.1 Στρατολόγηση ασθενών

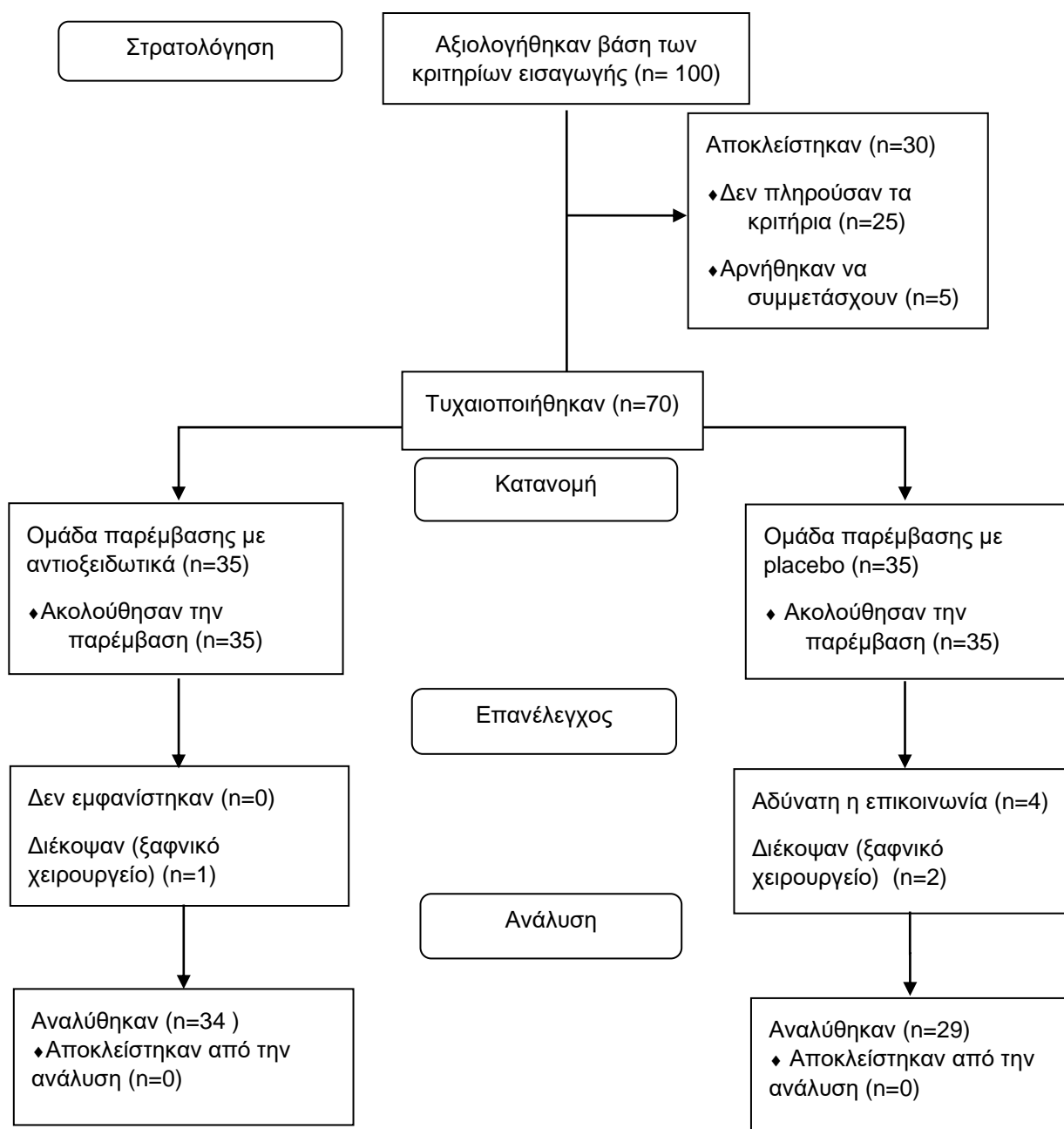
Εκατό ασθενείς, από ένα σύνολο 320 ασθενών που είχαν προσέλθει στην ΩΡΛ Κλινική τα τελευταία τρία έτη με κύριο σύμπτωμα τις εμβοές, κλήθηκαν για εξέταση. Ένας ΩΡΛ γιατρός που δεν συμμετείχε στη μελέτη έλαβε ιατρικό ιστορικό και ιστορικό εμβοών και πραγματοποίησε πλήρη ακοολογικό έλεγχο. Ο έλεγχος περιελάμβανε συμβατική ακοομετρία καθαρών τόνων (PTA), τυμπανομετρία και ακουστικά προκλητά δυναμικά του εγκεφαλικού στελέχους (BSR). Επιπλέον, διεξήχθησαν αξονική τομογραφία και απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού (MRI), όπου αυτό ήταν απαραίτητο, προκειμένου να αποκλειστεί οποιαδήποτε οπισθοκοχλιακή βλάβη. Απ' τον παραπάνω έλεγχο, προέκυψαν 70 ασθενείς, οι οποίοι πληρούσαν τα κριτήρια εισαγωγής και αποκλεισμού.

Στους ασθενείς αυτούς έγινε πλήρη ενημέρωση σχετικά με τους στόχους, τις μεθόδους, τα αναμενόμενα οφέλη και τους πιθανούς κινδύνους της μελέτης και δόθηκε το ενημερωτικό φυλλάδιο. Κάθε άτομο που συμφώνησε να συμμετάσχει, υπέγραψε το συμφωνητικό εθελοντικής συμμετοχής, όπου αναφέρονταν αναλυτικά ο σκοπός της μελέτης και οι υποχρεώσεις των ερευνητών και των εθελοντών (**Παράρτημα 1**).

Πίνακας 7.1 Κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού

Κριτήρια εισαγωγής	Κριτήρια αποκλεισμού
<ul style="list-style-type: none"> • Ιδιοπαθείς εμβοές μονόπλευρες ή αμφοτερόπλευρες που εμμένουν για διάστημα τουλάχιστον 6 μηνών και που καλύπτονται με ήχο τουλάχιστον 5 dB • Αρχικό σκορ στο THI ≥ 4 • Με κανονικό ακοόγραμμα ή μέχρι μια μέτριου βαθμού νευροαισθητήρια βαρηκοΐα • Ηλικίες 25-75 ετών • Που θέλουν και μπορούν να είναι παρόντες στις επισκέψεις • Που μπορούν να διαβάσουν και να κατανοήσουν τις οδηγίες για την υλοποίηση της έρευνας και τα ερωτηματολόγια 	<ul style="list-style-type: none"> • Ωτολογικές παθήσεις (πιθανή ή βέβαιη διάγνωση) (Meniere, ωτοσκλήρυνση, οξεία και χρόνια μέση ωτίτιδα) • Εμβοές που ακολουθούν οξύ ακουστικό τραύμα, αιφνίδια βαρηκοΐα ή οξεία ωτίτιδα με έναρξη λιγότερο από 3 μήνες • Θεραπεία για τις εμβοές τους τελευταίους 3 μήνες • Σφύζουσες ή διαλείπουσες εμβοές • Μη ρυθμισμένος υπο-/υπερθυρεοειδισμός/διαβήτης/ υπέρταση • Εμβοές που προέρχονται από τραυματικές βλάβες της κεφαλής ή του αυχένα • Ενεργό πεπτικό έλκος ή γαστρεντερική νόσος, ενεργές κακοήθειες, αυτοάνοσα, οξεία ή πρόσφατη αιμορραγία ή ιστορικό αιμορραγίας • Σοβαρές καρδιαγγειακές, νεφρικές ή ηπατικές διαταραχές, ιστορικό εγκεφαλικού/παροδικού ισχαιμικού επεισοδίου/εμφράγματος του μυοκαρδίου • Ψυχιατρικές διαταραχές • Λήψη ωτοτοξικών φαρμάκων (NSAIDs, ακετυλοσαλικυλικό οξύ, κυτταροστατικά, αμινογλυκοσίδες) τουλάχιστον 1 μήνα πριν την έναρξη της μελέτης • Φαρμακευτική αγωγή που μπορεί να προκαλέσει εμβοές τις τελευταίες 2 εβδομάδες πριν απ' την τυχαιοποίηση ή που βρίσκεται σε εξέλιξη ή σχεδιάζεται για τη διάρκεια της μελέτης • Λήψη συμπληρωμάτων αντιοξειδωτικών/ιχθυελαίων/ομοιοπαθητικών • Μη σταθερή φαρμακευτική αγωγή 3 μήνες πριν ή κατά τη διάρκεια της μελέτης • Ιστορικό ή παρουσία κατάχρησης αλκοόλ • Ταυτόχρονη συμμετοχή σε άλλη κλινική δοκιμή με δοκιμαστικό φάρμακο ή συμμετοχή σε άλλη κλινική δοκιμή με δοκιμαστικό φάρμακο εντός 30 ημερών πριν την έναρξη της μελέτης • Χορτοφάγοι, εγκυμονούσες, θηλάζουσες

Σχήμα 7.1 Διάγραμμα ροής της μελέτης



7.2.3.2 Τυχαιοποίηση και τυφλοποίηση

Οι συμμετέχοντες εντάχθηκαν τυχαία σε μία απ' τις δύο ομάδες, την ομάδα αντιοξειδωτικών ή την ομάδα εικονικού φαρμάκου. Η τυχαιοποίηση ήταν απλή και έγινε μέσω λογισμικού υπολογιστή. Ούτε οι ερευνητές ούτε οι ασθενείς γνώριζαν πώς οργανώθηκαν οι κατανομές των ομάδων. Η λίστα της τυχαιοποίησης παρέμεινε στα χέρια ατόμου που δεν είχε καμία εμπλοκή στη μελέτη και δεν είχε καμία επαφή με τους ασθενείς ή με τους ερευνητές. Τα εικονικά φάρμακα (**Εικόνα 7.1**) είχαν παρόμοιο βάρος, σχήμα και χρώμα με τα συμπληρώματα των αντιοξειδωτικών (**Εικόνα 7.2**). Επίσης, τα εικονικά φάρμακα μπήκαν σε συσκευασίες παρόμοιες των συμπληρωμάτων των αντιοξειδωτικών και στη συνέχεια όλα εντάχθηκαν σε σακουλάκια που κωδικοποιήθηκαν από άτομο που δεν είχε καμία εμπλοκή στη μελέτη. Τα σακουλάκια δόθηκαν στους ασθενείς από ανεξάρτητο ερευνητή και οι οδηγίες για την κατανάλωση των συμπληρωμάτων ήταν μέσα σε αυτά.



Εικόνα 7.1 Εικονικά φάρμακα Α και Β



Εικόνα 7.2 Συμπληρώματα αντιοξειδωτικών Α. α-λιποϊκό οξύ, Β. πολυβιταμινούχο με αντιοξειδωτικά

7.2.3.3 Παρέμβαση

Οι ασθενείς και των δύο ομάδων έλαβαν τα συμπληρώματα αντιοξειδωτικών ή τα εικονικά φάρμακα για 3 μήνες. Η έναρξη της παρέμβασης έγινε τον Γενάρη του 2019 και ο επανέλεγχος ολοκληρώθηκε για όλους τους συμμετέχοντες τον Μάη του 2019.

Η ομάδα των αντιοξειδωτικών λάμβανε ημερησίως ένα πολυβιταμινούχο δισκίο με αντιοξειδωτικά μετά απ' το φαγητό και δύο δισκία α-λιποϊκού οξέος με άδειο στομάχι. Το πολυβιταμινούχο δισκίο αντιοξειδωτικών είχε τη σύνθεση που φαίνεται στον παρακάτω πίνακα (**Πίνακας 7.2**) και το δισκίο του α-λιποϊκού οξέος (ALA) περιείχε 300 mg ALA ανά δισκίο. Τα συμπληρώματα αυτά ήταν σκευάσματα του εμπορίου.

Η ομάδα του εικονικού φαρμάκου λάμβανε ημερησίως τρία δισκία εικονικού φαρμάκου με τον ίδιο τρόπο όπως η ομάδα των αντιοξειδωτικών. Τα εικονικά φάρμακα παρασκευάστηκαν από ένα τοπικό φαρμακείο σύμφωνα με τους κανόνες Ορθής Παρασκευαστικής Πρακτικής (GMP) και περιείχαν σορβιτόλη. Κατασκευάστηκαν με παρόμοιο σχήμα, βάρος και χρώμα με συμπληρώματα αντιοξειδωτικών.

Οι ασθενείς ενθαρρύνθηκαν να διαβάσουν καλά τις οδηγίες λήψης που εμπεριέχονταν στα σακουλάκια. Επίσης, ενημερώθηκαν να διατηρήσουν αμετάβλητα τη φαρμακευτική τους αγωγή, τις διατροφικές τους συνήθειες καθώς και τη σωματική τους δραστηριότητα. Επιπλέον, τους ζητήθηκε να αναφέρουν τυχόν παρενέργειες κατά τη διάρκεια της παρέμβασης καθώς και να ενημερώσουν σε περίπτωση που θέλουν να διακόψουν.

Πίνακας 7.2 Συστατικά πολυβιταμινούχου συμπληρώματος αντιοξειδωτικών

Διατροφικές πληροφορίες	Ανά ταμπλέτα	%ΣΗΔ*	Διατροφικές πληροφορίες	Ανά ταμπλέτα	%ΣΗΔ*
Βιταμίνη Α (οξική)	781 µg (2600 iu)	98	Μαγνήσιο (ως οξείδιο)	50 mg	13
Βιταμίνη D ₃	10 µg (400 iu)	200	Ψευδάργυρος (γλυκονικός)	15 mg	150
Βιταμίνη Ε (οξική dl-α-τοκοφερόλη)	100 mg (150 iu)	833	Χαλκός (γλυκονικός)	1,2 mg	120
Βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ)	150 mg	188	Μαγγάνιο (γλυκονικό)	4 mg	200
Θειαμίνη (Βιταμίνη Β1) (μονονιτρική)	25 mg	2272	Σελήνιο (ως L-σεληνομεθειονίνη και σεληνιώδες νάτριο)	100 µg	200
Ριβοφλαβίνη (Βιταμίνη Β2)	25 mg	1786	Χρώμιο (πικολινικό)	200 µg	500
Νιασίνη (Βιταμίνη Β3)	25 mg	156	Μολυβδένιο (ως μολυβδαινικό)	500 µg	1000
Πυριδοξίνη (Βιταμίνη Β6) (υδροχλωρική πυριδοξίνη)	10 mg	714	Ιώδιο (ιωδιούχο κάλιο)	150 µg	100
Φολικό οξύ	200 µg	100	Χολίνη (διτρυγική)	25 mg	
Βιταμίνη Β12	10 µg	400	Ινοσιτόλη	25 mg	
Βιοτίνη	150 µg	300	ΡΑΒΑ	25 mg	
Παντοθενικό οξύ (Βιταμίνη Β5) (παντοθενικό ασβέστιο)	25 mg	417	Εκχύλισμα σπόρων κόκκινου σταφυλιού (ως 1 mg τιτλοδοτημένου (500:1) εκχυλίσματος)	500 mg	
Ασβέστιο (ως φωσφορικό)	62 mg	8			
Σίδηρος (φουμαρικός σίδηρος)	14 mg	100			

*% Συνιστώμενης Ημερήσιας Δόσης

7.2.4 Αρχική αξιολόγηση συμμετεχόντων

Οι ασθενείς και των δύο ομάδων προσήλθαν στην ΩΡΛ Κλινική μετά από 12ωρη νηστεία, όπου διεξήχθη αιμοληψία και πραγματοποιήθηκαν ανθρωπομετρικές μετρήσεις. Στη συνέχεια, ελήφθησαν πλήρες ιατρικό ιστορικό και ιστορικό εμβοών και πραγματοποιήθηκαν ακοολογικός έλεγχος και ειδικός ακοολογικός έλεγχος εμβοών. Μετέπειτα, ζητήθηκε από τους ασθενείς να συμπληρώσουν μια σειρά ερωτηματολογίων που αξιολογούσαν τις διατροφικές τους συνήθειες, τη σωματική τους δραστηριότητα, τη συναισθηματική τους κατάσταση καθώς και την επίδραση των εμβοών στην ποιότητα ζωής τους.

7.2.4.1 Ιατρικό ιστορικό

Το ιατρικό ιστορικό σχεδιάστηκε για τις ανάγκες της μελέτης (**Παράρτημα 2**) και μέσω αυτού έγινε συλλογή στοιχείων για παρουσία παθήσεων, λήψη φαρμάκων, παρουσία βαρηκοΐας, ιλίγγου ή αισθήματος πληρώσεως ώτων, ωτολογικό ιστορικό και ιστορικό έκθεσης σε θόρυβο. Σχετικά με τις εμβοές, καταγράφηκαν τα εξής στοιχεία: 1) συνολική διάρκεια από την έναρξη, 2) εντόπιση (δεξιά, αριστερά, αμφίπλευρες, ασαφείς) 3) περιγραφή (φύσημα, σφύριγμα, κουδούνισμα, κλπ) 4) τύπος εμβοών (σφύζουσες, σύγχρονες με την αναπνοή, σταθερές ή μεταβαλλόμενες κατά τη διάρκεια της ημέρας και 5) ένταση (ήπιες, μεσαίες, έντονες).

7.2.4.2 Ερωτηματολόγιο κοινωνικο-δημογραφικών στοιχείων

Στο παρόν ερωτηματολόγιο καταγράφηκαν στοιχεία όπως φύλο, ηλικία, επαγγελματική απασχόληση, μορφωτικό επίπεδο και οικογενειακή και οικονομική κατάσταση.

7.2.4.3 Ακοολογικός έλεγχος και ειδικός ακοολογικός έλεγχος εμβοών

Ακοομετρία

Η ακοομετρία περιελάμβανε συμβατική τονική ακοομετρία όσο και ακοομετρία υψηλών συχνοτήτων (Katz, 2015). Η ακοομετρία αποτελεί την κύρια δοκιμασία καθορισμού του ουδού ακοής, όπου καθορίζεται ο βαθμός, ο τύπος και η μορφή της βαρηκοΐας. Πρόκειται για μια υποκειμενική, συμπεριφορική μέτρηση του ουδού της ακοής, η οποία εξαρτάται από την αντίδραση του συμμετέχοντος σε ερέθισμα καθαρού τόνου. Η μέτρηση του ουδού της ακοής περιελάμβανε τις συχνότητες 250, 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 6000, 8000, 10000 και 12000Hz και τον προσδιορισμό της αέρινης και οστέινης αγωγής σε κάθε αυτί ξεχωριστά. Η ανεύρεση του ουδού πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο του plateau. Χορηγήθηκε τόνος συγκεκριμένης συχνότητας στον ασθενή σε ένταση τέτοια που να είναι αντιληπτός. Έπειτα, μειωνόταν η ένταση του ερεθίσματος σε βήματα των 10dB, μέχρι που το ερέθισμα έπαυε να

είναι πλέον αντιληπτό. Ακολούθησε αύξηση του ουδού σε βήματα των 5dB μέχρι που το ερέθισμα γινόταν πάλι αντιληπτό. Η διαδικασία επαναλήφθηκε τρεις φορές. Οι τελικές τιμές καταγράφηκαν σε ακοολογικό διάγραμμα.

Ο βαθμός απώλειας της ακοής προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας το μέσο όρο των τιμών σε τέσσερις διαδοχικές συχνότητες (500-1000-2000-4000) και ταξινομήθηκε ως φυσιολογική ακοή, ήπια απώλεια ακοής ή μέτρια απώλεια ακοής (Kapul et al., 2017). Η απώλεια ακοής στις υψηλές συχνότητες προσδιορίστηκε με βάση τα διαγράμματα των ουδών ακοής στις υψηλές συχνότητες (Rodríguez Valiente et al., 2014)

Ειδικός ακοολογικός έλεγχος εμβοών

Ο ειδικός ακοολογικός έλεγχος των εμβοών περιελάμβανε ψυχοακουστικές δοκιμασίες, όπου προσδιορίστηκαν η συχνότητα, η ένταση και το ελάχιστο επίπεδο ηχοκάλυψης (MML) των εμβοών (Henry and Meikle, 2000).

Ταυτοποίηση της συχνότητας των εμβοών

Χρησιμοποιήθηκε δοκιμασία δυο αναγκαστικών εναλλακτικών επιλογών. Χορηγήθηκαν ζεύγη τόνων διπλανών διαφορετικών συχνοτήτων στο ετερόπλευρο ους και ο ασθενής επέλεγε τον τόνο που προσομοιάζει καλύτερα με τη συχνότητα των εμβοών του. Η διαδικασία επαναλαμβανόταν μέχρι που να υπάρξει ταυτοποίηση της συχνότητας.

Ταυτοποίηση της έντασης των εμβοών

Χρησιμοποιήθηκε η ανιούσα μέθοδος. Χορηγήθηκε τόνος στη συχνότητα που προσδιορίστηκε προηγουμένως. Η αρχική ένταση του τόνου αντιστοιχούσε σε επίπεδο λίγο κάτω απ' τον ουδό ακοής. Στη συνέχεια, αυξανόταν η ένταση του ερεθίσματος μέχρι να προσδιοριστεί η ένταση των εμβοών. Η χορήγηση των τόνων έγινε στο ετερόπλευρο ους.

Ελάχιστο επίπεδο ηχοκάλυψης (MML)

Η μέθοδος αυτή προσδιορίζει την ελάχιστη ένταση τόνου που απαιτείται ώστε οι εμβοές να μη γίνονται αντιληπτές. Χρησιμοποιήθηκε η ανιούσα μέθοδος. Στο υπό εξέταση ους, χορηγήθηκε τόνος ίδιας ή κοντά στη συχνότητα που προσδιορίστηκε προηγουμένως και σε ένταση λίγο χαμηλότερη απ' τον ουδό ακοής. Η ένταση του ερεθίσματος αυξανόταν μέχρι που οι εμβοές δεν ήταν πλέον αντιληπτές. Η ένταση αυτή αντιστοιχούσε στο MML.

7.2.4.4 Αξιολόγηση της υποκειμενικής ενόχλησης των εμβοών

Τα ερωτηματολόγια που αξιολογούσαν την επίδραση των εμβοών στην ποιότητα ζωής συμπληρώθηκαν απ' τους ίδιους τους ασθενείς, υπό την επίβλεψη ιατρού, που ήταν διαθέσιμος για τυχόν απορίες ή διευκρινίσεις σχετικά με τις ερωτήσεις. Τα ερωτηματολόγια

που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα Tinnitus Handicap Inventory (THI), Tinnitus Functional Index (TFI) και η κλίμακα VAS.

Το ερωτηματολόγιο THI έχει δημιουργηθεί για να αξιολογήσει την επίδραση των εμβοών στην ποιότητα ζωής και αποτελείται από 25 συνολικά ερωτήσεις, οι οποίες κατατάσσονται σε τρεις κλίμακες: α. κλίμακα λειτουργικότητας, β. συναισθηματική κλίμακα και γ. καταστροφική κλίμακα (Newman et al., 1996) (**Παράρτημα 5**). Καθεμιά από τις απαντήσεις αντιστοιχεί σε μία βαθμολογία (Οχι= 0, Μερικές Φορές=2, Ναι=4), η οποία στο τέλος αθροίζεται και προκύπτει το συνολικό σκορ. Η συνολική βαθμολογία THI κυμαίνεται από 0 έως 100 και ταξινομεί τις εμβοές σε 5 βαθμούς ανάλογα με τη βαρύτητα: ελαφριά (χαμηλότερο του 16), ήπια (18-36), μέτρια (38-56), σοβαρή (58-76) ή καταστροφική μορφή (78-100) εμβοών (Newman et al., 1996).

Το ερωτηματολόγιο παρόλο που χρησιμοποιείται για πολλά χρόνια μεταφρασμένο στα Ελληνικά στην ΩΡΛ κλινική, δεν είναι ακόμη επίσημα σταθμισμένο στην Ελληνική γλώσσα.

Για τη στάθμιση του, το ερωτηματολόγιο χορηγήθηκε σε δείγμα υγιών (N=10) και σε δείγμα ασθενών με εμβοές (N=10), για τον έλεγχο της κατανόησης των αντικειμένων. Βάσει των ανωτέρω, έγιναν διορθώσεις σύμφωνα με τις παρατηρήσεις που έγιναν από τον πληθυσμό του δείγματος, τόσο γραμματικές όσο και συντακτικές.

Το ερωτηματολόγιο TFI αξιολογεί τη σοβαρότητα και την αρνητική επίδραση των εμβοών, και χρησιμεύει τόσο ως διαγνωστικό εργαλείο, όσο και για τη μέτρηση μεταβολών των εμβοών που σχετίζονται με τη θεραπεία (Meikle et al., 2012). Το TFI είναι ένα ερωτηματολόγιο πολλαπλών συνιστωσών, το οποίο μετρά τη δυσφορία που προκαλούν οι εμβοές σε επίπεδο ψυχολογικό και λειτουργικό (Fackrell et al., 2018).

Αποτελείται από 25 ερωτήσεις που χωρίζονται στις παρακάτω 8 υποκλίμακες που καλύπτουν διαφορετικούς τομείς: ενόχληση (intrusiveness- I), αίσθηση ελέγχου (sense of control- SC), γνωστική απόδοση (cognition-C), ύπνος (sleep-SL), ακρόαση (audition-A), χαλάρωση (relaxation-R), ποιότητα ζωής (quality of life-Q) και συναισθήματα (emotions-E). Το TFI χρησιμοποιεί κλίμακα 10 σημείων που κυμαίνεται από 0 έως 10 και όλες οι υποκλίμακες συμβάλλουν σε μια συνολική βαθμολογία που κυμαίνεται από 0 έως 100 και σε επιμέρους βαθμολογίες για κάθε υποκλίμακα (Fackrell et al., 2018).

Η κλίμακα VAS περιελάμβανε 4 ερωτήσεις, στις οποίες οι ασθενείς σε μία κλίμακα από το 0 (καθόλου) μέχρι το 10 (πάρα πολύ) σημείωσαν τη βαθμολογία ανάλογα με το πόσο πολύ τους ενοχλούσαν οι εμβοές στην εργασία, τον ύπνο, την ανάπαυση και τη συγκέντρωση (Figueiredo et al., 2009) (**Παράρτημα 6**).

7.2.4.5 Ανθρωπομετρικά δεδομένα

Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν το πρωί μετά από 12ωρη νηστεία. Το σωματικό βάρος μετρήθηκε χωρίς υποδήματα και με ελαφρύ ρουχισμό με ψηφιακή βαθμονομημένη ζυγαριά (Tanita WB-110MA, Ιαπωνία), με ακρίβεια 0,1 kg και το ύψος μετρήθηκε μ' ένα αναστημόμετρο (Seca Model 220, Γερμανία) στο πλησιέστερο 0,1 cm. Ο ΔΜΣ (BMI) υπολογίστηκε ως βάρος (σε kg) διαιρούμενο με το τετράγωνο του ύψους (σε m²). Οι μετρήσεις των περιμέτρων μέσης και γοφών έγιναν με τη χρήση απλής μη ελαστικής μετροταινίας. Ο εξεταζόμενος στάθηκε με τα πόδια σε μικρή διάσταση και με το βάρος μοιρασμένο και στα δύο. Η μέτρηση της περιμέτρου μέσης έγινε στο μέσο της απόστασης ανάμεσα στο τελευταίο πλευρό και τη λαγόνιο ακρολοφία. Η μέτρηση της περιμέτρου γοφών έγινε στο σημείο με τη μεγαλύτερη περίμετρο, εκεί που οι γλουτιαίοι μύες εξέχουν περισσότερο και με την ταινία να είναι παράλληλη με το δάπεδο.

7.2.4.6 Ψυχολογική αξιολόγηση

Η ψυχολογική αξιολόγηση έγινε με βάση την κλίμακα του κέντρου Επιδημιολογικών Μελετών Κατάθλιψης (CES-D), για την κατάταξη και εκτίμηση της κατάθλιψης (Radloff, 1977). Το ερωτηματολόγιο συμπληρώθηκε απ' τους ίδιους τους ασθενείς και περιελάμβανε 20 ερωτήσεις που καλύπτουν συναισθηματικά, ψυχολογικά και σωματικά συμπτώματα. Ο ασθενής καθόρισε τη συχνότητα με την οποία εμφανίζεται το σύμπτωμα την τελευταία εβδομάδα (δηλαδή: λίγο, μερικές φορές, αρκετές φορές ή τον περισσότερο καιρό). Το σκορ κυμαίνεται ανάμεσα στο 0 και το 60 και όσο υψηλότερο είναι, τόσο σοβαρότερα είναι τα συμπτώματα της κατάθλιψης. Σκορ υψηλότερο του 16, υποδηλώνει πιθανή κατάθλιψη (Lewinsohn et al., 1997). Η κλίμακα CES-D έχει μεταφραστεί και σταθμιστεί στα ελληνικά (Fountoulakis et al., 2001).

Επίσης, οι ασθενείς συμπλήρωσαν τη Νοσοκομειακή Κλίμακα Άγχους και Κατάθλιψης (HADS), μια κλίμακα αυτοαξιολόγησης που αναπτύχθηκε για την αξιολόγηση της ψυχολογικής δυσφορίας σε μη ψυχιατρικούς ασθενείς (Zigmond and Snaith, 1983). Η κλίμακα HADS αποτελείται από δύο υποκλίμακες, το άγχος (anxiety, HADS-A) και την κατάθλιψη (depression, HADS-D) και η βαθμολογία υπολογίζεται για την κάθε κλίμακα ξεχωριστά. Σκορ μικρότερο του 7 στις δύο κλίμακες υποδηλώνει απουσία άγχους ή κατάθλιψης. Όταν το σκορ είναι 8-10 υποδηλώνει ήπιο άγχος ή κατάθλιψη, 11-14 μέτριο άγχος ή κατάθλιψη και 15-21 σοβαρό άγχος ή κατάθλιψη (Stern, 2014). Η κλίμακα HADS έχει μεταφραστεί και σταθμιστεί στα Ελληνικά (Michopoulos et al., 2008).

7.2.4.7 Αξιολόγηση της διατροφικής πρόσληψης και της σωματικής δραστηριότητας

Η διαιτητική πρόσληψη αξιολογήθηκε από διαιτολόγο με τη μέθοδο της ανάκλησης 24ώρου για 3 μη διαδοχικές ημέρες (2 καθημερινές και 1 Σαββατοκύριακο) στην αρχή και στο τέλος της μελέτης. Η ανάκληση 24ώρου είναι μια δομημένη συνέντευξη που αποσκοπεί στη συλλογή αναλυτικών πληροφοριών για όλα τα τρόφιμα και τα ποτά που κατανάλωσε το άτομο το τελευταίο 24ωρο (Baranowski, 2012) (**Παράρτημα 3**). Για τον υπολογισμό της ενεργειακής πρόσληψης και των μακροθρεπτικών συστατικών, τα δεδομένα αναλύθηκαν από το λογισμικό ανάλυσης Nutritionist Pro έκδοσης 5.2.0. (Axxya Systems, Nutritionist Pro, Stafford, TX).

Το ερωτηματολόγιο MedDietScore συμπληρώθηκε απ' τους ίδιους τους ασθενείς ώστε να αξιολογηθεί η προσκόλληση στο μεσογειακό πρότυπο διατροφής (Panagiotakos et al., 2006) (**Παράρτημα 4**). Το MedDietScore αξιολογεί τη μηνιαία κατανάλωση των ακόλουθων 11 βασικών ομάδων τροφίμων της Μεσογειακής διατροφής: μη ραφινάρισμα δημητριακά, φρούτα, λαχανικά, όσπρια, πατάτες, ψάρια, κόκκινα κρέατα και τα προϊόντα τους, πουλερικά, πλήρη γαλακτοκομικά προϊόντα, ελαιόλαδο και αλκοόλ (Panagiotakos et al., 2006). Η βαθμολογία του δείκτη κυμαίνεται από 0 έως 55 βαθμούς και όσο υψηλότερη η βαθμολογία, τόσο μεγαλύτερη η συμμόρφωση στις αρχές του Μεσογειακού διατροφικού προτύπου (Panagiotakos et al., 2006).

Το ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης (FFQ) συμπληρώθηκε απ' τους ίδιους τους ασθενείς με τη βοήθεια διαιτολόγου και αποτελείται από ερωτήσεις σχετικά με την συχνότητα κατανάλωσης συγκεκριμένων τροφίμων που ανήκουν στις κύριες ομάδες τροφίμων (γαλακτοκομικά, αμυλούχα, κρέας, ψάρια, όσπρια, λαχανικά, φρούτα, γλυκά, αλκοολούχα, λίπη) (Willett et al., 1985). Τα δεδομένα αναλύθηκαν από το λογισμικό ανάλυσης Nutritionist Pro έκδοσης 5.2.0. (Axxya Systems, Nutritionist Pro, Stafford, TX). Το ερωτηματολόγιο έχει σταθμιστεί στα ελληνικά (Bountziouka et al., 2012).

Η αξιολόγηση της σωματικής δραστηριότητας των ασθενών έγινε μέσω της εκτενούς αναφοράς του Διεθνούς Ερωτηματολογίου Φυσικής Δραστηριότητας (IPAQ), το οποίο συμπληρώθηκε απ' τους ίδιους τους ασθενείς και έχει σταθμιστεί στα ελληνικά (Craig et al., 2003; Parathanasiou et al., 2009). Το ερωτηματολόγιο αποτελείται από 5 μέρη. Στα τέσσερα πρώτα καταγράφεται η συχνότητα και η ένταση της φυσικής δραστηριότητας που σχετίζεται με την εργασία, τις μετακινήσεις, τις δουλειές του σπιτιού και την άσκηση στον ελεύθερο χρόνο και στο 5^ο μέρος καταγράφεται ο χρόνος που αφιερώνεται σε καθιστικές δραστηριότητες για το διάστημα των τελευταίων 7 ημερών. Από τα δεδομένα αυτά, προκύπτει ένα συνολικό σκορ το οποίο αντιστοιχεί σε MET λεπτά ανά εβδομάδα και βάση

του οποίου η δραστηριότητα του ασθενή μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε χαμηλή (χαμηλότερο του 600), μέτρια (μεγαλύτερο ή ίσο του 600) ή υψηλή (μεγαλύτερο ή ίσο του 3000).

7.2.4.8 Αιμοληψία και απομόνωση ορού

Η αιμοληψία (30 ml) διεξαγόταν το πρωί μετά από 12ωρη νηστεία, ώστε να επιτυγχάνονται συγκρίσιμα αποτελέσματα, χωρίς αποκλίσεις που οφείλονται στην πρόσφατη κατανάλωση τροφών. Επίσης, είχε δοθεί οδηγία στον ασθενή να μην λάβει τα συμπληρώματα την ίδια μέρα. Εάν ο ασθενής βρισκόταν σε φαρμακευτική αγωγή, προτεινόταν η μετάθεση της λήψης των φαρμάκων μετά την αιμοληψία.

Η απομόνωση του ορού απ' το ολικό αίμα πραγματοποιήθηκε με παραμονή του δείγματος σε vacutainer χωρίς αντιπηκτικό παράγοντα για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθησε φυγοκέντρηση (3000 rpm, 10 min, 4°C) και παραλαβή του υπερκείμενου. Τα δείγματα ορού χρησιμοποιήθηκαν άμεσα για μέτρηση των βιοχημικών παραμέτρων, ενώ φυλάσσονταν σε βαθειά κατάψυξη (-80°C) μέχρι την ανάλυση των δεικτών οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικής ικανότητας.

Στα δείγματα ορού πραγματοποιήθηκαν άμεσα μετρήσεις για τον προσδιορισμό των κυττάρων του αίματος, των βιοχημικών παραμέτρων (σάκχαρο, χοληστερόλη, LDL, HDL, τριγλυκερίδια, ουρία, ουρικό οξύ, κρεατινίνη, AST, ALT, γ-GT, ολική χολερυθρίνη, αλβουμίνη, ολικά λευκώματα, TKE, CRP, HbA1c, φερριτίνη, Fe), των ηλεκτρολυτών (Ca, P, Na, K), των ορμονών του θυρεοειδούς (TSH, T3, T4) και των επιπέδων των βιταμινών και των μετάλλων (Mg, Zn, φυλλικό, Se, βιταμίνες E, C, B12, B2, B1, B6, D).

7.2.5 Παρακολούθηση και επανέλεγχος

Σε όλο το διάστημα της παρέμβασης υπήρχε τηλεφωνική επαφή με τους ασθενείς ανά 15 ημέρες, για να ελεγχθεί η καθημερινή κατανάλωση των συμπληρωμάτων, οι πιθανές παρενέργειες, η γενική κατάσταση της υγείας τους, η πιθανή τροποποίηση της φαρμακευτικής τους αγωγής, καθώς και για να απαντηθούν ερωτήματα, απορίες και προβληματισμοί των ασθενών. Επίσης, πραγματοποιήθηκαν 2 τηλεφωνικές ανακλήσεις 24ώρου (μία καθημερινή και μία σκ) δύο φορές κατά τη διάρκεια της παρέμβασης και χωρίς προειδοποίηση.

Στον επανέλεγχο, οι ασθενείς και των δύο ομάδων προσήλθαν στην ΩΡΛ Κλινική μετά από 12ωρη νηστεία, όπου διεξήχθη αιμοληψία και πραγματοποιήθηκαν όλες οι μετρήσεις της αρχικής αξιολόγησης, εκτός από το ιατρικό ιστορικό, το ερωτηματολόγιο κοινωνικο-δημογραφικών στοιχείων και τα ερωτηματολόγια που αξιολογούσαν τη συναισθηματική τους κατάσταση και τη φυσική δραστηριότητα. Επίσης, η τήρηση της

παρέμβασης αξιολογήθηκε μετρώντας τα δισκία που απέμειναν στη συσκευασία κάθε ασθενή.

7.2.6 Προσδιορισμός δεικτών οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικής ικανότητας

Οι αναλύσεις των δεικτών στον ορό πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Βιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

7.2.6.1 Προσδιορισμός της οξειδωμένης LDL ορού (ox.LDL)

Η μέτρηση της οξειδωμένης LDL του ορού πραγματοποιήθηκε με ανοσοενζυμική μέθοδο (τύπου «sandwich») χρησιμοποιώντας εξειδικευμένο Elisa kit, σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρείας (Human OxLDL ELISA kit, Wuhan Fine Biological Technology, China).

Αρχή μεθόδου

Στα πηγάδια της πλάκας (96 well plate) υπάρχει το αντι-oxLDL αντίσωμα και το συζευγμένο στη βιοτίνη αντίσωμα χρησιμοποιείται ως αντίσωμα ανίχνευσης. Τα πρότυπα, τα δείγματα καθώς και τα αντισώματα προστέθηκαν στα πηγαδάκια και ξεπλύθηκαν με ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης (wash buffer). Στη συνέχεια, προστέθηκε η υπεροξειδάση χρένου (HRP) – στρεπταβιδίνη και τα μη δεσμευμένα συζυγή ξεπλύθηκαν με το ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης. Το υπόστρωμα 3,3-5,5-τετραμεθυλο-βενζιδίνη (TMB) χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση της ενζυματικής αντίδρασης HRP. Η TMB καταλύεται από την HRP και παράγεται ένα μπλε χρώμα, το οποίο μετατρέπεται σε κίτρινο μετά την προσθήκη διαλύματος αντιδραστήριου τερματισμού. Η ένταση του χρώματος είναι αναλογική της ποσότητας της πρωτεΐνης στο δείγμα και φωτομετράται στα 450 nm. Η συγκέντρωση της ουσίας στο δείγμα προσδιορίζεται με βάση την πρότυπη καμπύλη αναφοράς που προκύπτει από τη φωτομέτρηση των πρότυπων διαλυμάτων της.

Όργανα

Φασματοφωτόμετρο

Πιπέτες σταθερού και μεταβλητού όγκου

Παρασκευή διαλυμάτων

Ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης

Πρότυπα διαλύματα: Απ' το αρχικό διάλυμα, προκύπτουν τα εξής διαλύματα με διαδοχικές αραιώσεις: 100ng/ml, 50ng/ml, 25ng/ml, 12.5ng/ml, 6.25ng/ml, 3.125ng/ml

Διάλυμα αντισώματος ανιχνευτή της βιοτίνης

Διάλυμα υπεροξειδάσης χρένου (HRP) συζευγμένο με Στρεπταβιδίνη (SABC)

Πειραματική διαδικασία

Η πλάκα πλύθηκε 2 φορές πριν προστεθούν τα πρότυπα, τα δείγματα και τα control. Στη συνέχεια προστέθηκαν 100μL είτε από το διάλυμα αντιδραστηρίου αραίωσης (τυφλός προσδιορισμός), είτε από τα πρότυπα διαλύματα, είτε από τα δείγματα ορού στα αντίστοιχα πηγάδια. Η τοποθέτηση των προτύπων και των δειγμάτων έγινε εις διπλούν και πραγματοποιήθηκε επώαση για 90 λεπτά στους 37°C. Έπειτα, απομακρύνθηκε το διάλυμα από τα πηγάδια αναποδογυρίζοντας την πλάκα πάνω σε χαρτί. Προστέθηκαν 100μL διαλύματος εργασίας αντισώματος ανίχνευσης βιοτίνης σε κάθε πηγάδι και επώαστηκαν για 60 λεπτά στους 37°C. Στη συνέχεια, έγινε πλύση 3 φορές με το ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης. Προστέθηκαν 100μL διαλύματος SABC σε κάθε πηγάδι και επώαστηκαν για 30 λεπτά στους 37°C. Έγινε πλύση 5 φορές αφήνοντας στα πηγάδια το διάλυμα έκπλυσης για 1-2 λεπτά κάθε φορά. Ακολούθησε προσθήκη 90μL διαλύματος υποστρώματος TMB στα πηγάδια και επώαση για 15-30 λεπτά σε σκοτάδι στους 37°C. Στο τέλος προστέθηκαν 50 μL διαλύματος τερματισμού της αντίδρασης και πραγματοποιήθηκε ανάδευση. Το χρώμα άλλαξε άμεσα σε κίτρινο και μετρήθηκε η απορρόφηση στα 450nm.

Αναλύσεις

Για την έκφραση των αποτελεσμάτων σε ng/ml κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη αναφοράς. Για την καμπύλη αναφοράς χρησιμοποιήθηκε πρότυπο ox.LDL σε συγκεντρώσεις 100ng/ml, 50ng/ml, 25ng/ml, 12.5ng/ml, 6.25ng/ml και 3.125ng/ml. Οι μετρήσεις χρησιμοποιούνται για το σχεδιασμό διαγράμματος $y=f(x)$, όπου x η συγκέντρωση της ox.LDL σε ng/ml στα πρότυπα και y η απορρόφηση του κάθε πρότυπου στα 450 nm. Οι τιμές της ox.LDL στα δείγματα προκύπτουν από την πρότυπη καμπύλη.

7.2.6.2 Προσδιορισμός της υπεροξειδικής δισμουτάσης ορού (SOD)

Ο προσδιορισμός της SOD έγινε χρησιμοποιώντας εξειδικευμένο kit σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρείας (Superoxide Dismutase Assay Kit, Cayman, USA).

Αρχή μεθόδου

Η μέθοδος χρησιμοποιεί την οξειδάση της ξανθίνης, η οποία οξειδώνει την υποξανθίνη προς ξανθίνη και στη συνέχεια προς ουρικό οξύ. Το μοριακό οξυγόνο, που είναι ο οξειδωτικός παράγοντας και στις δυο αντιδράσεις, ανάγεται προς H_2O_2 και ρίζες σουπεροξειδίου. Οι ρίζες σουπεροξειδίου αποτελούν υπόστρωμα για την SOD. Μία μονάδα

SOD ορίζεται ως η ποσότητα που χρειάζεται για να αυτοοξειδοανάγει τις ρίζες σουπεροξειδίου. Παράλληλα, οι ρίζες σουπεροξειδίου ανάγουν ένα άλας τετραζολίου σε φορμαζάνη, που απορροφά στην ορατή περιοχή. Επομένως, όσο πιο μεγάλη είναι η δραστικότητα της SOD, τόσο πιο μικρή είναι η συγκέντρωση της φορμαζάνης και συνεπώς η απορρόφηση στα 450 nm.

Όργανα

Φασματοφωτόμετρο

Πιπέτες σταθερού και μεταβλητού όγκου

Παρασκευή αντιδραστηρίων

Ρυθμιστικό διάλυμα: 3 ml συμπυκνώματος ρυθμιστικού διαλύματος αραιώθηκαν με 27ml αποσταγμένου νερού.

Ρυθμιστικό διάλυμα δείγματος: 2 ml συμπυκνώματος buffer αραιώθηκαν με 18ml αποσταγμένου νερού.

Ανιχνευτής ριζών: 50 μl του ανιχνευτή ριζών αραιώθηκαν με 19,95 ml ρυθμιστικού διαλύματος.

Πρότυπο SOD από ερυθροκύτταρα βοοειδών

Οξειδάση ξανθίνης: 50 μl αραιώθηκαν με 1,95 ml buffer.

Προετοιμασία δειγμάτων

Οι οροί παρέμειναν σε θερμοκρασία δωματίου ώστε να ξεπαγώσουν και στη συνέχεια έγινε 1:5 αραιώση με το ρυθμιστικό διάλυμα πριν γίνει η ανάλυση τους.

Πειραματική διαδικασία

Τα δείγματα καθώς και τα πρότυπα τοποθετήθηκαν σε μικρόπλακα τύπου Elisa 96 κελιών έτσι ώστε να μετρηθούν διπλά. Στη συνέχεια, 20 μl από το πρότυπο SOD αραιώθηκαν με 1,98 ml ρυθμιστικού διαλύματος δείγματος και προέκυψε το διάλυμα SOD. Σε 7 φιαλίδια σημειωμένα με τα γράμματα A-G προστέθηκε η ποσότητα του διαλύματος SOD και το αραιωμένο ρυθμιστικό διάλυμα δείγματος. Έπειτα, σε μικρόπλακα τύπου ELISA 96-κελιών προστέθηκαν 200 μl αραιωμένου ανιχνευτή ριζών με 10 μl προτύπου και 10 μl δείγματος στα υπόλοιπα κελιά. Η αντίδραση ξεκίνησε με την προσθήκη 20 μl αραιωμένης οξειδάσης της ξανθίνης σε όλα τα κελιά η οποία έγινε όσο το δυνατόν γρηγορότερα. Στη συνέχεια, η πλάκα κουνήθηκε για λίγα δευτερόλεπτα ώστε να γίνει καλή ανάμιξη και σκεπάστηκε. Τέλος, επώαστηκε σ' έναν αναδευτήρα για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και μετρήθηκε η απορρόφηση στα 450 nm.

Αναλύσεις

Υπολογίστηκε η μέση απορρόφηση του κάθε δείγματος και του κάθε πρότυπου. Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης χρησιμοποιήθηκε ο τύπος:

$$\text{SOD (U/ml)} = \left[\left(\frac{\text{sample LR - y-intercept}}{\text{slope}} \right) \times \frac{0.23 \text{ ml}}{0.01 \text{ ml}} \right] \times \text{sample dilution}$$

7.2.6.3 Προσδιορισμός ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας ορού (TAC)

Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του ορού μετρήθηκε χρησιμοποιώντας τη Μέθοδο Ισοδύναμης Αντιοξειδωτικής Ικανότητας Trolox (TEAC) (Miller et al., 1993), χρησιμοποιώντας εξειδικευμένο kit σύμφωνα με το πρωτόκολλο της κατασκευάστριας εταιρείας (Cayman Antioxidant Assay Kit, USA).

Αρχή μεθόδου

Η μέθοδος αυτή στηρίζεται στην ικανότητα των αντιοξειδωτικών του ορού να αναστείλουν την οξείδωση του 2,2'-αζινο-δισ(3-αιθυλβενζοθειαζολινο)-6-σουλφονικού οξέος (ABTS) στην κατιοντική ρίζα ABTS⁺ απ' το σύστημα σιδηρομυογλοβίνης. Μετρώντας την έκταση και τα χρονικά χαρακτηριστικά της αναστολής της οξείδωσης, προσδιορίζεται η αντιοξειδωτική δράση. Τα αντιοξειδωτικά του ορού αναστέλλουν την απορρόφηση στα 405 nm σε βαθμό ανάλογο της συγκέντρωσης τους (Miller and Rice-Evans, 2009). Η συγκέντρωση του ABTS⁺ υπολογίστηκε με φωτομέτρηση, μετρώντας την απορρόφηση στα 405 nm. Η ικανότητα των αντιοξειδωτικών στο δείγμα για την πρόληψη της οξείδωσης ABTS συγκρίνεται με εκείνη του Trolox, ενός υδατοδιαλυτού αναλόγου τοκοφερόλης και ποσοτικοποιείται ως ισοδύναμα Trolox.

Όργανα

Φασματοφωτόμετρο

Πιπέτες σταθερού και μεταβλητού όγκου

Παρασκευή αντιδραστηρίων

Ρυθμιστικό διάλυμα: 3 mL συμπυκνώματος ρυθμιστικού διαλύματος αραιώθηκαν με 27 ml απεσταγμένου νερού. Αυτό το αραιωμένο διάλυμα buffer (5 m M φωσφορικό κάλιο, Ph 7.4 που περιέχει γλωριούχο νάτριο) χρησιμοποιήθηκε για την ανασύσταση της μετμυογλοβίνης.

Χρωμογόνο: Για την ανασύσταση του χρωμογόνου, προστέθηκαν 6 ml απεσταγμένου νερού στα φιαλίδια που περιείχαν λυοφιλοποιημένη σκόνη ABTS και έγινε ανάμιξη σε vortex.

Μετμογλοβίνη: Για την ανασύσταση της μετμογλοβίνης, προστέθηκαν 600 μl buffer στο φιαλίδια με τη λυοφιλοποιημένη σκόνη μετμογλοβίνης και έγινε ανάμιξη σε vortex.

Trolox: Για την ανασύσταση του Trolox (6-υδροξυ-2,5,7,8-τετραμεθυλο-2-καρβοξυλικό οξύ), προστέθηκαν 1 ml απεσταγμένου νερού στα φιαλίδια με τη λυοφιλοποιημένη σκόνη Trolox και έγινε ανάμιξη σε vortex. Το διάλυμα Trolox χρησιμοποιήθηκε για την πρότυπη καμπύλη.

Υπεροξειδίου του υδρογόνου: Αραιώθηκαν 10 μL υπεροξειδίου του υδρογόνου με 990 μl απεσταγμένου νερού. Στη συνέχεια έγινε επιπλέον αραιώση απομακρύνοντας 20 μl και αραιώνοντας με 3.98 ml απεσταγμένου νερού έτσι ώστε να προκύψει διάλυμα 441 μM.

Προετοιμασία δειγμάτων

Οι οροί παρέμειναν σε θερμοκρασία δωματίου ώστε να ξεπαγώσουν και στη συνέχεια έγινε 1:20 αραιώση με το ρυθμιστικό διάλυμα πριν γίνει η ανάλυση τους.

Πειραματική διαδικασία

Παρασκευάστηκαν 7 πρότυπα Trolox σε 7 φιαλίδια τα οποία είχαν τη σήμανση A-G. Η παρασκευή έγινε με προσθήκη του Trolox που παρασκευάστηκε παραπάνω μαζί με το ρυθμιστικό διάλυμα. Τα δείγματα καθώς και τα πρότυπα Trolox τοποθετήθηκαν σε μικρόπλακα τύπου Elisa 96 κελιών έτσι ώστε να μετρηθούν διπλά. Στη συνέχεια, στα κελιά της πλάκας προστέθηκαν 10 μl απ' το αντίστοιχο πρότυπο Trolox, 10 μl μετμογλοβίνης και 150 μl χρωμογόνου. Έπειτα, στα κελιά των δειγμάτων προστέθηκαν 10 μl δείγματος, 10 μl μετμογλοβίνης και 150 μl χρωμογόνου. Η αντίδραση ξεκινάει αφού προστέθηκαν σε όλες τις κυψελίδες 40 μl υπεροξειδίου του υδρογόνου που παρασκευάστηκε παραπάνω. Η διαδικασία αυτή έγινε μέσα σε 1 λεπτό. Η πλάκα καλύφθηκε και επώαστηκε σ' έναν αναδευτήρα για 5 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Τέλος, μετρήθηκε η απορρόφηση στα 405 nm.

Αναλύσεις

Υπολογίστηκε η μέση απορρόφηση του κάθε δείγματος και του κάθε πρότυπου και φτιάχτηκε η πρότυπη καμπύλη όπου στον οριζόντιο άξονα είναι η τελική συγκέντρωση Trolox (m M) και στον κάθετο άξονα είναι η απορρόφηση. Στη συνέχεια, υπολογίστηκε η συγκέντρωση αντιοξειδωτικών των δειγμάτων, χρησιμοποιώντας την εξίσωση που προέκυψε από την γραμμική παλινδρόμηση της πρότυπης καμπύλης.

$$\text{Antioxidant (mM)} = \left[\frac{(\text{Sample average absorbance}) - (\text{y-intercept})}{\text{Slope}} \right] \times \text{Dilution}$$

7.2.7 Σχεδιασμός μεγέθους του δείγματος

Η ανάλυση ισχύος έγινε για συγκρίσεις μεταξύ δυο ομάδων την ίδια χρονική στιγμή (between-subject) αλλά και για συγκρίσεις μεταξύ δυο χρονικών στιγμών στην ίδια ομάδα (within-subject), με τη χρήση της ανάλυσης διακύμανσης με επαναληπτικές μετρήσεις (Repeated Measures ANOVA). Γι' αυτό το σχεδιασμό, το σύνολο των 68 συμμετεχόντων (34 ανά ομάδα) παρέχει 0,95 ισχύ με μέγεθος επίδρασης ίσο με 0,25 για τη σύγκριση μεταξύ των ομάδων και 0,95 ισχύ με μέγεθος επίδρασης ίσο με 0,22 για τη σύγκριση μεταξύ δυο χρονικών στιγμών.

7.2.8 Στατιστική ανάλυση

Με τη χρήση του κριτηρίου Kolmogorov-Smirnov ελέγχθηκαν οι κατανομές των ποσοτικών μεταβλητών ως προς την κανονικότητα της κατανομής τους. Για εκείνες που κατανέμονταν κανονικά χρησιμοποιήθηκαν οι μέσες τιμές (mean) και οι τυπικές αποκλίσεις (Standard Deviation=SD) για την περιγραφή τους, ενώ για εκείνες που δεν κατανέμονταν κανονικά χρησιμοποιήθηκαν επιπλέον και οι διάμεσοι (median) και τα ενδοτεταρτημοριακά εύρη (interquartile range). Οι απόλυτες (N) και οι σχετικές (%) συχνότητες χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή των ποιοτικών μεταβλητών. Για τη σύγκριση αναλογιών χρησιμοποιήθηκε το Pearson's χ^2 test ή το Fisher's exact test όπου ήταν απαραίτητο. Για τη σύγκριση ποσοτικών μεταβλητών μεταξύ δυο ομάδων χρησιμοποιήθηκε το Student's t-test. Η ανάλυση διασποράς για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (ANOVA) χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να ελεγχθούν διαφορές στις μετρήσεις μεταξύ των ομάδων αλλά και χρονικά. Επίσης, με την ανωτέρω μέθοδο εκτιμήθηκε αν ο βαθμός μεταβολής στο χρόνο των υπό μελέτη παραμέτρων ήταν διαφορετικός μεταξύ των δυο ομάδων. Στις περιπτώσεις όπου υπήρξε ασυμμετρία κατανομών, χρησιμοποιήθηκαν οι λογαριθμικοί μετασχηματισμοί των μεταβλητών στην μέθοδο επαναλαμβανόμενων μετρήσεων ANOVA. Για να βρεθούν οι παράγοντες που επηρεάζουν τη μεταβολή της έντασης και του MML των εμβόων χρησιμοποιήθηκαν μεικτά γραμμικά μοντέλα (linear mixed models) από τα οποία προέκυψαν συντελεστές εξάρτησης (β) και τα τυπικά σφάλματά τους (standard errors=SE). Τα επίπεδα σημαντικότητας είναι αμφίπλευρα και η στατιστική σημαντικότητα τέθηκε στο 0,05. Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 22.0.

7.3 Αποτελέσματα

7.3.1 Αρχικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων

Το δείγμα αποτελείται από 63 άτομα, τα 34 εκ των οποίων (54,0%) ακολούθησαν την παρέμβαση με τα αντιοξειδωτικά συμπληρώματα και τα υπόλοιπα 29 (46,0%) ακολούθησαν την παρέμβαση με το εικονικό φάρμακο (placebo). Στον πίνακα που ακολουθεί, δίνονται τα δημογραφικά στοιχεία των συμμετεχόντων καθώς και οι καπνιστικές τους συνήθειες, για κάθε ομάδα χωριστά (Πίνακας 7.3). Οι δύο ομάδες δε διέφεραν όσον αφορά τα δημογραφικά χαρακτηριστικά και τις καπνιστικές τους συνήθειες ($p>0,05$).

Πίνακας 7.3 Δημογραφικά χαρακτηριστικά και καπνιστικές συνήθειες των συμμετεχόντων στις 2 ομάδες κατά την ένταξή τους στη μελέτη.

	Ομάδα				P ⁺	
	Placebo		Αντιοξειδωτικά			
	N	%	N	%		
Ηλικία, μέση τιμή (SD)	59,2 (13,5)		56,5 (12,4)		0,416 [‡]	
Φύλο	Άντρες	16	55,2	25	73,5	0,128
	Γυναίκες	13	44,8	9	26,5	
	Έγγαμοι	18	62,1	21	61,8	
Οικογενειακή κατάσταση	Άγαμοι	5	17,2	8	23,5	0,182 ⁺⁺
	Χήροι	5	17,2	1	2,9	
	Διαζευγμένοι	1	3,4	4	11,8	
Μορφωτικό επίπεδο	ΠΕ	10	34,5	4	11,8	0,093
	ΔΕ	10	34,5	17	50,0	
	ΤΕ	9	31,0	13	38,2	
Επάγγελμα	Άνεργοι	1	3,4	3	8,8	0,354 ⁺⁺
	Συνταξιούχοι	10	34,5	11	32,4	
	Ελ. επαγγελματίες	3	10,3	3	8,8	
	Δημ. υπάλληλοι	1	3,4	5	14,7	
	Ιδ. υπάλληλοι	7	24,1	10	29,4	
	Φοιτητές	1	3,4	0	0,0	
Κάπνισμα	Οικιακά	6	20,7	2	5,9	0,671
	Όχι	14	48,3	14	41,2	
	Ναι	5	17,2	9	26,5	
	Στο παρελθόν	10	34,5	11	32,4	
Παθητικό κάπνισμα	Όχι	24	82,8	25	73,5	0,380
	Ναι	5	17,2	9	26,5	

⁺Pearson's χ^2 test ⁺⁺Fisher's exact test [‡]Student's t-test

Η μέση ηλικία των συμμετεχόντων της ομάδας παρέμβασης με τα αντιοξειδωτικά ήταν τα 56,5 έτη (SD=12,4 έτη) και των ατόμων της ομάδας παρέμβασης με το εικονικό φάρμακο ήταν τα 59,2 έτη (SD=13,5 έτη).

Επίσης, η πλειονότητα και των δύο ομάδων ήταν άντρες με τα ποσοστά να είναι 55,2% και 73,5% για την ομάδα εικονικού φαρμάκου και αντιοξειδωτικών αντίστοιχα. Επίσης, οι περισσότεροι από τους συμμετέχοντες ήταν συνταξιούχοι, δεν κάπνιζαν και δεν εκτίθονταν σε παθητικό κάπνισμα.

Στοιχεία που αφορούν στο ιατρικό ιστορικό των συμμετεχόντων δίνονται στον πίνακα που ακολουθεί, ξεχωριστά για κάθε ομάδα (**Πίνακας 7.4**). Τα ποσοστά υπερχοληστερολαιμίας, διαβήτη τύπου II, υπέρτασης και υποθυρεοειδισμού ήταν παρόμοια στις δύο ομάδες. Επίσης, οι αιματολογικοί και βιοχημικοί δείκτες των συμμετεχόντων δε διέφεραν μεταξύ των δύο ομάδων στην έναρξη της μελέτης (**Πίνακας 7.5**).

Πίνακας 7.4 Συνοδά νοσήματα των συμμετεχόντων στις 2 ομάδες κατά την έναρξή τους στη μελέτη.

		Ομάδα				P ⁺
		Placebo		Αντιοξειδωτικά		
		N	%	N	%	
Υπερχοληστερολαιμία	Όχι	16	55,2	25	67,6	0,310
	Ναι	13	44,8	11	32,4	
Διαβήτης 2	Όχι	26	89,7	33	97,1	0,326 ⁺⁺
	Ναι	3	10,3	1	2,9	
Υπέρταση	Όχι	17	58,6	26	76,5	0,129
	Ναι	12	41,4	8	23,5	
Υποθυρεοειδισμός	Όχι	22	75,9	31	91,2	0,165 ⁺⁺
	Ναι	7	24,1	3	8,8	

⁺Pearson's χ^2 test ⁺⁺Fisher's exact test

Πίνακας 7.5 Αιματολογικοί και βιοχημικοί δείκτες των συμμετεχόντων στις 2 ομάδες κατά την ένταξή τους στη μελέτη.

	Ομάδα				P ⁺
	Placebo		Αντιοξειδωτικά		
	Μέση τιμή	SD	Μέση τιμή	SD	
Ουρικό οξύ (mg/dl)	5,19	1,04	5,30	0,87	0,695
Ουρία (mg/dl)	37,7	12,2	33,1	9,5	0,104
Κρεατινίνη (mg/dl)	0,85	0,15	0,85	0,16	0,963
Νάτριο (mmol/L)	141,3	1,5	141,5	2,1	0,662
Κάλιο (mmol/L)	4,36	0,42	4,45	0,37	0,453
AST (IU/L)	20,8	6,1	20,8	6,1	0,970
ALT (IU/L)	35,3	12,3	35,6	14,3	0,934
γ-GT (IU/L)	36,7	19,2	35,3	16,7	0,806
Ολική χολερυθρίνη (mg/dl)	0,62	0,35	0,55	0,26	0,432
Ολικά λευκώματα (g/dl)	7,61	0,54	7,63	0,42	0,900
Αλβουμίνη (g/dl)	4,16	0,36	4,24	0,28	0,421
Ασβέστιο (mg/dl)	9,24	0,29	9,19	0,40	0,568
Φωσφορος (mg/dl)	3,47	0,54	3,32	0,51	0,345
TKE (mm)	14,4	9,5	10,6	9,1	0,200
Hba1c (%)	5,69	0,51	5,66	0,32	0,850
Φερριτίνη (ng/ml)	68,4	46,4	82,0	49,9	0,490
TSH (Miu/ml)	1,61	1,03	1,48	0,73	0,653
Free T3 (ng/dl)	4,60	1,90	4,84	0,92	0,632
Free T4 (μg/dl)	8,13	7,40	11,80	6,45	0,111
Γλυκόζη (mg/dl)	93,8	12,8	96,7	14	0,422
Χοληστερόλη (mg/dl)	208	39,8	202,9	43,3	0,664
HDL (mg/dl)	59,9	16,2	55	13,7	0,258
LDL (mg/dl)	116,5	32	130,7	36,3	0,162
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	153,1	150	93,7	37,9	0,083
Αθηρωματικός δείκτης	3,84	1,48	3,89	0,86	0,876
CRP (mg/L)	2,6	2,67	2,24	1,54	0,585

⁺ Student's t-test

Οι δύο ομάδες δε διέφεραν όσον αφορά τα ανθρωπομετρικά δεδομένα (**Πίνακας 7.6**) και τα επίπεδα σωματικής δραστηριότητας (**Πίνακας 7.7**). Επίσης, παρόμοιες ήταν οι βαθμολογίες των συμμετεχόντων στις κλίμακες HADS και CES-D πριν την παρέμβαση και στις δύο ομάδες (**Πίνακας 7.8**).

Πίνακας 7.6 Ανθρωπομετρικά δεδομένα των συμμετεχόντων στις 2 ομάδες κατά την ένταξή τους στη μελέτη.

	Ομάδα				P ⁺
	Placebo		Αντιοξειδωτικά		
	Μέση τιμή	SD	Μέση τιμή	SD	
BMI (kg/m²)	27	5,5	27,8	4,3	0,562
Περ. μέσης (cm)	96,9	9,4	101,9	10,8	0,061
Περ. γοφών (cm)	104,4	7,9	104,2	8,9	0,910

⁺ Student's t-test

Πίνακας 7.7 Σωματική δραστηριότητα των συμμετεχόντων στις 2 ομάδες κατά την ένταξή τους στη μελέτη.

		Ομάδα				P
		Placebo		Αντιοξειδωτικά		
		N	%	N	%	
MET-minutes/week, μέση τιμή (SD)		2582,4 (2251,0)		2158,3 (2262,4)		0,460 ⁺
Επίπεδο σωματικής δραστηριότητας	Χαμηλό	8	27,6	12	35,3	0,276 ⁺
	Μέτριο	3	10,3	10	29,4	
	Υψηλό	2	6,9	11	32,4	

⁺ Student's t-test

Πίνακας 7.8 Σκορ στις κλίμακες HADS και CES-D των συμμετεχόντων στις 2 ομάδες κατά την ένταξή τους στη μελέτη.

	Ομάδα				P ⁺
	Placebo		Αντιοξειδωτικά		
	Μέση τιμή	SD	Μέση τιμή	SD	
HADS-A	5,9	4,9	4,5	3,3	0,175
HADS-D	4,1	3,6	4,0	3,5	0,965
CES-D	12,4	9,3	16,1	10,5	0,156

⁺ Student's t-test

Τα χαρακτηριστικά των εμβοών ήταν παρόμοια στις δύο ομάδες στην έναρξη της μελέτης ($p>0,05$) (Πίνακας 7.9). Οι δύο ομάδες δε διέφεραν ως προς τη διάρκεια και την ηλικία έναρξης των εμβοών, τον αριθμό προηγούμενων θεραπειών και το οικογενειακό ιστορικό εμβοών και απώλειας ακοής.

Πίνακας 7.9 Ποιοτικά στοιχεία των εμβοών των συμμετεχόντων στις 2 ομάδες κατά την ένταξή τους στη μελέτη.

		Ομάδα				P ⁺
		Placebo		Αντιοξειδωτικά		
		N	%	N	%	
Διάρκεια εμβοών	<1 έτος	3	10,3	3	8,8	0,547 ⁺⁺
	1-2 έτη	4	13,8	9	26,5	
	2-3 έτη	3	10,3	5	14,7	
	3-5 έτη	9	31,0	6	17,6	
	5-10 έτη	2	6,9	5	14,7	
	>10 έτη	8	27,6	6	17,6	
Εμφάνιση	Σταδιακή	14	48,3	15	44,1	0,741
	Απότομη	15	51,7	19	55,9	
Αντιληπτές όλη την ημέρα	Όχι	7	24,1	10	29,4	0,638
	Ναι	22	75,9	24	70,6	
Εντόπιση	Δεξιά	3	10,3	3	8,8	0,603 ⁺⁺
	Αριστερά	12	41,4	9	26,5	
	Άμφω	13	44,8	20	58,8	
	Μέσα στο κεφάλι	1	3,4	2	5,9	
Ιστορικό έκθεσης σε θόρυβο	Όχι	17	58,6	16	47,1	0,360
	Ναι	12	41,4	18	52,9	
Το ίδιο δυνατές όλες τις ημέρες	Όχι	15	51,7	17	50,0	0,891
	Ναι	14	48,3	17	50,0	
Περιγραφή εμβοών	Σφύριγμα	14	48,3	18	52,9	0,493 ⁺⁺
	Θόρυβος	0	0,0	2	5,9	
	Τζιτζίκια	8	27,6	7	20,6	
	Φύσημα	2	6,9	3	8,8	
	Βόμβος	3	10,3	2	5,9	
	Άλλο	2	6,9	0	0,0	
	Μέλισσες	0	0,0	2	5,9	
Αριθμός προηγούμενων θεραπειών	0	11	37,9	21	61,8	0,063 ⁺⁺
	1	15	51,7	8	23,5	
	2	1	3,4	4	11,8	
	3	2	6,9	1	2,9	
Ηλικία έναρξης των εμβοών, μ.ο (SD)		54	(14,3)	48,2	(15,7)	0,138 [‡]
Οικογενειακό ιστορικό εμβοών		5	17,9	6	17,6	1,000 ⁺⁺
Οικογενειακό ιστορικό απώλειας ακοής		7	25	5	14,7	0,307

⁺Pearson's χ^2 test ⁺⁺Fisher's exact test [‡]Student's t-test

Επίσης, οι δύο ομάδες δε διέφεραν ως προς τη βαθμολογία στο THI, την ένταση, τη συχνότητα και το MML των εμβοών καθώς και ως προς την απώλεια ακοής στην έναρξη της μελέτης ($p>0,05$) (Πίνακας 7.10).

Πίνακας 7.10 Στοιχεία εμβοών και κατηγοριοποίηση ακοής των συμμετεχόντων στις 2 ομάδες κατά την έναρξή τους στη μελέτη.

	Ομάδα				P ⁺
	Placebo		Αντιοξειδωτικά		
	Μέση τιμή	SD	Μέση τιμή	SD	
THI	40,6	27,7	31,6	19,3	0,139
Ένταση εμβοών (db)	47,1	20,5	45	15,3	0,649
Συχνότητα εμβοών (Hz)	4431	3078,3	5562,5	3027,7	0,147
MML (db)	49,3	22,5	57,9	18,9	0,110
Κατηγοριοποίηση ακοής					
<i>Φυσιολογική ακοή, N (%) (στη συμβατική ακοομετρία και στις υψηλές συχνότητες)</i>	10 (35,7)		16 (47,1)		
<i>Ήπια απώλεια ακοής, N (%) (στη συμβατική ακοομετρία)</i>	14 (50)		13 (38,2)		0,651 ⁺⁺
<i>Μέτρια απώλεια ακοής, N (%) (στη συμβατική ακοομετρία)</i>	4 (14,3)		5 (14,7)		
<i>Απώλεια ακοής, N (%) (στην ακοομετρία υψηλών συχνοτήτων)</i>	11 (37,9)		9 (26,5)		

⁺ Student's t-test ⁺⁺ Fisher's exact test

Στοιχεία που αφορούν στη διατροφή των συμμετεχόντων στην έναρξη της μελέτης δίνονται στον παρακάτω πίνακα, ξεχωριστά για κάθε ομάδα (Πίνακας 7.11). Ο δείκτης υιοθέτησης της Μεσογειακής Διατροφής MedDietScore ήταν παρόμοιος στις δύο ομάδες. Επίσης, δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στη συχνότητα κατανάλωσης καφέ, τσαγιού και σοκολάτας μεταξύ των δύο ομάδων. Αντίθετα, βρέθηκε σημαντική διαφορά στη συχνότητα κατανάλωσης κρασιού, με τους συμμετέχοντες της ομάδας εικονικού φαρμάκου να το καταναλώνουν σε μεγαλύτερη συχνότητα.

Πίνακας 7.11 MedDietScore και συχνότητα κατανάλωσης τροφίμων πλούσιων σε αντιοξειδωτικά των συμμετεχόντων στις 2 ομάδες κατά την ένταξή τους στη μελέτη.

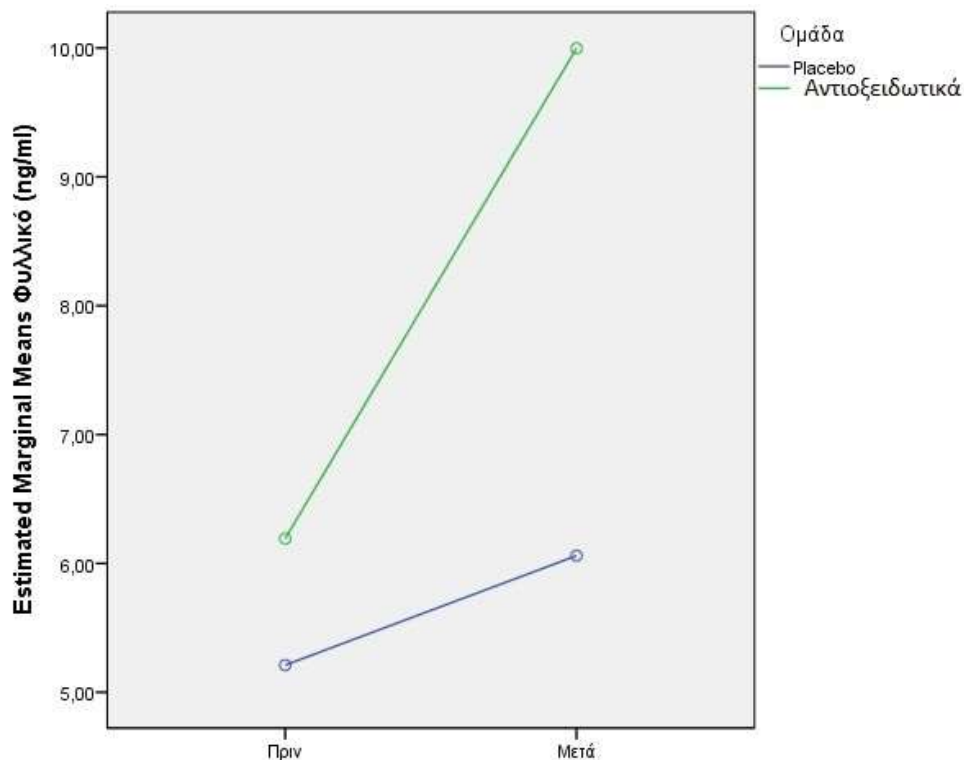
		Ομάδα				P
		Placebo		Αντιοξειδωτικά		
		N	%	N	%	
MedDietScore, μέση τιμή (SD)		31,0 (3,6)		31,2 (5,6)		0,825 ⁺
Συχνότητα κατανάλωσης καφέ	Ποτέ/σπάνια	3	10,3	6	17,6	0,545 ⁺⁺
	1-3 φορές/μήνα	4	13,8	1	2,9	
	1-2 φορές/εβδομάδα	3	10,3	3	8,8	
	3-6 φορές/εβδομάδα	1	3,4	4	11,8	
	1 φορά/ημέρα	5	17,2	6	17,6	
	>=2 φορές/ημέρα	13	44,8	14	41,2	
Συχνότητα κατανάλωσης τσαγιού κ.α	Ποτέ/σπάνια	8	27,6	17	50,0	0,329 ⁺⁺
	1-3 φορές/μήνα	7	24,1	3	8,8	
	1-2 φορές/εβδομάδα	3	10,3	3	8,8	
	3-6 φορές/εβδομάδα	5	17,2	5	14,7	
	1 φορά/ημέρα	6	20,7	5	14,7	
	>=2 φορές/ημέρα	0	0,0	1	2,9	
Συχνότητα κατανάλωσης σοκολάτας	Ποτέ/σπάνια	8	27,6	11	32,4	0,683 ⁺⁺
	1-3 φορές/μήνα	5	17,2	10	29,4	
	1-2 φορές/εβδομάδα	12	41,4	10	29,4	
	3-6 φορές/εβδομάδα	2	6,9	2	5,9	
	1 φορά/ημέρα	2	6,9	1	2,9	
	>=2 φορές/ημέρα	0	0,0	0	0,0	
Συχνότητα κατανάλωσης κρασιού	Ποτέ/σπάνια	10	34,5	6	17,6	0,036 ⁺⁺
	1-3 φορές/μήνα	9	31,0	9	26,5	
	1-2 φορές/εβδομάδα	4	13,8	13	38,2	
	3-6 φορές/εβδομάδα	1	3,4	3	8,8	
	1 φορά/ημέρα	1	3,4	3	8,8	
	>=2 φορές/ημέρα	4	13,8	0	0,0	

⁺Student's t-test ⁺⁺Fisher's exact test

7.3.2 Αιματολογικοί/βιοχημικοί δείκτες και επίπεδα βιταμινών πριν και μετά την παρέμβαση

Οι αιματολογικοί και βιοχημικοί δείκτες των συμμετεχόντων δε μεταβλήθηκαν σημαντικά μετά την παρέμβαση σε καμία απ' τις δύο ομάδες (Πίνακας 7.12). Μόνη εξαίρεση αποτελεί η LDL, όπου αυξήθηκε σημαντικά μόνο στην ομάδα των αντιοξειδωτικών.

Τα επίπεδα βιταμινών και μετάλλων στο αίμα δε μεταβλήθηκαν σημαντικά μετά την παρέμβαση σε καμία από τις ομάδες, με εξαιρέσεις το φυλλικό οξύ και τις βιταμίνες B1, B2, B6 και D, οι οποίες αυξήθηκαν σημαντικά μόνο στην ομάδα των αντιοξειδωτικών (Πίνακας 7.13). Επίσης, ο βαθμός μεταβολής των επιπέδων φυλλικού οξέος στο αίμα διέφερε σημαντικά μεταξύ των δύο ομάδων ($p < 0,05$). Η μεταβολή του φυλλικού οξέος φαίνεται στο παρακάτω σχήμα (Γράφημα 7.1).



Γράφημα 7.1 Μεταβολή των επιπέδων φυλλικού οξέος στις 2 ομάδες μετά την παρέμβαση

Πίνακας 7.12 Μεταβολές στους αιματολογικούς και βιοχημικούς δείκτες στους συμμετέχοντες των 2 ομάδων μετά την παρέμβαση

	Ομάδα	Πριν		Μετά		Μεταβολή	P ¹	P ²
		Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (ενδ. εύρος)	Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (ενδ. εύρος)	Μέση τιμή (SD)		
Αιματοκρίτης (%)	Placebo	42,1 (3,3)	43,2 (40,1 – 44,1)	41,3 (4,3)	42 (39,2 – 44,2)	-0,8 (4,3)	0,924	0,369
	Αντιοξειδωτικά	43,7 (3,4)	44,5 (42,7 – 45,7)	42,7 (3,4)	43,6 (41 – 45,3)	-1,1 (2,5)	0,124	
Χοληστερόλη (mg/dl)	Placebo	208 (39,8)	208 (177 – 238)	221,1 (20,3)	216,5 (206,5 – 234)	13,1 (20,5)	0,737	0,577
	Αντιοξειδωτικά	202,9 (43,3)	190 (177,5 – 240)	214,1 (41,2)	212 (175 – 246)	11,2 (24,5)	0,179	
HDL (mg/dl)	Placebo	59,9 (16,2)	57 (46 – 74)	55 (13,2)	53 (45,5 – 65,5)	-4,9 (10,4)	0,687	0,178
	Αντιοξειδωτικά	55 (13,7)	53 (48 – 58)	56,5 (15,4)	58 (45 – 65)	1,5 (7)	0,097	
LDL (mg/dl)	Placebo	116,5 (32)	114 (92 – 143)	140,4 (20,4)	146 (120 – 151,5)	23,9 (19,7)	0,059	0,849
	Αντιοξειδωτικά	130,7 (36,3)	117 (108 – 159)	143 (35,2)	142 (120 – 178)	12,3 (23,3)	0,026	
Τριγλυκερίδια (mg/dl)	Placebo	153,1 (150)	93 (75 – 166)	129,4 (52)	118,5 (92 – 156)	-23,8 (28,7)	0,083	0,205
	Αντιοξειδωτικά	93,7 (37,9)	95 (66 – 119)	89 (34,4)	89 (67 – 100)	-4,7 (40,4)	0,835	
Αθηρωματικός δείκτης	Placebo	3,84 (1,48)	3,4 (2,9 – 4,4)	4,25 (1,24)	4 (3,4 – 4,75)	0,41 (1,58)	0,637	0,123
	Αντιοξειδωτικά	3,89 (0,86)	3,6 (3,3 – 4,4)	4,09 (1,27)	3,7 (3,2 – 4,8)	0,2 (0,7)	0,057	
Σάκχαρο (mg/dl)	Placebo	93,8 (12,8)	89 (87 – 102)	96,4 (17,2)	89,5 (87 – 106)	2,6 (10,5)	0,087	0,153
	Αντιοξειδωτικά	96,7 (14)	94 (87 – 102)	90,8 (10,3)	87 (84 – 98)	-5,9 (8,8)	0,915	
CRP (mg/L)	Placebo	2,6 (2,67)	1,6 (1,1 – 2,9)	4,85 (4,1)	3,45 (2,2 – 6,9)	2,3 (2,4)	0,970	0,710
	Αντιοξειδωτικά	2,24 (1,54)	1,75 (1,1 – 3,05)	2,71 (2,12)	2,2 (1,4 – 3,4)	0,5 (3,1)	0,510	

¹p-value για την επίδραση της παρέμβασης (με χρήση λογαριθμικών μετασχηματισμών) ²p-value από επαναλαμβανόμενες μετρήσεις ANOVA. Διαφορές στη μεταβολή από τη μια μέτρηση στην άλλη μεταξύ των ομάδων (με χρήση λογαριθμικών μετασχηματισμών).

Πίνακας 7.13 Μεταβολές στα επίπεδα βιταμινών και μετάλλων στο αίμα στους συμμετέχοντες των 2 ομάδων μετά την παρέμβαση

	Ομάδα	Πριν	Μετά	Μεταβολή	P ¹	P ²
		Μέση τιμή (SD)	Μέση τιμή (SD)	Μέση τιμή (SD)		
Μαγνήσιο (mg/dl)	Placebo	2,06 (0,11)	2,03 (0,1)	-0,03 (0,16)	0,834	0,355
	Αντιοξειδωτικά	2,01 (0,12)	2,07 (0,16)	0,06 (0,17)	0,066	
Ψευδάργυρος (μg/dl)	Placebo	105,8 (14,8)	98,6 (11)	-7,1 (12,7)	0,128	0,148
	Αντιοξειδωτικά	111,6 (15,4)	112 (15,7)	0,5 (23,4)	0,777	
B12 (pg/ml)	Placebo	465,3 (330,6)	358,3 (167,8)	-106,9 (378,2)	0,080	0,095
	Αντιοξειδωτικά	359,8 (130,3)	411,9 (98,5)	52,1 (110,5)	0,657	
Φυλλικό (ng/ml)	Placebo	8,16 (4,99)	6,45 (2,14)	-1,71 (1,13)	0,463	0,049
	Αντιοξειδωτικά	8,65 (5,21)	11,31 (5,41)	2,66 (4,29)	0,001	
Σίδηρος (μg/dl)	Placebo	128,2 (42,1)	118,5 (62,5)	-9,6 (65,6)	0,963	0,309
	Αντιοξειδωτικά	117,8 (36,2)	104,7 (41)	-13,1 (36)	0,134	
Σελήνιο (μg/l)	Placebo	76,5 (11,8)	68,2 (7)	-8,3 (15,4)	0,080	0,095
	Αντιοξειδωτικά	78,4 (9,5)	80,1 (11,3)	1,7 (13,4)	0,730	
Βιταμίνη E (mg/l)	Placebo	12,09 (0,94)	11,68 (1,04)	-0,41 (0,79)	0,908	0,798
	Αντιοξειδωτικά	11,42 (1,16)	11,92 (1,15)	0,5 (1,56)	0,411	
Βιταμίνη C (μg/l)	Placebo	6,73 (1,65)	7,03 (2,73)	0,31 (3,65)	0,324	0,530
	Αντιοξειδωτικά	7,25 (1,82)	7,73 (2,41)	0,48 (3,22)	0,509	
Βιταμίνη B2 (μg/l)	Placebo	220 (22,4)	223,6 (18)	3,6 (11,1)	0,918	0,326
	Αντιοξειδωτικά	221,7 (25,2)	238,4 (26,6)	16,7 (32,4)	0,039	
Βιταμίνη B1 (μg/l)	Placebo	55 (12,4)	56,8 (14,8)	1,8 (27,2)	0,757	0,468
	Αντιοξειδωτικά	50,4 (11,1)	61,5 (13,5)	11,1 (17,7)	0,023	
Βιταμίνη B6 (μg/l)	Placebo	21,5 (3,6)	22,8 (5,6)	1,3 (6)	0,911	0,463
	Αντιοξειδωτικά	24,2 (17,2)	35,6 (12,9)	11,4 (19,9)	0,050	
Βιταμίνη D (ng/ml)	Placebo	0,32 (0,23)	0,28 (0,13)	-0,05 (0,16)	0,657	0,079
	Αντιοξειδωτικά	0,32 (0,22)	0,4 (0,42)	0,08 (0,36)	0,032	

¹p-value για την επίδραση της παρέμβασης ²p-value από επαναλαμβανόμενες μετρήσεις ANOVA. Διαφορές στη μεταβολή από τη μια μέτρηση στην άλλη μεταξύ των ομάδων

7.3.3 Ανθρωπομετρικά δεδομένα και διατροφικά στοιχεία πριν και μετά την παρέμβαση

Δεν υπήρξαν σημαντικές μεταβολές στα ανθρωπομετρικά στοιχεία των συμμετεχόντων μετά την παρέμβαση σε καμία από τις δύο ομάδες (**Πίνακας 7.14**). Επίσης, η σύσταση της διατροφής σε μακρο- και μικροθρεπτικά συστατικά δεν άλλαξε μετά την παρέμβαση σε καμία από τις δύο ομάδες. Μόνο η α-τοκοφερόλη βρέθηκε να αυξάνεται σημαντικά μετά την παρέμβαση στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου (**Πίνακας 7.15**).

Πίνακας 7.14 Μεταβολές στα ανθρωπομετρικά στοιχεία στους συμμετέχοντες των 2 ομάδων μετά την παρέμβαση

	Ομάδα	Πριν	Μετά	Μεταβολή	P ¹	P ²
		Μέση τιμή (SD)	Μέση τιμή (SD)	Μέση τιμή (SD)		
Βάρος (kg)	Placebo	77 (12,8)	74,7 (14,7)	-2,3 (11,7)	0,098	0,120
	Αντιοξειδωτικά	83 (14,2)	84,1 (14,3)	1,1 (2,2)	0,632	
BMI	Placebo	27 (5,5)	26,2 (4,6)	-0,8 (5)	0,083	0,125
	Αντιοξειδωτικά	27,8 (4,3)	28 (4,2)	0,2 (0,7)	0,724	
Περίμετρος μέσης (cm)	Placebo	96,9 (9,4)	97,7 (10,1)	0,8 (2,9)	0,471	0,722
	Αντιοξειδωτικά	101,9 (10,8)	103 (10,6)	1,1 (3,4)	0,800	
Περίμετρος γοφών (cm)	Placebo	104,4 (7,9)	104,6 (8,5)	0,2 (1)	0,726	0,140
	Αντιοξειδωτικά	104,2 (8,9)	104,6 (9)	0,4 (1,2)	0,092	

¹p-value για την επίδραση της παρέμβασης ²p-value από επαναλαμβανόμενες μετρήσεις ANOVA. Διαφορές στη μεταβολή από τη μια μέτρηση στην άλλη μεταξύ των ομάδων.

Πίνακας 7.15 Μεταβολές στην πρόσληψη μακρο- και μικροθρεπτικών συστατικών στους συμμετέχοντες των 2 ομάδων μετά την παρέμβαση

	Ομάδα	Πριν		Μετά		Μεταβολή	P ¹	P ²
		Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (ενδ. εύρος)	Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (ενδ. εύρος)	Μέση τιμή (SD)		
Ενέργεια (kcal)	Placebo	1500,5 (534,4)	1371,8 (1086,3 – 1678)	1488,8 (480,9)	1382,6 (1200 – 1567)	-11,7 (231,8)	0,622	0,123
	Αντιοξειδωτικά	1637,1 (646,3)	1388,9 (1172 – 1910)	1488,4 (380,7)	1484,3 (1144 – 1741)	-148,6 (595,8)	0,077	
Πρωτεΐνες (γρ)	Placebo	64,9 (27,1)	58,8 (46,5 – 80)	64,8 (26,9)	57,8 (50 – 80,2)	-0,1 (10,4)	0,852	0,168
	Αντιοξειδωτικά	64,7 (32)	53,6 (45 – 70)	55,9 (20,9)	51,9 (42,3 – 67,9)	-8,9 (34,7)	0,063	
Υδατάνθρακες (γρ)	Placebo	111,4 (66,1)	100 (64,7 – 125,2)	122,3 (69,3)	110,3 (83,4 – 134)	10,9 (31,7)	0,401	0,099
	Αντιοξειδωτικά	146,9 (89,6)	114,4 (94,6 – 157,1)	128,8 (58,4)	120 (91,4 – 149,3)	-18,1 (75,5)	0,121	
Λιπαρά (γρ)	Placebo	75,3 (34,6)	69,1 (60 – 77,5)	70,2 (31,1)	67 (50 – 75,6)	-5,1 (11,2)	0,975	0,535
	Αντιοξειδωτικά	80,9 (28,5)	75,3 (65 – 100)	78,1 (25,6)	80 (60 – 94,1)	-2,8 (24,9)	0,368	
β-καροτένιο (μg)	Placebo	2082,2 (3341,2)	269,1 (68,5 – 3615)	1892,4 (2838,9)	590,3 (125,1 – 2610,9)	-189,8 (1130,5)	0,074	0,247
	Αντιοξειδωτικά	1238,2 (2404)	149,9 (75,8 – 759,9)	2458,4 (8054,4)	265,4 (74,5 – 1180,3)	1220,3 (7810,3)	0,729	
Βιταμίνη Α (μg)	Placebo	329 (326,9)	212,4 (124,8 – 460,6)	305,4 (229,7)	242,9 (140,6 – 366)	-23,6 (228,4)	0,177	0,252
	Αντιοξειδωτικά	257,9 (229,5)	192,7 (118,5 – 281,4)	444,7 (868,3)	172,6 (90,1 – 337,5)	186,8 (813,6)	0,860	
α-τοκοφερολη (mg)	Placebo	7,35 (6,2)	5,53 (4,35 – 9,71)	7,96 (5,76)	5,9 (4,32 – 9,5)	0,61 (4,72)	0,047	0,378
	Αντιοξειδωτικά	7,49 (7,04)	5,84 (4,39 – 8,37)	8,02 (5,89)	6,23 (4,82 – 8,26)	0,52 (4,27)	0,306	
Βιταμίνη C (mg)	Placebo	66,8 (81,5)	36,6 (15,7 – 89,6)	79,7 (105,7)	36,6 (13,6 – 111,9)	12,9 (52,9)	0,485	0,297
	Αντιοξειδωτικά	60,9 (58,7)	40,7 (17,8 – 84,8)	60,6 (69,3)	31,6 (18 – 78)	-0,3 (54,9)	0,427	
Σελήνιο (μg)	Placebo	59,4 (42,1)	47,2 (33,4 – 86,1)	70,8 (44,7)	67,5 (32,8 – 100,5)	11,4 (25,4)	0,084	0,180
	Αντιοξειδωτικά	71,1 (62,8)	57,4 (24,3 – 105,5)	58,1 (40)	52,5 (24,4 – 88,6)	-13,1 (64,3)	0,997	
Ψευδάργυρος (mg)	Placebo	7,33 (3,12)	6,32 (5,22 – 9,32)	7,4 (3,94)	6,46 (3,93 – 10,4)	0,07 (2,97)	0,606	0,552
	Αντιοξειδωτικά	6,53 (3,34)	6,27 (5 – 8,17)	6,79 (3,64)	5,99 (3,88 – 9,13)	0,26 (3,83)	0,755	
Κυστίνη (mg)	Placebo	391,1 (310,7)	258,7 (201,4 – 583,9)	401,8 (302,1)	345,4 (166 – 519,9)	10,7 (239)	0,465	0,536
	Αντιοξειδωτικά	442,3 (361,5)	249,8 (142,4 – 824,6)	404,7 (333,3)	289 (146,6 – 588,8)	-37,5 (333,6)	0,926	

¹p-value για την επίδραση της παρέμβασης (με χρήση λογαριθμικών μετασχηματισμών) ²p-value από επαναλαμβανόμενες μετρήσεις ANOVA. Διαφορές στη μεταβολή από τη μια μέτρηση στην άλλη μεταξύ των ομάδων (με χρήση λογαριθμικών μετασχηματισμών).

7.3.4 Δείκτες οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικής ικανότητας πριν και μετά την παρέμβαση

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι δείκτες οξειδωτικού στρες ξεχωριστά για κάθε ομάδα, πριν και μετά την παρέμβαση (**Πίνακας 7.16**). Σημαντική μείωση σημειώθηκε μετά την παρέμβαση στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) των συμμετεχόντων τόσο στην ομάδα εικονικού φαρμάκου όσο και στην ομάδα των αντιοξειδωτικών. Ωστόσο η μείωση ήταν παρόμοια στις δύο ομάδες. Η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD) και η οξειδωμένη LDL (ox.LDL) δε μεταβλήθηκαν σημαντικά μετά την παρέμβαση σε καμία από τις δύο ομάδες.

Για να εκτιμηθεί αν ο βαθμός προσκόλλησης στη Μεσογειακή Διατροφή (MedDietScore) είχε κάποια επίδραση στα αποτελέσματα, η ομάδα αντιοξειδωτικών διαιρέθηκε σε δύο υποομάδες με MedDietScore μικρότερο ή μεγαλύτερο του 30. Δεν υπήρξαν διαφορές στα επίπεδα ox.LDL, SOD και TAC μεταξύ των ατόμων με MedDietScore μικρότερο ή μεγαλύτερο του 30 πριν και μετά την παρέμβαση στην ομάδα των αντιοξειδωτικών (**Πίνακας 7.17**).

Πίνακας 7.16 Μεταβολές στους δείκτες οξειδωτικού στρες στους συμμετέχοντες των 2 ομάδων μετά την παρέμβαση

	Ομάδα	Πριν		Μετά		Μεταβολή	P ¹	P ²
		Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (ενδ. εύρος)	Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (ενδ. εύρος)	Μέση τιμή (SD)		
TAC (mM)	Placebo	5,5 (1,5)	5,2 (4,5 – 7)	3,9 (2,9)	2,4 (1,4 – 6,6)	-1,7 (3,5)	0,002	0,420
	Αντιοξειδωτικά	6,3 (1,9)	6,1 (5,3 – 7,2)	5,1 (2,7)	5,5 (3,5 – 7,2)	-1,1 (3,8)	0,019	
SOD (U/ml)	Placebo	3,2 (2)	2,5 (2,2 – 2,9)	3,1 (1,8)	2,6 (2,2 – 3,2)	-0,1 (1,4)	0,792	0,154
	Αντιοξειδωτικά	4 (2,5)	3,3 (2,6 – 4,4)	3 (1,6)	2,6 (2 – 3,3)	-1 (2,3)	0,065	
ox.LDL (ng/ml)	Placebo	12,1 (23,2)	7 (2 – 10,9)	10,4 (8,5)	9 (5,1 – 11,4)	-1,7 (7,9)	0,062	0,232
	Αντιοξειδωτικά	25 (50,7)	7,7 (3,8 – 15,8)	18,7 (37,6)	8,8 (7,8 – 9,6)	-6,3 (27,9)	0,399	

¹p-value για την επίδραση της παρέμβασης (με χρήση λογαριθμικών μετασχηματισμών).

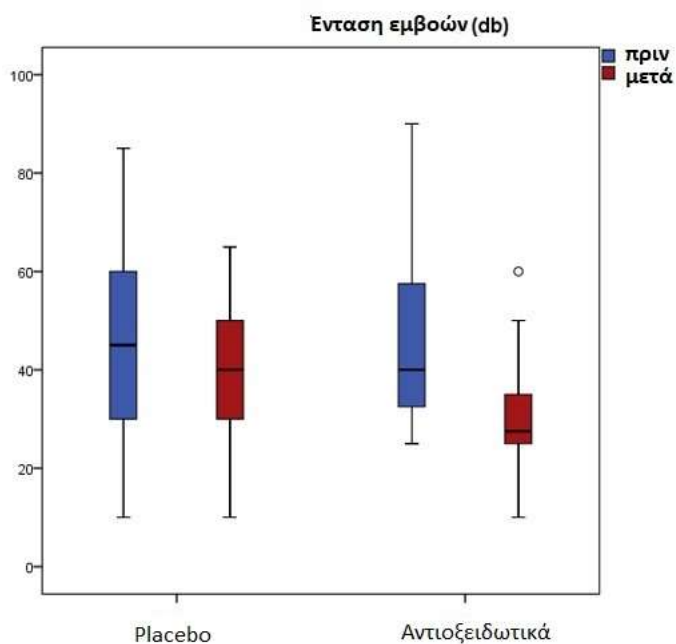
²p-value από επαναλαμβανόμενες μετρήσεις ANOVA. Διαφορές στη μεταβολή από τη μια μέτρηση στην άλλη μεταξύ των ομάδων (με χρήση λογαριθμικών μετασχηματισμών).

Πίνακας 7.17 Δείκτες οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικής ικανότητας σε άτομα με χαμηλή ή υψηλή συμμόρφωση στη Μεσογειακή διατροφή (MedDietScore) πριν και μετά την παρέμβαση στην ομάδα αντιοξειδωτικών.

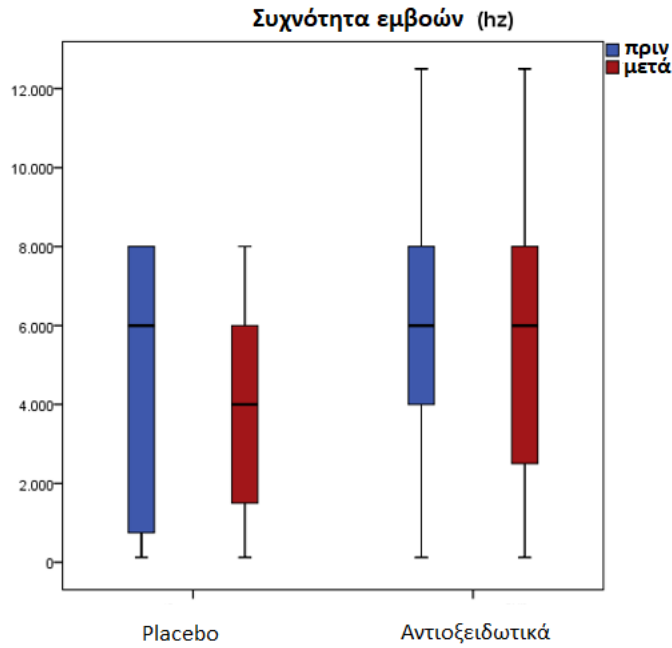
	MedDietScore		P Mann-Whitney
	≤30 Μέση τιμή (SD)	≥31 Μέση τιμή (SD)	
TAC (mM) (πριν)	6,566 (2,214)	5,978 (1,497)	0,153
TAC (mM) (μετά)	5,481 (2,873)	4,782 (2,532)	0,234
SOD (U/ml) (πριν)	4,44 (3,17)	3,58 (1,84)	0,754
SOD (U/ml) (μετά)	3,01 (1,23)	2,94 (1,96)	0,654
ox.LDL (ng/ml)	36,152 (67,015)	15,077 (28,222)	0,345
ox.LDL (ng/ml)	27,741 (53,886)	10,67 (6,914)	0,456

7.3.5 Ακουολογικές παράμετροι εμβοών και υποκειμενική ενόχληση λόγω των εμβοών πριν και μετά την παρέμβαση

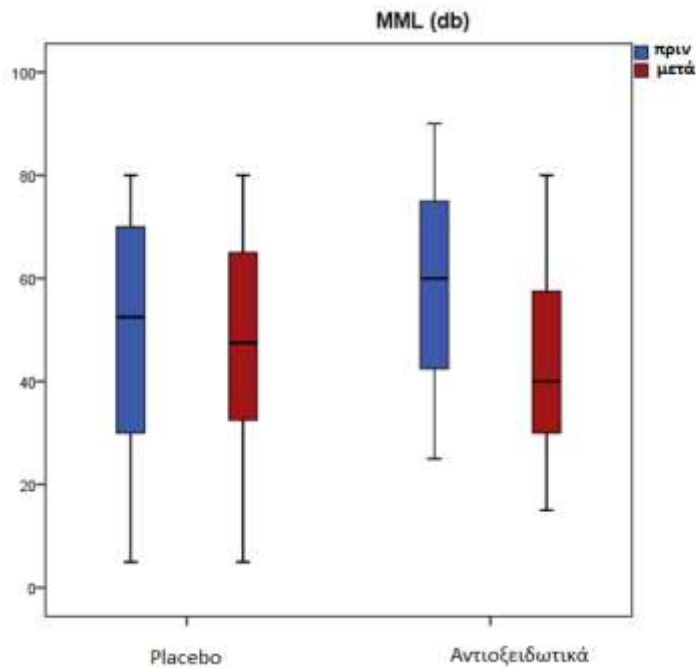
Στοιχεία απ' τον ειδικό ακουολογικό έλεγχο των εμβοών των συμμετεχόντων δίνονται στον πίνακα που ακολουθεί, ξεχωριστά για κάθε ομάδα, πριν και μετά την παρέμβαση (Πίνακας 7.18). Η ένταση των εμβοών και το MML μειώθηκαν σημαντικά μόνο στην ομάδα των αντιοξειδωτικών ενώ στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου δεν σημειώθηκαν σημαντικές μεταβολές μετά την παρέμβαση. Ο βαθμός μεταβολής της έντασης των εμβοών και του MML διέφερε σημαντικά μεταξύ των δύο ομάδων. Επίσης, η συχνότητα των εμβοών δε μεταβλήθηκε σημαντικά μετά την παρέμβαση σε καμία από τις δύο ομάδες. Η ένταση, η συχνότητα και το MML των εμβοών ανά ομάδα πριν και μετά την παρέμβαση παρουσιάζονται στα ακόλουθα γραφήματα (Γραφήματα 7.2, 7.3, 7.4).



Γράφημα 7.2 Ένταση των εμβοών ανά ομάδα πριν και μετά την παρέμβαση με διαγράμματα πλαισίου απολήξεων (box plots). Η έντονη γραμμή στη μέση είναι η διάμεσος (median). Τα άνω και τα κάτω άκρα κάθε ορθογώνιου είναι το 1^ο (Q1) και το 3^ο τεταρτημόριο (Q3) αντίστοιχα. Τα κυκλάκια είναι οι έκτοπες τιμές.



Γράφημα 7.3 Συχνότητα των εμβοών ανά ομάδα πριν και μετά την παρέμβαση με διαγράμματα πλαισίου απολήξεων (box plots). Η έντονη γραμμή στη μέση είναι η διάμεσος (median). Τα άνω και τα κάτω άκρα κάθε ορθογωνίου είναι το 1^ο (Q1) και το 3^ο τεταρτημόριο (Q3) αντίστοιχα.



Γράφημα 7.4 MML των εμβοών ανά ομάδα πριν και μετά την παρέμβαση με διαγράμματα πλαισίου απολήξεων (box plots). Η έντονη γραμμή στη μέση είναι η διάμεσος (median). Τα άνω και τα κάτω άκρα κάθε ορθογωνίου είναι το 1^ο (Q1) και το 3^ο τεταρτημόριο (Q3) αντίστοιχα.

Πίνακας 7.18 Μεταβολές στα στοιχεία του ειδικού ακοολογικού ελέγχου των εμβοών στους συμμετέχοντες των 2 ομάδων μετά την παρέμβαση.

	Ομάδα	Πριν		Μετά		Μεταβολή	P ¹	P ²
		Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (ενδ. εύρος)	Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (ενδ. εύρος)	Μέση τιμή (SD)		
Ένταση εμβοών (db)	Placebo	47,1 (20,5)	50 (30 – 60)	40,4 (15,5)	40 (30 – 50)	-6,7 (8,8)	0,168	<0,001
	Αντιοξειδωτικά	45 (15,3)	40 (35 – 55)	30,8 (11,2)	27,5 (25 – 35)	-14,2 (12,7)	<0,001	
Συχνότητα εμβοών (hz)	Placebo	4431 (3078,3)	6000 (1000 – 8000)	4240 (2932,6)	4000 (1500 – 6000)	-191 (1401,3)	0,303	0,082
	Αντιοξειδωτικά	5562,5 (3027,7)	6000 (4000 – 8000)	5222,7 (2982,1)	6000 (2500 – 8000)	-339,8 (1565,8)	0,216	
MML (db)	Placebo	49,3 (22,5)	52,5 (30 – 70)	47,7 (21)	47,5 (32,5 – 65)	-1,6 (7,4)	0,989	<0,001
	Αντιοξειδωτικά	57,9 (18,9)	60 (40 – 75)	43,4 (16,5)	40 (30 – 60)	-14,5 (14,3)	<0,001	

¹p-value για την επίδραση της παρέμβασης (με χρήση λογαριθμικών μετασχηματισμών).

²p-value από επαναλαμβανόμενες μετρήσεις ANOVA. Διαφορές στη μεταβολή από τη μια μέτρηση στην άλλη μεταξύ των ομάδων (με χρήση λογαριθμικών μετασχηματισμών).

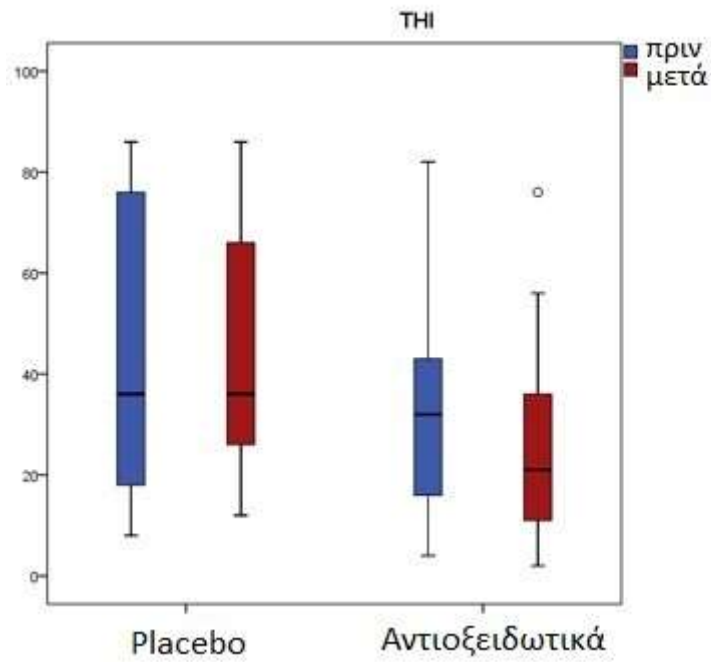
Με τη χρήση μικτών γραμμικών μοντέλων ελέγχθηκε με ποιους παράγοντες σχετίζεται σημαντικά η μεταβολή στην ένταση των εμβοών και στο MML των ατόμων της ομάδας των αντιοξειδωτικών. Χρησιμοποιώντας λογαριθμικούς μετασχηματισμούς, βρέθηκε ότι υψηλότερες τιμές φυλλικού οξέως σχετίζονταν με σημαντικά χαμηλότερες τιμές στην ένταση των εμβοών ($\beta=-0,014$, $SE=0,004$, $p=0,003$). Οι υπόλοιποι παράγοντες που ελέγχθηκαν και δεν βρέθηκαν σημαντικοί ήταν το MetDietScore, τα σκορ στις κλίμακες HADS και CES-D και οι μεταβολές στις βιταμίνες, τα μέταλλα, τους αιματολογικούς και βιοχημικούς δείκτες. Κανένας παράγοντας δεν βρέθηκε να σχετίζεται σημαντικά με τη μεταβολή του MML.

Για να εκτιμηθεί αν ο βαθμός προσκόλλησης στη Μεσογειακή Διατροφή (MedDietScore) είχε κάποια επίδραση στα αποτελέσματα, η ομάδα αντιοξειδωτικών διαιρέθηκε σε δύο υποομάδες με MedDietScore μικρότερο ή μεγαλύτερο του 30. Δεν υπήρξαν διαφορές στην ένταση των εμβοών μεταξύ των ατόμων με MedDietScore μικρότερο ή μεγαλύτερο του 30 πριν και μετά την παρέμβαση στην ομάδα των αντιοξειδωτικών (Πίνακας 7.19).

Πίνακας 7.19 Ένταση εμβοών σε άτομα με χαμηλή ή υψηλή συμμόρφωση στη Μεσογειακή διατροφή (MedDietScore) πριν και μετά την παρέμβαση στην ομάδα αντιοξειδωτικών.

	MedDietScore		P Mann-Whitney
	≤30	≥31	
	Μέση τιμή (SD)	Μέση τιμή (SD)	
Ένταση εμβοών (πριν)	47,2 (17,4)	43,1 (13,3)	0,456
Ένταση εμβοών (μετά)	29,7 (9,5)	31,8 (12,7)	0,324

Σχετικά με την υποκειμενική ενόχληση των εμβοών, έτσι όπως προκύπτει από τα ερωτηματολόγια, ο βαθμός μεταβολής στα σκορ των THI, TFI-συναισθήματα και TFI-χαλάρωση διέφερε σημαντικά μεταξύ των δύο ομάδων (Πίνακας 7.20). Συγκεκριμένα, σημειώθηκε σημαντική μείωση μετά την παρέμβαση μόνο στην ομάδα των αντιοξειδωτικών, ενώ στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου δεν υπήρξε σημαντική μεταβολή. Επίσης, το σκορ στην κλίμακα VAS μειώθηκε σημαντικά μόνο στην ομάδα των αντιοξειδωτικών. Το σκορ στο THI πριν και μετά την παρέμβαση παρουσιάζεται στο παρακάτω σχήμα (Γράφημα 7.5).



Γράφημα 7.5 THI των εμβοών ανά ομάδα πριν και μετά την παρέμβαση με διαγράμματα πλαισίου απολήξεων (box plots). Η έντονη γραμμή στη μέση είναι η διάμεσος (median). Τα άνω και τα κάτω άκρα κάθε ορθογωνίου είναι το 1^ο (Q1) και το 3^ο τεταρτημόριο (Q3) αντίστοιχα. Τα κυκλάκια είναι οι έκτοπες τιμές.

Πίνακας 7.20 Μεταβολές στα σκορ των ερωτηματολογίων των εμβοών στις 2 ομάδες μετά την παρέμβαση.

	Ομάδα	Πριν		Μετά		Μεταβολή	P ¹	P ²
		Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (ενδ. εύρος)	Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (ενδ. εύρος)	Μέση τιμή (SD)		
THI	Placebo	40,6 (27,7)	30 (16 – 74)	42,8 (24,5)	36 (26 – 66)	2,2 (11,5)	0,607	0,015
	Αντιοξειδωτικά	31,6 (19,3)	33 (16 – 44)	25,5 (18)	21 (11 – 36)	-6,1 (11,7)	0,002	
VAS	Placebo	5,13 (2,81)	5 (3,75 – 7,25)	4,86 (2,53)	4,5 (3,25 – 6,6)	-0,27 (2,11)	0,767	0,147
	Αντιοξειδωτικά	3,66 (2,49)	3,38 (1,25 – 5,75)	2,88 (2,37)	2,38 (0,75 – 4,63)	-0,78 (1,4)	0,013	
TFI	Placebo	37,9 (19,7)	32 (22,8 – 52)	41 (22,3)	32,8 (27,2 – 57,6)	3,1 (10,3)	0,950	0,410
	Αντιοξειδωτικά	30,4 (20)	29,2 (11,4 – 47)	28,6 (20,5)	21,2 (13,6 – 49,6)	-1,8 (16,1)	0,129	
TFI-ενόχληση	Placebo	56,9 (26,4)	60 (31,7 – 75)	62,7 (26,6)	70 (45 – 83,3)	5,7 (17,2)	0,518	0,666
	Αντιοξειδωτικά	48,3 (27,3)	45 (23,3 – 71,7)	48,3 (27,8)	43,3 (20 – 76,7)	0,1 (20,5)	0,873	
TFI-αίσθηση ελέγχου	Placebo	61,9 (27)	56,7 (48,3 – 86,7)	65,9 (21,8)	60 (56,7 – 76,7)	4 (10,9)	0,964	0,376
	Αντιοξειδωτικά	44,2 (29,3)	40 (20 – 66,7)	39,9 (27,7)	40 (20 – 56,7)	-4,3 (21,3)	0,120	
TFI-γνωστική απόδοση	Placebo	31 (31,4)	30 (0 – 45)	22,1 (26,4)	13,3 (0 – 30)	-8,9 (29,2)	0,294	0,939
	Αντιοξειδωτικά	31,6 (28,1)	23,3 (8,3 – 51,7)	27,7 (26,9)	13,3 (3,3 – 60)	-3,8 (23,4)	0,187	
TFI-ύπνος	Placebo	33,6 (32,7)	26,7 (3,3 – 61,7)	36,9 (32,7)	23,3 (10 – 66,7)	3,3 (6,9)	0,720	0,236
	Αντιοξειδωτικά	23,1 (26,9)	13,3 (0 – 45)	23 (30,3)	10 (0 – 46)	-0,1 (24,6)	0,128	
TFI-ακρόαση	Placebo	31,2 (32,4)	23,3 (0 – 56,7)	23,5 (31,9)	6,7 (0 – 50)	-7,8 (11,7)	0,612	0,836
	Αντιοξειδωτικά	24,2 (25,2)	13,3 (0 – 40)	23,9 (23,7)	16,7 (3,3 – 36,7)	-0,3 (18)	0,726	
TFI-χαλάρωση	Placebo	49,3 (31,8)	55 (18,3 – 73,3)	60,8 (22,7)	66,7 (43,3 – 76,7)	11,5 (19,1)	0,189	0,037
	Αντιοξειδωτικά	34,7 (29,6)	25 (8,3 – 65)	26,5 (26,2)	13,3 (3,3 – 50)	-8,2 (22,5)	0,044	
TFI-ποιότητα ζωής	Placebo	27,2 (29)	20 (0 – 50)	24,9 (29,3)	25 (0 – 37,5)	-2,4 (11)	0,842	0,897
	Αντιοξειδωτικά	14,3 (16,2)	10 (0 – 30)	18,1 (21,1)	10 (0 – 25)	3,8 (17,7)	0,957	
TFI-συναισθήματα	Placebo	41,2 (36,7)	30 (10 – 68,3)	41 (36,3)	30 (10 – 73,3)	-0,2 (10,8)	0,789	0,042
	Αντιοξειδωτικά	29,2 (26)	20 (6,7 – 50)	23,3 (22,6)	20 (6,7 – 40)	-5,8 (18,1)	0,006	

¹p-value για την επίδραση της παρέμβασης (με χρήση λογαριθμικών μετασχηματισμών) ²p-value από επαναλαμβανόμενες μετρήσεις ANOVA. Διαφορές στη μεταβολή από τη μια μέτρηση στην άλλη μεταξύ των ομάδων (με χρήση λογαριθμικών μετασχηματισμών).

Για να εκτιμηθεί εάν η διάρκεια των εμβοών είχε κάποια επίδραση στα αποτελέσματα, οι ομάδες αντιοξειδωτικών και εικονικού φαρμάκου διαιρέθηκαν σε δύο υποομάδες με διάρκεια εμβοών μικρότερη ή μεγαλύτερη των 10 ετών. Δεν υπήρξαν διαφορές στην ένταση, τη συχνότητα, το MML και το THl μεταξύ των ατόμων με διάρκεια εμβοών μικρότερη και μεγαλύτερη των 10 ετών πριν και μετά την παρέμβαση στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου (Πίνακας 7.21) και την ομάδα των αντιοξειδωτικών (Πίνακας 7.22).

Πίνακας 7.21 Ένταση, συχνότητα, MML και THl εμβοών σε άτομα με διάρκεια εμβοών μικρότερη ή μεγαλύτερη των 10 ετών πριν και μετά την παρέμβαση στην ομάδα εικονικού φαρμάκου.

	Διάρκεια εμβοών				P Mann-Whitney test
	<10 έτη		>10 έτη		
	Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (Ενδ. εύρος)	Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (Ενδ. εύρος)	
Ένταση εμβοών (db) (πριν)	46,9 (22,8)	50 (30 – 60)	47,5 (13,9)	47,5 (35 – 60)	0,769
Ένταση εμβοών (db) (μετά)	39,7 (16,3)	42,5 (25 – 50)	42,1 (14,1)	35 (30 – 60)	0,784
Συχνότητα εμβοών (hz) (πριν)	4011,9 (3230)	4000 (750 – 8000)	5531,3 (2487,2)	6000 (5000 – 7000)	0,345
Συχνότητα εμβοών (hz) (μετά)	3875 (3082,2)	4000 (1000 – 8000)	5178,6 (2461)	6000 (4000 – 6000)	0,373
MML (db) (πριν)	47,5 (24,3)	45 (30 – 70)	53,8 (17,7)	55 (42,5 – 65)	0,557
MML (db) (μετά)	45,3 (22,7)	45 (25 – 65)	53,6 (16,3)	60 (35 – 65)	0,426
THl (πριν)	42 (30,5)	30 (14 – 76)	36,8 (19,3)	31 (22 – 48)	0,961
THl (μετά)	46,1 (27,5)	46 (16 – 76)	34,3 (11,7)	30 (26 – 50)	0,467

Πίνακας 7.22 Ένταση, συχνότητα, MML και THl εμβοών σε άτομα με διάρκεια εμβοών μικρότερη ή μεγαλύτερη των 10 ετών πριν και μετά την παρέμβαση στην ομάδα των αντιοξειδωτικών.

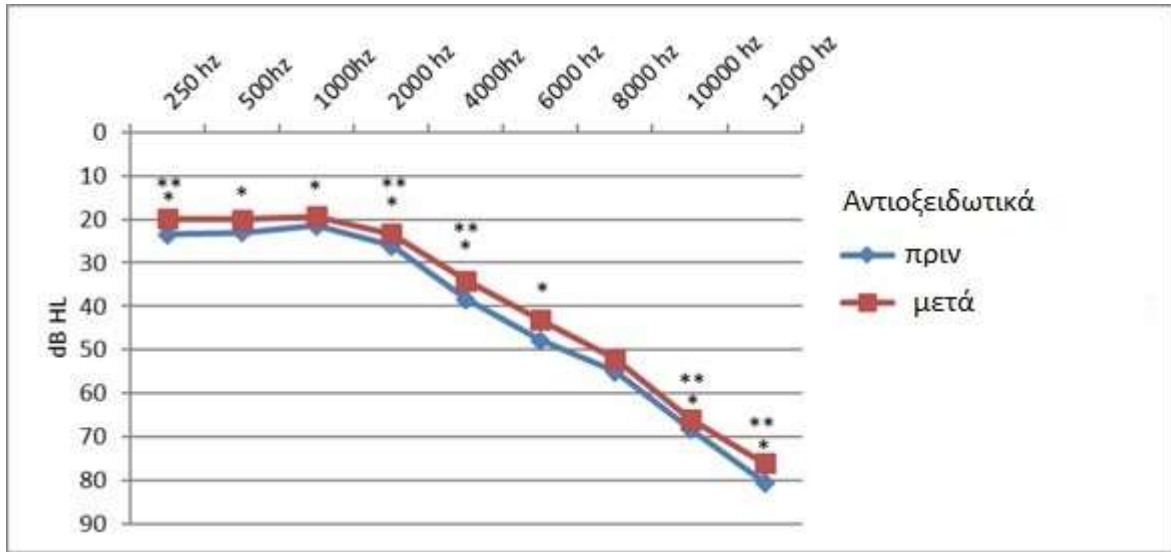
	Διάρκεια εμβοών				P Mann-Whitney test
	<10 έτη		>10 έτη		
	Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (Ενδ. εύρος)	Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (Ενδ. εύρος)	
Ένταση εμβοών (db) (πριν)	43 (13,7)	40 (30 – 52,5)	54,2 (20,1)	45 (40 – 65)	0,199
Ένταση εμβοών (db) (μετά)	30,6 (11,5)	27,5 (25 – 35)	31,7 (10,8)	30 (25 – 35)	0,825
Συχνότητα εμβοών (hz) (πριν)	5183 (3187,5)	4500 (2000 – 8000)	7333,3 (1032,8)	8000 (6000 – 8000)	0,080
Συχνότητα εμβοών (hz) (μετά)	4889,4 (3142,9)	5000 (2000 – 8000)	6666,7 (1633)	7000 (6000 – 8000)	0,152
MML (db) (πριν)	56,9 (18,7)	55 (40 – 75)	62,5 (21,2)	65 (60 – 70)	0,574
MML (db) (μετά)	43,2 (16,4)	40 (30 – 55)	44,2 (18,6)	40 (30 – 60)	1,000
THl (πριν)	30,4 (17,9)	29 (16 – 43)	37,3 (26,3)	37 (20 – 44)	0,586
THl (μετά)	23,5 (15,9)	20 (10 – 36)	34 (25,4)	30 (12 – 48)	0,371

Στοιχεία απ' τη συμβατική τονική ακοομετρία και την ακοομετρία υψηλών συχνοτήτων των συμμετεχόντων δίνονται στον πίνακα και τα γραφήματα που ακολουθούν, ξεχωριστά για κάθε ομάδα, πριν και μετά την παρέμβαση (**Πίνακας 7.23, Γραφήματα 7.6 και 7.7**). Ο βαθμός μεταβολής των ακουστικών ουδών μετά την παρέμβαση στις συχνότητες 250Hz, 2000Hz, 4000Hz, 10000Hz και 12000Hz διέφερε σημαντικά μεταξύ των δύο ομάδων. Συγκεκριμένα, στις συχνότητες 250Hz, 500Hz, 1000Hz, 2000Hz και 6000Hz σημειώθηκαν σημαντικές μειώσεις μόνο στην ομάδα των αντιοξειδωτικών ενώ στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου δεν υπήρξε σημαντική μεταβολή μετά την παρέμβαση. Στη συχνότητα 10000Hz σημειώθηκε σημαντική αύξηση μόνο στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου ενώ στην ομάδα των αντιοξειδωτικών δεν υπήρξε σημαντική μεταβολή μετά την παρέμβαση. Στις συχνότητες 4000Hz και 12000Hz σημειώθηκε σημαντική μείωση στην ομάδα των αντιοξειδωτικών και σημαντική αύξηση στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου.

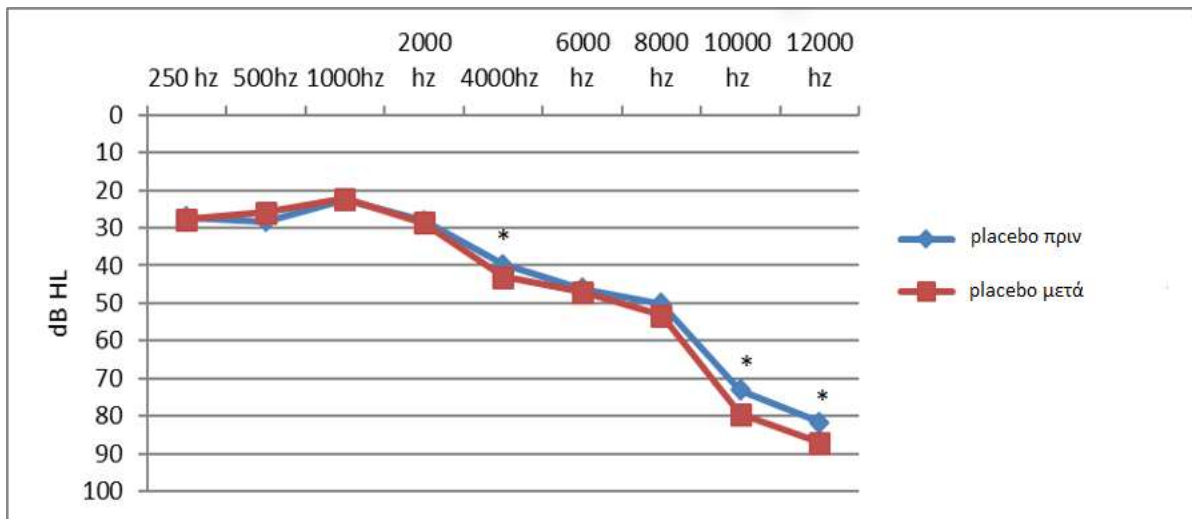
Πίνακας 7.23 Μεταβολές στους ακουστικούς ουδούς τονικής ακοομετρίας (0.25 έως 12 kHz) στους συμμετέχοντες των 2 ομάδων μετά την παρέμβαση

	Ομάδα	Πριν		Μετά		Μεταβολή	P ¹	P ²
		Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (ενδ. εύρος)	Μέση τιμή (SD)	Διάμεσος (ενδ. εύρος)	Μέση τιμή (SD)		
250 Hz	Placebo	27,1 (12,7)	22,5 (17,5 – 37,5)	27,7 (12)	27,5 (20 – 35)	0,5 (6,4)	0,656	0,002
	Αντιοξειδωτικά	23,5 (11,8)	20 (15 – 30)	19,9 (11,9)	20 (10 – 25)	-3,7 (5,1)	<0,001	
500 Hz	Placebo	28,2 (21)	20 (15 – 35)	25,9 (13,7)	25 (15 – 35)	-2,3 (21,5)	0,665	0,137
	Αντιοξειδωτικά	23,1 (11)	20 (15 – 25)	20 (11,4)	17,5 (15 – 25)	-3,1 (3,7)	0,008	
1000 Hz	Placebo	22,7 (12,3)	20 (12,5 – 30)	22,3 (13,1)	20 (10 – 30)	-0,4 (5,4)	0,432	0,112
	Αντιοξειδωτικά	21,5 (11,4)	20 (10 – 25)	19,3 (11,4)	17,5 (10 – 25)	-2,2 (3,1)	0,002	
2000 Hz	Placebo	28 (15,4)	30 (15 – 40)	28,6 (15,4)	27,5 (17,5 – 42,5)	0,5 (5,7)	0,461	0,041
	Αντιοξειδωτικά	26 (16,4)	20 (15 – 35)	23,4 (14,7)	20 (15 – 30)	-2,6 (4,8)	0,026	
4000 Hz	Placebo	39,8 (15,9)	45 (27,5 – 50)	43 (16,5)	47,5 (30 – 55)	3,2 (7,8)	0,050	0,001
	Αντιοξειδωτικά	38,4 (20,6)	45 (20 – 50)	34,1 (19,3)	35 (20 – 50)	-4,3 (6)	0,003	
6000 Hz	Placebo	46,1 (18,1)	50 (32,5 – 60)	47,1 (20,2)	50 (32,5 – 60)	1,1 (10,3)	0,698	0,123
	Αντιοξειδωτικά	47,9 (24,7)	47,5 (30 – 60)	43,1 (21,1)	42,5 (30 – 60)	-4,9 (8,2)	0,008	
8000 Hz	Placebo	50,2 (17,9)	50 (40 – 65)	53,2 (21,2)	60 (37,5 – 70)	3 (8,4)	0,541	0,270
	Αντιοξειδωτικά	55,1 (29,3)	57,5 (30 – 70)	52,2 (27,4)	52,5 (35 – 70)	-2,9 (7)	0,331	
10000 Hz	Placebo	73,2 (24,2)	75 (62,5 – 85)	79,5 (26,2)	80 (72,5 – 92,5)	6,3 (10,4)	0,005	0,003
	Αντιοξειδωτικά	68,3 (32,5)	80 (40 – 90)	65,9 (31,3)	75 (40 – 90)	-2,4 (7)	0,189	
12000 Hz	Placebo	81,6 (26,4)	80 (67,5 – 90)	87,1 (27,9)	90 (75 – 115)	5,5 (12)	0,027	0,001
	Αντιοξειδωτικά	80,6 (33,3)	90 (60 – 100)	76,2 (33,3)	75 (60 – 95)	-4,4 (9)	0,015	

¹p-value για την επίδραση της παρέμβασης (με χρήση λογαριθμικών μετασχηματισμών) ²p-value από επαναλαμβανόμενες μετρήσεις ANOVA. Διαφορές στη μεταβολή από τη μια μέτρηση στην άλλη μεταξύ των ομάδων (με χρήση λογαριθμικών μετασχηματισμών).



Γράφημα 7.6 Ακουστικοί ουδοί τονικής ακουομετρίας (μέσες τιμές) πριν και μετά την παρέμβαση στην ομάδα των αντιοξειδωτικών * $p \leq 0,05$ για την επίδραση της παρέμβασης, ** $p \leq 0,05$ μεταξύ των ομάδων



Γράφημα 7.7 Ακουστικοί ουδοί τονικής ακουομετρίας (μέσες τιμές) πριν και μετά την παρέμβαση στην ομάδα εικονικού φαρμάκου * $p \leq 0,05$ για την επίδραση της παρέμβασης, ** $p \leq 0,05$ μεταξύ των ομάδων

7.4 Συζήτηση

Στη μελέτη αυτή διερευνήθηκε η αποτελεσματικότητα των αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων που περιείχαν βιταμίνες, μέταλλα, φυτοχημικά και ALA στις ιδιοπαθείς εμβοές. Επιπλέον, αξιολογήθηκε η επίδραση των αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων σε δείκτες οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικής ικανότητας.

Το δείγμα αποτελούσαν άτομα ηλικίας 25-75 ετών με ιδιοπαθείς εμβοές τουλάχιστον 6 μηνών. Το υψηλότερο ποσοστό του δείγματος αποτελούσαν άντρες, μη καπνιστές και χωρίς συνοδά νοσήματα, με ελαφριά ή ήπια βαρύτητα εμβοών διάρκειας λιγότερο από 10 έτη και με ταυτόχρονη νευροαισθητήρια απώλεια ακοής στις χαμηλές ή υψηλές συχνότητες. Προκειμένου να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα της παρέμβασης με αντιοξειδωτικά στις εμβοές στην παρούσα μελέτη και δεδομένου ότι οι εμβοές είναι ένα σύμπτωμα που έχει πολλαπλές διαστάσεις, μετρήθηκαν τα χαρακτηριστικά των εμβοών, έτσι όπως προέκυψαν απ' τον ειδικό ακοολογικό έλεγχο (ένταση, συχνότητα και MML), σε συνδυασμό με ερωτηματολόγια που εκτιμούν τη δυσφορία λόγω των εμβοών και την επίδραση τους στην ποιότητα ζωής (THI, TFI και κλίμακα VAS). Τα χαρακτηριστικά των εμβοών και η δυσφορία που προκαλούν στην καθημερινότητα προτείνεται να αξιολογούνται ξεχωριστά καθώς υπάρχει ασθενής συσχέτιση μεταξύ τους (Hiller and Goebel, 2006; Landgrebe et al., 2012). Στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκαν δύο ερωτηματολόγια και η κλίμακα VAS, κάτι το οποίο συμφωνεί με τις συστάσεις για χρήση τουλάχιστον δύο ερωτηματολογίων για την εκτίμηση της δυσφορίας λόγω των εμβοών και των αλλαγών μετά από κάποια παρέμβαση (Langguth et al., 2007).

Τα ευρήματα της μελέτης έδειξαν ότι η τρίμηνη χορήγηση αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων οδήγησε σε στατιστικά σημαντική μείωση της έντασης και του MML των εμβοών καθώς και των βαθμολογιών στο ερωτηματολόγιο THI, την κλίμακα VAS και τις υποκλίμακες TFI-χαλάρωση και TFI-συναισθήματα. Ο βαθμός μεταβολής της έντασης και του MML των εμβοών καθώς και των βαθμολογιών στο ερωτηματολόγιο THI και τις υποκλίμακες TFI-χαλάρωση και TFI-συναισθήματα στην ομάδα των αντιοξειδωτικών διέφερε σημαντικά συγκριτικά με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου. Η διάρκεια των εμβοών δεν επηρέασε τα αποτελέσματα, καθώς οι μεταβολές στην ένταση, τη συχνότητα, το MML και το THI ήταν ίδιες μεταξύ των ατόμων με διάρκεια εμβοών μικρότερη και μεγαλύτερη των 10 ετών στην ομάδα των αντιοξειδωτικών αλλά και του εικονικού φαρμάκου. Ταυτόχρονα, η παρούσα μελέτη έδειξε ότι η χορήγηση συμπληρωμάτων αντιοξειδωτικών οδήγησε σε σημαντικές μειώσεις (βελτιώσεις) των μέσων ακουστικών ουδών σε όλες τις συχνότητες, με τις συνολικές αλλαγές να διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των δύο ομάδων στις συχνότητες 250 Hz, 2000 Hz, 4000 Hz, 10000 Hz και 12000 Hz. Τα

αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η παρέμβαση με τα αντιοξειδωτικά ήταν αποτελεσματική στη βελτίωση των χαρακτηριστικών των εμβοών, την ανακούφιση των ασθενών από τη δυσφορία που σχετίζεται με αυτές και τη βελτίωση των ακουστικών ουδών συγκριτικά με το εικονικό φάρμακο. Η μέση μείωση της βαθμολογίας στο ερωτηματολόγιο THI των 6 βαθμών στην ομάδα αντιοξειδωτικών θεωρείται μια κλινικά σημαντική αλλαγή (Zeman et al., 2011). Επίσης, η βελτίωση των ακουστικών ουδών στις συχνότητες μεταξύ 250 Hz και 8000 Hz είναι μεγάλης σημασίας, καθώς αυτές είναι οι συχνότητες που χρησιμοποιούνται για την αναγνώριση της ομιλίας και έτσι οι ασθενείς με εμβοές θα μπορούσαν να ωφεληθούν από την καλύτερη κατανόηση του λόγου και της γλώσσας.

Παρόμοια αποτελέσματα έχει δείξει η πιλοτική κλινική μελέτη των Savastano et al. (2007), όπου η συμπληρωματική χορήγηση μίγματος φωσφολιπιδίων (55mg γλυκεροφωσφορυλοχολίνη, 45mg γλυκεροφωσφορυλοαιθανολαμίνη) και αντιοξειδωτικών βιταμινών (12mg β-καροτένιο, 180mg βιταμίνη C και 10mg βιταμίνη E) για 18 εβδομάδες οδήγησε σε σημαντική μείωση του βαθμού ενόχλησης στην κλίμακα VAS και της έντασης των εμβοών. Θετικά αποτελέσματα των αντιοξειδωτικών στις εμβοές έχει δείξει και η μελέτη των Morgenstern και Biermann (2002), όπου ο συνδυασμός έγχυσης 200 mg εκχυλίσματος *Gingko Biloba* (EGb 761) για 10 ημέρες και μετέπειτα χορήγησης 160mg εκχυλίσματος από το στόμα για 3 μήνες, μείωσε την ένταση των εμβοών και την δυσφορία λόγω αυτών, καθώς βελτίωσε και την ακοή συγκριτικά με την ομάδα εικονικού φαρμάκου. Το εκχύλισμα EGb 761 είναι ένα τιτλοδοτημένο εκχύλισμα το οποίο περιέχει 24% φλαβόνες και 6% τερπενοειδή και έχει αντιοξειδωτική δράση (Maccocci et al., 1994).

Αντίθετα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, μια εξάμηνη ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο παρέμβαση με 60 mg ALA και 600 mg βιταμίνη C δεν είχε κάποιο αποτέλεσμα στην υποκειμενική ενόχληση λόγω των εμβοών όπως μετρήθηκε απ' το THI (Polanski et al., 2016). Ωστόσο, το δείγμα της μελέτης αυτής διέφερε καθώς το αποτελούσαν άτομα τρίτης ηλικίας με εμβοές και απώλεια ακοής (Polanski et al., 2016). Επίσης, τρεις τυχαιοποιημένες, ελεγχόμενες με εικονικό φάρμακο κλινικές μελέτες που χορήγησαν 50mg ψευδαργύρου για 8-12 εβδομάδες δεν έδειξαν κάποιο όφελος στις εμβοές (Person et al., 2016).

Οι μελέτες που έχουν γίνει σχετικά με την επίδραση των αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων στα άτομα με εμβοές είναι περιορισμένες και στις περισσότερες από αυτές έχουν χρησιμοποιηθεί μεμονωμένα αντιοξειδωτικά όπως ο ψευδάργυρος (Arda et al., 2003; Coelho et al., 2013; Person et al., 2016). Αντίθετα, η υπόθεση στην παρούσα μελέτη ήταν ότι ένας συνδυασμός αντιοξειδωτικών μπορεί να είναι πιο αποτελεσματικός σε σύγκριση με τα μεμονωμένα αντιοξειδωτικά, καθώς υπάρχει μια συνεργιστική/συμπληρωματική δραστηριότητα μεταξύ τους (Pisoschi and Pop, 2015). Το ένα από τα δύο συμπληρώματα που

χορηγήθηκαν στην ομάδα των αντιοξειδωτικών περιείχε τις βιταμίνες C, E και B2 και τα ιχνοστοιχεία σελήνιο και ψευδάργυρο, τα οποία σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Αρχή Ασφάλειας Τροφίμων (EFSA) συμβάλλουν στην προστασία των κυττάρων απ' το οξειδωτικό στρες (EFSA Panel on Dietetic Products, 2009a). Επίσης, το συμπλήρωμα περιείχε όλες τις βιταμίνες του συμπλέγματος B, φολικό οξύ, βιταμίνη D₃, μαγνήσιο, μαγγάνιο και τιτλοδοτημένο εκχύλισμα σπόρων σταφυλιού, για τα οποία υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι προστατεύουν απ' το οξειδωτικό στρες (Gliszczyńska-Świątło, 2006; Mokhtari et al., 2017; Stanković et al., 2008; Thi Thuy Nga et al., 2018). Οι δόσεις των βιταμινών, των μετάλλων και των ιχνοστοιχείων στο συμπλήρωμα ήταν υψηλότερες των συνιστώμενων ημερήσιων δοσολογιών, χωρίς να υπερβαίνουν όμως τα ανώτατα επίπεδα ανεκτής πρόσληψης (Medicine, 2006). Το δεύτερο συμπλήρωμα που χορηγήθηκε στην ομάδα των αντιοξειδωτικών περιείχε ALA και οι δύο ταμπλέτες παρείχαν 600 mg ημερησίως, ποσότητα η οποία έχει δείχθει ότι αυξάνει τα επίπεδα λιποϊκού οξέος στο πλάσμα ή τα κύτταρα (Shay et al., 2009; Teichert et al., 2003).

Οι ουσίες που χορηγήθηκαν μέσω των συμπληρωμάτων στην ομάδα των αντιοξειδωτικών στην παρούσα μελέτη έχει αποδειχθεί μέσω πειραμάτων *in-vitro* και *in-vivo* ότι λειτουργούν προστατευτικά έναντι της βλάβης των κοχλιακών τριχωτών κυττάρων που προκαλείται από τις ROS σε συνθήκες αυξημένου οξειδωτικού στρες όπως ωτοτοξικότητα, ακουστικό τραύμα ή απώλεια ακοής λόγω γήρανσης. Σε μία πρόσφατη μελέτη των Kim et al. (2018), η χορήγηση ALA για 2 μέρες πριν ή μετά την έκθεση ποντικών και κυτταρικών σειρών του ακουστικού συστήματος HEI-OC1 στον ωτοτοξικό παράγοντα σισπλατίνη, συνέβαλε στην προστασία της μιτοχονδριακής λειτουργίας στο όργανο του Corti, παρεμποδίζοντας τη συσσώρευση ROS και αναστέλλοντας τον αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο. Την προστατευτική δράση του ALA έδειξε και η μελέτη του Quaranta et al. (2012), όπου η χορήγηση 600 mg ALA για δέκα μέρες πριν την έκθεση σε θόρυβο, προστάτευσε νεαρά άτομα με φυσιολογική ακοή απ' την απώλεια ακοής. Οι Joachims et al. (2003) έδειξαν ότι η λήψη 800 mg βιταμίνης E ημερησίως από άτομα με ιδιοπαθή αιφνίδια απώλεια ακοής συνέβαλε στην θεραπευτική αντιμετώπιση της. Μελέτη των Tokgöz et al (2012) έδειξε ότι ο συνδυασμός των βιταμινών B1, B2, B6, E και C σε ζωικά μοντέλα ήταν αποτελεσματικός στην προστασία έναντι της ωτοτοξικότητας λόγω σισπλατίνης. Επίσης, μελέτη των Kuduban et al. (2013) έδειξε ότι η χορήγηση πυροφωσφορικής θειαμίνης σε ζωικά μοντέλα προστάτευσε τα κύτταρα του κοχλία, της αγγειώδους ταινίας και του σπειροειδούς γαγγλίου από την βλάβη λόγω της έκθεσης στη σισπλατίνη. Τον προστατευτικό ρόλο των αντιοξειδωτικών βιταμινών στη γήρανση έδειξε η μελέτη του Seidman (2000), όπου η χορήγηση υψηλών δόσεων βιταμινών E ή C σε ποντίκια μείωσε την απώλεια ακοής λόγω γήρανσης και προστάτευσε το μιτοχονδριακό DNA από μεταλλάξεις.

Το θετικό αποτέλεσμα των χορηγούμενων συμπληρωμάτων στις εμβοές στην παρούσα μελέτη ενδεχομένως να οφείλεται και σε επιπρόσθετους μηχανισμούς δράσης πέρα των αντιοξειδωτικών. Το ALA έχει διερευνηθεί ευρέως ως νευροπροστατευτικός παράγοντας (Li et al., 2016) και ως παράγοντας που προστατεύει το ενδοθήλιο και μειώνει τη φλεγμονή (Sola et al., 2005). Τα επίπεδα των βιταμινών B1, B2, B6, φυλλικού οξέος και βιταμίνης D αυξήθηκαν σημαντικά μετά την παρέμβαση στην ομάδα των αντιοξειδωτικών και ενδεχομένως να έχουν συμβάλει στην θετική επίδραση των συμπληρωμάτων στις εμβοές. Αυτό ισχύει ειδικά για το φυλλικό οξύ, του οποίου ο βαθμός μεταβολής διέφερε σημαντικά μεταξύ των ομάδων και υψηλότερα επίπεδα φυλλικού οξέος σχετίζονταν με σημαντικά χαμηλότερες τιμές στην ένταση των εμβοών στην ομάδα των αντιοξειδωτικών. Χαμηλά επίπεδα βιταμίνης B12 και φυλλικού οξέος στο πλάσμα έχουν συσχετιστεί με μειωμένο ενδοκοχλιακό δυναμικό λόγω της καταστροφής της αγγειώδους ταινίας (Houston et al., 1999). Επίσης, μια δίαιτα φτωχή σε φυλλικό οξύ μπορεί να οδηγήσει σε διαταραχή του μεταβολισμού της ομοκυστεΐνης στον κοχλία και σε επακόλουθο οξειδωτικό στρες (Martínez-Vega et al., 2014). Επίσης, οι βιταμίνες του συμπλέγματος B εμπλέκονται ενεργά στη λειτουργία του νευρικού ιστού, του κυτταρικού μεταβολισμού, της αγγειακής λειτουργίας και της σύνθεσης μυελίνης (Kennedy, 2016). Στη μελέτη των Dawes et al. (2019), υψηλότερη πρόσληψη βιταμινών B12 και D έχει σχετιστεί με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης εμβοών.

Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη μελέτη που αξιολογεί δείκτες οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικής ικανότητας στα άτομα με εμβοές μετά από χορήγηση αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων. Το οξειδωτικό στρες αξιολογήθηκε μετρώντας με τη χρήση αντισωμάτων το δείκτη ox.LDL, ο οποίος θεωρείται από την Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) αξιόπιστος *in vivo* δείκτης οξειδωτικής βλάβης με κατάλληλη ειδικότητα (EFSA Panel on Dietetic Products, 2011b). Επίσης, η ολική μη ενζυμική αντιοξειδωτική κατάσταση αξιολογήθηκε μέσω του δείκτη TEAC και η ενδογενής ενζυμική αντιοξειδωτική κατάσταση μέσω του δείκτη SOD. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι δείκτες ox.LDL και SOD δεν εμφάνισαν κάποια αλλαγή μετά την παρέμβαση σε καμία από τις δύο ομάδες, ενώ ο δείκτης TEAC μειώθηκε σημαντικά και στις δύο ομάδες και η μείωση ήταν παρόμοια. Αντίθετα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, η πιλοτική μελέτη του Savastano et al. (2007), έδειξε ότι η χορήγηση μίγματος φωσφολιπιδίων και αντιοξειδωτικών βιταμινών για 18 εβδομάδες οδήγησε σε στατιστικά σημαντική μείωση του οξειδωτικού στρες, το οποίο μετρήθηκε μέσω των δεικτών MDA και 4-HNE (Savastano et al., 2007). Τα θετικά αποτελέσματα στο οξειδωτικό στρες στη μελέτη του Savastano et al. (2007) ίσως έχουν να κάνουν με την επιλογή της έσω σφαγίτιδας φλέβας για τη μέτρηση των δεικτών οξειδωτικού στρες. Μελέτες έχουν δείξει ότι το οξειδωτικό στρες είναι υψηλότερο και η αντιοξειδωτική

ικανότητα χαμηλότερη στο αίμα της σφαγίτιδας φλέβας συγκριτικά με της περιφερικής φλέβας στα άτομα με ιδιοπαθείς εμβοές (Neri et al., 2006).

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης είναι σε συμφωνία με τα ευρήματα από κλινικές μελέτες με συμπληρώματα αντιοξειδωτικών που έχουν γίνει σε άτομα χωρίς εμβοές και υγιή ή με συνοδά νοσήματα (π.χ. διαβήτη, καρδιαγγειακή νόσος) και έχουν αξιολογήσει τους δείκτες οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικής ικανότητας. Πιο συγκεκριμένα, στη μελέτη των Kim et al. (2013), η χορήγηση συμπληρώματος με βιταμίνες, μέταλλα και φυτοχημικά για 2 μήνες σε 45 υγιείς ενήλικες και σε παρόμοιες δόσεις με της παρούσας μελέτης, δεν είχε κάποια επίδραση στα επίπεδα του αντιοξειδωτικού ενζύμου SOD. Επίσης, μελέτη των Mendoza-Núñez et al. (2019), έδειξε ότι η χορήγηση 600mg ALA σε διαβητικούς τύπου 2 για 6 μήνες δεν είχε κάποια επίδραση στα επίπεδα SOD. Η διατήρηση των επιπέδων SOD θα μπορούσε να θεωρηθεί ένα θετικό εύρημα, καθώς έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι η αύξηση των αντιοξειδωτικών ενζύμων μπορεί να αντιπροσωπεύει μια αντισταθμιστική απάντηση σε αυξημένο οξειδωτικό στρες (Turk et al., 2002). Επίσης, μελέτη των Isakov et al. (2018) έδειξε ότι η χορήγηση συμπληρώματος με βιταμίνες, μέταλλα και φυτοχημικά σε παρόμοιες δόσεις για 2 μήνες σε 60 υγιείς ενήλικες, δεν είχε κάποια επίδραση στα επίπεδα ox.LDL. Αντίθετα, κλινική δοκιμή που χορήγησε για 3 μήνες υψηλές δόσεις βιταμίνης C (500 mg), βιταμίνης E (400 IU), β-καροτενίου (15mg) ή συνδυασμό αυτών σε άντρες υψηλού καρδιαγγειακού κινδύνου, έδειξε σημαντική μείωση της ox-LDL στον ορό (Najafpour Boushehri et al., 2012).

Η χαμηλή περιεκτικότητα των βιταμινών C (150 mg) και α-τοκοφερόλης (150 IU) στο συμπλήρωμα που χορηγήθηκε στην ομάδα αντιοξειδωτικών στην παρούσα μελέτη ίσως έπαιξε ρόλο στην απουσία μεταβολής του δείκτη ox.LDL. Οι χαμηλές δόσεις των βιταμινών C και α-τοκοφερόλης στο συμπλήρωμα επιβεβαιώνονται και από το γεγονός ότι τα επίπεδα τους στο πλάσμα παρέμειναν αμετάβλητα μετά την παρέμβαση στην ομάδα των αντιοξειδωτικών. Έχει δειχθεί ότι η ελάχιστη δόση συμπληρώματος α-τοκοφερόλης με την οποία θα μπορούσε να επιτευχθεί σημαντική μείωση της ευαισθησίας της LDL στην οξείδωση είναι τα 400 IU/ημέρα (Jialal et al., 1995). Επίσης, από τις συγκεντρώσεις των βιταμινών E και C στον ορό επηρεάζονται και οι τιμές του δείκτη TEAC, καθώς ο δείκτης αυτός μετρά τα ενδογενή μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά και τα αντιοξειδωτικά που προέρχονται από τις τροφές (Serafini and Rio, 2004). Η μείωση του TEAC στην παρούσα μελέτη δεν υποδηλώνει μείωση της αντιοξειδωτικής άμυνας του οργανισμού, καθώς ο δείκτης αυτός δεν συμπεριλαμβάνει τη δράση των αντιοξειδωτικών ενζύμων (Fraga et al., 2014).

Η παρούσα μελέτη έχει αρκετά πλεονεκτήματα αλλά και περιορισμούς. Ο τυχαίοποιημένος και διπλός-τυφλός σχεδιασμός της, το επαρκές δείγμα, η καλή διάρκεια της παρέμβασης καθώς και η παρουσία ομάδας εικονικού φαρμάκου είναι τα σημαντικότερα

προτερήματα της μελέτης και αυτά που την ξεχωρίζουν από τις υπόλοιπες μελέτες που έχουν γίνει στα άτομα με εμβοές. Επίσης, η μέτρηση των επιπέδων των βιταμινών στο αίμα πριν και μετά τη λήψη των αντιοξειδωτικών στη μελέτη αυτή είναι πολύ σημαντική, καθώς μ' αυτόν τον τρόπο ελέγχθηκε η συμμόρφωση του δείγματος. Ωστόσο, η μελέτη έχει κάποιους περιορισμούς. Το δείγμα της μελέτης είχε μεγάλη ετερογένεια όσον αφορά το οξειδωτικό στρες, καθώς περιείχε καπνιστές, διαβητικούς και ηλικιωμένους, οι οποίοι χαρακτηρίζονται από αυξημένο οξειδωτικό στρες. Ετερογένεια υπήρχε και όσον αφορά τη διάρκεια και τη σοβαρότητα των εμβοών.

ΣΥΝΟΨΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα μελέτη αποτελεί μια τυχαιοποιημένη διπλή-τυφλή κλινική μελέτη, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, η οποία διερευνά την επίδραση συμπληρωμάτων αντιοξειδωτικών ουσιών που περιλαμβάνουν βιταμίνες, μέταλλα, ιχνοστοιχεία, φυτοχημικά και ALA στις ιδιοπαθείς εμβοές. Συνοψίζοντας τα συμπεράσματα της μελέτης, η παρέμβαση με τα συμπληρώματα αντιοξειδωτικών:

- είχε θετική επίδραση στις εμβοές, καθώς μείωσε στατιστικά σημαντικά την ένταση και το MML των εμβοών καθώς και την υποκειμενική ενόχληση λόγω αυτών συγκριτικά με το εικονικό φάρμακο. Η θετική αυτή επίδραση παρατηρήθηκε ότι ήταν ανεξάρτητη της διάρκειας των εμβοών. Επίσης, η θετική επίδραση στην ένταση των εμβοών ήταν ανεξάρτητη του βαθμού προσκόλλησης στη μεσογειακή διατροφή (MedDietScore) στην ομάδα των αντιοξειδωτικών. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσίασε η θετική συσχέτιση των επιπέδων του φυλλικού οξέος με τη μεταβολή στην ένταση των εμβοών στην ομάδα των αντιοξειδωτικών. Υψηλότερες δηλαδή τιμές φυλλικού οξέως στο αίμα σχετίζονταν με σημαντικά χαμηλότερες τιμές στην ένταση των εμβοών.
- είχε θετική επίδραση στην ακοή, καθώς βελτίωσε στατιστικά σημαντικά τους ακουστικούς ουδούς σχεδόν σε όλες τις συχνότητες συγκριτικά με το εικονικό φάρμακο.
- δεν είχε επίδραση στους δείκτες οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικής ικανότητας, καθώς δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές αλλαγές στους δείκτες ox.LDL, TAC και SOD συγκριτικά με το εικονικό φάρμακο.

Η χορήγηση μίγματος αντιοξειδωτικών ουσιών φαίνεται λοιπόν ότι είναι αποτελεσματική στη βελτίωση των ιδιοπαθών εμβοών και στη μείωση της δυσφορίας που προκαλείται

από αυτές. Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης πρέπει να επιβεβαιωθούν μέσω μελετών με μεγαλύτερα και περισσότερο ομοιογενή δείγματα και με μεγαλύτερο χρονικό διάστημα παρέμβασης αλλά και παρακολούθησης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ασημακόπουλος Δ., Δανηλίδης Ι., 2006. Ωτορινολαρυγγολογία, University Studio Press, Θεσσαλονίκη.
- Adams, P.F., Hendershot, G.E., Marano, M.A., Centers for Disease Control and Prevention/National Center for Health Statistics, 1999. Current estimates from the National Health Interview Survey, 1996. *Vital Health Stat* 10 1–203.
- Ahel, I., Rass, U., El-Khamisy, S.F., Katyal, S., Clements, P.M., McKinnon, P.J., Caldecott, K.W., West, S.C., 2006. The neurodegenerative disease protein aprataxin resolves abortive DNA ligation intermediates. *Nature* 443, 713–716. <https://doi.org/10.1038/nature05164>
- Ahmadi, A., Mazooji, N., Roozbeh, J., Mazloom, Z., Hasanzade, J., 2013. Effect of alpha-lipoic acid and vitamin E supplementation on oxidative stress, inflammation, and malnutrition in hemodialysis patients. *Iran J Kidney Dis* 7, 461–467.
- Aldini, G., Altomare, A., Baron, G., Vistoli, G., Carini, M., Borsani, L., Sergio, F., 2018. N-Acetylcysteine as an antioxidant and disulphide breaking agent: the reasons why. *Free Radical Research*.
- Aratani, Y., 2018. Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 640, 47–52. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.01.004>
- Arda, H.N., Tuncel, U., Akdogan, O., Ozluoglu, L.N., 2003. The role of zinc in the treatment of tinnitus. *Otol. Neurotol.* 24, 86–89.
- Aseervatham, G.S.B., Sivasudha, T., Jeyadevi, R., Arul Ananth, D., 2013. Environmental factors and unhealthy lifestyle influence oxidative stress in humans—an overview. *Environ Sci Pollut Res* 20, 4356–4369. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1748-0>
- Ayala, A., Muñoz, M.F., Argüelles, S., 2014. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxid Med Cell Longev* 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/360438>
- Bagchi, D., Garg, A., Krohn, R.L., Bagchi, M., Tran, M.X., Stohs, S.J., 1997. Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* 95, 179–189.
- Baguley, D., McFerran, D., Hall, D., 2013a. Tinnitus. *The Lancet* 382, 1600–1607. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60142-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60142-7)

- Baguley, D., McFerran, D., Hall, D., 2013b. Tinnitus. *Lancet* 382, 1600–1607. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60142-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60142-7)
- Baker, K., Staecker, H., 2012. Low Dose Oxidative Stress Induces Mitochondrial Damage in Hair Cells. *The Anatomical Record* 295, 1868–1876. <https://doi.org/10.1002/ar.22594>
- Ballantyne, J., Groves, J. (Eds.), 1971. *Scott-Brown's disease of the ear, nose and throat*, 3rd ed. ed. Butterworth, London.
- Baranowski, T., 2012. *24-Hour Recall and Diet Record Methods*. Oxford University Press.
- Bartosz, G., 2010. Non-enzymatic antioxidant capacity assays: Limitations of use in biomedicine. *Free Radic. Res.* 44, 711–720. <https://doi.org/10.3109/10715761003758114>
- Bentinger, M., Tekle, M., Dallner, G., 2010. Coenzyme Q - Biosynthesis and functions. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 396, 74–79. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.02.147>
- Biga, L.M., Dawson, S., Harwell, A., Hopkins, R., Kaufmann, J., LeMaster, M., Matern, P., Morrison-Graham, K., Quick, D., Runyeon, J., 2017. 15.3 Hearing, in: *Anatomy & Physiology*. OpenStax/Oregon State University.
- Bonnefont-Rousselot, D., Collin, F., 2010. Melatonin: Action as antioxidant and potential applications in human disease and aging. *Toxicology* 278, 55–67. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2010.04.008>
- Bountziouka, V., Bathrellou, E., Giotopoulou, A., Katsagoni, C., Bonou, M., Vallianou, N., Barbetseas, J., Avgerinos, P.C., Panagiotakos, D.B., 2012. Development, repeatability and validity regarding energy and macronutrient intake of a semi-quantitative food frequency questionnaire: methodological considerations. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 22, 659–667. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2010.10.015>
- Cadet, J., Wagner, J.R., 2013. DNA Base Damage by Reactive Oxygen Species, Oxidizing Agents, and UV Radiation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 5. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012559>
- Cantu-Medellin, N., Kelley, E.E., 2013. Xanthine oxidoreductase-catalyzed reactive species generation: A process in critical need of reevaluation. *Redox Biology* 1, 353–358. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2013.05.002>
- Carlson, B.M., 2019. Chapter 7 - Special Senses—Vision and Hearing, in: Carlson, B.M. (Ed.), *The Human Body*. Academic Press, pp. 177–207. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804254-0.00007-7>

- Cecarini, V., Gee, J., Fioretti, E., Amici, M., Angeletti, M., Eleuteri, A.M., Keller, J.N., 2007. Protein oxidation and cellular homeostasis: Emphasis on metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 1773, 93–104. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2006.08.039>
- Celik, M., Koyuncu, İ., 2018. A Comprehensive Study of Oxidative Stress in Tinnitus Patients. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg* 70, 521–526. <https://doi.org/10.1007/s12070-018-1464-7>
- Cheeseman, K.H., Slater, T.F., 1993. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 49, 481–493. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a072625>
- Chen, D.S., Betz, J., Yaffe, K., Ayonayon, H.N., Kritchevsky, S., Martin, K.R., Harris, T.B., Purchase-Helzner, E., Satterfield, S., Xue, Q.-L., Pratt, S., Simonsick, E.M., Lin, F.R., Health ABC study, 2015. Association of hearing impairment with declines in physical functioning and the risk of disability in older adults. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 70, 654–661. <https://doi.org/10.1093/gerona/glu207>
- Cheng, Y., Luo, F., Zhang, Q., Sang, Y., Chen, X., Zhang, L., Liu, Y., Li, X., Li, J., Ding, H., Mei, Y., 2018. α -Lipoic acid alleviates pentetrazol-induced neurological deficits and behavioral dysfunction in rats with seizures via an Nrf2 pathway. *RSC Advances* 8, 4084–4092. <https://doi.org/10.1039/C7RA11491E>
- Cherko, M., Hickson, L., Bhutta, M., 2016. Auditory deprivation and health in the elderly. *Maturitas* 88, 52–57. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2016.03.008>
- Cima, R.F.F., Mazurek, B., Haider, H., Kikidis, D., Lapira, A., Noreña, A., Hoare, D.J., 2019. A multidisciplinary European guideline for tinnitus: diagnostics, assessment, and treatment. *HNO* 67, 10–42. <https://doi.org/10.1007/s00106-019-0633-7>
- Ciorba, A., Bianchini, C., Pastore, A., Mazzoli, M., 2013. Pathogenesis of Tinnitus: Any Role for Oxidative Stress? *Journal of International Advanced Otolology* 9, 249–254.
- Coelho, C., Witt, S.A., Ji, H., Hansen, M.R., Gantz, B., Tyler, R., 2013. Zinc to treat tinnitus in the elderly: a randomized placebo controlled crossover trial. *Otol. Neurotol.* 34, 1146–1154. <https://doi.org/10.1097/MAO.0b013e31827e609e>
- Commoner, B., Townsend, J., Pake, G.E., 1954. Free radicals in biological materials. *Nature* 174, 689–691. <https://doi.org/10.1038/174689a0>
- Coombes, J.S., Powers, S.K., Rowell, B., Hamilton, K.L., Dodd, S.L., Shanely, R.A., Sen, C.K., Packer, L., 2001. Effects of vitamin E and alpha-lipoic acid on skeletal muscle

- contractile properties. *J. Appl. Physiol.* 90, 1424–1430.
<https://doi.org/10.1152/jappl.2001.90.4.1424>
- Cooper, C.E., Vollaard, N.B.J., Choueiri, T., Wilson, M.T., 2002. Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochemical Society Transactions* 30, 280–285.
<https://doi.org/10.1042/bst0300280>
- Cooper, G.M., 2000. Peroxisomes. *The Cell: A Molecular Approach*. 2nd edition.
- Couto, N., Wood, J., Barber, J., 2016. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. *Free Radical Biology and Medicine* 95, 27–42. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.028>
- Craig, C.L., Marshall, A.L., Sjöström, M., Bauman, A.E., Booth, M.L., Ainsworth, B.E., Pratt, M., Ekelund, U., Yngve, A., Sallis, J.F., Oja, P., 2003. International Physical Activity Questionnaire: 12-Country Reliability and Validity. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 35, 1381. <https://doi.org/10.1249/01.MSS.0000078924.61453.FB>
- Crawford, A.C., Evans, M.G., Fettiplace, R., 1991. The actions of calcium on the mechano-electrical transducer current of turtle hair cells. *J. Physiol. (Lond.)* 434, 369–398.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.1991.sp018475>
- Crummer, R.W., Hassan, G.A., 2004. Diagnostic approach to tinnitus. *Am Fam Physician* 69, 120–126.
- Davies, K.J.A., 2001. Degradation of oxidized proteins by the 20S proteasome. *Biochimie, Proteasomes* 83, 301–310. [https://doi.org/10.1016/S0300-9084\(01\)01250-0](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(01)01250-0)
- Davies DV and Davies E, 1967. *Grays Anatomy*, 34th Edit., (eds) Longmans Green Co Ltd.
- Dawes, P., Cruickshanks, K.J., Marsden, A., Moore, D.R., Munro, K.J., 2019. Relationship Between Diet, Tinnitus, and Hearing Difficulties. *Ear Hear.*
<https://doi.org/10.1097/AUD.0000000000000765>
- Deal, J.A., Albert, M.S., Arnold, M., Bangdiwala, S.I., Chisolm, T., Davis, S., Eddins, A., Glynn, N.W., Goman, A.M., Minotti, M., Mosley, T., Rebok, G.W., Reed, N., Rodgers, E., Sanchez, V., Sharrett, A.R., Coresh, J., Lin, F.R., 2017. A randomized feasibility pilot trial of hearing treatment for reducing cognitive decline: Results from the Aging and Cognitive Health Evaluation in Elders Pilot Study. *Alzheimers Dement (N Y)* 3, 410–415. <https://doi.org/10.1016/j.trci.2017.06.003>
- Denk, D.M., Heinzl, H., Franz, P., Ehrenberger, K., 1997. Caroverine in tinnitus treatment. A placebo-controlled blind study. *Acta Otolaryngol.* 117, 825–830.
<https://doi.org/10.3109/00016489709114208>

- Derosa, G., D'Angelo, A., Romano, D., Maffioli, P., 2016. A Clinical Trial about a Food Supplement Containing α -Lipoic Acid on Oxidative Stress Markers in Type 2 Diabetic Patients. *Int J Mol Sci* 17. <https://doi.org/10.3390/ijms17111802>
- Di Mascio, P., Murphy, M.E., Sies, H., 1991. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am. J. Clin. Nutr.* 53, 194S-200S.
- Dröge, W., 2002. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews* 82, 47–95. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2001>
- EFSA Panel on Dietetic Products, N. and A. (NDA), 2017. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for vitamin C. *EFSA Journal* 3418. [https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3418@10.1002/\(ISSN\)1831-4732.021217](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3418@10.1002/(ISSN)1831-4732.021217)
- EFSA Panel on Dietetic Products, N., and Allergies (NDA), 2015. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for vitamin E as α -tocopherol. *EFSA Journal* 13, 4149. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4149>
- EFSA Panel on Dietetic Products, N., and Allergies (NDA), 2015. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for vitamin A. *EFSA Journal* 13, 4028. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4028>
- EFSA Panel on Dietetic Products, N. and A. (NDA), 2015. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for copper. *EFSA Journal* 13, 4253. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4253>
- EFSA Panel on Dietetic Products, N. and A. (NDA), 2014. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for selenium. *EFSA Journal* 12, 3846. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3846>
- EFSA Panel on Dietetic Products, N. and A. (NDA), 2014. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for zinc. *EFSA Journal* 12, 3844. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3844>
- EFSA Panel on Dietetic Products, N. and A. (NDA), 2011. Guidance on the scientific requirements for health claims related to antioxidants, oxidative damage and cardiovascular health. *EFSA Journal* 9, 2474. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2474>
- EFSA Panel on Dietetic Products, N. and A. (NDA), 2010. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to vitamin E and protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage (ID 160, 162, 1947), maintenance of the normal function of the immune system (ID 161, 163), maintenance of normal bone (ID 164),

maintenance of normal teeth (ID 164), maintenance of normal hair (ID 164), maintenance of normal skin (ID 164), maintenance of normal nails (ID 164), maintenance of normal cardiac function (ID 166), maintenance of normal vision by protection of the lens of the eye (ID 167), contribution to normal cognitive function (ID 182, 183), regeneration of the reduced form of vitamin C (ID 203), maintenance of normal blood circulation (ID 216) and maintenance of normal a scalp (ID 2873) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA Journal 8, 1816. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1816>

EFSA Panel on Dietetic Products, N. and A. (NDA), 2009a. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to copper and protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage (ID 263, 1726), function of the immune system (ID 264), maintenance of connective tissues (ID 265, 271, 1722), energy-yielding metabolism (ID 266), function of the nervous system (ID 267), maintenance of skin and hair pigmentation (ID 268, 1724), iron transport (ID 269, 270, 1727), cholesterol metabolism (ID 369), and glucose metabolism (ID 369) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA Journal 7, 1211. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1211>

EFSA Panel on Dietetic Products, N. and A. (NDA), 2009b. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to selenium and protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage (ID 277, 283, 286, 1289, 1290, 1291, 1293, 1751), function of the immune system (ID 278), thyroid function (ID 279, 282, 286, 1289, 1290, 1291, 1293), function of the heart and blood vessels (ID 280), prostate function (ID 284), cognitive function (ID 285) and spermatogenesis (ID 396) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA Journal 7, 1220. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1220>

EFSA Panel on Dietetic Products, N. and A. (NDA), 2009c. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to vitamin C and protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage (ID 129, 138, 143, 148), antioxidant function of lutein (ID 146), maintenance of vision (ID 141, 142), collagen formation (ID 130, 131, 136, 137, 149), function of the nervous system (ID 133), function of the immune system (ID 134), function of the immune system during and after extreme physical exercise (ID 144), non-haem iron absorption (ID 132, 147), energy-yielding metabolism (ID 135), and relief in case of irritation in the upper respiratory tract (ID 1714, 1715) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA Journal 7, 1226. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1226>

- EFSA Panel on Dietetic Products, N. and A. (NDA), 2009d. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to zinc and function of the immune system (ID 291, 1757), DNA synthesis and cell division (ID 292, 1759), protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage (ID 294, 1758), maintenance of bone (ID 295, 1756), cognitive function (ID 296), fertility and reproduction (ID 297, 300), reproductive development (ID 298), muscle function (ID 299), metabolism of fatty acids (ID 302), maintenance of joints (ID 305), function of the heart and blood vessels (ID 306), prostate function (ID 307), thyroid function (ID 308), acid-base metabolism (ID 360), vitamin A metabolism (ID 361) and maintenance of vision (ID 361) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal* 7, 1229. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1229>
- Ehrenberger, K., Felix, D., 1995. Receptor Pharmacological Models for Inner Ear Therapies with Emphasis on Glutamate Receptors: A Survey. *Acta Oto-Laryngologica* 115, 236–240. <https://doi.org/10.3109/00016489509139299>
- Ekinci, A., Kamasak, K., 2019. Evaluation of serum prolidase enzyme activity and oxidative stress in patients with tinnitus. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*. <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2019.01.009>
- Enrico, P., Sirca, D., Mereu, M., 2007. Antioxidants, minerals, vitamins, and herbal remedies in tinnitus therapy, in: Langguth, B., Hajak, G., Kleinjung, T., Cacace, A., Møller, A.R. (Eds.), *Progress in Brain Research, Tinnitus: Pathophysiology and Treatment*. Elsevier, pp. 323–330. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(07\)66029-4](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(07)66029-4)
- Erdem, T., Bayindir, T., Filiz, A., Iraz, M., Selimoglu, E., 2012. The effect of resveratrol on the prevention of cisplatin ototoxicity. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 269, 2185–2188. <https://doi.org/10.1007/s00405-011-1883-5>
- Esen, E., Özdoğan, F., Gürgen, S.G., Özel, H.E., Başer, S., Genç, S., Selçuk, A., 2018. Ginkgo biloba and Lycopene are Effective on Cisplatin Induced Ototoxicity? *J Int Adv Otol* 14, 22–26. <https://doi.org/10.5152/iao.2017.3137>
- Esmaili, A.A., Renton, J., 2018. A review of tinnitus. *Australian Journal of General Practice* 47, 205.
- Evans, H.M., Bishop, K.S., 1922. On the Existence of a Hitherto Unrecognized Dietary Factor Essential for Reproduction. *Science* 56, 650–651. <https://doi.org/10.1126/science.56.1458.650>

- Eybalin, M., Altschuler, R.A., 1990. Immunoelectron microscopic localization of neurotransmitters in the cochlea. *Journal of Electron Microscopy Technique* 15, 209–224. <https://doi.org/10.1002/jemt.1060150303>
- Fackrell, K., Hall, D.A., Barry, J.G., Hoare, D.J., 2018. Performance of the Tinnitus Functional Index as a diagnostic instrument in a UK clinical population. *Hearing Research* 358, 74–85. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2017.10.016>
- Fernandez-Panchon, M.S., Villano, D., Troncoso, A.M., Garcia-Parrilla, M.C., 2008. Antioxidant Activity of Phenolic Compounds: From In Vitro Results to In Vivo Evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 48, 649–671. <https://doi.org/10.1080/10408390701761845>
- Figueiredo, R.R., de Azevedo, A.A., de Mello Oliveira, P., 2009. Correlation analysis of the visual-analogue scale and the Tinnitus Handicap Inventory in tinnitus patients. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology* 75, 76–79. [https://doi.org/10.1016/S1808-8694\(15\)30835-1](https://doi.org/10.1016/S1808-8694(15)30835-1)
- Fountoulakis, K., Iacovides, A., Kleanthous, S., Samolis, S., Kaprinis, S.G., Sitzoglou, K., St Kaprinis, G., Bech, P., 2001. Reliability, Validity and Psychometric Properties of the Greek Translation of the Center for Epidemiological Studies-Depression (CES-D) Scale. *BMC Psychiatry* 1, 3. <https://doi.org/10.1186/1471-244X-1-3>
- Fraga, C.G., Oteiza, P.I., Galleano, M., 2014. In vitro measurements and interpretation of total antioxidant capacity. *Biochim. Biophys. Acta* 1840, 931–934. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.06.030>
- Fransen, M., Nordgren, M., Wang, B., Apanasets, O., 2012. Role of peroxisomes in ROS/RNS-metabolism: Implications for human disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease, Metabolic Functions and Biogenesis of Peroxisomes in Health and Disease* 1822, 1363–1373. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2011.12.001>
- Fruhworth, G.O., Hermetter, A., 2008. Mediation of apoptosis by oxidized phospholipids. *Subcell. Biochem.* 49, 351–367. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8831-5_13
- Fuchs, J., Weber, S., Podda, M., Groth, N., Herrling, T., Packer, L., Kaufmann, R., 2003. HPLC analysis of vitamin E isoforms in human epidermis: correlation with minimal erythema dose and free radical scavenging activity. *Free Radic. Biol. Med.* 34, 330–336. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(02\)01293-5](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(02)01293-5)
- Gamaley, I.A., Klyubin, I.V., 1999. Roles of Reactive Oxygen Species: Signaling and Regulation of Cellular Functions, in: Jeon, K.W. (Ed.), *International Review of*

- Cytology. Academic Press, pp. 203–255. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(08\)61568-5](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)61568-5)
- Gaschler, M.M., Stockwell, B.R., 2017. Lipid peroxidation in cell death. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Special Issue on Cell Death in Honor of Sten Orrenius 482, 419–425. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.10.086>
- Genestra, M., 2007. Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. *Cellular Signalling* 19, 1807–1819. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2007.04.009>
- Gimeno, E., Fitó, M., Lamuela-Raventós, R.M., Castellote, A.I., Covas, M., Farré, M., Torre-Boronat, M. de la, López-Sabater, M.C., 2002. Effect of ingestion of virgin olive oil on human low-density lipoprotein composition. *Eur J Clin Nutr* 56, 114–120. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601293>
- Gitter, A.H., Frömter, E., Zenner, H.P., 1992. C-type potassium channels in the lateral cell membrane of guinea-pig outer hair cells. *Hear. Res.* 60, 13–19. [https://doi.org/10.1016/0378-5955\(92\)90053-p](https://doi.org/10.1016/0378-5955(92)90053-p)
- Gliszczyńska-Świgło, A., 2006. Antioxidant activity of water soluble vitamins in the TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) and the FRAP (ferric reducing antioxidant power) assays. *Food Chemistry* 96, 131–136. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.02.018>
- Glorieux, C., Calderon, P.B., 2017. Catalase, a remarkable enzyme: targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach. *Biol. Chem.* 398, 1095–1108. <https://doi.org/10.1515/hsz-2017-0131>
- Gold, T., null, null, Gray, J., null, null, 1948. Hearing. II. The physical basis of the action of the cochlea. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 135, 492–498. <https://doi.org/10.1098/rspb.1948.0025>
- Gonzalez-Gonzalez, S., 2017. The role of mitochondrial oxidative stress in hearing loss. *Neurological Disorders and Therapeutics* 1. <https://doi.org/10.15761/NDT.1000117>
- Guitton, M.J., 2012. Tinnitus: pathology of synaptic plasticity at the cellular and system levels. *Front Syst Neurosci* 6. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2012.00012>
- Halliwell, B., 2006. Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life. *Plant Physiol* 141, 312–322. <https://doi.org/10.1104/pp.106.077073>
- Halliwell, B., 1995. How to characterize an antioxidant: an update. *Biochem. Soc. Symp.* 61, 73–101.

- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 2015. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press.
- Hardeland, R., Cardinali, D.P., Srinivasan, V., Spence, D.W., Brown, G.M., Pandi-Perumal, S.R., 2011. Melatonin—A pleiotropic, orchestrating regulator molecule. *Progress in Neurobiology* 93, 350–384. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2010.12.004>
- Harman, D., 1981. The aging process. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 78, 7124–7128. <https://doi.org/10.1073/pnas.78.11.7124>
- Harman, D., 1956. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 11, 298–300. <https://doi.org/10.1093/geronj/11.3.298>
- Hart, D.J., Scott, K.J., 1995. Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. *Food Chemistry* 54, 101–111. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(95\)92669-B](https://doi.org/10.1016/0308-8146(95)92669-B)
- Hatfield, G.L., Barclay, L.R.C., 2004. Bilirubin as an Antioxidant: Kinetic Studies of the Reaction of Bilirubin with Peroxyl Radicals in Solution, Micelles, and Lipid Bilayers. *Org. Lett.* 6, 1539–1542. <https://doi.org/10.1021/ol040016k>
- Henry, J.A., Meikle, M.B., 2000. Psychoacoustic Measures of Tinnitus. *Journal of the American Academy of Audiology* 11, 18.
- Hiller, W., Goebel, G., 2006. Factors influencing tinnitus loudness and annoyance. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 132, 1323–1330. <https://doi.org/10.1001/archotol.132.12.1323>
- Hilton, M.P., Zimmermann, E.F., Hunt, W.T., 2013. Ginkgo biloba for tinnitus. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003852.pub3>
- Hitchon, C.A., El-Gabalawy, H.S., 2004. Oxidation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Research and Therapy* 6, 265–278. <https://doi.org/10.1186/ar1447>
- Ho, E., Karimi Galougahi, K., Liu, C.-C., Bhindi, R., Figtree, G.A., 2013. Biological markers of oxidative stress: Applications to cardiovascular research and practice. *Redox Biology* 1, 483–491. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2013.07.006>
- Houston, D.K., Johnson, M.A., Nozza, R.J., Gunter, E.W., Shea, K.J., Cutler, G.M., Edmonds, J.T., 1999. Age-related hearing loss, vitamin B-12, and folate in elderly women. *Am. J. Clin. Nutr.* 69, 564–571. <https://doi.org/10.1093/ajcn/69.3.564>
- Howarth, A., Shone, G.R., 2006. Ageing and the auditory system. *Postgrad Med J* 82, 166–171. <https://doi.org/10.1136/pgmj.2005.039388>

- Hu, B.H., Henderson, D., 2014. Oxidative Stress and Cochlear Damage, in: Laher, I. (Ed.), *Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 3561–3580. https://doi.org/10.1007/978-3-642-30018-9_172
- Ighodaro, O.M., Akinloye, O.A., 2018. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine* 54, 287–293. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>
- Ignarro, L.J., Kadowitz, P.J., 1985. The pharmacological and physiological role of cyclic GMP in vascular smooth muscle relaxation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 25, 171–191. <https://doi.org/10.1146/annurev.pa.25.040185.001131>
- Institute of Medicine (US) Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds, 2000. *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*. National Academies Press (US), Washington (DC).
- Institute of Medicine (US) Panel on Micronutrients, 2001. *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*. National Academies Press (US), Washington (DC).
- Intakes, I. of M. (US) S. on I. and U. of D.R., Intakes, I. of M. (US) S.C. on the S.E. of D.R., 2000. *Using the Tolerable Upper Intake Level for Nutrient Assessment of Groups*. National Academies Press (US).
- Isakov, V.A., Bogdanova, A.A., Bessonov, V.V., Sentsova, T.B., Tutelyan, V.A., Lin, Y., Kazlova, V., Hong, J., Velliquette, R.A., 2018. Effects of Multivitamin, Multimineral and Phytonutrient Supplementation on Nutrient Status and Biomarkers of Heart Health Risk in a Russian Population: A Randomized, Double Blind, Placebo Controlled Study. *Nutrients* 10. <https://doi.org/10.3390/nu10020120>
- Jacob, R.A., Aiello, G.M., Stephensen, C.B., Blumberg, J.B., Milbury, P.E., Wallock, L.M., Ames, B.N., 2003. Moderate Antioxidant Supplementation Has No Effect on Biomarkers of Oxidant Damage in Healthy Men with Low Fruit and Vegetable Intakes. *J Nutr* 133, 740–743. <https://doi.org/10.1093/jn/133.3.740>
- Jalessi, M., Farhadi, M., Asghari, A., Kamrava, S., Amintehran, E., Ghalehbaghi, S., Heshmatzadeh Behzadi, A., Pousti, S., 2013. Tinnitus: An epidemiologic study in Iranian population. *Acta medica Iranica* 51, 886–91.
- Jansen, E., Beekhof, P., Tamosiunas, A., Luksiene, D., Baceviciene, M., 2015. Biomarkers of oxidative stress and redox status in a short-term low-dosed multivitamin and mineral

- supplementation study in two human age groups. *Biogerontology* 16, 645–653. <https://doi.org/10.1007/s10522-015-9568-x>
- Jastreboff, P. J., 1990. Phantom auditory perception (tinnitus): mechanisms of generation and perception. *Neurosci. Res.* 8, 221–254. [https://doi.org/10.1016/0168-0102\(90\)90031-9](https://doi.org/10.1016/0168-0102(90)90031-9)
- Jastreboff, Pawel J., 1990. Phantom auditory perception (tinnitus): mechanisms of generation and perception. *Neuroscience Research* 8, 221–254. [https://doi.org/10.1016/0168-0102\(90\)90031-9](https://doi.org/10.1016/0168-0102(90)90031-9)
- Jialal, I., Fuller, C.J., Huet, B.A., 1995. The effect of alpha-tocopherol supplementation on LDL oxidation. A dose-response study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 15, 190–198. <https://doi.org/10.1161/01.atv.15.2.190>
- Joachims, H.Z., Segal, J., Golz, A., Netzer, A., Goldenberg, D., 2003. Antioxidants in treatment of idiopathic sudden hearing loss. *Otol. Neurotol.* 24, 572–575.
- Kapul, A., Zubova, E., Torgaev, S., Drobchik, V., 2017. Pure-tone Audiometer. *Journal of Physics: Conference Series* 881, 012010. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/881/1/012010>
- Karafakioğlu, Y.S., 2019. Effects of α lipoic acid on noise induced oxidative stress in rats. *Saudi J Biol Sci* 26, 989–994. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.08.008>
- Katz, J., Chasin, M., English, K.M., Hood, L.J., Tillery, K.L., 2015. *Handbook of clinical audiology*.
- Kennedy, D.O., 2016. B Vitamins and the Brain: Mechanisms, Dose and Efficacy—A Review. *Nutrients* 8. <https://doi.org/10.3390/nu8020068>
- Khedr, E.M., Ahmed, M.A., Shawky, O.A., Mohamed, E.S., El Attar, G.S., Mohammad, K.A., 2010. Epidemiological study of chronic tinnitus in Assiut, Egypt. *Neuroepidemiology* 35, 45–52. <https://doi.org/10.1159/000306630>
- Kim, K.-H., Lee, B., Kim, Y.-R., Kim, M.-A., Ryu, N., Jung, D., Kim, U.-K., Baek, J.-I., Lee, K.-Y., 2018. Evaluating protective and therapeutic effects of alpha-lipoic acid on cisplatin-induced ototoxicity. *Cell Death & Disease* 9. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0888-z>
- Kim, S.K., Im, G.J., An, Y.S., Lee, S.H., Jung, H.H., Park, S.Y., 2016. The effects of the antioxidant α -tocopherol succinate on cisplatin-induced ototoxicity in HEI-OC1 auditory cells. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* 86, 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2016.04.008>

- Kim, Y.J., Ahn, Y.H., Lim, Y., Kim, J.Y., Kim, J., Kwon, O., 2013. Daily Nutritional Dose Supplementation with Antioxidant Nutrients and Phytochemicals Improves DNA and LDL Stability: A Double-Blind, Randomized, and Placebo-Controlled Trial. *Nutrients* 5, 5218–5232. <https://doi.org/10.3390/nu5125218>
- Klotz, L.-O., Kröncke, K.-D., Buchczyk, D.P., Sies, H., 2003. Role of Copper, Zinc, Selenium and Tellurium in the Cellular Defense against Oxidative and Nitrosative Stress. *J Nutr* 133, 1448S-1451S. <https://doi.org/10.1093/jn/133.5.1448S>
- Koç, S., Akyüz, S., Somuk, B.T., Soyalic, H., Yılmaz, B., Taskin, A., Bilinc, H., Aksoy, N., 2016. Paraoxonase Activity and Oxidative Status in Patients with Tinnitus. *J Audiol Otol* 20, 17–21. <https://doi.org/10.7874/jao.2016.20.1.17>
- Kojo, S., 2004. Vitamin C: Basic metabolism and its function as an index of oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry* 11, 1041–1064. <https://doi.org/10.2174/0929867043455567>
- Kolahi, S., Mirtaheri, E., Pourghasem Gargari, B., Khabbazi, A., Hajalilou, M., Asghari-Jafarabadi, M., Mesgari Abbasi, M., 2019. Oral administration of alpha-lipoic acid did not affect lipid peroxidation and antioxidant biomarkers in rheumatoid arthritis patients. *Int J Vitam Nutr Res* 89, 13–21. <https://doi.org/10.1024/0300-9831/a000550>
- Kosower, N.S., Kosower, E.M., 1978. The Glutathione Status of Cells¹This article is dedicated to the memory of Dr Chaim Sheba, who provided, with warmth and wisdom, the original stimulus for our studies on the importance of glutathione., in: Bourne, G.H., Danielli, J.F., Jeon, K.W. (Eds.), *International Review of Cytology*. Academic Press, pp. 109–160. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(08\)60166-7](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)60166-7)
- Krisko, A., Radman, M., 2019. Protein damage, ageing and age-related diseases. *Open Biology*. <https://doi.org/10.1098/rsob.180249>
- Kuduban, O., Kucur, C., Sener, E., Suleyman, H., Akcay, F., 2013a. The Role of Thiamine Pyrophosphate in Prevention of Cisplatin Ototoxicity in an Animal Model. *ScientificWorldJournal* 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/182694>
- Kuduban, O., Kucur, C., Sener, E., Suleyman, H., Akcay, F., 2013b. The Role of Thiamine Pyrophosphate in Prevention of Cisplatin Ototoxicity in an Animal Model. *ScientificWorldJournal* 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/182694>
- Landgrebe, M., Azevedo, A., Baguley, D., Bauer, C., Cacace, A., Coelho, C., Dornhoffer, J., Figueiredo, R., Flor, H., Hajak, G., Heyning, P. van de, Hiller, W., Khedr, E., Kleinjung, T., Koller, M., Lainez, J.M., Londero, A., Martin, W.H., Mennemeier, M., Piccirillo, J., Ridder, D.D., Rupprecht, R., Searchfield, G., Vanneste, S., Zeman, F.,

- Langguth, B., 2012. Methodological aspects of clinical trials in tinnitus: A proposal for an international standard. *Journal of psychosomatic research* 73, 112. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2012.05.002>
- Langguth, B., Goodey, R., Azevedo, A., Bjorne, A., Cacace, A., Crocetti, A., Del Bo, L., De Ridder, D., Diges, I., Elbert, T., Flor, H., Herraiz, C., Sanchez, T.G., Eichhammer, P., Figueiredo, R., Hajak, G., Kleinjung, T., Landgrebe, M., Londero, A., Lainez, M.J.A., Mazzoli, M., Meikle, M.B., Melcher, J., Rauschecker, J.P., Sand, P.G., Struve, M., Van de Heyning, P., Van Dijk, P., Vergara, R., 2007. Consensus for tinnitus patient assessment and treatment outcome measurement: Tinnitus Research Initiative meeting, Regensburg, July 2006. *Prog Brain Res* 166, 525–536. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(07\)66050-6](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(07)66050-6)
- Langguth, B., Salvi, R., Elgoyhen, A.B., 2009. Emerging pharmacotherapy of tinnitus. *Expert Opin Emerg Drugs* 14, 687–702. <https://doi.org/10.1517/14728210903206975>
- Lee, J.-M., Johnson, J.A., 2004. An important role of Nrf2-ARE pathway in the cellular defense mechanism. *J. Biochem. Mol. Biol.* 37, 139–143. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2004.37.2.139>
- Lee, J.S., Kang, S.U., Hwang, H.S., Pyun, J.H., Choung, Y.H., Kim, C.H., 2010. Epicatechin protects the auditory organ by attenuating cisplatin-induced ototoxicity through inhibition of ERK. *Toxicol. Lett.* 199, 308–316. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2010.09.013>
- Lettieri-Barbato, D., Tomei, F., Sancini, A., Morabito, G., Serafini, M., 2013. Effect of plant foods and beverages on plasma non-enzymatic antioxidant capacity in human subjects: a meta-analysis. *Br. J. Nutr.* 109, 1544–1556. <https://doi.org/10.1017/S0007114513000263>
- Lewinsohn, P.M., Seeley, J.R., Roberts, R.E., Allen, N.B., 1997. Center for Epidemiologic Studies Depression Scale (CES-D) as a screening instrument for depression among community-residing older adults. *Psychol Aging* 12, 277–287. <https://doi.org/10.1037//0882-7974.12.2.277>
- Li, D.-W., Wang, Y.-D., Zhou, S.-Y., Sun, W.-P., 2016. α -lipoic acid exerts neuroprotective effects on neuronal cells by upregulating the expression of PCNA via the P53 pathway in neurodegenerative conditions. *Molecular Medicine Reports* 14, 4360–4366. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5754>

- Lippi, G., Montagnana, M., Franchini, M., Favalaro, E.J., Targher, G., 2008. The paradoxical relationship between serum uric acid and cardiovascular disease. *Clinica Chimica Acta* 392, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2008.02.024>
- Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S.L., Matsudaira, P., Baltimore, D., Darnell, J., 2000. *Electron Transport and Oxidative Phosphorylation*. Molecular Cell Biology. 4th edition.
- Loew, O., 1900. A NEW ENZYME OF GENERAL OCCURRENCE IN ORGANISMIS. *Science* 11, 701–702. <https://doi.org/10.1126/science.11.279.701>
- Loughrey, D.G., Kelly, M.E., Kelley, G.A., Brennan, S., Lawlor, B.A., 2018. Association of Age-Related Hearing Loss With Cognitive Function, Cognitive Impairment, and Dementia: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 144, 115–126. <https://doi.org/10.1001/jamaoto.2017.2513>
- Lubos, E., Loscalzo, J., Handy, D.E., 2011. Glutathione Peroxidase-1 in Health and Disease: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Opportunities. *Antioxid Redox Signal* 15, 1957–1997. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3586>
- Maison, S.F., Luebke, A.E., Liberman, M.C., Zuo, J., 2002. Efferent protection from acoustic injury is mediated via alpha9 nicotinic acetylcholine receptors on outer hair cells. *J. Neurosci.* 22, 10838–10846.
- Marcocci, L., Packer, L., Droy-Lefaix, M.-T., Sekaki, A., Gardès-Albert, M., 1994. Antioxidant action of Ginkgo biloba extract EGb 761. *Methods in Enzymology* 234, 462–475. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(94\)34117-6](https://doi.org/10.1016/0076-6879(94)34117-6)
- Marrocco, I., Altieri, F., Peluso, I., 2017. Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans. *Oxid Med Cell Longev* 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/6501046>
- Martínez-Vega, R., Garrido, F., Partearroyo, T., Cediél, R., Zeisel, S.H., Martínez-Álvarez, C., Varela-Moreiras, G., Varela-Nieto, I., Pajares, M.A., 2014. Folic acid deficiency induces premature hearing loss through mechanisms involving cochlear oxidative stress and impairment of homocysteine metabolism. *The FASEB Journal* 29, 418–432. <https://doi.org/10.1096/fj.14-259283>
- McCord, J.M., Fridovich, I., 1969. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J. Biol. Chem.* 244, 6049–6055.
- Medicine, I. of, 2006. *Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements*. <https://doi.org/10.17226/11537>

- Meikle, M., Henry, J., Griest, S., Stewart, B., Abrams, H., McArdle, R., Myers, P., Newman, C., Sandridge, S., Turk, D., Folmer, R., Frederick, E., House, J., Jacobson, G., Kinney, S., Martin, W., Nagler, S., Reich, G., Searchfield, G., Sweetow, R., Vernon, J., 2012. The Tinnitus Functional Index: Development of a New Clinical Measure for Chronic, Intrusive Tinnitus. *Ear and Hearing* 33, 153–176. <https://doi.org/10.1097/AUD.0b013e31822f67c0>
- Mendoza-Núñez, V.M., García-Martínez, B.I., Rosado-Pérez, J., Santiago-Osorio, E., Pedraza-Chaverri, J., Hernández-Abad, V.J., 2019. The Effect of 600 mg Alpha-lipoic Acid Supplementation on Oxidative Stress, Inflammation, and RAGE in Older Adults with Type 2 Diabetes Mellitus. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2019, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2019/3276958>
- Michopoulos, I., Douzenis, A., Kalkavoura, C., Christodoulou, C., Michalopoulou, P., Kalemi, G., Fineti, K., Patapis, P., Protopapas, K., Lykouras, L., 2008. Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS): validation in a Greek general hospital sample. *Ann Gen Psychiatry* 7, 4. <https://doi.org/10.1186/1744-859X-7-4>
- Micronutrients, I. of M. (US) P. on, 2001. Copper. National Academies Press (US).
- Miller, N.J., 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. *Clinical Science* 84, 407–412. <https://doi.org/10.1042/cs0840407>
- Miller, N.J., Rice-Evans, C.A., 2009. Factors Influencing the Antioxidant Activity Determined by the ABTS•+ Radical Cation Assay. *Free Radical Research*. <https://doi.org/10.3109/10715769709097799>
- Mills, G.C., 1957. Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *J. Biol. Chem.* 229, 189–197.
- Mirończuk-Chodakowska, I., Witkowska, A.M., Zujko, M.E., 2018. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in Medical Sciences* 63, 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.advms.2017.05.005>
- Mittal, C.K., Murad, F., 1977. Activation of guanylate cyclase by superoxide dismutase and hydroxyl radical: a physiological regulator of guanosine 3',5'-monophosphate formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 74, 4360–4364. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.10.4360>

- Mittal, M., Siddiqui, M.R., Tran, K., Reddy, S.P., Malik, A.B., 2014. Reactive Oxygen Species in Inflammation and Tissue Injury. *Antioxid Redox Signal* 20, 1126–1167. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.5149>
- Mokhtari, Z., Hekmatdoost, A., Nourian, M., 2017. Antioxidant efficacy of vitamin D Open Access. *Journal of Parathyroid Disease* 5, 11–16.
- Møller, A.R., 1994. Auditory neurophysiology. *J Clin Neurophysiol* 11, 284–308. <https://doi.org/10.1097/00004691-199405000-00002>
- Morgenstern, C., Biermann, E., 2002. The efficacy of Ginkgo special extract EGb 761 in patients with tinnitus. *Int J Clin Pharmacol Ther* 40, 188–197. <https://doi.org/10.5414/cpp40188>
- Mustacich, D., Powis, G., 2000. Thioredoxin reductase. *Biochem J* 346, 1–8.
- Najafpour Boushehri, S., Yusof, R.M., Nasir Mohammad Taib, M., Mirzaei, K., Yazdekhashti, N., Akbarzadeh, S., 2012. Effect of Vitamin Supplementation on Serum Oxidized Low-Density Lipoprotein Levels in Male Subjects with Cardiovascular Disease Risk Factors. *Iran J Basic Med Sci* 15, 958–964.
- Neri, S., Signorelli, S., Pulvirenti, D., Mauceri, B., Cilio, D., Bordonaro, F., Abate, G., Interlandi, D., Misseri, M., Ignaccolo, L., Savastano, M., Azzolina, R., Grillo, C., Messina, A., Serra, A., Tsami, A., 2006. Oxidative stress, nitric oxide, endothelial dysfunction and tinnitus. *Free Radical Research* 40, 615–618. <https://doi.org/10.1080/10715760600623825>
- Neuzil, J., Thomas, S.R., Stocker, R., 1997. Requirement for, promotion, or inhibition by alpha-tocopherol of radical-induced initiation of plasma lipoprotein lipid peroxidation. *Free Radic. Biol. Med.* 22, 57–71. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(96\)00224-9](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(96)00224-9)
- Newman, C.W., Jacobson, G.P., Spitzer, J.B., 1996. Development of the Tinnitus Handicap Inventory. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 122, 143–148. <https://doi.org/10.1001/archotol.1996.01890140029007>
- Noack, V., Pak, K., Jalota, R., Kurabi, A., Ryan, A.F., 2017. An Antioxidant Screen Identifies Candidates for Protection of Cochlear Hair Cells from Gentamicin Toxicity. *Front Cell Neurosci* 11. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00242>
- Noble, W., 2008. Treatments for Tinnitus. *Trends Amplif* 12, 236–241. <https://doi.org/10.1177/1084713808320552>

- Nondahl, D.M., Cruickshanks, K.J., Dalton, D.S., Klein, B.E.K., Klein, R., Schubert, C.R., Tweed, T.S., Wiley, T.L., 2007. The impact of tinnitus on quality of life in older adults. *J Am Acad Audiol* 18, 257–266. <https://doi.org/10.3766/jaaa.18.3.7>
- Nondahl, D.M., Cruickshanks, K.J., Huang, G.-H., Klein, B.E.K., Klein, R., Nieto, F.J., Tweed, T.S., 2011. Tinnitus and its risk factors in the Beaver Dam offspring study. *Int J Audiol* 50, 313–320. <https://doi.org/10.3109/14992027.2010.551220>
- Noreña, A.J., Farley, B.J., 2013. Tinnitus-related neural activity: theories of generation, propagation, and centralization. *Hear. Res.* 295, 161–171. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2012.09.010>
- Noreña, A.J., Eggermont, J.J., 2003. Changes in spontaneous neural activity immediately after an acoustic trauma: implications for neural correlates of tinnitus. *Hear. Res.* 183, 137–153. [https://doi.org/10.1016/s0378-5955\(03\)00225-9](https://doi.org/10.1016/s0378-5955(03)00225-9)
- Pagès, V., Fuchs, R.P., 2002. How DNA lesions are turned into mutations within cells? *Oncogene* 21, 8957–8966. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206006>
- Paglialonga, A., Fiocchi, S., Del Bo, L., Ravazzani, P., Tognola, G., 2011. Quantitative analysis of cochlear active mechanisms in tinnitus subjects with normal hearing sensitivity: Time-frequency analysis of transient evoked otoacoustic emissions and contralateral suppression. *Auris Nasus Larynx* 38, 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.anl.2010.04.006>
- Palace, V.P., Khaper, N., Qin, Q., Singal, P.K., 1999. Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. *Free Radical Biology and Medicine* 26, 746–761. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00266-4](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00266-4)
- Palozza, P., Serini, S., Di Nicuolo, F., Piccioni, E., Calviello, G., 2003. Prooxidant effects of β -carotene in cultured cells. *Molecular Aspects of Medicine, Fat Soluble Vitamins: Old Molecules with Novel Properties* 24, 353–362. [https://doi.org/10.1016/S0098-2997\(03\)00031-1](https://doi.org/10.1016/S0098-2997(03)00031-1)
- 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 and Cardiovascular Diseases* 16, 559–568. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2005.08.006>
- Papathanasiou, G., Georgoudis, G., Papandreou, M., Spyropoulos, P., Georgakopoulos, D., Kalfakakou, V., Evangelou, A., 2009. Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults. *Hellenic J Cardiol* 50, 283–294.

- Papp, L.V., Lu, J., Holmgren, A., Khanna, K.K., 2007. From Selenium to Selenoproteins: Synthesis, Identity, and Their Role in Human Health. *Antioxidants & Redox Signaling* 9, 775–806. <https://doi.org/10.1089/ars.2007.1528>
- Park, R.J., Moon, J.D., 2014. Prevalence and risk factors of tinnitus: the Korean National Health and Nutrition Examination Survey 2010-2011, a cross-sectional study. *Clin Otolaryngol* 39, 89–94. <https://doi.org/10.1111/coa.12232>
- Parsons, M.P., Raymond, L.A., 2014. Extrasynaptic NMDA receptor involvement in central nervous system disorders. *Neuron* 82, 279–293. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.03.030>
- Pattison, D.I., Davies, M.J., Hawkins, C.L., 2012. Reactions and reactivity of myeloperoxidase-derived oxidants: Differential biological effects of hypochlorous and hypothiocyanous acids. *Free Radical Research* 46, 975–995. <https://doi.org/10.3109/10715762.2012.667566>
- Pellegrini, N., Vitaglione, P., Granato, D., Fogliano, V., 2018. Twenty-five years of total antioxidant capacity measurement of foods and biological fluids: merits and limitations. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 0. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9550>
- Peluso, I., Raguzzini, A., 2016. Salivary and Urinary Total Antioxidant Capacity as Biomarkers of Oxidative Stress in Humans. *Patholog Res Int* 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/5480267>
- Penner M. J., Burns E. M., 1987. The Dissociation of SOAEs and Tinnitus. *Journal of Speech, Language, and Hearing Research* 30, 396–403. <https://doi.org/10.1044/jshr.3003.396>
- Penner, M.J., Coles, R.R., 1992. Indications for aspirin as a palliative for tinnitus caused by SOAEs: a case study. *Br J Audiol* 26, 91–96. <https://doi.org/10.3109/03005369209077876>
- Pérez, V.I., Bokov, A., Remmen, H.V., Mele, J., Ran, Q., Ikeno, Y., Richardson, A., 2009. Is the oxidative stress theory of aging dead? *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects* 1790, 1005–1014. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2009.06.003>
- Perkins, A., Nelson, K.J., Parsonage, D., Poole, L.B., Karplus, P.A., 2015. Peroxiredoxins: Guardians Against Oxidative Stress and Modulators of Peroxide Signaling. *Trends Biochem Sci* 40, 435–445. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2015.05.001>

- Person, O.C., Puga, M.E., da Silva, E.M., Torloni, M.R., 2016. Zinc supplementation for tinnitus. *Cochrane Database Syst Rev* 2016. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009832.pub2>
- Pisoschi, A.M., Pop, A., 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry* 97, 55–74. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., Bitto, A., 2017. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev* 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
- Poirrier, A.L., Pincemail, J., Van Den Ackerveken, P., Lefebvre, P.P., Malgrange, B., 2010. Oxidative stress in the cochlea: an update. *Curr. Med. Chem.* 17, 3591–3604. <https://doi.org/10.2174/092986710792927895>
- Polanski, J.F., Soares, A.D., de Mendonça Cruz, O.L., 2016. Antioxidant therapy in the elderly with tinnitus. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology* 82, 269–274. <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2015.04.016>
- Porasuphatana, S., Suddee, S., Nartnampong, A., Konsil, J., Harnwong, B., Santaweek, A., 2012. Glycemic and oxidative status of patients with type 2 diabetes mellitus following oral administration of alpha-lipoic acid: A randomized double-blinded placebocontrolled study. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 21, 12.
- Powell, S.R., 2000. The Antioxidant Properties of Zinc. *J Nutr* 130, 1447S–1454S. <https://doi.org/10.1093/jn/130.5.1447S>
- Procházková, K., Šejna, I., Skutil, J., Hahn, A., 2018. Ginkgo biloba extract EGb 761® versus pentoxifylline in chronic tinnitus: a randomized, double-blind clinical trial. *Int J Clin Pharm* 40, 1335–1341. <https://doi.org/10.1007/s11096-018-0654-4>
- Pujol, R., 1994. Lateral and medial efferents: a double neurochemical mechanism to protect and regulate inner and outer hair cell function in the cochlea. *Br J Audiol* 28, 185–191. <https://doi.org/10.3109/03005369409086567>
- Quaranta, A., Assennato, G., Sallustio, V., 1996. Epidemiology of hearing problems among adults in Italy. *Scand Audiol Suppl* 42, 9–13.
- Quaranta, N., Dicorato, A., Matera, V., D’Elia, A., Quaranta, A., 2012. The effect of alpha-lipoic acid on temporary threshold shift in humans: a preliminary study. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 32, 380–385.

- Radloff, L.S., 1977. The CES-D Scale: A Self-Report Depression Scale for Research in the General Population. *Applied Psychological Measurement* 1, 385–401. <https://doi.org/10.1177/014662167700100306>
- Rahimlou, M., Asadi, M., Banaei Jahromi, N., Mansoori, A., 2019. Alpha-lipoic acid (ALA) supplementation effect on glycemic and inflammatory biomarkers: A Systematic Review and meta- analysis. *Clinical Nutrition ESPEN* 32, 16–28. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2019.03.015>
- Ralli, M., Gilardi, A., Stadio, A.D., Severini, C., Greco, A., Vincentiis, M. de, Salzano, F., 2019. Hearing loss and Alzheimer's disease: A Review. *The International Tinnitus Journal* 23, 79–85. <https://doi.org/10.5935/0946-5448.20190015>
- Rasmussen GL., 1964. Anatomic relationships of the ascending and descending auditory system. In: Fields W.S, Alfrord BR editors.
- Rejali, D., Sivakumar, A., Balaji, N., 2004. Ginkgo biloba does not benefit patients with tinnitus: a randomized placebo-controlled double-blind trial and meta-analysis of randomized trials. *Clinical Otolaryngology & Allied Sciences* 29, 226–231. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2273.2004.00814.x>
- Renaud, S., de Lorgeril, M., 1992. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* 339, 1523–1526. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(92\)91277-f](https://doi.org/10.1016/0140-6736(92)91277-f)
- Rice-Evans, C., Miller, N., Paganga, G., 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science* 2, 152–159. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(97\)01018-2](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(97)01018-2)
- Rice-Evans, C., Miller, N.J., 1994. [241 Total antioxidant status in plasma and body fluids, in: *Methods in Enzymology, Oxygen Radicals in Biological Systems Part D*. Academic Press, pp. 279–293. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(94\)34095-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(94)34095-1)
- Rizvi, S., Raza, S.T., Ahmed, F., Ahmad, A., Abbas, S., Mahdi, F., 2014. The Role of Vitamin E in Human Health and Some Diseases. *Sultan Qaboos Univ Med J* 14, e157–e165.
- Rochette, L., Ghibu, S., Muresan, A., Vergely, C., 2015. Alpha-lipoic acid: molecular mechanisms and therapeutic potential in diabetes. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 93, 1021–1027. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2014-0353>
- Rodríguez Valiente, A., Trinidad, A., García Berrocal, J.R., Górriz, C., Ramírez Camacho, R., 2014. Extended high-frequency (9-20 kHz) audiometry reference thresholds in 645

- healthy subjects. *Int J Audiol* 53, 531–545.
<https://doi.org/10.3109/14992027.2014.893375>
- Runge Samuelson C., Friedland David R. 2016 Anatomy of the Auditory System Ento Key.
URL <https://entokey.com/anatomy-of-the-auditory-system/> (accessed 2.10.20).
- Ryan, B.J., Nissim, A., Winyard, P.G., 2014. Oxidative post-translational modifications and their involvement in the pathogenesis of autoimmune diseases. *Redox Biol* 2, 715–724. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2014.05.004>
- Sahley, T.L., Hammonds, M.D., Musiek, F.E., 2013. Endogenous dynorphins, glutamate and N-methyl-d-aspartate (NMDA) receptors may participate in a stress-mediated Type-I auditory neural exacerbation of tinnitus. *Brain Res.* 1499, 80–108.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2013.01.006>
- Sancar, A., Lindsey-Boltz, L.A., Ünsal-Kaçmaz, K., Linn, S., 2004. Molecular Mechanisms of Mammalian DNA Repair and the DNA Damage Checkpoints. *Annual Review of Biochemistry* 73, 39–85. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.73.011303.073723>
- Satar, B., Kapkin, O., Ozkaptan, Y., 2003. Evaluation of cochlear function in patients with normal hearing and tinnitus: a distortion product otoacoustic emission study. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg* 10, 177–182.
- Savastano, M., Brescia, G., Marioni, G., 2007. Antioxidant Therapy in Idiopathic Tinnitus: Preliminary Outcomes. *Archives of Medical Research* 38, 456–459.
<https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2006.12.004>
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L., 2007. Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
<https://doi.org/10.1080/1040869059096>
- Schieber, M., Chandel, N.S., 2014. ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. *Curr Biol* 24, R453–R462. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.03.034>
- Scumpia, P.O., Kelly-Scumpia, K., Stevens, B.R., 2014. Alpha-lipoic acid effects on brain glial functions accompanying double-stranded RNA antiviral and inflammatory signaling. *Neurochem. Int.* 64, 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2013.11.006>
- Seidman, M.D., 2000. Effects of Dietary Restriction and Antioxidants on Presbycusis. *The Laryngoscope* 110, 727–738. <https://doi.org/10.1097/00005537-200005000-00003>
- Seidman, M.D., Khan, M.J., Bai, U., Shirwany, N., Quirk, W.S., 2000. Biologic activity of mitochondrial metabolites on aging and age-related hearing loss. *Am J Otol* 21, 161–167.

- Serafini, M., Rio, D.D., 2004. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the Total Antioxidant Capacity the right tool? *Redox Report* 9, 145–152. <https://doi.org/10.1179/135100004225004814>
- Sha, S.-H., Chen, F.-Q., Schacht, J., 2009. Activation of cell death pathways in the inner ear of the aging CBA/J mouse. *Hear Res* 254, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2009.04.019>
- Sha, S.-H., Taylor, R., Forge, A., Schacht, J., 2001. Differential vulnerability of basal and apical hair cells is based on intrinsic susceptibility to free radicals. *Hearing Research* 155, 1–8. [https://doi.org/10.1016/S0378-5955\(01\)00224-6](https://doi.org/10.1016/S0378-5955(01)00224-6)
- Shargorodsky, J., Curhan, G.C., Farwell, W.R., 2010. Prevalence and characteristics of tinnitus among US adults. *Am. J. Med.* 123, 711–718. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2010.02.015>
- Shay, K.P., Moreau, R.F., Smith, E.J., Smith, A.R., Hagen, T.M., 2009. Alpha-lipoic acid as a dietary supplement: Molecular mechanisms and therapeutic potential. *Biochim Biophys Acta* 1790, 1149–1160. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2009.07.026>
- Shelton, M.D., Chock, P.B., Mieyal, J.J., 2005. Glutaredoxin: role in reversible protein s-glutathionylation and regulation of redox signal transduction and protein translocation. *Antioxid. Redox Signal.* 7, 348–366. <https://doi.org/10.1089/ars.2005.7.348>
- Shore, S., Zhou, J., Koehler, S., 2007. Neural mechanisms underlying somatic tinnitus. *Prog. Brain Res.* 166, 107–123. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(07\)66010-5](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(07)66010-5)
- Shi, X., Nuttall, A.L., 2003. Upregulated iNOS and oxidative damage to the cochlear stria vascularis due to noise stress. *Brain Research* 967, 1–10. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(02\)04090-8](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(02)04090-8)
- Sies, H., Jones, D., 2007. Oxidative Stress*, in: Fink, G. (Ed.), *Encyclopedia of Stress* (Second Edition). Academic Press, New York, pp. 45–48. <https://doi.org/10.1016/B978-012373947-6.00285-3>
- Sindhusake, D., Mitchell, P., Newall, P., Golding, M., Rochtchina, E., Rubin, G., 2003. Prevalence and characteristics of tinnitus in older adults: the Blue Mountains Hearing Study. *Int J Audiol* 42, 289–294. <https://doi.org/10.3109/14992020309078348>
- Smith, J.V., Luo, Y., 2004. Studies on molecular mechanisms of Ginkgo biloba extract. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 64, 465–472. <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1527-9>

- Sola, S., Mir, M.Q.S., Cheema, F.A., Khan-Merchant, N., Menon, R.G., Parthasarathy, S., Khan, B.V., 2005. Irbesartan and lipoic acid improve endothelial function and reduce markers of inflammation in the metabolic syndrome: results of the Irbesartan and Lipoic Acid in Endothelial Dysfunction (ISLAND) study. *Circulation* 111, 343–348. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000153272.48711.B9>
- Spoendlin, H., 1966. The organization of the cochlear receptor. *Fortschr Hals Nasen Ohrenheilkd* 13, 1–227.
- Stadtman, E.R., Levine, R.L., 2000. Protein oxidation. *Annals of the New York Academy of Sciences* 899, 191–208.
- Stanković, M., Tešević, V., Vajs, V., Todorović, N., Milosavljević, S., Godevac, D., 2008. Antioxidant Properties of Grape Seed Extract on Human Lymphocyte Oxidative Defence. *Planta Med* 74, 730–735. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1074521>
- Stern, A.F., 2014. The Hospital Anxiety and Depression Scale. *Occup Med (Lond)* 64, 393–394. <https://doi.org/10.1093/occmed/kqu024>
- Stypulkowski, P.H., 1990. Mechanisms of salicylate ototoxicity. *Hear. Res.* 46, 113–145. [https://doi.org/10.1016/0378-5955\(90\)90144-e](https://doi.org/10.1016/0378-5955(90)90144-e)
- Tapiero, H., Townsend, D.M., Tew, K.D., 2003. The antioxidant role of selenium and seleno-compounds. *Biomed. Pharmacother.* 57, 134–144.
- Taverna, M., Marie, A.-L., Mira, J.-P., Guidet, B., 2013. Specific antioxidant properties of human serum albumin. *Annals of Intensive Care* 3, 4. <https://doi.org/10.1186/2110-5820-3-4>
- Teichert, J., Hermann, R., Ruus, P., Preiss, R., 2003. Plasma Kinetics, Metabolism, and Urinary Excretion of Alpha-Lipoic Acid following Oral Administration in Healthy Volunteers. *The Journal of Clinical Pharmacology* 43, 1257–1267. <https://doi.org/10.1177/0091270003258654>
- Thi Thuy Nga, N., An, V., Dao, D.Q., 2018. ANTIOXIDANT PROPERTIES OF FOLIC ACID: A DFT STUDY. *Vietnam Journal of Science and Technology* 56, 39. <https://doi.org/10.15625/2525-2518/56/4A/12904>
- Tibullo, D., Li Volti, G., Giallongo, C., Grasso, S., Tomassoni, D., Anfuso, C.D., Lupo, G., Amenta, F., Avola, R., Bramanti, V., 2017. Biochemical and clinical relevance of alpha lipoic acid: antioxidant and anti-inflammatory activity, molecular pathways and therapeutic potential. *Inflamm. Res.* 66, 947–959. <https://doi.org/10.1007/s00011-017-1079-6>

- Tinggi, U., 2008. Selenium: its role as antioxidant in human health. *Environ Health Prev Med* 13, 102–108. <https://doi.org/10.1007/s12199-007-0019-4>
- Tokgöz, S.A., Vuralkan, E., Sonbay, N.D., Çalışkan, M., Saka, C., Beşalti, Ö., Akin, İ., 2012. Protective effects of vitamins E, B and C and l-carnitine in the prevention of cisplatin-induced ototoxicity in rats. *The Journal of Laryngology & Otology* 126, 464–469. <https://doi.org/10.1017/S0022215112000382>
- Tunkel, D.E., Bauer, C.A., Sun, G.H., Rosenfeld, R.M., Chandrasekhar, S.S., Cunningham, E.R., Archer, S.M., Blakley, B.W., Carter, J.M., Granieri, E.C., Henry, J.A., Hollingsworth, D., Khan, F.A., Mitchell, S., Monfared, A., Newman, C.W., Omole, F.S., Phillips, C.D., Robinson, S.K., Taw, M.B., Tyler, R.S., Waguespack, R., Whamond, E.J., 2014. Clinical Practice Guideline: Tinnitus. *Otolaryngol Head Neck Surg* 151, S1–S40. <https://doi.org/10.1177/0194599814545325>
- Turk, H.M., Sevinc, A., Camci, C., Cigli, A., Buyukberber, S., Savli, H., Bayraktar, N., 2002. Plasma lipid peroxidation products and antioxidant enzyme activities in patients with type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol* 39, 117–122. <https://doi.org/10.1007/s005920200029>
- Veillet E, Collet L, Disnat F, Morgon A. Tinnitus and medial cochlear efferent system. In: Aran J-M, Dauman R. (eds) *Tinnitus* 91. Amsterdam: Kugler, 1992; 205–9
- Volinsky, R., Kinnunen, P.K.J., 2013. Oxidized phosphatidylcholines in membrane-level cellular signaling: from biophysics to physiology and molecular pathology. *The FEBS Journal* 280, 2806–2816. <https://doi.org/10.1111/febs.12247>
- Waeytens, A., De Vos, M., Laukens, D., 2009. Evidence for a Potential Role of Metallothioneins in Inflammatory Bowel Diseases [WWW Document]. *Mediators of Inflammation*. <https://doi.org/10.1155/2009/729172>
- Wang, A., Hou, N., Bao, D., Liu, S., Xu, T., 2012. Mechanism of alpha-lipoic acid in attenuating kanamycin-induced ototoxicity. *Neural Regen Res* 7, 2793–2800. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-5374.2012.35.007>
- Wang, X., Quinn, P.J., 1999. Vitamin E and its function in membranes. *Prog. Lipid Res.* 38, 309–336.
- White, A.A., Crawford, K.M., Patt, C.S., Lad, P.J., 1976. Activation of soluble guanylate cyclase from rat lung by incubation or by hydrogen peroxide. *J. Biol. Chem.* 251, 7304–7312.
- Willett, W., 2017. *Nutritional epidemiology*, 3rd ed. ed. Oxford University Press, New York.

- Willett, W.C., Sampson, L., Stampfer, M.J., Rosner, B., Bain, C., Witschi, J., Hennekens, C.H., Speizer, F.E., 1985. REPRODUCIBILITY AND VALIDITY OF A SEMIQUANTITATIVE FOOD FREQUENCY QUESTIONNAIRE. *Am J Epidemiol* 122, 51–65. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a114086>
- Wilson, J.P., Sutton, G.J., 1981. Acoustic correlates of tonal tinnitus. *Ciba Found. Symp.* 85, 82–107. <https://doi.org/10.1002/9780470720677.ch6>
- Winklhofer-Roob, B.M., Faustmann, G., Roob, J.M., 2017. Low-density lipoprotein oxidation biomarkers in human health and disease and effects of bioactive compounds. *Free Radical Biology and Medicine, 4-Hydroxynonenal and Related Lipid Peroxidation Products* 111, 38–86. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.04.345>
- Xiong, M., Lai, H., Yang, C., Huang, W., Wang, J., Fu, X., He, Q., 2012. Comparison of the Protective Effects of Radix Astragali, α -Lipoic Acid, and Vitamin E on Acute Acoustic Trauma. *Clin Med Insights Ear Nose Throat* 5, 25–31. <https://doi.org/10.4137/CMENT.S10711>
- Yamauchi, R., 1997. Vitamin E: Mechanism of Its Antioxidant Activity. *FSTI* 3, 301–309. <https://doi.org/10.3136/fsti9596t9798.3.301>
- Yang, L., Xian, D., Xiong, X., Lai, R., Song, J., Zhong, J., 2018. Proanthocyanidins against Oxidative Stress: From Molecular Mechanisms to Clinical Applications. *Biomed Res Int* 2018, 8584136. <https://doi.org/10.1155/2018/8584136>
- Yang, Y., Bazhin, A.V., Werner, J., Karakhanova, S., 2013. Reactive Oxygen Species in the Immune System. *International Reviews of Immunology* 32, 249–270. <https://doi.org/10.3109/08830185.2012.755176>
- Yeh, C.-W., Tseng, L.-H., Yang, C.-H., Hwang, C.-F., 2019. Effects of oral zinc supplementation on patients with noise-induced hearing loss associated tinnitus: A clinical trial. *Biomed J* 42, 46–52. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2018.10.009>
- Yilmaz, Y., Toledo, R.T., 2004. Major flavonoids in grape seeds and skins: antioxidant capacity of catechin, epicatechin, and gallic acid. *J. Agric. Food Chem.* 52, 255–260. <https://doi.org/10.1021/jf030117h>
- Yin, H., Xu, L., Porter, N.A., 2011. Free Radical Lipid Peroxidation: Mechanisms and Analysis. *Chem. Rev.* 111, 5944–5972. <https://doi.org/10.1021/cr200084z>
- Yumusakhuylu, A.C., Yazici, M., Sari, M., Binnetoglu, A., Kosemihal, E., Akdas, F., Sirvanci, S., Yuksel, M., Uneri, C., Tutkun, A., 2012. Protective role of resveratrol

- against cisplatin induced ototoxicity in guinea pigs. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 76, 404–408. <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2011.12.021>
- Zarenog, R., Ledin, T., 2014. Quality of life in patients with tinnitus and sensorineural hearing loss. *B-ENT* 10, 41–51.
- Zeman, F., Koller, M., Figueiredo, R., Azevedo, A., Rates, M., Coelho, C., Kleinjung, T., de Ridder, D., Langguth, B., Landgrebe, M., 2011. Tinnitus Handicap Inventory for Evaluating Treatment Effects: Which Changes Are Clinically Relevant? *Otolaryngol Head Neck Surg* 145, 282–287. <https://doi.org/10.1177/0194599811403882>
- Zenner, 1998. A Systematic Classification of Tinnitus Generator Mechanisms. *Int Tinnitus J* 4, 109–113.
- Zenner, H.P., Ernst, A., 1993. Cochlear-motor, transduction and signal-transfer tinnitus: models for three types of cochlear tinnitus. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 249, 447–454. <https://doi.org/10.1007/bf00168852>
- Zhang, L., Wang, X., Cueto, R., Effi, C., Zhang, Y., Tan, H., Qin, X., Ji, Y., Yang, X., Wang, H., 2019. Biochemical basis and metabolic interplay of redox regulation. *Redox Biology* 26, 101284. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101284>
- Zigmond, A.S., Snaith, R.P., 1983. The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr Scand* 67, 361–370.
- Zurlo, A., Veronese, N., Giantin, V., Maselli, M., Zambon, S., Maggi, S., Musacchio, E., Toffanello, E.D., Sartori, L., Perissinotto, E., Crepaldi, G., Manzato, E., Sergi, G., 2016. High serum uric acid levels increase the risk of metabolic syndrome in elderly women: The PRO.V.A study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 26, 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2015.10.007>

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1: ΣΥΜΦΩΝΗΤΙΚΟ ΕΘΕΛΟΝΤΙΚΗΣ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣ

Με το παρόν έγγραφο δηλώνω την εθελοντική μου συμμετοχή στην κλινική μελέτη με τίτλο «Η επίδραση της διατροφής της εμπλουτισμένης με αντιοξειδωτικά στη θεραπευτική αντιμετώπιση των ασθενών που πάσχουν από ιδιοπαθείς εμβοές». Σκοπός της μελέτης είναι να διερευνηθεί η αποτελεσματικότητα των συμπληρωμάτων αντιοξειδωτικών στις εμβοές.

Βεβαιώνω ότι έχω ενημερωθεί προφορικά για το πρόγραμμα στο οποίο θα συμμετάσχω εάν υπογράψω το παρόν συμφωνητικό. Συγκεκριμένα, γνωρίζω ότι οι μετρήσεις στις οποίες θα συμμετάσχω περιλαμβάνουν τα παρακάτω:

- **Βιοχημικές και αιματολογικές εξετάσεις** (γενική εξέταση αίματος, λιπιδαιμικό προφίλ, γλυκαιμικό προφίλ, θυρεοειδικός έλεγχος, επίπεδα βιταμινών και μετάλλων, δείκτες οξειδωτικού στρες)
- **Σωματομετρήσεις** (Βάρος, Ύψος, Περίμετροι μέση και γοφών)
- **Συμβατική ακοομετρία και ειδικός ακοολογικός έλεγχος εμβοών**

Παράλληλα συμφωνώ να συμπληρώσω ερωτηματολόγια που αφορούν το ιατρικό ιστορικό, τις εμβοές, την επίδραση των εμβοών στην ποιότητα ζωής μου, τις διατροφικές μου συνήθειες, τη σωματική μου δραστηριότητα και την ψυχολογική μου κατάσταση. Ο χρόνος διεξαγωγής των μετρήσεων ανέρχεται στη 1,5 ώρα περίπου. Οι μετρήσεις και η συμπλήρωση των ερωτηματολογίων θα γίνουν στην έναρξη και στο τέλος της μελέτης. Η μελέτη θα διαρκέσει συνολικά τρεις (3) μήνες, κατά τη διάρκεια των οποίων θα υπάρχει τηλεφωνική επαφή κάθε 15 ημέρες.

Επιπλέον γνωρίζω ότι:

Η λήψη αίματος (20ml) θα γίνει μετά από 12ωρη νηστεία από έμπειρο Κλινικό και με αποστειρωμένα εργαλεία μιας χρήσης. Οι μετρήσεις θα γίνουν σε προκαθορισμένη πρωινή ώρα και δεν προκαλούν καμία ενόχληση ούτε ενέχουν οποιονδήποτε κίνδυνο για την υγεία μου.

Όλα τα δεδομένα που με αφορούν, προσωπικά στοιχεία και αποτελέσματα εξετάσεων, θα παραμείνουν απόρρητα και εμπιστευτικά και θα είναι διαθέσιμα μόνο στο εξουσιοδοτημένο προσωπικό που συμμετέχει στη συγκεκριμένη μελέτη. Η συμμετοχή στο πρόγραμμα και όλες οι μετρήσεις είναι εντελώς δωρεάν.

Με εκτίμηση,

Επ. Υπεύθυνος Ξενέλης Ιωάννης

Υπογραφή

Ονοματεπώνυμο εθελοντή

Υπογραφή

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2: ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΕΜΒΟΩΝ ΚΑΙ ΙΑΤΡΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ

Ημερομηνία

Όνοματεπώνυμο

Τηλ

Email

Ηλικία

Ημερομηνία γέννησης

Επάγγελμα

Βάρος

Ύψος

1. Πότε ακούσατε εμβοές (βουητά) για πρώτη φορά; (δώστε όσο πιο συγκεκριμένη ημερομηνία μπορείτε)
2. Πώς εγκαταστάθηκαν οι εμβοές; Απότομα Σταδιακά
3. Υπάρχει κάτι που να θεωρείτε ότι προκάλεσε τις εμβοές;
Δυνατός ήχος Πτώση της ακοής Άγχος/στρες Τραυματισμός στο κεφάλι
Δε γνωρίζω Άλλο:
4. Οι γονείς σας έχουν/είχαν εμβοές; Ο ένας Και οι δύο Κανείς
5. Οι γονείς σας έχουν/είχαν βαρηκοΐα; Ο ένας Και οι δύο Κανείς
Αν ναι, από ποια ηλικία:
6. Κατά τη διάρκεια της ζωής σας εκτεθήκατε: σε εργασία με θόρυβο έκρηξη
7. Εκτίθεστε σε δυνατό θόρυβο κατά τη διάρκεια της εργασίας σας; Αν ναι, εξηγήστε
Ναι Όχι
8. Εκτίθεστε σε δυνατό θόρυβο κατά τη διάρκεια δραστηριοτήτων στον ελεύθερο χρόνο σας; Αν ναι, εξηγήστε
Ναι Όχι
9. Οι εμβοές μοιάζουν με χτύπους της καρδιάς; Όχι Ναι και ακολουθούν τους χτύπους της καρδιάς
Ναι αλλά δεν ακολουθούν τους χτύπους της καρδιάς
10. Σε ποιο σημείο ακούτε τις εμβοές; Και στα 2 αυτιά το ίδιο Μόνο στο δεξί αυτί
Μόνο στο αριστερό αυτί Και στα 2, αλλά χειρότερα δεξιά Και στα 2, αλλά χειρότερα αριστερά Μέσα στο κεφάλι Αλλού
11. Ακούτε τις εμβοές συνέχεια, όποια δραστηριότητα και αν κάνετε;
Τις ακούω συνέχεια Μερικές φορές εξαφανίζονται/δεν τις ακούω
12. Οι εμβοές είναι το ίδιο δυνατές όλες τις ημέρες; Ναι Όχι
13. Περιγράψτε πόσο δυνατές είναι οι εμβοές με έναν αριθμό από 1 (πολύ σιγανές) έως 100 (πολύ δυνατές)
14. Περιγράψτε με δικά σας λόγια με ποιον ήχο μοιάζουν οι εμβοές (π.χ σφύριγμα, τζιτζίκια, φύσημα, βόμβος)
15. Οι εμβοές σας μοιάζουν με σφύριγμα ή με θόρυβο; Σφύριγμα Θόρυβο
Άλλο
16. Τον τελευταίο μήνα, τι ποσοστό του χρόνου που ήσασταν ξύπνιοι ακούγατε εμβοές;
%
17. Τον τελευταίο μήνα, τι ποσοστό του χρόνου που ήσασταν ξύπνιοι σας ενοχλούσαν οι εμβοές;
%
18. Πόσες θεραπείες (φάρμακα ή άλλες) έχετε λάβει για τις εμβοές
Καμία Μία Δύο ή τρεις Παραπάνω από τρεις
19. Λαμβάνετε κάποια θεραπεία για τις εμβοές τους τελευταίους 3 μήνες;
Ναι Όχι

20. Οι εμβοές σας μειώνονται όταν βρίσκεστε σε περιβάλλον με θόρυβο (π.χ δυνατή μουσική);
 Ναι Όχι Δεν ξέρω
21. Οι δυνατοί ήχοι χειροτερεύουν τις εμβοές σας;
 Ναι Όχι Δεν ξέρω
22. Υπάρχουν κινήσεις του κεφαλιού ή του λαιμού που να αλλάζουν, να σταματούν ή να ξεκινούν τις εμβοές σας;
 Ναι Όχι Δεν ξέρω
23. Υπάρχει σχέση ανάμεσα στο αν κοιμηθήκατε το βράδυ και τις εμβοές;
 Ναι Όχι Δεν ξέρω
24. Πώς επηρεάζει το άγχος και το στρες τις εμβοές;
 Τις χειροτερεύει Τις βελτιώνει Δεν τις αλλάζει
25. Πιστεύετε ότι έχετε πρόβλημα στην ακοή σας;
 Ναι Όχι
26. Χρησιμοποιείτε ακουστικά βαρηκοΐας;
 Όχι Στο δεξί αυτί Στο αριστερό αυτί Και στα 2 αυτιά
27. Σας ενοχλούν οι δυνατοί ήχοι;
 Ποτέ Μερικές φορές Πάντα
28. Υποφέρετε από ημικρανία;
 Ναι Όχι
29. Υποφέρετε από ίλιγγο ή ζάλη;
 Ναι Όχι
30. Υποφέρετε από πόνο μπροστά από το αυτί, ειδικά όταν τρώτε;
 Ναι Όχι
31. Έχετε πόνους στον αυχένα;
 Ναι Όχι
32. Καπνίζετε;
- | | | |
|--------------|-----------------|---------------------|
| Μη καπνιστής | Πρώην καπνιστής | Καπνιστής |
| | Διακοπή < 5 έτη | Πόσα χρόνια |
| καπνίζετε: | | |
| | Διακοπή > 5 έτη | Πόσο καπνίζετε: |
| | | 1-5 τσιγάρα/ημέρα |
| | | 6-20 τσιγάρα/ημέρα |
| | | 20-30 τσιγάρα/ημέρα |
| | | >31 τσιγάρα/ημέρα |
33. Καπνίζουν άλλα άτομα της εργασίας σας ή του περιβάλλοντος σας περισσότερο από 30 λεπτά;
 Ναι Όχι
34. Πόσα έτη εκτίθεστε σε παθητικό κάπνισμα:
35. Κάνετε ή κάνατε χρήση ναρκωτικών ουσιών:
 Ναι Όχι Αν ναι, ποιες:
36. Έχετε:
- | | | | | |
|-------------------|-----|-----|---------------------|---------|
| Υπέρταση | Ναι | Όχι | Αν ναι, Πόσα έτη: | Φάρμακα |
| Διαβήτη τύπου 2 | Ναι | Όχι | Αν ναι, Πόσα έτη: | Φάρμακα |
| Διαβήτη τύπου 1 | Ναι | Όχι | Αν ναι, Πόσα έτη: | Φάρμακα |
| Καρδιοπάθεια | Ναι | Όχι | Αν ναι, Πόσα έτη: | Φάρμακα |
| Υποθυρεοειδισμός | Ναι | Όχι | Αν ναι, Πόσα έτη: | Φάρμακα |
| Υπερθυρεοειδισμός | Ναι | Όχι | Αν ναι, Πόσα έτη: | Φάρμακα |
| Αλλεργία | Ναι | Όχι | Πιθανό αλλεργιογόνο | |

Υπερχοληστερολαιμία	Ναι	Όχι	Αν ναι, Πόσα έτη:	Φάρμακα
Αναιμία		Ναι	Όχι	
Σκλήρυνση κατά πλάκας		Ναι	Όχι	Φάρμακα
Ρευματοειδής αρθρίτιδα	Ναι	Όχι		Φάρμακα
Άλλο αυτοάνοσο		Ναι	Όχι	Αν ναι, ποιο:
Καρκίνο		Ναι	Όχι	
Παθήσεις νεφρού		Ναι	Όχι	
Παθήσεις ήπατος		Ναι	Όχι	
Παθήσεις πνευμόνων		Ναι	Όχι	
Ιστορικό εμφράγματος ή εγκεφαλικού επεισοδίου		Ναι	Όχι	
Ψυχιατρική διαταραχή	Ναι	Όχι	Αν ναι, Πόσα έτη:	Φάρμακα
Διαταραχές πήξεως	Ναι	Όχι		Φάρμακα

37. Παίρνετε ή παίρνατε τον τελευταίο μήνα κάποια από τις παρακάτω φαρμακευτικές ουσίες:

- Ασπιρίνη
- Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη
- Καναμυκίνη
- Κινίνη
- Στρεπτομυκίνη
- Αντισυλληπτικά
- Ενέσεις βαρέων μετάλλων
- Άλλα
- Διευκρινίσεις

38. Συμμετέχετε ή συμμετείχατε ένα μήνα πριν σε άλλη έρευνα;

39. Έχετε υποβληθεί σε ακτινοβολία κεφαλής και τραχήλου;

40. Λαμβάνετε συμπληρώματα αντιοξειδωτικών ή ιχθυελαίων;

41. Ακολουθείτε χορτοφαγική δίαιτα ή νηστεύετε;

42. Λαμβάνετε ομοιοπαθητικά;

43. Μπορείτε να είστε παρόντες στις επισκέψεις που θα λαμβάνουν χώρα

44. Αν είστε γυναίκα:

Είστε έγκυος ή θηλάζετε;

Προγραμματίζετε εγκυμοσύνη για το επόμενο έμμηνο;

Έχετε ακόμα περίοδο: Ναι Όχι

Αν όχι, σε ποια ηλικία σταμάτησε η περίοδος σας

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 3: ΑΝΑΚΛΗΣΗ 24ΩΡΟΥ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ:

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ: ____ / ____ / ____

Κατάλογος τροφίμων που καταναλώθηκαν κατά την προηγούμενη ημέρα:

Ωρα	Είδος τροφής	Μάρκα τροφίμου	Ποσότητα τροφίμου	Τόπος κατανάλωσης
Πρόγευμα				
Ενδιάμεσα				
Μεσημεριανό				
Απογευματινό				
Δείπνο				
Προ ύπνου				

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 4: MedDietScore

ΠΟΣΟ ΣΥΧΝΑ ΚΑΤΑΝΑΛΩΝΕΤΕ ΤΑ ΠΑΡΑΚΑΤΩ ΤΡΟΦΙΜΑ;	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗΣ (ΜΕΡΙΔΕΣ/ΕΒΔΟΜΑΔΑ)					
	ΠΟΤΕ	1-6	7-12	13-18	19-31	>32
1. ΔΗΜΗΤΡΙΑΚΑ ΟΛ. ΑΛΕΞΕΩΣ	ΠΟΤΕ	1-6	7-12	13-18	19-31	>32
2. ΠΑΤΑΤΕΣ	ΠΟΤΕ	1-4	5-8	9-12	13-18	>18
3. ΦΡΟΥΤΑ ΚΑΙ ΧΥΜΟΥΣ	ΠΟΤΕ	1-4	5-8	9-15	16-21	>22
4. ΛΑΧΑΝΙΚΑ ΚΑΙ ΣΑΛΑΤΕΣ	ΠΟΤΕ	1-6	7-12	13-20	21-32	>33
5. ΟΣΠΡΙΑ	ΠΟΤΕ	<1	1-2	3-4	5-6	>6
6. ΨΑΡΙ ΚΑΙ ΣΟΥΠΕΣ	ΠΟΤΕ	<1	1-2	3-4	5-6	>6
7. ΚΟΚΚΙΝΟ ΚΡΕΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΙΟΝΤΑ ΤΟΥ	≤1	2-3	4-5	6-7	8-10	>10
8. ΠΟΥΛΕΡΙΚΑ	≤3	4-5	5-6	7-8	9-10	>10
9. ΠΛΗΡΗ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ	≤10	11-15	16-20	21-28	29-30	>30
10. ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ	ΠΟΤΕ	ΣΠΑΝΙΑ	<1	1-3	3-5	ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΑ
11. ΑΛΚΟΟΛΟΥΧΑ ΠΟΤΑ (ml/ημερα. 100 ml= 1 ποτήρι 12%)	<300	300	400	500	600	>700 ή 0

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 5: TINNITUS HANDICAP INVENTORY

Όνοματεπώνυμο

Ημερομηνία:

ΟΔΗΓΙΕΣ:

- Ο σκοπός του ερωτηματολογίου αυτού είναι να εντοπισθούν τα προβλήματα που προκαλούν οι εμβοές σας.
- Βάλτε ένα κύκλο γύρω από το “Ναι”, το “Μερικές φορές” ή το “Όχι” σε κάθε ερώτηση.
- Μην παραλείψετε καμιά απάντηση.

1	Σας εμποδίζουν οι εμβοές σας στο να συγκεντρώνετε την προσοχή σας;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
2	Είναι οι εμβοές σας τόσο δυνατές, ώστε να σας εμποδίζουν στο να ακούτε άλλους ανθρώπους όταν μιλάνε;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
3	Οι εμβοές σας δημιουργούν θυμό;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
4	Οι εμβοές σας προκαλούν σύγχυση;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
5	Οι εμβοές σας προκαλούν απογοήτευση;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
6	Παραπονείστε συνεχώς για τις εμβοές σας;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
7	Σας εμποδίζουν οι εμβοές στο να κοιμάστε το βράδυ;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
8	Αισθάνεστε ότι δεν μπορείτε ποτέ να απαλλαγείτε από τις εμβοές;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
9	Οι εμβοές σας εμποδίζουν στο να ευχαριστείτε από τις κοινωνικές σας δραστηριότητες, όπως στο να βγείτε για φαγητό ή να δείτε μια ταινία;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
10	Οι εμβοές σας προκαλούν εκνευρισμό;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
11	Λόγω των εμβοών σας, πιστεύετε ότι πάσχετε από μια φοβερή ασθένεια;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
12	Σας προκαλούν οι εμβοές δυσκολία στο να ευχαριστιέστε την ζωή;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι

13	Επηρεάζουν οι εμβοές σας την δουλειά σας ή τις οικογενειακές σας υποχρεώσεις;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
14	Λόγω των εμβοών σας, πιστεύετε ότι είστε συχνά ευερέθιστος;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
15	Λόγω των εμβοών σας, βρίσκετε δυσκολία στο να διαβάσετε ένα βιβλίο;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
16	Οι εμβοές σας αναστατώνουν;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
17	Οι εμβοές σας επηρεάζουν αρνητικά τις σχέσεις σας με μέλη της οικογένειάς σας ή φίλους;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
18	Βρίσκετε δύσκολο να εστιάσετε την προσοχή σας σε άλλα πράγματα, εκτός από τις εμβοές σας;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
19	Αισθάνεσθε ότι δεν μπορείτε να ελέγξετε τις εμβοές σας;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
20	Αισθάνεστε συχνά κούραση, λόγω των εμβοών σας;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
21	Αισθάνεστε κατάθλιψη, λόγω των εμβοών σας;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
22	Αισθάνεστε άγχος, λόγω των εμβοών σας;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
23	Αισθάνεστε ότι δεν μπορείτε πλέον να αντιμετωπίσετε το πρόβλημα των εμβοών σας;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
24	Οι εμβοές σας επιδεινώνονται, όταν είστε σε κατάσταση στρες;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι
25	Σας προκαλούν οι εμβοές ανασφάλεια;	Ναι	Μερικές φορές	Όχι

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 6: ΚΛΙΜΑΚΑ VAS

Όνοματεπώνυμο:

Ημερομηνία:

ΚΥΚΛΩΣΤΕ ΣΕ ΚΑΘΕ ΚΛΙΜΑΚΑ ΕΝΑΝ ΑΡΙΘΜΟ, ΑΝΑΛΟΓΑ ΜΕ ΤΟ ΠΟΣΟ ΣΑΣ
ΕΝΟΧΛΟΥΝ ΟΙ ΕΜΒΟΕΣ (Το 0 αντιστοιχεί στο καθόλου και το 10 αντιστοιχεί στο πάρα
πολύ):

1. Οι εμβοές μ' ενοχλούν στην εργασία μου:

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

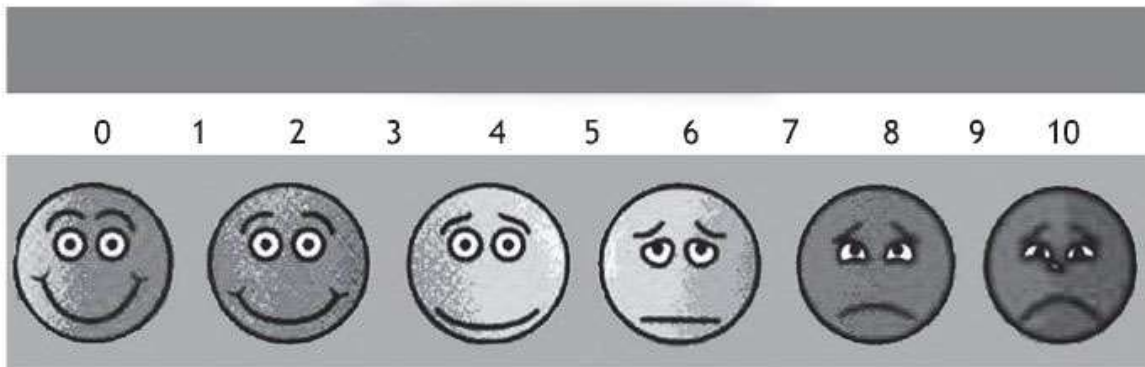
A Visual Analog Scale (VAS) for work annoyance. It consists of a horizontal bar with a dark grey top section and a light grey bottom section. Below the bar, the numbers 0 through 10 are printed. Underneath the numbers are six circular faces with different expressions: 0 is a happy face, 1 is a slightly happy face, 2 is a neutral face, 3 is a slightly sad face, 4 is a sad face, 5 is a very sad face, 6 is a very sad face, 7 is a very sad face, 8 is a very sad face, 9 is a very sad face, and 10 is a very sad face.

2. Οι εμβοές μ' ενοχλούν στον ύπνο μου:

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

A Visual Analog Scale (VAS) for sleep annoyance. It consists of a horizontal bar with a dark grey top section and a light grey bottom section. Below the bar, the numbers 0 through 10 are printed. Underneath the numbers are six circular faces with different expressions: 0 is a happy face, 1 is a slightly happy face, 2 is a neutral face, 3 is a slightly sad face, 4 is a sad face, 5 is a very sad face, 6 is a very sad face, 7 is a very sad face, 8 is a very sad face, 9 is a very sad face, and 10 is a very sad face.

3. Όταν αναπαύομαι, οι εμβοές μ' ενοχλούν :



4. Όταν προσπαθώ να συγκεντρωθώ σε κάτι, οι εμβοές μ' ενοχλούν :

