



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

**ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ Ε ΣΕ ΠΡΩΡΑ
ΝΕΟΓΝΑ**

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΣΚΟΥΡΟΛΙΑΚΟΥ ΜΑΡΙΑ, ΛΕΚΤΟΡΑΣ

ΜΕΛΗ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

ΠΟΛΥΧΡΟΝΟΠΟΥΛΟΣ ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΧΙΟΥ ΑΝΤΩΝΙΑ, ΛΕΚΤΟΡΑΣ

ΣΚΟΥΡΟΛΙΑΚΟΥ ΜΑΡΙΑ, ΛΕΚΤΟΡΑΣ

ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

ΛΟΥΚΑΚΟΥ ΑΦΡΟΔΙΤΗ

ΑΘΗΝΑ 2005

*Αφιερωμένη στους γονείς
μου και την αδερφή μου
που με αγαπούν και με
στηρίζουν σε κάθε μου βήμα*

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη εκπονήθηκε κατά το ακαδημαϊκό έτος 2004-2005 από την Λουκάκου Αφροδίτη, φοιτήτρια του τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας και Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου, με θέμα «Μετρήσεις βιταμίνης Ε σε πρόωρα νεογνά».

Σε αυτό το σημείο, θα ήθελα να απευθύνω τις ευχαριστίες μου σε μια σειρά ανθρώπων, χωρίς τη βοήθεια των οποίων θα ήταν αδύνατη η εκπόνηση της παρούσας πτυχιακής μελέτης. Ευχαριστώ θερμά την κα. Σκουρολιάκου Μαρία, Λέκτορα του τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας και Διατροφής για την ανάθεση της συγκεκριμένης πτυχιακής μελέτης. Η συνεισφορά της στην εκπόνηση της μελέτης ήταν διπλή, αφού εκτός από την πολύτιμη καθοδήγηση, προσέφερε και την αμέριστη βοήθειά της για την πραγμάτωσή της σε κάθε στιγμή που τη χρειάστηκα.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θέλω να απευθύνω στον κ. Πολυχρονόπουλο Ευάγγελο, Επίκουρο καθηγητή του τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας και Διατροφής και την κα. Αντωνία Χίου, Λέκτορα επίσης του τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας και Διατροφής, για τη συμμετοχή τους στην τριμελή επιτροπή αξιολόγησης αυτής της μελέτης.

Καταλυτική επίσης υπήρξε η βοήθεια της Ματθαίου Σήλιας, Διδάσκουσα ΠΔ 407/80 όσον αφορά στην οργάνωση του πειραματικού σκέλους, τις εύστοχες υποδείξεις της καθόλη τη διάρκεια εκπόνησης αυτής της μελέτης καθώς επίσης και για τη συνεισφορά της στην ανάλυση των δειγμάτων της πειραματικής διαδικασίας. Ουσιαστικές και εύστοχες ήταν και οι παρεμβάσεις της κατά τη συγγραφή του θεωρητικού τμήματος.

ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Το έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον των τελευταίων ετών για μία ένωση με σημαντική αντιοξειδωτική δράση, τη βιταμίνη Ε, έχει επιφέρει μία σειρά ανακαλύψεων σχετικά με το ρόλο αυτών των ουσιών στην υγεία του ανθρώπου. Ωστόσο οι φυσιολογικές συγκεντρώσεις της βιταμίνης Ε στο αίμα των νεογνών παραμένουν μη καθορισμένες. Τροχοπέδη αποτελούν οι ελλιπείς επιστημονικές έρευνες καθώς οι μετρήσεις βιταμινών στο αίμα των νεογνών παρουσιάζουν δυσκολίες και επειδή έχουμε να κάνουμε με έναν ευαίσθητο πληθυσμό με αρκετούς κινδύνους.

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής μελέτης είναι να συμβάλλει στην εύρεση συγκεντρώσεων α-τοκοφερόλης ορού πρόωρων νεογνών. Τέλος τονίζουμε ότι δεν έχει διεκπερωθεί ξανά μελέτη προσδιορισμού βιταμίνης Ε πρόωρων νεογνών σε Ελληνικό πληθυσμό.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το ενδιαφέρον για τον ρόλο της βιταμίνης Ε στον ανθρώπινο μεταβολισμό και η προστατευτική της δράση σε πληθώρα παθήσεων έχει παρουσιάσει σημαντική αύξηση τα τελευταία χρόνια, με έμφαση στην αντιοξειδωτική της δράση. Η επίδραση της βιταμίνης Ε στα πρόωρα νεογνά, μια κατηγορία που παρουσιάζει πολλούς κινδύνους, έχει αρχίσει να ερευνάται τα τελευταία χρόνια, όχι όμως σε μεγάλη έκταση. Στην παρούσα πτυχιακή μελέτη αναφέρεται η χημεία της βιταμίνης Ε, η πέψη, η απορρόφηση, ο μεταβολισμός της, οι μηχανισμοί δράσης της, η επίδρασή της στα πρόωρα, η χημεία των αντιοξειδωτικών ουσιών και η χημεία δράσης τους. Ακόμα αναφέρονται επιδημιολογικά και πειραματικά στοιχεία τα οποία οδηγούν στην άποψη ότι οι φυσιολογικές συγκεντρώσεις της βιταμίνης Ε στο αίμα βοηθούν στην σωστή λειτουργία του οργανισμού των νεογνών και προάγουν την καλή ανάπτυξη. Συνοπτικά αναφέρονται παθοφυσιολογικά στοιχεία αναφορικά με την επίδρασή της σε διάφορες παθήσεις. Η συγγραφή του θεωρητικού μέρους βασίστηκε σε μία εκτεταμένη βιβλιογραφική ανασκόπηση.

Στο πειραματικό μέρος περιγράφεται η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε για τον προσδιορισμό της βιταμίνης Ε στο ορό 30 πρόωρων νεογνών. Ο προσδιορισμός της βιταμίνης Ε έγινε με HPLC, ανιχνευτή UV και με τη χρήση kit αντιδραστηρίων της Chromsystems.

ABSTRACT

The interest for the effects of vitamin A in human metabolism and its protective role to a variety of diseases has significantly increased last years, emphasizing to its antioxidant capacity. The effect of vitamin A in preterm infants, a very valnurable group, is being studied lately, but not in a wide range. In the present research the chemistry, digestion, adsorption, metabolism, mechanisms of action, effect in preterm infants of vitamin A, as well as the chemistry and action of antioxidants are described. Moreover, epidemiological and experimental data are quoted, confirming that the physiological concentrations of vitamin A in blood contribute to the good health and development of neonates. There are briefly mentioned pathophysiological evidence concerning its effect on several diseases. The writing of theoretical part resulted from a scrutinus literature review.

At the experimental part there is an analytical description of the whole experimental procedure that was enforced for the determination of vitamin A in serum of 30 preterm neonates. The determination of vitamin A was curried out with HPLC, using UV detector and with reagent kit of Chromsystems.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ABSTRACT

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΒΙΤΑΜΙΝΗ Ε	9
1.1 Δομή	9
1.2 Πηγές	11
1.3 Πέψη και απορρόφηση	12
1.4 Μεταφορά και αποθήκευση	14
1.5 Ανεπάρκεια	16
1.6 Μεταβολισμός και απέκκριση	17
1.7 Λειτουργίες και μηχανισμοί δράσης	18
1.7.1 Οξειδωση των λιπιδίων	20
1.7.2 Μεταβολισμός του νουκλεϊκού οξέος και των πρωτεϊνών	21
1.7.3 Νευρικό σύστημα	22
1.8 Αλληλεπιδράσεις με άλλα συστατικά της διατροφής	24
1.9 Τοξικότητα	25
2. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ Ε	27
2.1 Χημεία φυσικών αντιοξειδωτικών	27
2.1.1 Μηχανισμός δράσης ελευθέρων ριζών	28
2.1.2 Αντιοξειδωτικά	29
2.1.2.1 Κατάταξη αντιοξειδωτικών ουσιών	30
2.1.2.2 Μηχανισμοί δράσης αντιοξειδωτικών ουσιών	31
2.2 Οξειδωτικό stress	33
2.2.1 Οξειδωτικό stress στα νεογνά	35

2.3	Αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού	39
2.3.1	Αντιοξειδωτικός ρόλος της βιταμίνης Ε	42
3.	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ Ε ΣΤΑ ΝΕΟΓΝΑ	42
3.1	Επίπεδα βιταμίνης Ε στα νεογνά	42
3.2	Ανεπάρκεια και συμπληρώματα βιταμίνης Ε στα νεογνά	46
Β. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ		
4.	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	53
4.1	Συλλογή δειγμάτων	53
4.2	Όργανα και Αντιδραστήρια	53
4.3	Η μέθοδος HPLC	54
4.3.1	Γενικά	54
4.3.2	Αρχή της μεθόδου	56
4.4	Προετοιμασία δειγμάτων για μέτρηση στην HPLC	56
4.5	Μέθοδος ανάλυσης HPLC	56
5.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	58
6.	ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	66
7.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	68
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ		69

Α. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΒΙΤΑΜΙΝΗ Ε

1.1 Δομή

Βιταμίνη Ε είναι ένας γενικός όρος που περιλαμβάνει πολλές τοκόλες και τοκοτριενόλες, από τις οποίες η πιο δραστική είναι η α-τοκοφερόλη. Η βιταμίνη Ε είναι ευρέως διανεμημένη στη φύση και τουλάχιστον οχτώ γνωστοί χημικοί τύποι με διαφορετικές βιολογικές ιδιότητες έχουν βρεθεί. Αυτές οι ενώσεις που συντίθενται από τους φυτικούς οργανισμούς, μπορούν να διακριθούν σε 2 κατηγορίες¹:

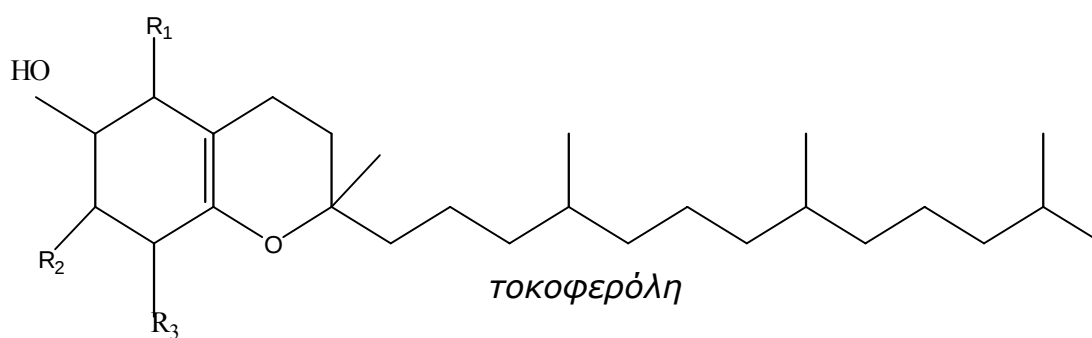
Α) τις τοκοφερόλες (ή τοκόλες), οι οποίες περιλαμβάνουν κορεσμένη πλευρική αλυσίδα και

Β) τις τοκοτριενόλες (ή τριενόλες), στις οποίες η πλευρική ανθρακική αλυσίδα είναι ακόρεστη.

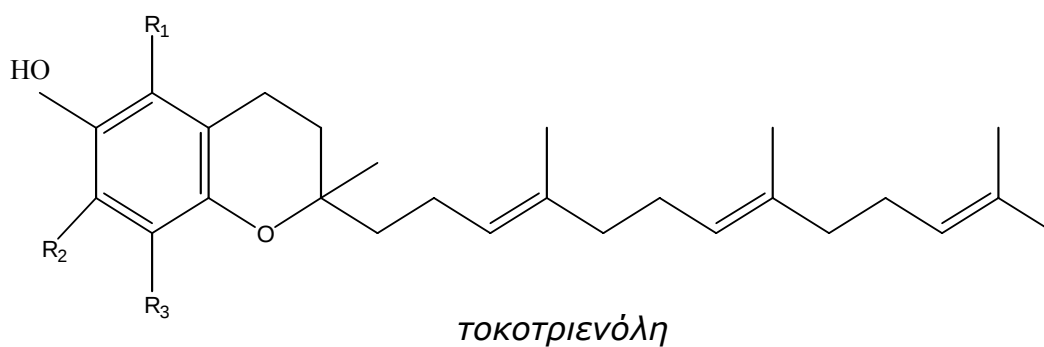
Κάθε κατηγορία περιλαμβάνει 4 ενώσεις που διαφέρουν μεταξύ τους στη θέση των ομάδων μεθυλίου στο δακτύλιο της χρωμανόλης (χρωμανίου). Κάθε μια διαφορετική ένωση της κάθε κατηγορίας χαρακτηρίζεται με ένα από τα γράμματα α, β, γ, δ και διαθέτει χαρακτηριστική βιολογική δραστηριότητα. Η α-τοκοφερόλη παρουσιάζει τη μεγαλύτερη βιταμινική δραστηριότητα και ακολουθούν β-τοκοφερόλη, η γ-τοκοφερόλη με μικρότερη δραστηριότητα από τη β και η δ-τοκοφερόλη. Η α-τοκοτριενόλη έχει λίγο μικρότερη δραστηριότητα από τη β-τοκοφερόλη, ενώ για τις υπόλοιπες τοκοτριενόλες δεν υπάρχουν σαφή δεδομένα².

Στο μόριο των τοκοφερολών υπάρχουν 3 ασύμμετρα κέντρα, το οποίο συνεπάγεται την παρουσία 8 δυνατών επιμερών ενώσεων για κάθε μια από τις α, β, γ, δ τοκοφερόλες. Το δραστικότερο ισομερές α-τοκοφερόλης είναι η 2R, 4'R, 8'R-α-τοκοφερόλη. (Στις τοκοτριενόλες υπάρχει ένα ασύμμετρο άτομο άνθρακα και 2 θέσεις όπου μπορεί να εμφανιστεί γεωμετρική ισομέρεια). Τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες διαφέρουν ως προς την παρουσία διπλών δεσμών στην πλευρική

αλυσίδα. Οι α, β, γ, δ τοκοφερόλες και τοκοτριενόλες διαφέρουν μεταξύ τους ως προς την υποκατάσταση του χρωμανικού δακτυλίου^{2,3}.



Ένωση	R ₁	R ₂	R ₃
α-τοκοφερόλη	CH ₃	CH ₃	CH ₃
β-τοκοφερόλη	CH ₃	H	CH ₃
γ-τοκοφερόλη	H	CH ₃	CH ₃
δ-τοκοφερόλη	H	H	CH ₃



Ένωση	R ₁	R ₂	R ₃
α-τοκοτριενόλη	CH ₃	CH ₃	CH ₃
β-τοκοτριενόλη	CH ₃	H	CH ₃
γ-τοκοτριενόλη	H	CH ₃	CH ₃
δ-τοκοτριενόλη	H	H	CH ₃

Σχήμα 1.1. Δομή και σχετική δραστικότητα τοκοφερολών και τοκοτριενολών².

Το ένα IU της βιταμίνη E έχει οριστεί ως η δράση 1 mg οξικού άλατος της d1-α-τοκοφερόλης¹.

1.2. Πηγές

Η βιταμίνη E είναι ευρέως διαδεδομένη στα τρόφιμα και βρίσκεται τόσο σε φυτικά όσο και σε ζωικά τρόφιμα . Η πλουσιότερη πηγή βιταμίνης E είναι τα φυτικά έλαια. Το μεγαλύτερο ποσοστό βιταμίνης E που παρέχεται από τη διατροφή, προέρχεται από τα φυτικά έλαια που χρησιμοποιούνται στο μαγείρεμα και στις σαλάτες σε συνδυασμό με κάποια φρούτα και λαχανικά. Το επίπεδο βιταμίνης E γενικά συμβαδίζει με το επίπεδο πολυακόρεστων λιπιδίων της τροφής^{2,4}.

Οι τοκοφερόλες βρίσκονται στα φύλλα και σε άλλα πράσινα μέρη των φυτών. Τα φύλλα και οι χλωροπλάστες των φυτών περιέχουν κυρίως α-τοκοφερόλη και μικρότερα ποσά της γ-τοκοφερόλης, ενώ οι γ, δ, β τοκοφερόλες βρίσκονται κυρίως σε περιοχές του φυτού εκτός των χλωροπλαστών. Οι τοκοτριενόλες βρίσκονται κυρίως στα λαχανικά και τα πίτουρα και στους σπόρους ορισμένων φυτών, όπως το σιτάρι, το κριθάρι, το ρύζι και η βρώμη⁵.

Στις ζωικές τροφές η βιταμίνη E (κυρίως η α-τοκοφερόλη) βρίσκεται στους λιπαρούς ιστούς του ζώου. Πάντως σε σχέση με τα φυτικά τρόφιμα, τα ζωικά τρόφιμα αντιπροσωπεύουν φτωχή πηγή βιταμίνης E (π.χ. τα ιχθυέλαια είναι φτωχά σε βιταμίνη E).

Πριν αναφερθούν οι σημαντικότερες πηγές φυτικής προέλευσης της βιταμίνης E, πρέπει να σημειωθεί ότι η ποσότητα της που υπάρχει σε αυτές εξαρτάται από το είδος, την ποικιλία, το βαθμό ωρίμανσης, την εποχή του έτους, το χρόνο και τον τρόπο συγκομιδής τους, την κατεργασία και την αποθήκευσή τους^{6,7}.

Οι τροφές λοιπόν ανάλογα με την περιεκτικότητά τους σε βιταμίνη Ε διακρίνονται σε^{6,7}:

- *Πλούσιες πηγές*: Σαλάτες και μαγειρικά έλαια, σιτηρά, μαργαρίνη, ξηροί καρποί, ηλιόσποροι και πυρηνέλαια, φυστικοβούτυρο, βαμβακέλαιο και σε προϊόντα από επεξεργασία ντομάτας.
- *Καλές πηγές*: Σπαράγγια, αβοκάντο, μοσχάρι, και εντόσθια ζώων, βούτυρο, αυγά, πράσινα φυλλώδη λαχανικά, αλεύρι από βρώμη, σίκαλη, ντομάτα, θαλασσινά (αστακός, σολομός, τόνος), βατόμουρα.
- *Φτωχές πηγές*: Μήλα, φασόλια, φασολάκια, καρότα, σέλινο, τυρί, κοτόπουλο, αρακάς.

Όπως αναφέρθηκε η κατεργασία, η αποθήκευση και το μαγείρεμα των τροφών μπορεί να επηρεάσει το επίπεδο περιεχόμενης βιταμίνης Ε, προκαλώντας σημαντικές απώλειες. Οι τοκοφερόλες καταστρέφονται εύκολα με την οξειδωση (π.χ. έκθεση στο φως, θερμότητα, αλκάλια). Η επεξεργασία π.χ. το άλεσμα των δημητριακών καρπών απομακρύνει περίπου το 80% της βιταμίνης. Η αφυδάτωση προκαλεί απώλεια 36-45% στα ορνιθοειδή και στο μοσχάρι. Η κονσερβοποίηση προκαλεί απώλειες του 65% της περιεχόμενης α-τοκοφερόλης στα κρέατα και στα λαχανικά. Το ψήσιμο των ξηρών καρπών αυξάνει την καταστροφή της βιταμίνης Ε. Τέλος, το παρατεταμένο τηγάνισμα των λιπών προκαλεί απώλειες που ανέρχονται από 30-75%².

1.3. Πέψη και απορρόφηση

Οι τοκοφερόλες βρίσκονται ελεύθερες στις τροφές, ενώ οι τοκοτριενόλες είναι συνήθως εστεροποιημένες και για να απορροφηθούν πρέπει πρώτα να υδrolυθούν. Η υδρόλυση των τοκοτριενολών πιστεύεται ότι γίνεται από την παγκρεατική εστεράση και/ή την δωδεκαδακτυλική εστεράση του βλεννογόνου. Η παγκρεατική εστεράση, η οποία βρίσκεται στο παγκρεατικό υγρό, δρα στον αυλό

και στην ψηκτροειδή παρυφή του εντέρου για να υδρολύσει τις τοκοτριενόλες, ώστε να μπορέσουν να απορροφηθούν.

Η πέψη της βιταμίνης Ε ακολουθεί τη διαδικασία πέψης των λιποειδών. Μόλις τα λίπη της δίαιτας φτάσουν στο δωδεκαδάκτυλο, αυτόματα ενεργοποιείται ο μηχανισμός έκκρισης της ορμόνης χολοκυστοκινίνης, ενώ ταυτόχρονα το παγκρεατικό υγρό και η χολή (η οποία περιέχει χολικά άλατα) χύνονται στο δωδεκαδάκτυλο. Έτσι προωθείται η γαλακτωματοποίηση των λιπών^{4,5}.

Η απορρόφηση της βιταμίνης Ε (υπό τη μορφή ελευθέρων αλκοολών) γίνεται κυρίως στη νήστιδα με παθητική διάχυση. Για την απορρόφηση της απαιτούνται χολικά άλατα και παγκρεατικό υγρό που θα σχηματίσουν μικκύλια, επιτρέποντας έτσι την είσοδο της βιταμίνης Ε στο εντεροκύτταρο⁶. Η διαδικασία απορρόφησης δε χρειάζεται ειδικούς μεταφορείς και δεν απαιτεί ενέργεια. Η σύγχρονη πέψη και απορρόφηση των λιπιδίων της δίαιτας και ιδιαίτερα των τριγλυκεριδίων, αυξάνει και την απορρόφηση της βιταμίνης Ε. Κάποιοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι για την απορρόφηση της βιταμίνης Ε είναι πιθανόν να απαιτείται ένας ειδικός παράγοντας μη-σχετιζόμενος με την απορρόφηση των λιπιδίων. Η απορρόφηση της βιταμίνης Ε κυμαίνεται από 20-50% (πιθανόν να φθάνει και το 80 %). Γενικά, καθώς αυξάνει η πρόσληψη βιταμίνης Ε, ελαττώνεται η απορρόφηση της (έχει βρεθεί ότι κατά τη χορήγηση δόσεων της τάξεως των 200 mg, η απορρόφηση της βιταμίνης είναι περίπου 10%)⁶.

Η εντερική απορρόφηση των λιπιδίων και των λιποδιαλυτών βιταμινών, όπως η βιταμίνη Ε, εξαρτάται από την παγκρεατική λειτουργία, τη χολική έκκριση, το σχηματισμό μικκυλίου και τη διείσδυση κατά μήκος της εντερικής επιφάνειας. Η απορρόφηση της α-τοκοφερόλης έχει μελετηθεί σε ανθρώπους και ζώα. Σχετικά με την απορρόφηση της βιταμίνης Ε έχουν διεξαχθεί πολυάριθμες έρευνες^{1,3}.

Διάφορες έρευνες έχουν δείξει ότι τα επίπεδα της γ-τοκοφερόλης στο ανθρώπινο πλάσμα φτάνουν μόνο το 10-15% της συγκέντρωσης της α-τοκοφερόλης. Μελέτες σε ποντίκια δεν έδειξαν μεγάλη διαφορά στην απορρόφηση της α και της γ-τοκοφερόλης. Έχει παρατηρηθεί ότι η έγχυση υψηλών επιπέδων α-

τοκοφερόλης έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση των επιπέδων της γ-τοκοφερόλης στο ανθρώπινο πλάσμα, πιθανόν λόγω μιας επιλεκτικής έκκρισης της γ-τοκοφερόλης στη χολή¹.

1.4 Μεταφορά και αποθήκευση

Η βιταμίνη Ε που φέρεται στο εντερικό κύτταρο, ενσωματώνεται σε χυλομικρά και μεταφέρεται μέσω της λέμφου στην κυκλοφορία. Από τα χυλομικρά η βιταμίνη Ε μπορεί να μεταφερθεί σε άλλες λιποπρωτεΐνες του πλάσματος (HDL, LDL) και τα ερυθροκύτταρα. Για τη μεταφορά της βιταμίνης Ε στις VLDL είναι πιθανόν να απαιτείται μια ειδική πρωτεΐνη μεταφοράς βιταμίνης Ε που συντίθεται στο ήπαρ⁷. Η τοκοφερόλη που φθάνει στα ερυθροκύτταρα εγκαθίσταται κυρίως στην κυτταρική μεμβράνη (έχουν βρεθεί μεμβρανικές πρωτεΐνες δέσμευσης της τοκοφερόλης). Η βιταμίνη Ε του πλάσματος σχετίζεται άμεσα με το συνολικό ποσό λιπιδίων του πλάσματος.

Η διάθεση της βιταμίνης Ε στους διάφορους ιστούς γίνεται κυρίως από τις LDL. Επιπλέον είναι πιθανόν η βιταμίνη Ε να παίζει κάποιο προστατευτικό ρόλο έναντι της οξείδωσης των LDL. Η πρόσληψη βιταμίνης Ε από τα κύτταρα μπορεί να γίνει είτε με μεσολάβηση του υποδοχέα των LDL, είτε μέσω της υδρόλυσης των VLDL και των χυλομικρών από την λιποπρωτεϊνική λιπάση, είτε πιθανόν με κάποιον άλλο μηχανισμό^{5,7}.

Για τη μεταφορά της μέσα στο κυττόπλασμα (αλλά και σε άλλα μέρη του κυττάρου, συμπεριλαμβανομένου κατά πάσα πιθανότητα και του πυρήνα) η βιταμίνη Ε συνδέεται με ειδικές πρωτεΐνες (TBP, tocopherol binding proteins). Η βιταμίνη Ε βρίσκεται κυρίως στις κυτταρικές μεμβράνες (πλασματική, μιτοχονδριακή, μικροσωμική). Πιστεύεται ότι στις μεμβράνες αυτές τοποθετείται έτσι ώστε ο χρωμανικός δακτύλιος να εκτίθεται προς την επιφάνεια της μεμβράνης (κοντά στις φωσφορικές ομάδες του φωσφολιπιδίου), ενώ η υδρόφοβη αλυσίδα κατανέμεται στην περιοχή των υδρογονανθρακικών αλυσίδων του φωσφολιπιδίου.

Το μεγαλύτερο ποσοστό βιταμίνης Ε βρίσκεται στο λιπώδη ιστό. Μικρότερα ποσά υπάρχουν στο ήπαρ, την καρδιά, τους μυς, τον εγκέφαλο, τα επινεφρίδια. Η συγκέντρωση βιταμίνης Ε στο λιπώδη ιστό αυξάνει γραμμικά με την πρόσληψη βιταμίνης Ε, ενώ στους άλλους ιστούς η συγκέντρωσή της είναι σταθερή (ή αυξάνει με αργούς ρυθμούς). Σε περιόδους χαμηλής διαιτητικής πρόσληψης, η παροχή βιταμίνης Ε από τους χώρους αποθήκευσης γίνεται αργά από το λιπώδη ιστό (δηλ. μάλλον δεν είναι άμεσα διαθέσιμη) και γρήγορα από το ήπαρ και το πλάσμα. Από την καρδιά και τους μυς κινητοποιείται με ενδιάμεσους ρυθμούς^{8,9}.

Οι λιποπρωτεΐνες είναι τα μέσα μεταφοράς των λιπιδίων στο πλάσμα και συνθέτονται κυρίως στο έντερο (χυλομικρά και HDL), στο ήπαρ (VLDL και HDL) ή σχηματίζονται στο πλάσμα (HDL και LDL)¹⁰. Το πλήθος των απολιποπρωτεϊνών συνθέτονται στο ήπαρ και στο έντερο. Η α-τοκοφερόλη μεταφέρεται στο αίμα συνδεδεμένη με λιποπρωτεΐνες τόσο στους ανθρώπους, όσο και στα ποντίκια. Σε μη νηστικούς ποντικούς η α-τοκοφερόλη είναι σχεδόν ομοίως διανεμημένη μεταξύ της VLDL και της HDL, ενώ η LDL είναι η λιποπρωτεΐνη που περιέχει το μεγαλύτερο ποσοστό α-τοκοφερόλης σε νηστικούς ανθρώπους¹¹.

Μια υψηλή συσχέτιση βρέθηκε μεταξύ του συνολικού επιπέδου των λιπιδίων στον ορό και του επιπέδου της α-τοκοφερόλης, αλλά τα επίπεδα της α-τοκοφερόλης μπορεί επίσης να σχετίζονται με το σύνολο των πρωτεϊνών σε διαφορετικές λιποπρωτεϊνικές τάξεις. Τα διατροφικά συμπληρώματα βιταμίνης Ε (2γρ τοκοφερόλης / ημέρα), μπορεί να προκαλέσουν την ταχεία και παράλληλη αύξηση της α-τοκοφερόλης στο πλάσμα και στα ερυθροκύτταρα. Στα ερυθρά κύτταρα το μεγαλύτερο ποσοστό της α-τοκοφερόλης εντοπίζεται στη μεμβράνη. Ο πιο ευαίσθητος δείκτης της διατροφικής κατάστασης της α-τοκοφερόλης στο αίμα είναι το περιεχόμενο της α-τοκοφερόλης στα αιμοπετάλια. Το uptake της α-τοκοφερόλης στους περιφερικούς ιστούς μπορεί να συμβεί κατά τη διάρκεια του καταβολισμού λιποπρωτεϊνών πλούσιων σε τριακυλγλυκερόλες, με τη δράση της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης¹.

1.5 Ανεπάρκεια

Το RDA (Recommended Dietary Allowance) για τη βιταμίνη Ε έχει οριστεί σε 5 Ι.Υ. για τα νεογνά, σε 10-15 Ι.Υ. για τα παιδιά και σε 20-30 Ι.Υ. για τους ενήλικες, άντρες και γυναίκες¹.

Γενικά η έλλειψη βιταμίνης Ε σε ανθρώπους είναι σχετικώς σπάνια. Οι λόγοι είναι οι εξής^{2,3}:

1. Είναι πολύ πλατιά διαδεδομένη στις τροφές.
2. Εναποθηκεύεται σε όλους σχεδόν τους ιστούς του σώματος.
3. Παραμένει στο σώμα για σχετικά μεγάλες χρονικές περιόδους.

Συνήθως έλλειψη βιταμίνης Ε εμφανίζεται σε πρόωρα, ελλιποβαρή βρέφη. Τα νεογνά και ιδιαίτερα τα πρόωρα έχουν χαμηλά επίπεδα βιταμίνης Ε στο πλάσμα τους και για αυτό εμφανίζουν συχνά αιμολυτική αναιμία, που οφείλεται στη μείωση της ζωής των ερυθρών αιμοσφαιρίων τους. Τις πρώτες εβδομάδες της ζωής τους, τα νεογνά διαθέτουν ερυθρά αιμοσφαίρια με πολύ λεπτές κυτταρικές μεμβράνες, οι οποίες είναι ευάλωτες στην επίδραση των υπεροξειδίων. Έτσι, τα ερυθρά τους αιμοσφαίρια κατακερματίζονται. Η υπεροξειδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, που είναι υπεύθυνη για τις παραπάνω παθολογικές ανωμαλίες υποχωρεί με τη συμπληρωματική χορήγηση βιταμίνης Ε^{4,6}.

Έλλειψη παρατηρείται επίσης σε ανθρώπους με σύνδρομο δυσασπορρόφησης και σε πάσχοντες από αβεταλιποπρωτεϊναιμία (abetalipoproteinemia). Η αβεταλιποπρωτεϊναιμία είναι μια σπάνια γενετική ασθένεια που μπορεί να προκαλέσει έλλειψη βιταμίνης Ε λόγω έλλειψης απολιποπρωτεΐνης Β (απαραίτητη για τη σύνθεση χυλομικρών, VLDL, LDL). Η δυσασπορρόφηση του λίπους είναι συχνή σε διάφορες διαταραχές π.χ. κυστική ίνωση, ηπατοχολικές διαταραχές (κυρίως χρόνια χολόσταση (μειωμένη παραγωγή χολής)). Η ανεπάρκεια εκδηλώνεται με χαμηλά επίπεδα τοκοφερόλης στο αίμα και στους ιστούς, αυξημένη ευαισθησία των ερυθρών αιμοσφαιρίων και μειωμένο χρόνο ζωής τους και αυξημένη αποβολή κρεατίνης στα ούρα που υποδηλώνει μυϊκή βλάβη και μυϊκό καταβολισμό. Κλινικές μελέτες σε βαριά αλκοολικούς και σε πειραματόζωα έδειξαν

ότι το αλκοόλ μπορεί να αυξήσει την οξείδωση της α-τοκοφερόλης, προκαλώντας μείωση στη συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης στους ιστούς. Αυξημένες απαιτήσεις σε βιταμίνη Ε έχουν επίσης παρατηρηθεί σε πρόωρα νεογνά και σε ασθενείς με δυσαπορρόφηση⁷.

Συμπτώματα έλλειψης: συσσώρευση κηροειδών χρωστικών, αιμολυτική αναιμία, ατονία μυών, εκφυλιστικές νευρολογικές ασθένειες, παρεγκεφαλιδική αταξία, έλλειψη συντονισμού των άκρων κλπ. Σε περιπτώσεις έλλειψης βιταμίνης Ε υπάρχει οξείδωση των πλούσιων σε PUFA κυτταρικών μεμβρανών³.

1.6 Μεταβολισμός και Απέκκριση

Η μεταβολική συμπεριφορά της βιταμίνης Ε στους ανθρώπους δεν είναι γνωστή. Πρόσφατα οι Rader και Brewer¹² βρήκαν νέα δεδομένα για την συνάθροιση λιποπρωτεϊνών και το μεταβολισμό της βιταμίνης Ε από τη σπάνια γενετική ασθένεια, αβεταλιποπρωτεϊναιμία (abetalipoproteinemia, ABL). Μια μοριακή αιτιολογία της ABL έχει αναφερθεί να είναι η έλλειψη μιας μικροσωμικής μεταφοράς πρωτεΐνης, υποδηλώνοντας ότι η πρωτεΐνη αυτή έχει ρόλο κλειδί στη λιποπρωτεϊνική συσσώρευση και έκκριση, τόσο στο έντερο όσο και στο ήπαρ. Η μελέτη της ABL σε ασθενείς καθιέρωσε το ρόλο της ηπατικής έκκρισης των VLDL στη διανομή της βιταμίνης Ε στους περιφερικούς ιστούς και το σημαντικό ρόλο της βιταμίνης Ε στη διατήρηση της φυσιολογικής λειτουργίας διαφόρων ιστών¹². Ο Bassler¹³ έχει μελετήσει τη φύση της βιταμίνης Ε και τις ανάγκες σε βιταμίνη Ε. Οι ανάγκες σε βιταμίνη Ε είναι στενά συνδεδεμένες με τη διαιτητική πρόσληψη των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFA). Η βιταμίνη Ε καταναλώνεται μεταβολικά από τον προστατευτικό μηχανισμό που προλαμβάνει την οξείδωση των PUFA. Τα PUFA ελαττώνουν την εντερική απορρόφηση της βιταμίνης Ε.

Η α-τοκοφερόλη σε ένα διαλύτη μη πολικό οξειδώνεται σε μια ρίζα τοκοφεροξειδίου, η οποία μπορεί να αναχθεί σε βιταμίνη Ε. Σε πολικούς διαλύτες ο

δακτύλιος χρωμανόλης της α-τοκοφερόλης οξειδώνεται σε κινόνη της τοκοφερόλης².

Κύρια οδός απέκκρισης της βιταμίνης E είναι μέσω των κοπράνων. Με τα κόπρανα απεκκρίνεται η βιταμίνη E που δεν απορροφήθηκε, η βιταμίνη που εκκρίθηκε από τα εντεροκύτταρα πίσω στον εντερικό αυλό και αυτή που προέρχεται από έκκριση στη χολή. Η βιταμίνη E που απεκκρίνεται στη χολή βρίσκεται υπό τη μορφή ενός μεταβολίτη συζευγμένου με γλυκουρονικό οξύ. Από τα ούρα εκκρίνονται 2 υδατοδιαλυτοί μεταβολίτες (α-τοκοφερονικό οξύ και α-τοκοφερονολακτόνη), οι οποίοι παρασκευάζονται με οξείδωση της πλευρικής αλυσίδας της α-τοκοφερόλης και σύζευξη με γλυκουρονικό οξύ. Υπό φυσιολογικές συνθήκες οι μεταβολίτες αυτοί αποτελούν μόλις το 1% της πρόσληψης βιταμίνης E. Όταν η διαιτητική πρόσληψη είναι μεγάλη, η απέκκριση μέσω των ούρων αυξάνει. Επίσης το δέρμα δρα ως οδός έκκρισης α-τοκοφερόλης³.

1.7 Λειτουργίες και μηχανισμοί δράσης

Διάφοροι ρόλοι της βιταμίνης E έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία όπως: αντιοξειδωτική δράση, μεσολαβητής στο μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος και των προσταγλανδινών, στο μεταβολισμό του νουκλεϊκού οξέος, των πρωτεϊνών και των λιπιδίων, δράση στα μιτοχόνδρια, είναι προστάτης του πνευμονικού ιστού από τη μόλυνση της ατμόσφαιρας, είναι αντικαταστάτης του σεληνίου, ρυθμίζει τη δράση των ενζύμων, της πρωτεϊνικής κίνησης, συμμετέχει στον κανονικό πολλαπλασιασμό των κυττάρων, παραγωγή ανδρικών και γυναικείων ορμονών, διατήρηση της ακεραιότητας των μεμβρανών, προστασία κατά της αιμολυτικής αναιμίας και της μειωμένης ερυθροποίησης, μείωση του κινδύνου για εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων και τέλος καθυστέρηση στην εξέλιξη του βιολογικού γήρατος¹. Πιο πρόσφατα αναφέρθηκε και ένας νέος πιθανός ρόλος της βιταμίνης E στην αλλοίωση της προλακτίνης και την απελευθέρωση της αυξητικής ορμόνης σε κύτταρα του βλεννογόνου στους ποντικούς¹⁴. Έρευνες σε ζώα έχουν δείξει ότι

200mg βιταμίνης E την ημέρα μπορούν να προστατεύσουν τους πνευμονικούς ιστούς από τις βλαπτικές επιδράσεις του όζοντος σε περιοχές με υψηλό ποσοστό νέφους¹⁴.

Οι τοκοφερόλες και οι τοκοτριενόλες αντιδρούν με τις ελεύθερες ρίζες. Αυτό αποτελεί και τη βάση της αντιοξειδωτικής τους δράσης. Η RRR-α-τοκοφερόλη είναι ο ισχυρότερος “καθαριστής” υπεροξειδίων στις βιολογικές μεμβράνες και στις λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (LDL). Οι αντιοξειδωτικές λειτουργίες της σχετίζονται με τη μείωση των βλαβών του DNA, της κακοήθους μετάλλαξης και άλλων παραμέτρων της κυτταρικής καταστροφής, με τη μείωση εμφάνισης περιστατικών συγκεκριμένων τύπων καρκίνου και εκφυλισμένων νόσων, ισχαιμικών καρδιαγγειακών επεισοδίων και καταρράκτη⁹. Ο Muller¹⁵ αναφέρει ότι η βιταμίνη E χρησιμοποιείται στη θεραπεία της αμφιβληστροειδοπάθειας στα πρόωρα νεογνά. Η έλλειψη της βιταμίνης E μπορεί να προκαλέσει νευρολογικές δυσλειτουργίες, μυοπάθειες και ελαττωμένο κύκλο ζωής των ερυθροκυττάρων. Η βιταμίνη E είναι ουσιώδες θρεπτικό συστατικό για τη διατήρηση της δομικής και λειτουργικής ακεραιότητας του αναπτυσσόμενου νευρικού συστήματος, των σκελετικών μυών και του αμφιβληστροειδούς στον άνθρωπο.

Η βιταμίνη E βελτιώνει στα ποντίκια την επιβίωση των ερυθρών κυττάρων και προστατεύει τις μεμβράνες τους από την παραμόρφωση¹⁴.

Η βιταμίνη E φαίνεται να παίζει ρόλο στην κυτταρική αναπνοή είτε σταθεροποιώντας το συνένζυμο Q, είτε συνεισφέροντας στη μεταφορά ηλεκτρονίων στο συνένζυμο Q. Σε διάφορα πειραματόζωα η έλλειψη της βιταμίνης E μπορεί να συσχετίζεται με στειρότητα, μυϊκή δυστροφία, αλλαγές στο κεντρικό νευρικό σύστημα και μεγαλοβλαστική αναιμία. Στους ανθρώπους τα συμπτώματα περιορίζονται στις πιο εύθραυστες μεμβράνες των ερυθροκυττάρων, πιθανόν λόγω των αντιδράσεων τη υπεροξειδωσής⁷.

Οι Badamchian, et al.¹⁶ έχουν αναφέρει ένα ανάλογο της βιταμίνης E στο απόσταγμα των φύλλων του κριθαριού, το οποίο ερεθίζει την απελευθέρωση της προλακτίνης και της αυξητικής ορμόνης in vitro στα βλεννογόνα κύτταρα

ποντικών. Το ηλεκτρικό άλας της α-τοκοφερόλης, ένα ανάλογο της βιταμίνης E ερεθίζει τη δράση της προλακτίνης και της αυξητικής ορμόνης στον εγκέφαλο ποντικών.

Για πολλά χρόνια η βιταμίνη E ήταν γνωστή ως αντιστρωτική βιταμίνη. Αυτή η ιδιότητα της βιταμίνης προήλθε από μελέτες που είχαν γίνει σε αρουραίους, στους οποίους παρατηρήθηκε κάποια σημαντική βελτίωση στον τομέα της γονιμότητας τους, μετά από χορήγηση της βιταμίνης σε ανεπαρκείς ποσότητες¹⁴. Σήμερα, θεωρείται ως ένα απαραίτητο θρεπτικό συστατικό για τα ανώτερα θηλαστικά, συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου.

Έχειδειχθεί ότι οι τοκοτριενόλες διαθέτουν δράσεις μη οφειλόμενες την αντιοξειδωτική ικανότητα της βιταμίνης E. Φαίνεται ότι οι τοκοτριενόλες επιδρούν στο μεταβολισμό της χοληστερόλης. In vitro έχειδειχθεί ότι οι τοκοτριενόλες καταστέλλουν τη δράση της HMG-CoA αναγωγάσης (αναγωγάση του 3-υδρόξυ-3-μέθυλο-γλουτάρυλο-συνενζύμου A). Αυτά τα ευρήματα βρίσκονται σε συμφωνία με την παρατήρηση ότι οι τοκοτριενόλες ελαττώνουν τη συγκέντρωση χοληστερόλης του πλάσματος στα ζώα και στον άνθρωπο. Στις τοκοτριενόλες έχει επίσης αποδοθεί η καταστολή της ανάπτυξης όγκων και του κυτταρικού πολλαπλασιασμού (χωρίς να έχουν συσχετιστεί με αντικαρκινική δράση)^{3,5}.

1.7.1 Οξειδωση των λιπιδίων

Όλα τα κύτταρα που εκτίθενται στο μοριακό οξυγόνο βρίσκονται σε κίνδυνο να καταστραφούν από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και τα προϊόντα των οξειδωμένων λιπιδίων. Η βιταμίνη E είναι το πιο σημαντικό λιποδιαλυτό αντιοξειδωτικό. Σπάει τις ελεύθερες ρίζες και δρα ως "εξολοθρευτής" στα οξειδωμένα λιπίδια. Ένας από τους σημαντικότερους ρόλους της είναι η προστασία των κυτταρικών μεμβρανών από την οξειδωση (κάποιοι ερευνητές πιστεύουν ότι η βιταμίνη E προσδίδει επίσης φυσική σταθερότητα στις μεμβράνες). Ο μηχανισμός μέσω του οποίου η βιταμίνη E

προστατεύει τις μεμβράνες βασίζεται στην ικανότητα της να εμποδίζει την οξειδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων που περιλαμβάνονται στα φωσφολιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών. Καθώς οι μιτοχονδριακές μεμβράνες και οι μεμβράνες του ενδοπλασματικού δικτύου περιλαμβάνουν υψηλά ποσοστά ακόρεστων λιπιδίων, διατρέχουν υψηλότερο κίνδυνο οξειδωσης (και άρα καταστροφής). Βέβαια και οι κυτταρικές μεμβράνες όπως π.χ. των ερυθροκυττάρων (πλούσιες σε πολυακόρεστα λιπίδια και συγχρόνως εκτίθενται σε υψηλές συγκεντρώσεις O₂), των πνευμόνων και του εγκεφάλου, είναι επιρρεπείς σε οξειδωση¹⁰.

Η οξειδωμένη βιταμίνη E μπορεί να μετατραπεί πάλι σε βιταμίνη E από το ασκορβικό οξύ και τη γλουταθειόνη⁹.

Οι Reznick, et al.¹⁷ σε πρόσφατη έρευνα για τη δράση των αντιοξειδωτικών, όπως η βιταμίνη E και το σελήνιο, έδειξαν ότι αυτοί οι παράγοντες μπορούσαν να μειώσουν τις μυϊκές βλάβες που προκαλούνται από ελεύθερες ρίζες έπειτα από εκτεταμένη άσκηση. Κατά συνέπεια η βιταμίνη E μπορεί να μειώσει την οξειδωτική βλάβη των κυττάρων εξαιτίας της άσκησης.

Αυτές οι αντιοξειδωτικές λειτουργίες σχετίζονται με μειωμένες βλάβες στο DNA, λιγότερα περιστατικά συγκεκριμένων καρκίνων και εκφυλιστικών ασθενειών, όπως η ισχαιμική καρδιοπάθεια και ο καταρράκτης στα μάτια. Επίσης σημαντική δράση έχουν και στη διαδικασία της γήρανσης, την οποία μπορούν να επιβραδύνουν¹.

1.7.2 Μεταβολισμός του νουκλεϊκού οξέος και των πρωτεϊνών

Πολλές μελέτες έχουν αποδείξει ότι το περιεχόμενο σε DNA και RNA ανά gr μύος αυξάνεται στους σκελετικούς μύς σε κουνέλια με ανεπάρκεια σε βιταμίνη E. Ωστόσο το περιεχόμενο σε DNA και RNA των συνολικών μυών και το περιεχόμενο σε RNA διαφόρων κυτταρικών κλασμάτων των συνολικών μυών δεν αλλάζει σε αυτά τα πειραματόζωα. Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν μια μείωση στον όγκο των σκελετικών μυών στα κουνέλια με ανεπάρκεια σε βιταμίνη E, χωρίς καμιά απώλεια στο περιεχόμενο σε DNA και σε RNA. Η έλλειψη της βιταμίνης E έχει

επίσης βρεθεί να προκαλεί μια μείωση στην μυϊκή πρωτεΐνη και αυτή η μείωση του πρωτεϊνικού περιεχομένου είναι κυρίως εξαιτίας της απώλειας μυοσίνης και μυϊκών ινών, αν και άλλα κλάσματα χάνουν πρωτεΐνη αλλά σε πολύ μικρότερο ποσοστό. Η ανεπάρκεια σε βιταμίνη E επιβραδύνει την ανάπτυξη των μυϊκών κυττάρων, η οποία δε μπορεί να πραγματοποιηθεί δια μέσου φυσιολογικής πρωτεϊνικής συσσώρευσης³.

Στις πρωτεΐνες, η σύνθεση DNA και RNA και η πρωτεϊνική σύνθεση αυξάνεται στους σκελετικούς μύες ζώων με ανεπάρκεια σε βιταμίνη E κάτω από in vivo και in vitro συνθήκες. Η πρωτεϊνική σύνθεση αυξάνεται σε διάφορα κυτταρικά κλάσματα στους μύες κουνελιών με έλλειψη βιταμίνης E. Η ανεπάρκεια βιταμίνης E προκαλεί μια μεταλλαγή στη σύνθεση μυϊκής πρωτεΐνης^{3,5}.

Η σύνθεση RNA αυξάνεται αξιοσημείωτα σε διάφορα κυτταρικά κλάσματα των σκελετικών μυών των κουνελιών με ανεπάρκεια βιταμίνης E. Η αύξηση είναι μέγιστη στις νουκλεϊκές μυϊκές ίνες και ελάχιστη στο μικρόσωμα. Η σύνθεση DNA επίσης αυξάνεται στους σκελετικούς μύς αυτών των κουνελιών.

1.7.3 Νευρικό σύστημα

Ο Sokol¹⁸ έχει αναφέρει τη χρησιμότητα της βιταμίνης E στο νευρικό σύστημα του ανθρώπου. Η βιταμίνη E είναι ένα ουσιώδες θρεπτικό συστατικό για τη διατήρηση της δομικής και λειτουργικής ακεραιότητας του αναπτυσσόμενου νευρικού συστήματος, των σκελετικών μυών και του αμφιβληστροειδούς χιτώνα στους ανθρώπους.

Ο Fahh¹⁹ έχει αναφέρει ότι οι υψηλές δόσεις βιταμίνης E, καθυστερούν την εμφάνιση των συμπτωμάτων της νόσου του Πάρκινσον στους ανθρώπους. Οι Westermarck et. al.²⁰ μελέτησαν τις θεραπευτικές ιδιότητες της βιταμίνης E στις νευρολογικές παθήσεις. Ο ρόλος της βιταμίνης E στις παθήσεις του κεντρικού νευρικού συστήματος εξηγείται από την ικανότητα της να αλλοιώνει την τοξικότητα του οξυγόνου. Ο εγκέφαλος για τις λειτουργίες του χρειάζεται απαραίτητα

οξυγόνο, γλυκόζη, βιταμίνες και άλλα ιχνοστοιχεία. Η βιταμίνη Ε εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες που αρχίζουν την οξείδωση των λιπιδίων. Έχει βρεθεί ότι η θεραπεία με βιταμίνη Ε είναι πιθανόν αποτελεσματική σε ασθένειες του εγκεφάλου, όπως π.χ. η νόσος Alzheimer.

Στα ζώα και στους ανθρώπους, η τοκοφερόλη είναι κατανεμημένη στις κυτταρικές μεμβράνες, στο λιπώδη ιστό και στις λιποπρωτεΐνες του αίματος. Στον εγκέφαλο, η βιταμίνη Ε εντοπίζεται κυρίως στα μιτοχόνδρια, στα μικροσώματα και στις νευρικές απολήξεις των κυττάρων. Οι μεταβολές που προκαλούνται στη σύνθεση ή τη δομή των μεμβρανών από έλλειψη βιταμίνης Ε, μπορεί να προκαλέσουν νευρολογικό εκφυλισμό και μυϊκή δυσλειτουργία. Άλλες σημαντικές λειτουργίες της βιταμίνης Ε στον εγκέφαλο, είναι η συμμετοχή της στον έλεγχο της σύνθεσης προσταγλανδινών και λευκοτριενών, στη ρύθμιση της σύνθεσης του νουκλεϊκού οξέος και στην έκφραση των γονιδίων^{7,13}.

Επίσης νευρολογικά συμπτώματα έχουν παρατηρηθεί σε παιδιά με έλλειψη βιταμίνης Ε, η οποία προκλήθηκε εξαιτίας χρόνιας χολοστατικής ηπατοκυτταρικής νόσου. Οι Lat et. al.²¹ παρατήρησαν μαθησιακές και μνημονικές ανεπάρκειες σε ποντικούς, που ακολουθούσαν δίαιτα με ανεπαρκή πρόσληψη βιταμίνης Ε για 14 μήνες, ξεκινώντας από τη νηπιακή ηλικία. Τέλος οι Shandra και Kryzhanovskiy²² παρατήρησαν ότι η βιταμίνη Ε εμποδίζει την εμφάνιση επιληπτικών κρίσεων στα ποντίκια.

Η χρόνια δυσαπορρόφηση λίπους και βιταμίνης Ε που παρατηρήθηκε σε πειραματόζωα είναι πολύ σημαντική γιατί η χρόνια δυσαπορρόφηση βιταμίνης Ε στα παιδιά με κυστική ίνωση, με χρόνια χολόσταση, με β-λιποπρωτεΐναιμία και με σύνδρομο του βραχέως εντέρου, προκαλεί κίνδυνο εμφάνισης νευρολογικών ανεπαρειών. Η αποκατάσταση της έλλειψης της βιταμίνης προλαμβάνει ή αντιστρέφει και σταθεροποιεί τη νευρολογική δυσλειτουργία στους ασθενείς. Ο Harding²³ έχει αναφέρει ότι η βιταμίνη Ε είναι ουσιώδης για τη φυσιολογική νευρολογική λειτουργία. Στην αβεταλιποπρωτεΐναιμία στον άνθρωπο, η εμφάνιση του σχετιζόμενου παρεγκεφαλιδονωτιαίου συνδρόμου μπορεί να προληφθεί αν

αρχίσει νωρίς θεραπεία με βιταμίνη Ε. Μια νευρολογική διαταραχή παρόμοια με την αβεταλιποπρωτεϊναιμία έχει βρεθεί στα παιδιά και σε ενήλικους ως προοδευτική σύγχυση και κατάσταση ελαττωμένων αντανεκλαστικών μετά από χρόνια δυσαπορρόφηση λίπους και ανεπάρκεια βιταμίνης Ε¹². Οι νευροπαθολογικές αλλαγές σε αυτούς τους ασθενείς μοιάζουν με αυτές που βρέθηκαν σε πιθήκους με ανεπάρκεια βιταμίνης Ε.

Αυτό που απομένει σε μελλοντικές μελέτες είναι να καθοριστεί ο μηχανισμός με τον οποίο η έλλειψη της βιταμίνης Ε προκαλεί εκφυλισμό του νευρικού συστήματος.

1.8 Αλληλεπιδράσεις με άλλα συστατικά της διατροφής^{2,4}

1. Σελήνιο. Η δράση της βιταμίνης Ε στο σώμα σχετίζεται με τη δράση της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης. Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης περιλαμβάνει σελήνιο, η δράση του οποίου έγκειται στη μετατροπή ενός λιπιδικού υπεροξειδίου σε λιπιδική αλκοόλη.
2. Θειούχα αμινοξέα. Καθώς η κυστεΐνη είναι απαραίτητη για τη σύνθεση της γλουταθειόνης, η δράση της βιταμίνης Ε μπορεί έμμεσα να συσχετιστεί με τα θειούχα αμινοξέα.
3. Η δράση της βιταμίνης Ε φαίνεται να σχετίζεται επίσης με ψευδάργυρο, μαγγάνιο και χαλκό.
4. Υψηλή πρόσληψη βιταμίνης Ε εμπλέκεται με τις δράσεις των άλλων λιποδιαλυτών βιταμινών. Σε δόσεις μεγαλύτερες του 1 mg η βιταμίνη Ε δρα ανταγωνιστικά στη δράση της βιταμίνης Κ. Η βιταμίνη Ε πιθανόν να αναστέλλει την οξειδωση της βιταμίνης Κ και να επηρεάζει το σχηματισμό προθρομβίνης. Επίσης μπορεί να επηρεάζει την απορρόφηση της βιταμίνης Κ. Προβλήματα με την εναπόθεση αλάτων στα οστά, στην οποία εμπλέκεται η βιταμίνη D έχουν αναφερθεί σε ζώα που προσλάμβαναν υψηλές δόσεις βιταμίνης Ε. Αλληλεπίδραση

παρουσιάζεται και με τη βιταμίνη A. Ελλείψει βιταμίνης A, η βιταμίνη E χαμηλώνει το ρυθμό εξάντλησης της βιταμίνης A στο ήπαρ. Επιπλέον η διάσπαση του β-καροτένιου σε ρετινόλη απαιτεί την παρουσία βιταμίνης E (πιθανόν προστατεύει το υπόστρωμα από οξειδωση). Πάντως υψηλά ποσοστά βιταμίνης E μπορεί να αναστέλλουν την απορρόφηση β-καροτένιου και τη μετατροπή του σε ρετινόλη.

5. Η βιταμίνη E σχετίζεται με τη διαιτητική πρόσληψη PUFA (όσο αυξάνει η πρόσληψη PUFA τόσο αυξάνουν οι ανάγκες σε βιταμίνη E).

1.9 Τοξικότητα

Η βιταμίνη E είναι από τις λιγότερο τοξικές βιταμίνες. Λήψη 400-800 Mg βιταμίνης E για αρκετούς μήνες (50-100 φορές την RDA) δεν φαίνεται να προκαλεί εμφανώς κάποια δυσλειτουργία. Υψηλότερες δόσεις (800mg -3.2 gr) μπορούν να προκαλέσουν ατονία των μυών, κόπωση και γαστρεντερική δυσφορία (ναυτία, διάρροια, τυμπανισμό). Υψηλές δόσεις βιταμίνης E αλληλεπιδρούν με τις δράσεις των άλλων λιποδιαλυτών βιταμινών. Σε δόσεις που ξεπερνούν το 1 gr/ημέρα η βιταμίνη E γίνεται ανταγωνιστική στη δράση της βιταμίνης K, με αποτέλεσμα έντονη μεταχειρουργική αιμορραγία και αιμορραγία σε ασθενείς που κάνουν αντιπηκτική θεραπεία. Βέβαια αν και η χρόνια υπερπρόσληψη βιταμίνης E δε φαίνεται να έχει δυσμενείς συνέπειες, δεν είναι άμοιρη συμπτωμάτων. Αυτό ενισχύεται από την εμφάνιση τοξικότητας σε πρόωρα βρέφη, στα οποία έχει εφαρμοστεί παρεντερική παροχή βιταμίνης E^{2,7}.

Πολυάριθμες έρευνες έχουν δείξει ότι δεν υπάρχουν τοξικές επιδράσεις της α-τοκοφερόλης στην υγεία. Ωστόσο από άλλες έρευνες έχουν προκύψει αντίθετα αποτελέσματα, καθώς έδειξαν συμπτώματα πονοκεφάλου, ναυτίας, κούρασης, ζάλης και θολής όρασης με λήψη 300mg την ημέρα. Με λήψη 2 έως 4 γραμμαρίων την ημέρα για 3 μήνες προκλήθηκαν μικρή κρεατινουρία, χυλοποίηση, γωνιακή

στοματίτιδα, γαστρεντερικές διαταραχές και μυϊκή αδυναμία. Ωστόσο τα συμπτώματα εξαφανίστηκαν 2 εβδομάδες από όταν σταμάτησε η λήψη των δόσεων¹. Επίσης βρέθηκε ότι οι υψηλές δόσεις βιταμίνης E προκαλούσαν υπογλυκαιμία και χαμηλά επίπεδα προθρομβίνης. Ο Scott²⁴ έπειτα από ανασκόπηση της βιβλιογραφίας σχετικά με τη βιταμίνη E, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι τα συμπληρώματα βιταμίνης E δεν έχουν τοξική δράση.

Η χολή είναι απαραίτητη για την απορρόφηση της βιταμίνης E. Τα παιδιά με χολόσταση δεν παρουσιάζουν αλλαγές στη συγκέντρωση της βιταμίνης E στον ορό, μετά από τη λήψη μεγάλων δόσεων. Πολλές έρευνες μελέτησαν το χρόνο ημίσειας ζωής της τοκοφερόλης στα νεογνά με χαμηλό βάρος γέννησης, μετά από τη λήψη μιας μόνο δόσης 20mg/kg βάρους και βρέθηκε ότι ήταν από 2 έως 4 μέρες. Αυτό οδήγησε στο συμπέρασμα ότι με επαναλαμβανόμενη καθημερινή χορήγηση βιταμίνης E, θα μπορούσε να επιτευχθεί συσσώρευση αποθέματος της βιταμίνης. Συνήθως, η συσσώρευση της α-τοκοφερόλης στο ήπαρ, συνεχίζεται ακόμα και όταν έχει επιτευχθεί μια σταθερή συγκέντρωση στον ορό. Η συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης στον ορό, δε σχετίζεται απαραίτητα με το συνολικό περιεχόμενο της τοκοφερόλης στο σώμα. Η φυσιολογική συγκέντρωση βιταμίνης στο πλάσμα μπορεί να παρατηρηθεί είτε σε ανεπαρκή, είτε σε φυσιολογική ή ακόμα και σε υψηλή συγκέντρωση της στους ιστούς⁵.

2. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ Ε

Οι περισσότεροι ζωντανοί οργανισμοί έχουν αναπτύξει ολοκληρωμένες αντιοξειδωτικές άμυνες για να καταστρέφουν τις ελεύθερες ρίζες και να ελέγχουν την ενδοκυτταρική τους συγκέντρωση. Αυτοί οι μηχανισμοί περιλαμβάνουν ένζυμα και μικρά διαλυτά μόρια (π.χ. βιταμίνη Ε). Μια διαταραχή στην ισορροπία μεταξύ αντιοξειδωτικών και ελευθέρων ριζών είναι ένας μηχανισμός κυτταρικής βλάβης σε παθήσεις που σχετίζονται με υπεροξυγόνωση, ισχαιμία και φλεγμονή⁸.

2.1. Χημεία φυσικών αντιοξειδωτικών

Ως αντιοξειδωτικά χαρακτηρίζονται οι ουσίες εκείνες που εμποδίζουν τις αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών προστατεύοντας έτσι τον οργανισμό από την επιβλαβή δράση των τελευταίων²⁵.

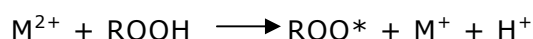
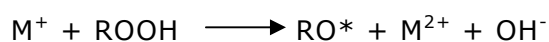
Σύμφωνα με την υπόθεση των ελευθέρων ριζών, οι σχετιζόμενες με την ηλικία αλλαγές συμβαίνουν ως αποτέλεσμα της αδυναμίας του οργανισμού να αντεπεξέλθει στο οξειδωτικό στρες που δημιουργείται κατά τη διάρκεια της ζωής. Ως οξειδωτικό στρες ορίζεται η ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών ουσιών σε βάρος των δεύτερων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να προκαλούνται οξειδωτικές βλάβες σε μόρια όπως το DNA, λιπίδια και πρωτεΐνες. Επίσης, επί μακράν προσβολή ενός οργάνου από ελεύθερες ρίζες, το οποίο είναι ήδη ευαίσθητο στο οξειδωτικό στρες, παρατηρούνται οργανικές δυσλειτουργίες. Είναι γνωστό ότι οι ελεύθερες ρίζες μπορεί να αυξηθούν από εξωμεταβολικές (π.χ. μόλυνση, ακτινοβολία, τοξίνες κ.τ.λ.) ή ενδομεταβολικές πηγές. Από τις πιο σημαντικές βιολογικές πηγές ελευθέρων ριζών είναι αυτές που οδηγούν στη δημιουργία ($O_2^{\cdot-}$) από μεταφορά ηλεκτρονίων στις μιτοχονδριακές μεμβράνες. Για τη μετατροπή του οξυγόνου σε νερό απαιτείται μεταφορά ηλεκτρονίων. Κατά τις αντιδράσεις αυτές παράγονται (HO_2) (υδροπεροξυλική ρίζα), (H_2O_2) (υπεροξειδίο του υδρογόνου) και ($OH^{\cdot}$) (ρίζα υδροξυλίου) που είναι το πιο δραστικό προ-οξειδωτικό. Άλλες κυτταρικές πηγές ελευθέρων ριζών είναι το ηπατικό

μικρόσωμα και οι πυρηνικές μεμβράνες, οι οποίες περιέχουν συστήματα μεταφοράς ηλεκτρονίων που μπορούν να παράγουν ελεύθερες ρίζες²⁶.

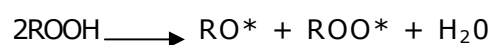
2.1.1 Μηχανισμός δράσης ελευθέρων ριζών

Ως ελεύθερη ρίζα ορίζεται κάθε είδος ατόμου ή χημικής ένωσης που έχει την ικανότητα ανεξάρτητης («ελεύθερης») ύπαρξης και μπορεί να περιέχει ένα ή και περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια²⁷.

Οι περισσότερες ελεύθερες ρίζες, είναι ασταθείς ενώσεις, οι οποίες οξειδώνουν ένα συγκεκριμένο μόριο στόχο, κυρίως μακρομόριο. Ο μηχανισμός δράσης των ελευθέρων ριζών στηρίζεται στην ακόλουθη αρχή: Πρώτα δημιουργείται με κάποιο τρόπο η ελεύθερη ρίζα που αποτελεί ισχυρό οξειδωτικό παράγοντα (έναρξη). Η προέλευση των ριζών που στη συνέχεια προκαλούν αλυσιδωτές αντιδράσεις αποτελεί έναν από τους πιο ενδιαφέροντες τομείς έρευνας. Η δημιουργία ελευθέρων ριζών πιθανόν να οφείλεται και σε μοριακό μηχανισμό από το οξυγόνο απλής διηγευμένης κατάστασης (singlet oxygen). Το τελευταίο σχηματίζεται με τη βοήθεια του φωτός παρουσία ενός φωτοευαισθητοποιητή π.χ. χλωροφύλλης. Κατά τη μετάπτωση του οξυγόνου στην απλή διηγευμένη κατάσταση σχηματίζονται υδροϋπεροξειδία και συνεχίζεται η αντίδραση με το μηχανισμό των ελευθέρων ριζών. Κάποια μέταλλα, όπως ο σίδηρος και ο χαλκός, προκαλούν το σχηματισμό νέων ριζών κι έτσι δρουν ως προοξειδωτικά^{27,28}.



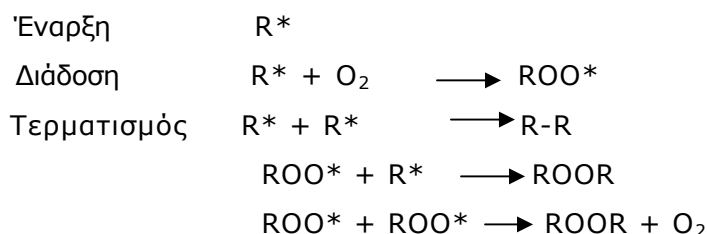
Η συνολική αντίδραση είναι:



Από την αντίδραση των ελευθέρων ριζών με μη ριζικά μόρια προκύπτουν νέες ελεύθερες ρίζες (διάδοση). Έτσι, με αυτόν τον τρόπο οι αντιδράσεις των

ελευθέρων ριζών τείνουν να είναι αλυσιδωτές, αναγεννώντας συνεχώς νέα άτομα ή ενώσεις με ασύζευκτα ηλεκτρόνια. Η αντίδραση θα σταματήσει όταν οι ελεύθερες ρίζες αντιδράσουν προς προϊόντα που δεν παρέχουν πλέον νέες ελεύθερες ρίζες.

Η αλληλουχία των αντιδράσεων μπορεί να παρασταθεί σχηματικώς ως εξής:



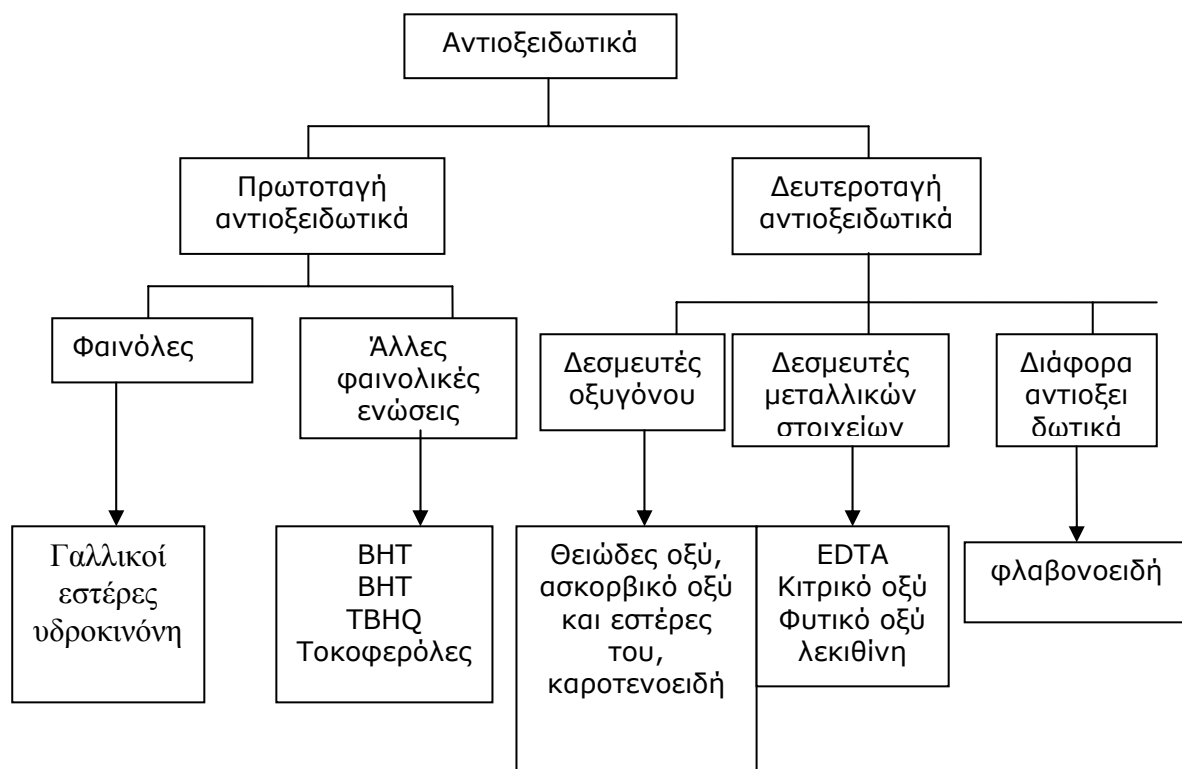
Με βάση τον ανωτέρω μηχανισμό πιστεύεται ότι επιτελείται η αυτοξειδωση των λιπών και των ελαίων, δηλαδή η αντίδραση τους με το οξυγόνο^{27,28}.

2.1.2. Αντιοξειδωτικά

Μια συνήθης μέθοδος που χρησιμοποιείται για την επιβράδυνση της οξείδωσης των λιπών που περιέχονται στα λιπαρά τρόφιμα είναι η προσθήκη αντιοξειδωτικών. Τα αντιοξειδωτικά είναι ουσίες που χρησιμοποιούνται για τη συντήρηση των τροφίμων προστατεύοντάς τα από τη φθορά, την τάγγιση ή τον αποχρωματισμό που μπορεί να λάβει χώρα κατά την οξείδωση. Τα αντιοξειδωτικά δεν μπορούν να αντιστρέψουν την οξείδωση των ήδη ταγγισμένων ελαίων, ούτε είναι αποτελεσματικά έναντι της υδρολυτικής τάγγισης, δηλαδή της ενζυματικά καταλυόμενης υδρόλυσης των λιπαρών ουσιών. Ένα αντιοξειδωτικό πρέπει να συνδυάζει τις εξής ιδιότητες²⁷:

- Να είναι αποτελεσματικό σε πολύ μικρή περιεκτικότητα.
- Να μην έχει καμία βλαβερή επίδραση στην υγεία του ανθρώπου.
- Να μην προσδίδει στο τρόφιμο δυσάρεστη οσμή και γεύση.
- Να είναι έστω και ελάχιστα λιποδιαλυτό.
- Να είναι όσο γίνεται σταθερό στα διάφορα στάδια επεξεργασίας του τροφίμου.

2.1.2.1. Κατάταξη αντιοξειδωτικών ουσιών²⁸



2.1.2.2. Μηχανισμοί δράσης αντιοξειδωτικών ουσιών

Πρωτοταγή αντιοξειδωτικά

Τα πρωτοταγή αντιοξειδωτικά διακόπτουν τις αντιδράσεις διάδοσης των ελευθέρων ριζών παρέχοντας άτομα υδρογόνου στις ελεύθερες ρίζες.

Σε αυτή την κατηγορία εντάσσονται φαινολικές ενώσεις, όπως ΒΗΑ (βουτυλιωμένη υδροξυανισόλη), ΒΗΤ (βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο), ΤΒΗQ (δι-τριπ.-βούτυλο- υδροκινόνη), ΡG (προπυλικός εστέρας γαλλικού οξέος), τοκοφερόλες, καφεϊκό οξύ, καρνοσόλη, ροσμαρινικό οξύ κ.ά.

Οι τοκοφερόλες ανήκουν στα φυσικά αντιοξειδωτικά. Τέσσερα ομόλογα είναι γνωστά- η α, β, γ και δ-τοκοφερόλη - που η αντιοξειδωτική τους ικανότητα αυξάνεται από το α-ομόλογο προς το δ, εν αντιθέσει με τη βιταμινική τους δράση που ελαττώνεται κατά την ίδια σειρά.

Οι τοκοφερόλες δρουν ως βιολογικά αντιοξειδωτικά, δηλαδή προστατεύουν βιολογικά συστήματα, όπως κύτταρα ή όργανα, από βλάβες οι οποίες προκαλούνται από την έκθεση τους σε συνθήκες αυξημένου οξειδωτικού στρες²⁹.

Όσον αφορά στα φαινολικά αντιοξειδωτικά, αυτά εμφανίζουν αυξημένη δράση όταν χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό. Το φαινόμενο αυτό λέγεται συνεργεία ή συνεργισμός²⁷.

Δευτεροταγή αντιοξειδωτικά

Σ' αυτή την κατηγορία εντάσσονται ενώσεις που χαρακτηρίζονται ως αντιοξειδωτικά με την ευρύτερη έννοια του όρου.

Τα δευτεροταγή αντιοξειδωτικά μπορεί να δρουν ως δεσμευτές οξυγόνου, δηλαδή αντιδρούν με το οξυγόνο και ελαττώνουν τη συγκέντρωση του σε ένα κλειστό σύστημα. Σ' αυτή την κατηγορία εντάσσονται το ασκορβικό οξύ και οι εστέρες του καθώς και το θειώδες οξύ και τα άλατα του αλλά και τα καροτενοειδή.

Το ασκορβικό οξύ, ως αναγωγικό μέσο, μεταφέρει άτομα υδρογόνου στις κινόνες που σχηματίζονται κατά την ενζυμική αμαύρωση φαινολικών ουσιών και αυτό παρέχει μια προστασία στις πρόσφατα κομμένες επιφάνειες των φρούτων και

λαχανικών. Επίσης, το ασκορβικό οξύ πιστεύεται ότι, με τη μορφή εστέρων με λιπαρά οξέα, αναγεννά τα φαινολικά αντιοξειδωτικά παρέχοντας υδρογόνο στις φαινοξυ ρίζες (A^*) κι έτσι έχει μια έμμεση αντιοξειδωτική δράση.

Το θειώδες οξύ και τα άλατα του αντιδρούν εύκολα με το οξυγόνο και παρέχουν μια σχετική προστασία στα αποξηραμένα φρούτα και λαχανικά.

Τα καροτενοειδή δρουν καταστέλλοντας το οξυγόνο απλής διεγερμένης κατάστασης (singlet oxygen), δηλαδή δρουν ως αποσβέστες διεγερμένου οξυγόνου.

Ένας άλλος μηχανισμός δράσης των δευτερογενών αντιοξειδωτικών είναι η δέσμευση μετάλλων, τα οποία με μεταφορά ηλεκτρονίου δημιουργούν ελεύθερες ρίζες. Σ' αυτή την κατηγορία εντάσσονται οξέα ή παράγωγα τους που σχηματίζουν χημικές ενώσεις όπως EDTA, κιτρικό οξύ, φυτικό οξύ, λεκιθίνη.

Το EDTA και το κιτρικό οξύ σχηματίζουν χημικές ενώσεις με τα μέταλλα, κυρίως το σίδηρο και το χαλκό, τα οποία προκαλούν τη δημιουργία ελευθέρων ριζών όπως έχει ήδη αναφερθεί²⁹.

Ενώσεις με ποικίλη αντιοξειδωτική δράση

Μια κατηγορία ενώσεων με ποικίλη αντιοξειδωτική δράση είναι τα φλαβονοειδή. Τα φλαβονοειδή αποτελούν φαινολικά συστατικά των φυτών. Έχει αναφερθεί ότι εμποδίζουν την υπεροξείδωση των λιπών, δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες και το ενεργό οξυγόνο, δεσμεύουν ιόντα σιδήρου και απενεργοποιούν την λιποξυγενάση.

Μια άλλη κατηγορία ενώσεων είναι οι ταννίνες οι οποίες περιλαμβάνουν τις κατεχίνες, τις λευκοανθοκυανίνες και ορισμένα υδροξυοξέα.

Άλλοι παρεμποδιστές οξειδωσης λιπιδίων

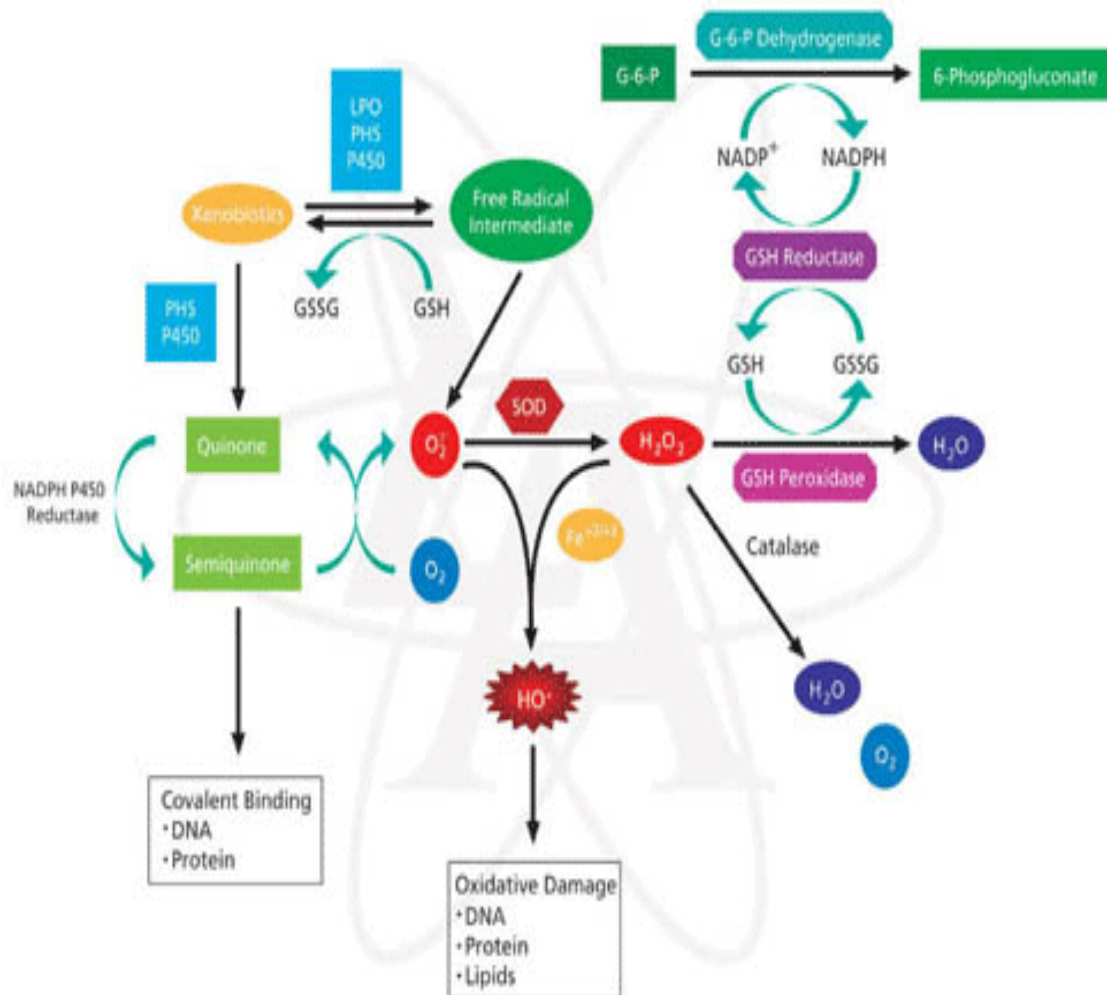
Υπάρχουν ορισμένα ένζυμα που απομακρύνουν τα ενεργά είδη οξυγόνου κι έτσι παρεμποδίζουν την οξειδωση των λιπιδίων. Εδώ ανήκουν η δισμουτάση σουπεροξειδίου, η υπεροξειδάση γλουταθειόνης, η οξειδάση γλυκόζης και η καταλάση.

Μια άλλη κατηγορία παρεμποδιστών είναι η μεθυλοσιλικόνη και οι στερόλες με αιθυλιδενική πλευρική αλυσίδα, οι οποίες εμποδίζουν τον οξειδωτικό πολυμερισμό σε θερμαινόμενα έλαια. Εδώ εντάσσονται τα πολυδιμεθυλοσιλοξάνιο και η Δ^5 -αβεναστερόλη -, κιπροσταδιενόλη.

Τέλος, υπάρχουν αντιοξειδωτικά με πολλαπλή ή μη πλήρως γνωστή δράση για την οξειδωση των λιπιδίων όπως είναι τα φωσφολιπίδια και τα προϊόντα των αντιδράσεων Maillard²⁹.

2.2 Οξειδωτικό stress

Το οξειδωτικό stress είναι αποτέλεσμα της διαταραχής της ισορροπίας ανάμεσα στις αντιοξειδωτικές δυνάμεις (αντιοξειδωτικά ένζυμα και αντιοξειδωτικά) και στα αντιδραστικά είδη οξυγόνου (ROS) και η διαταραχή αυτή μπορεί να επηρεάσει μη αναστρέψιμα τα κυτταρικά συστατικά. Η αιτία μπορεί να οφείλεται στην περιβαλλοντική έκθεση σε οξειδωτικά, στην ανεπαρκή εισαγωγή στο στομάχι αντιοξειδωτικών, ή σε ενζυματικές δυσλειτουργίες, έχοντας σαν αποτέλεσμα παθολογικά επίπεδα οξειδωτικής καταστροφής. Υπάρχει ισχυρή συσχέτιση ότι το οξειδωτικό stress παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση πολλών ανθρώπινων παθήσεων³⁰.



2.2.1 Οξειδωτικό Stress στα νεογνά

Μια νέα ανάπτυξη στην ανθρώπινη παθολογία είναι και ο τομέας που ασχολείται με την εμφάνιση διαφόρων βλαβών που προκαλούνται από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και παίζει σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση διαφόρων ασθενειών κατά τη διάρκεια της νεογνικής ηλικίας.

Όσον αφορά την εγκυμοσύνη και τον τοκετό, οι ελεύθερες ρίζες έχει βρεθεί να είναι ενεργές σε διάφορες παθολογίες που περιλαμβάνουν τον πρόωρο τοκετό προκαλούμενο από προεκλαμψία, την εκλαμψία και/ή τις μητρικές μολύνσεις³¹.

Μια ανισορροπία στους ρυθμιστικούς παράγοντες της αγγειακής κατάστασης στις έγκυες γυναίκες είναι κατά ένα ποσοστό υπεύθυνη για την προεκλαμψία: υπάρχει μια ενδοθηλιακή δυσλειτουργία με την προκύπτουσα αιμοδυναμική για τις γυναίκες με υποογκαιμία, συνδυασμένη με υψηλή αγγειακή αντίσταση, το αντίθετο δηλαδή από ότι συμβαίνει κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής κυοφορίας. Αυτή η κατάσταση οδηγεί σε σοβαρές συνέπειες για το έμβρυο, όπως χαμηλό βάρος γέννησης, και πρόωρη γέννηση. Κάτω από αυτές τις συνθήκες μια αύξηση στον παράγοντα ενεργοποίησης αιμοπεταλίων έχει περιγραφεί. Αυτό οδηγεί σε αυξημένο αγγειακό τόνο και σε συσσώρευση και απώλεια αιμοπεταλίων. Παρόμοιες διαταραχές έχουν βρεθεί και σε περιπτώσεις αργοπορημένης ενδομητριάκης ανάπτυξης^{15,31}.

Όταν ο τοκετός είναι πρόωρος, συχνά οφείλεται σε κάποια μόλυνση. Η παρουσία κάποιας ενδομητριάκης μόλυνσης, είτε κλινικής, είτε υποκλινικής διεγείρει το αραχιδονικό οξύ και άλλους φλεγμονώδεις μεσολαβητές, ειδικά τον παράγοντα νέκρωσης όγκων που παράγεται από τα μακροφάγα. Όλα τα παραπάνω σχετίζονται με υψηλά επίπεδα ελευθέρων ριζών³².

Η διαδικασία του τοκετού συνοδεύεται από μια αύξηση της οξειδωτικής "επίθεσης". Το έμβρυο ενώ βρίσκεται σε ένα υποξικό περιβάλλον στη μήτρα $PO_2 = 20-25 \text{ mmHg}$ και με χαμηλή παρουσία ελευθέρων ριζών, μετά βρίσκεται σε ένα περιβάλλον με μεγαλύτερο περιεχόμενο σε οξυγόνο $PO_2 = 100 \text{ mmHg}$ και πραγματοποιείται έκθεση των αναπνευστικών επιθηλιακών κυττάρων σε πιέσεις

της τάξης των 140 mmHg στον εισπνεόμενο αέρα. Αυτή η αλλαγή οδηγεί σε μεγαλύτερο οξειδωτικό στρες απλά εξαιτίας της παρουσίας αυξημένων επιπέδων στο νέο περιβάλλον εκτός μήτρας³¹.

Ως αντίπραξη στην οξειδωτική επίθεση στην οποία υποβάλλεται το νεογνό, συμβαίνει η ωρίμανση αποτελεσματικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών όπως π.χ. τα ενζυμικά συστήματα. Σε μια πρόσφατη πειραματική μελέτη των Frank et al.³² προσδιορίστηκε η αύξηση στους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς στο αναπνευστικό σύστημα που παράγονται στο τέλος της κυοφορίας, μια διαδικασία που είναι σε συμφωνία με την αύξηση των υποστρωμάτων που παράγονται από την αύξηση των ελευθέρων ριζών.

Πολλές ουσίες και ειδικότερα αυτές που εξάγονται από τα θρεπτικά συστατικά είναι γνωστό ότι έχουν αντιοξειδωτική δράση. Η μεταφορά μέσω του πλακούντα των αντιοξειδωτικών ουσιών όπως του ασκορβικού οξέος, της τοκοφερόλης, των βήτα καροτενίων και της ουβικινόνης είναι θεμελιώδης για τη βελτίωση της άμυνας κατά της οξειδωτικής δράσης.

Στην περίπτωση των πρόωρων νεογνών τόσο το φυσιολογικό οξειδωτικό στρες όσο και οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί που παράγονται ως απάντηση, είναι αρκετά μειωμένοι. Η μητρική-εμβρυϊκή μεταφορά των θρεπτικών συστατικών με αντιοξειδωτική δράση, η οποία συμβαίνει κατά το τελευταίο στάδιο της κύησης δεν ολοκληρώνεται στα πρόωρα νεογνά, ενώ κάποια από τα ενζυμικά συστήματα δεν είχαν αρκετό χρόνο για να ωριμάσουν επαρκώς³³.

Αυτή η ανεπάρκεια, του ανώριμου αμυντικού μηχανισμού των νεογνών, κατά της οξείδωσης από τις ελεύθερες ρίζες επιβαρύνεται από τον αυξημένο κίνδυνο που παρουσιάζεται λόγω της θεραπείας των πρόωρων νεογνών που βασίζεται στο οξυγόνο. Αυτή η θεραπεία είναι συχνά απαραίτητη προκειμένου να διατηρηθούν τα επίπεδα του αρτηριακού ΡΟ μέσα στα φυσιολογικά όρια. Η απ' ευθείας έκθεση στο οξυγόνο είναι τοξική για τους ιστούς των πνευμόνων, όπως έχει αποδειχθεί σε πολλές έρευνες³¹.

Από κλινικής απόψεως οι παραπάνω θεωρίες σημαίνουν ότι τα πρόωρα νεογνά είναι πιο τρωτά στις δυσλειτουργίες των αντιοξειδωτικών μηχανισμών και είναι πιο πιθανό να προσβληθούν από τις λεγόμενες «νεογνικές ασθένειες από ελεύθερες ρίζες οξυγόνου». Αυτές περιλαμβάνουν την επίμονη πνευμονική υπέρταση, τη νεκρωτική εντεροκολίτιδα, τη νεογνική αμφιβληστροειδοπάθεια, τη βρογχοαναπνευστική δυσπλασία, την υποξική-ισχαιμική εγκεφαλοπάθεια και την ενδοαγγειακή αιμορραγία¹⁵.

Η κοινή αιτία αυτών των διαταραχών, καθεμία από τις οποίες έχει και διαφορετική κλινική όψη, φαίνεται να σχετίζεται με κάποια οργανική βλάβη των ενδοθηλιακών κυττάρων, η οποία προκαλεί ζημιά στα τριχοειδή με ισχαιμία, επακόλουθη αιμορραγία και νέκρωση. Μια υπόθεση που εξηγεί αυτή τη ζημιά υποστηρίζει ότι οι ελεύθερες ρίζες που παράγονται από το οξυγόνο και τους μεταβολίτες του, φτάνουν σε ένα εύρος που υπερκαλύπτει τους αντιοξειδωτικούς αμυντικούς μηχανισμούς μέσα στα ενδοθηλιακά κύτταρα³¹.

Υπάρχουν διάφορες κλινικές και θεραπευτικές πιθανότητες για τον περιορισμό της οξειδωτικής βλάβης, όπως η παροχή κορτικοειδών στη μητέρα προκειμένου να επισπευθεί η ωρίμανση του αντιοξειδωτικού αμυντικού συστήματος του εμβρύου, ο εφοδιασμός του νεογέννητου με αντιοξειδωτικά ένζυμα (έχει χρησιμοποιηθεί για την πρόληψη της βρογχοαναπνευστικής δυσπλασίας), καθώς και η διατροφική παρέμβαση. Η τελευταία μέθοδος, όπως και η επίτευξη επαρκούς θρέψης που καλύπτει τις ανάγκες της διαδικασίας της ανάπτυξης έχουν ως σκοπό να ενισχύσουν την αντιοξειδωτική άμυνα παρέχοντας τα θρεπτικά συστατικά που είναι απαραίτητα στις κυτταρικές μεμβράνες, ώστε να είναι λιγότερο ευάλωτες σε οξειδωτικές βλάβες³⁴.

Διάφορες έρευνες έχουν δείξει ότι οι ελεύθερες ρίζες επιφέρουν βλάβες σε ασθένειες που εμφανίζονται σε πρόωρα νεογνά. Τέτοιες είναι π.χ. η ενδοαγγειακή αιμορραγία, η αμφιβληστροειδοπάθεια, η βρογχοαναπνευστική δυσπλασία και η εγκεφαλική παράλυση³³. Τουλάχιστον δυο από αυτές τις επιπλοκές (η αμφιβληστροειδοπάθεια και η βρογχοαναπνευστική δυσπλασία) συνδέονται άμεσα

με το σχηματισμό ελευθέρων ριζών κατά τη διάρκεια περιόδων υπεροξυγόνωσης. Οι ελεύθερες ρίζες είναι κυρίως βλαβερές στα πρόωρα νεογνά που έχουν χαμηλά επίπεδα αντιοξειδωτικών.

Έχει υποστηριχθεί ότι οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου παίζουν κύριο ρόλο στη διαδικασία που προκαλεί πρόωρη γέννα και στην έκθεση των εμβρύων σε ασθένειες που προκαλούνται από υψηλό οξειδωτικό stress, όπως π.χ. ενδομήτρια φλεγμονή. Έχει αποδειχθεί σε πειραματόζωα ότι η πρόωρη γέννα που προκαλείται από μόλυνση σχετίζεται με το σχηματισμό ελευθέρων ριζών και το οξειδωτικό stress, τόσο στη μητέρα, όσο και στο έμβρυο. Επιπλέον βρέθηκε ότι τα επίπεδα της μητρικής γλουταθειόνης είναι ένας κρίσιμος καθοριστικός παράγοντας για την ενδομητριακή εμβρυϊκή φθορά ως απάντηση στη φλεγμονή^{32,33}.

Η οξειδωτική ομοιόσταση είναι απαραίτητη για την πρόληψη βλαβών στα κυτταρικά συστατικά. Για αυτό θεωρείται ότι η απότομη έκθεση του πρόωρου νεογνού στα ατμοσφαιρικά επίπεδα οξυγόνου το θέτει σε μια μαζική οξειδοαναγωγική πρόκληση, που θα μπορούσε να οδηγήσει σε απώλεια της αντιοξειδωτικής ισορροπίας. Έχει λοιπόν υποστηριχθεί ότι τα μητρικά αποθέματα σε αντιοξειδωτικά κατά τη διάρκεια του τοκετού, καθορίζουν ως ένα βαθμό τουλάχιστον την ικανότητα του νεογνού να προσαρμοστεί στο περιβάλλον εκτός μήτρας ή να υποστεί επιπλοκές από τη δράση των ελευθέρων ριζών¹⁵.

Τα πρόωρα νεογνά βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο για «οξείδωση από ελεύθερες ρίζες». Αυτό πιθανόν οφείλεται στην έκθεσή τους σε συμπληρωματικό οξυγόνο και/ή σε μια μείωση του αντιοξειδωτικού αμυντικού μηχανισμού τους. Η επιφερόμενη οξειδωτική βλάβη στους ιστούς είναι ένας σύνηθες υποκείμενος παράγοντας που μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση διαφόρων ασθενειών στα νεογνά. Μερικές από αυτές είναι: αμφιβληστροειδοπάθεια, ενδοκοιλιακή αιμορραγία, νεκρωτική εντεροκολίτιδα και χρόνια νόσος των πνευμόνων. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου φαίνεται να έχουν ρόλο κλειδί στην οξειδωτική βλάβη που σχετίζεται με την υποξία και τη φλεγμονή. Αν και το οξυγόνο είναι βασικό για ένα μεγάλο εύρος ζωτικών, συμβατών με τη ζωή, βιολογικών λειτουργιών, οι

ελεύθερες ρίζες οξυγόνου αντιθέτως μπορούν να διαρρηγνύουν τις κυτταρικές μεμβράνες, να καταστρέφουν την ενζυμική λειτουργία των κυττάρων, να μεταβάλλουν το DNA και να προκαλούν κυτταρικό θάνατο. Η καταστροφή των ιστών όπως εξακριβώνεται με το malondialdehyde (MDA) στο πλάσμα και στα ούρα αυξάνει στα πρόωρα νεογνά που εκτίθενται σε συμπληρωματικό οξυγόνο. Έρευνες έδειξαν ότι τα επίπεδα των F_2 ισοπροστανών στο πλάσμα, τελικά προϊόντα υπεροξειδωμένων λιπιδίων, ήταν κατά 3-fold υψηλότερα στο αίμα των νεογνών από ότι στους ενήλικες³⁴.

2.3 Αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού

Η περίσσεια των ελευθέρων ριζών γενικά απενεργοποιείται από ενδογενή ή εξωγενή αντιοξειδωτικά μόρια, τα οποία έχουν την ικανότητα ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις να καθυστερούν ή να σταματούν την οξείδωση κάποιου υποστρώματος. Αυτό το επιτυγχάνουν απομακρύνοντας ή ελαττώνοντας τη συγκέντρωση ενός ή περισσοτέρων συστατικών της αντίδρασης, όπως π.χ. το οξυγόνο, οι ελεύθερες ρίζες ή τα μεταλλικά ιόντα που καταλύουν οξείδωση (Fe, Cu, etc.), ή παρεμβαίνοντας στις αλυσιδωτές αντιδράσεις που προκαλούν την οξείδωση στα γειτονικά μόρια. Μπορούν επίσης να δράσουν ενισχύοντας την ενδογενή αντιοξειδωτική δύναμη των κυττάρων. Κατά συνέπεια τα αντιοξειδωτικά μπορούν να μεσολαβήσουν σε οποιοδήποτε από τα τρία στάδια: έναρξη, εξάπλωση ή τερματισμό της οξειδωτικής διαδικασίας. Τα αντιοξειδωτικά μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με τη χημική τους φύση και τον τρόπο δράσης τους³⁵:

(Α) αντιοξειδωτικά ένζυμα, τα οποία δρουν σε συγκεκριμένες ρίζες αφού έχουν σχηματιστεί και τις αλλοιώνουν σε λιγότερο βλαβερά προϊόντα. Παραδείγματα τέτοιων ενζύμων είναι η υπεροξειδισμούτάση (SODs), η καταλάση και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx). Αυτά αποτελούν τα κυριότερα ενδοκυτταρικά ενζυμικά αντιοξειδωτικά, ενώ τα εξωκυτταρικά αντιοξειδωτικά είναι κυρίως τα προληπτικά ή αυτά που προκαλούν εξουδετέρωση.

(Β) τα προληπτικά αντιοξειδωτικά, τα οποία δρουν δεσμεύοντας και αποχωρίζοντας τους οξειδωτικούς παράγοντες και τα μεταλλικά ιόντα, όπως ο σίδηρος και ο χαλκός, τα οποία περιέχουν ασύζευκτα ηλεκτρόνια. Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν η τρανσφερίνη και η λακτοφερίνη που δεσμεύουν ιόντα σιδήρου, η σερουλοπλασμίνη που δεσμεύει χαλκό, καταλύει την οξείδωση των ιόντων σιδήρου και αυξάνει τη δέσμευση του σιδήρου στην τρανσφερίνη, η αιμοπηξίνη που δεσμεύει την αίμη και η αλβουμίνη που δεσμεύει χαλκό και αίμη.

(Γ) τα αντιοξειδωτικά που εξουδετερώνουν ή διασπούν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών. Αυτά δρουν παρεμβαίνοντας στα πρώτα στάδια των αλυσιδωτών αντιδράσεων των ελευθέρων ριζών και αυξάνουν τη συγκέντρωση των χαμηλά-ενεργειακών προϊόντων, τα οποία δε μπορούν να συνεχίσουν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις. Αυτά τα αντιοξειδωτικά λιποδιαλυτά και υδατοδιαλυτά, δρουν σε κυτταρικά περιβάλλοντα που είναι υδρόφοβα ή υδρόφιλα αντίστοιχα. Τα κυριότερα λιποδιαλυτά αντιοξειδωτικά είναι η βιταμίνη Ε (α-τοκοφερόλη), το β-καροτένιο και το συνένζυμο Q, ενώ το ασκορβικό οξύ, διάφορες θειόλες και το ουρικό οξύ δρουν σε υδάτινο περιβάλλον. Η μελατονίνη είναι επίσης ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό, που πιστεύεται ότι έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον στο νευρικό σύστημα. Είναι διαλυτό τόσο σε υδάτινα όσο και σε μη υδάτινα μέσα και διαπερνά εύκολα τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Είναι ουσιώδες αντιοξειδωτικό για τις υδροξυλικές ρίζες και τα υπεροξειδία και προστατεύει το DNA, τις πρωτεΐνες και τα λιπίδια των μεμβρανών από τις ελεύθερες ρίζες. Η μελατονίνη προλαμβάνει την υπεροξειδωση των λιπιδίων παρεμβαίνοντας είτε στην έναρξη, είτε στη διάδοση των αλυσιδωτών αντιδράσεων. Αυτή η διπλή δράση δε φαίνεται να υπάρχει σε κανένα άλλο γνωστό αντιοξειδωτικό. Επιπλέον η μελατονίνη διεγείρει την ενεργοποίηση του αντιοξειδωτικού ενζύμου GPx. Η συγκέντρωση της μελατονίνης στον εγκέφαλο μειώνεται σημαντικά με την πάροδο της ηλικίας και για αυτό έχει θεωρηθεί ότι πιθανόν αυτή η μείωση παίζει σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση νευρολογικών δυσλειτουργιών που σχετίζονται με τη γήρανση.

Τα συνθετικά αντιοξειδωτικά που έχουν χρησιμοποιηθεί για θεραπευτική χρήση περιλαμβάνουν τα γενετικά ανασυνδυασμένα SOD και καταλάση, πιο σταθερές συζευγμένες μορφές αυτών των ενζύμων και συμπληρώματα σεληνίου²⁹.

Παρά τις γενικές αυτές θεωρήσεις σχετικά με τις χημικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ελευθέρων ριζών και των αντιοξειδωτικών, ο μηχανισμός με τον οποίο τα αντιοξειδωτικά καθυστερούν ή παρεμποδίζουν τις βλάβες in vivo, δεν είναι ακόμα ξεκάθαρος. Τα αντιοξειδωτικά μπορούν να τροποποιήσουν τη γενετική έκφραση με διάφορους τρόπους. Ένας πιθανός μηχανισμός για αυτές τις παρατηρήσεις είναι ότι τα αντιοξειδωτικά ρυθμίζουν απευθείας τη δέσμευση συγκεκριμένων μεταγραφικών παραγόντων σε συγγενείς θέσεις του γονιδιώματος. Τα αντιοξειδωτικά έχουν πιθανές επιδράσεις στην ικανότητα διαφόρων μεταγραφικών παραγόντων να δεσμεύουν το DNA^{29,30}.

Υπάρχουν σύνθετα αμυντικά αντιοξειδωτικά συστήματα, που περιλαμβάνουν τόσο ενζυμικά όσο και μη ενζυμικά συνθετικά. Αυτά έχουν δράση ενάντια στις επιδράσεις των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στα βιολογικά μακρομόρια όπως οι πρωτεΐνες, τα νουκλεϊκά οξέα, οι υδατάνθρακες και τα λιπίδια. Βιταμίνες όπως οι E, η A και η C βρίσκονται στα μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά. Επειδή η βιταμίνη E είναι το ισχυρότερο λιποδιαλυτό αντιοξειδωτικό στα βιολογικά συστήματα και η διαλυτότητά της στα λιπίδια επιτρέπει την ευρεία διάχυσή της σε διάφορους ιστούς και κύτταρα στα οποία απορροφάται, η διαιτητική έλλειψή της μπορεί κατά συνέπεια να επηρεάσει πολλά όργανα. Η βιταμίνη E (α-τοκοφερόλη) φαίνεται να είναι το πιο σημαντικό μικροθρεπτικό που παίρνει μέρος στην προστασία από την οξείδωση της LDL: αυξάνει κατά μέσο όρο τα επίπεδα της HDL ενώ ταυτόχρονα μειώνει τα επίπεδα της LDL. Έχει αποδειχθεί τεκμηριωμένα ότι η μεταφορά της βιταμίνης E μέσω του πλακούντα είναι πολύ περιορισμένη³⁶. Σε συμφωνία με αυτό έχει βρεθεί ότι τα νεογέννητα έμβρυα έχουν χαμηλά επίπεδα βιταμίνης E στην κυκλοφορία.

Η βιταμίνη Ε αλλά και η Α είναι ουσιώδη μικροθρεπτικά συστατικά καθώς μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και κατ' αυτόν τον τρόπο ασκούν αντιοξειδωτική προστασία. Επίσης το ασκορβικό οξύ έχει αντιοξειδωτική δράση και σχετίζεται με την έκκριση της χοληστερόλης. Επιπλέον είναι γνωστό ότι συμμετέχει σημαντικά μαζί με τη γλουταθειόνη και το λιποϊκό οξύ στην ανακύκλωση της οξειδωμένης βιταμίνης Ε^{11,29}.

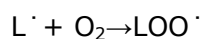
2.3.1 Αντιοξειδωτικός ρόλος της βιταμίνης Ε.

Μέσα στον οργανισμό δημιουργούνται συχνά, από διάφορες αιτίες, ελεύθερες ρίζες. Μια πολύ δραστική ελεύθερη ρίζα είναι η ρίζα υδροξυλίου (OH[·]), η οποία όντας δραστικότερη, λαμβάνει γρήγορα ηλεκτρόνια από το «περιβάλλον» της, από τα γειτονικά οργανικά μόρια, υπό το σχηματισμό μιας νέας ελεύθερης ρίζας. Εάν το οργανικό μόριο είναι ένα πολυακόρεστο λιπαρό οξύ (τμήμα των φωσφολιπιδίων της μεμβράνης) προκαλείται βλάβη στη μεμβράνη. Η πορεία των αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα φαίνεται παρακάτω³:

Α. αντίδραση του λιπιδικού μορίου (LH) με OH[·] ή με O₂ υπό το σχηματισμό ελεύθερης ρίζας (στη δεύτερη περίπτωση σχηματίζεται και υπεροξειδική ρίζα HO₂[·]).



Β. αντίδραση με O₂ υπό το σχηματισμό ελεύθερης ρίζας υπεροξειδίου.



Όταν σχηματιστούν οι υπεροξειδικές ρίζες μπορούν να αποσπάσουν ένα άτομο υδρογόνου (H[·]) από άλλα μόρια (των μεμβρανών ή των λιποπρωτεϊνών) προκαλώντας αλυσιδωτές αντιδράσεις μέσω της L[·]. $LOO^{\cdot} + LH \rightarrow L^{\cdot} + LOOH$

Προκειμένου να αποφευχθεί η καταστροφή του κυττάρου πρέπει να σταματήσουν οι αλυσιδωτές αντιδράσεις που περιλαμβάνουν την L[·]. Αυτό γίνεται με τη δράση ενός πολύπλοκου προστατευτικού συστήματος του οργανισμού, μέρος του οποίου είναι η βιταμίνη Ε. Ο ρόλος της βιταμίνης Ε είναι αφενός να

αντιδρά με μη-λιπιδικές ρίζες υπεροξειδίου ($\text{ROO}^\cdot$) πριν αυτές αλληλεπιδράσουν με τις κυτταρικές μεμβράνες και αφετέρου να διακόπτει τις αλυσιδωτές αντιδράσεις που περιλαμβάνουν τις ρίζες $\text{LOO}^\cdot$. Η δράση της οφείλεται στην παρουσία του φαινολικού OH στη θέση 6 του χρωμανικού δακτυλίου και στην ικανότητα του χρωμανικού δακτυλίου να σταθεροποιεί το μονήρες ηλεκτρόνιο (λειτουργεί δηλαδή ως scavenger ελευθέρων ριζών).

Δηλαδή λαμβάνει χώρα η : $\text{E-H} + \text{LOO}^\cdot \rightarrow \text{E} + \text{LOOH}$. Η αναγέννηση της δραστικής μορφής της βιταμίνης E γίνεται με τη δράση της βιταμίνης C, ανηγμένης γλουταθειόνης και NADPH.

Πρέπει να σημειωθεί ότι η βιταμίνη E είναι μόνο ένα κομμάτι του μηχανισμού άμυνας ενάντια στην οξειδωση. Ο προστατευτικός αυτός μηχανισμός περιλαμβάνει επίσης τη βιταμίνη C, τα καροτενοειδή και ένζυμα που απαιτούν διάφορα ιχνοστοιχεία για τη δράση τους.

Η βιταμίνη E δε δρα αντιοξειδωτικά μόνο ενάντια στις ελεύθερες ρίζες των λιπαρών οξέων, αλλά αποτρέπει την οξειδωση της βιταμίνης A, της βιταμίνης C, των ενζύμων που περιέχουν θείο και το ATP. Επίσης αποτρέπει την οξειδωση των λιποειδών της δίαιτας, συμβάλλοντας έτσι στη διαπερατότητα και σταθερότητα των μεμβρανών^{2,3}.

Η χρήση φαρμακευτικών δόσεων βιταμίνης E είχε και τοξικές επιδράσεις. Η ενδομυϊκή χορήγηση της βιταμίνης E προκάλεσε τοπική βλάβη και ασβεστοποίηση. Η χρήση υψηλότερων δόσεων βιταμίνης E προκαλούσε συστηματική τοξικότητα¹.

3. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ Ε ΣΤΑ ΝΕΟΓΝΑ

3.1 Επίπεδα βιταμίνης Ε στα νεογνά

Ο Mino³⁷ έχει μελετήσει τη βιταμίνη Ε στις έγκυες γυναίκες και στα νεογνά. Τα επίπεδα τοκοφερόλης στο πλάσμα αυξάνονται στις γυναίκες κατά τη διάρκεια της κύησης. Λαμβάνοντας υπόψη τη σχέση μεταξύ των λιπιδίων του πλάσματος και της τοκοφερόλης, προκύπτει το συμπέρασμα ότι, η αυξημένη τοκοφερόλη κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης πιθανόν οφείλεται στην αύξηση των βήτα-λιποπρωτεϊνών, καθώς ο λόγος τοκοφερόλης/ βήτα-λιποπρωτεϊνών παραμένει αναλλοίωτος κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης.

Τα επίπεδα τοκοφερόλης στα ερυθρά αιμοσφαίρια, που αποτελούν έναν ακόμα δείκτη για τη βιταμίνη Ε στον οργανισμό, επίσης φαίνεται να παραμένουν αναλλοίωτα κατά τη διάρκεια της κύησης, αν και είναι πιθανό να μειώνονται στο τρίτο τρίμηνο. Έχουν γίνει διάφορες μελέτες για τη σχέση μεταξύ των επιπέδων τοκοφερόλης στον ομφάλιο λώρο και στο μητρικό ορό, ώστε να εκτιμηθεί η κατάσταση του εμβρύου σε βιταμίνη Ε. Όλες οι έρευνες έδειξαν ότι τα επίπεδα τοκοφερόλης στο αίμα του λώρου είναι πολύ χαμηλότερα από αυτά της μητέρας, υποδεικνύοντας τη μειωμένη μεταφορά τοκοφερόλης κατά μήκος του πλακούντα. Βρέθηκε ωστόσο μια σταθερή αύξηση των επιπέδων τοκοφερόλης κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ζωής. Όσο μικρότερης εβδομάδας κύησης είναι το έμβρυο, τόσο χαμηλότερα είναι τα επίπεδα τοκοφερόλης στους ιστούς^{34,36}.

Οι Dju et. al.³⁸ βρήκαν ότι στα έμβρυα και στα νεογνά υπάρχει μια θετική γραμμική σχέση μεταξύ της ολικής τοκοφερόλης στο σώμα και του αποθέματος λιπιδίων. Τα επίπεδα της τοκοφερόλης αίματος στα πρόωρα νεογνά ήταν χαμηλότερα από αυτά των ενηλίκων που φτάνουν κατά μέσο όρο το 1,05 mg/dl. Συμπέραναν ότι τα αποθέματα τοκοφερόλης στα έμβρυα ήταν πολύ χαμηλά.

Μια άλλη έρευνα που πραγματοποιήθηκε με στόχο να καθορίσει τα όρια αναφοράς για τον ψευδάργυρο, το χαλκό, το σελήνιο, τη βιταμίνη Α, τη βιταμίνη

Ε, τη πρωτεΐνη δέσμευσης ρετινόλης, την αλβουμίνη, την τρανσφερίνη και τη σερουλοπλασμίνη στα νεογνά και να σχηματίσει ένα προφίλ ανάλογα με τη διάρκεια κύησης, είχε αντίθετα αποτελέσματα³⁹.

Το δείγμα που χρησιμοποιήθηκε σε αυτή την έρευνα³⁹ ήταν 510 νεογνά κατάλληλης ηλικίας κύησης. Η έρευνα έγινε χρησιμοποιώντας ορό από 262 τελειόμηνα με βάρος γέννησης 3234 ± 358 γρ και 248 πρόωρα νεογνά με βάρος γέννησης 1845 ± 489 γρ. τα 268 νεογνά ήταν αγόρια και τα 242 κορίτσια. Ανάλογα με τις εβδομάδες κύησης τα πρόωρα νεογνά χωρίστηκαν σε τέσσερις κατηγορίες: 26,0-<31,0 , 31,0-32,9 , 33,0-34,0 , >34,0-36,9. Η τελευταία κατηγορία 37,0-42,0 εβδομάδων ήταν τα τελειόμηνα.

Αυτό που μας ενδιαφέρει ήταν τα αποτελέσματα που βρέθηκαν σχετικά με τη βιταμίνη Ε. Η α-τοκοφερόλη είναι το πιο ισχυρό λιποδιαλυτό, μη ενζυμικό συστατικό, το οποίο προστατεύει κρίσιμες κυτταρικές δομές από τις βλάβες που προκαλούνται από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και τα αντιδραστικά προϊόντα των οξειδωμένων λιπιδίων.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι συγκρίνοντας τα μικροθρεπτικά του ορού στα πρόωρα και τα τελειόμηνα νεογνά, προκύπτει ότι τα επίπεδα της βιταμίνης Ε είναι σημαντικά υψηλότερα στα πρόωρα. Όσον αφορά το φύλο, αυτό δε βρέθηκε να επηρεάζει τα επίπεδα της βιταμίνης Ε στα νεογνά. Επίσης παρατηρήθηκε ότι η βιταμίνη Ε μειώθηκε κατά τη διάρκεια της έρευνας

Στη συγκεκριμένη έρευνα βρέθηκε να υπάρχει αρνητική συσχέτιση μεταξύ της βιταμίνης Ε του λώρου και της διάρκειας κυήσεως κάτι που είχαν βρει και οι Dison et al.⁴⁰. Τα αποτελέσματα έδειχναν ξεκάθαρα ότι τα επίπεδα βιταμίνης Ε στον ορό των πρόωρων νεογνών είναι υψηλότερα από ότι στα τελειόμηνα με μια σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων των 32-35 εβδομάδων. Το εύρημα αυτό δεν είναι σε συμφωνία με κάποιες άλλες αναφορές, όπως π.χ. των Baydas et al.³⁶ που δείχνουν αντίθετα αποτελέσματα και άλλες έρευνες επίσης αναφέρουν ότι δεν υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των πρόωρων και των τελειόμηνων νεογνών στα επίπεδα της βιταμίνης Ε. Ωστόσο οι τιμές που βρέθηκαν σε αυτή την έρευνα

ήταν μέσα στα όρια που ανέφεραν οι προαναφερθέντες συγγραφείς. Είναι γνωστό ότι τα επίπεδα της α-τοκοφερόλης στο πλάσμα σε τιμές χαμηλότερες από 11,61 μmol/L, είναι ενδεικτικές για έλλειψη της βιταμίνης E. Σε σύγκριση με τις εργαστηριακές τιμές για τους ενήλικες (27,86 μmol/L) επιβεβαιώθηκε στα νεογνά πρόωρα και τελειόμηνια ένα προφίλ ανεπαρκές σε βιταμίνη E. Η μεταφορά της βιταμίνης E μέσω του πλακούντα παραμένει αδιευκρίνιστη. Έχει αναφερθεί ότι οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις της α-τοκοφερόλης οφείλονται πιθανόν στη μειωμένη μεταφορική ικανότητα στα νεογέννητα, το οποίο αντανακλάται στα χαμηλότερα επίπεδα των λιποπρωτεϊνών και των λιπιδίων. Στη συγκεκριμένη έρευνα δεν καθορίστηκαν τα λιπίδια και κατά συνέπεια ο λόγος βιταμίνης E/ λιπίδια δεν υπολογίστηκε.

Τα αποτελέσματα των μελετών που έχουν γίνει και ερευνούν την επίδραση που έχει η μητρική συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης στις τιμές των νεογνών, δείχνουν ότι η μεταφορά της βιταμίνης E από τη μητέρα στο βρέφος είναι πιθανόν περιορισμένη.

3.2 Ανεπάρκεια και συμπληρώματα Βιταμίνης E στα νεογνά

Ο Gorodischer⁴¹ μελέτησε τις επιδράσεις της βιταμίνης E στα έμβρυα και στα νεογνά. Η α-τοκοφερόλη απορροφάται στο γαστρεντερικό σωλήνα και περνάει στη λέμφο με τα χυλομικρά. Στη συνέχεια με τη βοήθεια των βήτα-λιποπρωτεϊνών στο πλάσμα, μεταφέρεται και διανέμεται σε όλους τους ιστούς. Το πρωτόγαλα έχει υψηλή συγκέντρωση βιταμίνης E. Έτσι τα νεογνά που θηλάζουν και αυτά που τρέφονται με γάλα, το οποίο έχει βελτιωμένο το λόγο τοκοφερόλης/λινολεϊκό οξύ, έχουν ραγδαία αύξηση της συγκέντρωσης τοκοφερόλης στο πλάσμα, λίγες μόνο μέρες μετά τη γέννησή τους.

Έχουν πραγματοποιηθεί διάφορες έρευνες για τη φαρμακευτική θεραπεία με βιταμίνη E των πρόωρων νεογνών. Στις έρευνες αυτές χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικές δόσεις, σχήματα χορήγησης των δόσεων, οδοί χορήγησης και

διάρκειες της αγωγής. Από αυτές προέκυψε το συμπέρασμα ότι οι φαρμακευτικές δόσεις της βιταμίνης Ε είναι ασφαλείς^{1,41}. Ωστόσο, έχουν δημοσιευτεί και διάφορες έρευνες που αμφισβητούν τα παραπάνω αποτελέσματα και εξετάζουν την επίδραση των φαρμακευτικών δόσεων της βιταμίνης Ε στην εμφάνιση και στη σοβαρότητα της αμφιβληστροειδοπάθειας των πρόωρων νεογνών. Ο Muller¹⁵ αναφέρει τη χρήση της βιταμίνης Ε για τη θεραπεία της αμφιβληστροειδοπάθειας στα πρόωρα νεογνά. Τα πρόωρα νεογνά και ο αμφιβληστροειδής του ματιού είναι ιδιαίτερα ευάλωτα στις βλαβερές επιδράσεις των ελευθέρων ριζών και κατά συνέπεια η βιταμίνη Ε έχει προταθεί για την αντιμετώπιση της αμφιβληστροειδοπάθειας στα νεογνά.

Μια ήδη εδραιωμένη χρήση της βιταμίνης Ε είναι για την αντιμετώπιση της αιμολυτικής αναιμίας που εμφανίζεται στα πρόωρα νεογνά, εξαιτίας της μικρής μεταφοράς της βιταμίνης δια μέσω του πλακούντα, τόσο στα πρόωρα όσο και στα τελειόμηνα νεογνά¹. Τα επίπεδα της βιταμίνης Ε στους ιστούς και στο αίμα κυμαίνονται μεταξύ του εύρους 0,2 - 0,4 mg/ 100 ml ορού. Το μητρικό γάλα είναι πλούσιο σε βιταμίνη Ε και καλύπτει τις ανάγκες των νεογνών, ωστόσο το αγελαδινό γάλα έχει χαμηλότερη περιεκτικότητα σε βιταμίνη Ε και για αυτό στην παρασκευή γάλακτος για τα βρέφη, χρησιμοποιούνται συμπληρώματα βιταμίνης Ε. Τα θρεπτικά συστατικά που είναι σημαντικά για την πρόληψη της αναιμίας στα νεογνά είναι η βιταμίνη Ε και ο σίδηρος και για αυτό στα γάλατα που παρασκευάζονται για βρέφη χρησιμοποιούνται συμπληρώματα του ενός ή και των δυο αυτών θρεπτικών συστατικών.

Ο Gorodischer⁴¹ έχει αναφέρει τη χρήση της βιταμίνης Ε στα νεογνά με χαμηλό βάρος γέννησης. Η χρήση υψηλών συγκεντρώσεων βιταμίνης Ε μπορεί να σχετίζεται με τοξικότητα στα έμβρυα και στα νεογνένητα.

Οι Karp και Robertson⁴² έχουν ερευνήσει τη χρήση της βιταμίνης Ε στη νεογνολογία και υποστήριξαν ότι δε θα πρέπει να δίνονται στα πρόωρα νεογνά υπερβολικές δόσεις βιταμίνης Ε. Για το λόγο αυτό σύστησαν την άμεση αναθεώρηση της τακτικής των βρεφοκομείων. Οι Johnson et. al.⁴³ ανέφεραν ότι

τα νεογνά, με χαμηλό βάρος γέννησης, που λάμβαναν τοκοφερόλη, παρεντερικά ή από του στόματος, από τη στιγμή της γέννησης τους, προκειμένου να διατηρήσουν διπλάσια συγκέντρωση τοκοφερόλης στον ορό, είχαν 2,7 φορές αύξηση των περιστατικών σήψης και νεκρωτικής εντεροκολίτιδας.

Η χρήση υψηλών συγκεντρώσεων βιταμίνης Ε μπορεί να λειτουργήσει ως προ-οξειδωτικό, παρά ως αντιοξειδωτικό. Συνεπώς, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται χαμηλότερες δόσεις βιταμίνης Ε στα νεογνά με χαμηλό βάρος γέννησης για τη διατήρηση της καλής υγείας.

Ενώ άλλοι έχουν εξετάσει την αντιοξειδωτική άμυνα των πρόωρων νεογνών, λίγοι έχουν εξετάσει τη σχέση ανάμεσα στη βλάβη των ιστών, στο αντιοξειδωτικό status και την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών σε αυτά τα νεογνά κατά τη διάρκεια των αυξημένων αναγκών τους σε οξυγόνο. Σε μια τέτοια έρευνα έγινε προσπάθεια να βρεθεί συσχέτιση μεταξύ των κατεστραμμένων από ελεύθερες ρίζες ιστών, των αντιοξειδωτικών του αίματος και των θρεπτικών συστατικών που περιέχουν αντιοξειδωτικές ουσίες, κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα ζωής των νεογνών³⁴.

Το δείγμα που χρησιμοποιήθηκε αποτελούνταν από 43 βρέφη πολύ χαμηλού βάρους γέννησης (<1500 gr βάρος γέννησης), τα οποία λάμβαναν ιατρική θεραπεία στο University of Iowa Hospitals, Iowa City, Iowa. Η μελέτη διήρκησε από τον Ιανουάριο του 1997 έως τον Ιούνιο του 1998 και τα βρέφη εξετάστηκαν τρεις φορές κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα ζωής τους. Κατά τη διάρκεια της έρευνας δυο βρέφη πέθαναν και ένα άλλο μεταφέρθηκε σε άλλη μονάδα.

Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι το MDA πλάσματος συσχετιζόταν θετικά με τη μέση ημερήσια «έκθεση» στο οξυγόνο και ήταν αντιστρόφως συσχετιζόμενη με τη συγκέντρωση της βιταμίνης Ε στο πλάσμα. Επίσης βρέθηκε θετική συσχέτιση ανάμεσα στα επίπεδα της βιταμίνης Ε στο πλάσμα και στη διαιτητικά προσλαμβανόμενη βιταμίνη Ε. Εκτός από το διαιτητικά προσλαμβανόμενο σίδηρο την 28^η μέρα και τη διαιτητικά προσλαμβανόμενη βιταμίνη Ε την 4^η μέρα, κανένα

άλλο θρεπτικό συστατικό δε βρέθηκε να συσχετίζεται με τη βλάβη των ιστών κατά τη διάρκεια του μήνα όπως φάνηκε με το MDA πλάσματος.

Η υπεροξειδωση των λιπιδίων δεν αυξήθηκε από εβδομάδα σε εβδομάδα στην έρευνα. Η ισχυρότερη συσχέτιση μεταξύ των οξειδωμένων λιπιδίων, του προσλαμβανόμενου οξυγόνου και του αντιοξειδωτικού status παρατηρήθηκε την πρώτη εβδομάδα ζωής. Η αυξημένη υπεροξειδωση εκτός από την αυξημένη «έκθεση» στο οξυγόνο, μπορεί δευτερευόντως να οφείλεται σε μειωμένα κυτταρικά αντιοξειδωτικά ένζυμα, σε μειωμένα ανιοξειδωτικά όπως σερουλοπλασμίνη και βιταμίνη Ε.

Άλλες έρευνες έχουν επίσης δείξει τη συσχέτιση αυτή μεταξύ της βλάβης των ιστών, του προσλαμβανόμενου οξυγόνου και των αντιοξειδωτικών κατά τη διάρκεια του πρώτου μήνα ζωής των πρόωρων νεογνών.

Η βιταμίνη Ε καταστρέφει τις ελεύθερες ρίζες και είναι το αντιοξειδωτικό με τη μεγαλύτερη δράση στο «σπάσιμο» των αλυσίδων λιπιδίων. Στην παραπάνω έρευνα³⁴ παρατηρήθηκε ότι η καταστροφή των ιστών κατά τη διάρκεια της πρώτης εβδομάδας ζωής μειωνόταν, καθώς αυξανόταν η συγκέντρωση της βιταμίνης Ε στο πλάσμα. Γι' αυτό θεωρήθηκε ότι αυτή η περίοδος ίσως είναι ένα «θεραπευτικό παράθυρο» όπου οι βλάβες από τις ελεύθερες ρίζες θα μπορούσαν να περιοριστούν με την αύξηση των επιπέδων της βιταμίνης Ε στο πλάσμα.

Τα νεογνά δεν παρουσίαζαν έλλειψη βιταμίνης Ε καθώς προσλάμβαναν επαρκή ποσοστά συγκριτικά με τις συστάσεις για τη βιταμίνη. Προέκυψε, λοιπόν, το συμπέρασμα ότι η διατροφική παρέμβαση με βιταμίνη Ε ή άλλα αντιοξειδωτικά μπορεί να βελτιώσει την αντιοξειδωτική άμυνα των πρόωρων νεογνών. Έχει δειχθεί ότι μπορεί να καθυστερήσει ή να εμποδίσει τις εκφυλιστικές αλλαγές των ιστών εξαιτίας της παραγωγής ROS.

Πρέπει να αναφερθεί ότι νεογνά που λάμβαναν την ίδια ποσότητα βιταμίνης Ε, παρουσίαζαν διαφορετικά επίπεδα στο πλάσμα, υποδηλώνοντας ότι η επίδραση της βιταμίνης σε κάθε νεογνό γίνεται με διαφορετικό τρόπο. Αυτό πιθανόν αποτελεί και την εξήγηση για τα «ανάμεικτα» αποτελέσματα που είχαν βρεθεί σε

προηγούμενες έρευνες σχετικά με τη συμπληρωματική λήψη βιταμίνης Ε. Είναι πάντως αξιοσημείωτο ότι η πρόσληψη βιταμίνης Ε σε ποσότητα 20 mg/dl, σχετιζόταν με τα χαμηλότερα επίπεδα MDA.

Σε μια άλλη έρευνα³¹ που πραγματοποιήθηκε στο University Hospital "Virgen de las Nieves" of Granada, μελετήθηκε η οξειδωτική κατάσταση των τελειόμηνων και πρόωρων νεογνών τη στιγμή της γέννησης και κατά τη διάρκεια των πρώτων ημερών της ζωής τους, καθώς και η επίδραση της έκθεσης στο οξυγόνο των πρόωρων νεογνών.

Το δείγμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν 20 νεογνά, τα οποία χωρίστηκαν σε δυο ομάδες. Τα δέκα από αυτά γεννήθηκαν υγιή μετά από μια πλήρη, φυσιολογική κυοφορία ($38,48 \pm 0,42$ εβδομάδες), φυσιολογικού βάρους (3004 ± 180 γρ) και χωρίς παθολογικά αποτελέσματα στην κλινική εξέταση κατά τη γέννηση ή κατά τη διάρκεια της έρευνας. Τα άλλα 10 ήταν πρόωρα νεογνά με κύηση $31,35 \pm 0,75$ εβδομάδων και βάρος γέννησης 1687 ± 174 γρ, χωρίς άλλα παθολογικά ευρήματα και τα οποία χρειαζόνταν οξυγονοθεραπεία κατά τις πρώτες ημέρες της ζωής τους προκειμένου να διατηρήσουν φυσιολογικά επίπεδα αρτηριακού PO_2 .

Από την έρευνα βρέθηκε ότι τα επίπεδα της α-τοκοφερόλης, του πιο αποτελεσματικού γνωστού αντιοξειδωτικού λιπιδίου, ακολουθούν μια αυξανόμενη καμπύλη στα τελειόμηνα νεογνά. Οι τιμές αυξήθηκαν σημαντικά από $17,09 \pm 4,9$ nmol/mg κατά τη γέννηση σε $25,83 \pm 3,59$ nmol/mg στις 72 ώρες ζωής. Τα χαμηλότερα επίπεδα κατά τη στιγμή της γέννησης πιθανόν οφείλονται στη χρήση τους κατά τη διάρκεια αυτών των στιγμών αυξημένου stress ή στα χαμηλά επίπεδα παραγωγής τους από τις μεμβράνες. Η επακόλουθη αύξηση είναι πιθανόν μια αντανάκλαση τόσο του μειωμένου οξειδωτικού stress όσο και της ενδογενούς θρεπτικής προμήθειας.

Τα επίπεδα της α-τοκοφερόλης ήταν πολύ χαμηλότερα στα πρόωρα από ότι στα τελειόμηνα νεογνά. Κατά τη γέννηση τα επίπεδα ήταν δυο με τρεις φορές χαμηλότερα, αντανakλώντας έτσι τα ελάχιστα εφόδια των πρόωρων νεογνών σε αυτόν το μη ενζυμικό αντιοξειδωτικό μηχανισμό. Αυτή η κατάσταση επισημαίνει

τον κίνδυνο να υπάρχει ανεπαρκής προμήθεια αντιοξειδωτικών, ώστε να καταπολεμήσουν το οξειδωτικό stress που επιδεινώνεται από την εφαρμογή της οξυγονοθεραπείας.

Β. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1 Συλλογή δειγμάτων

Συλλέχθηκαν 30 δείγματα αίματος πρόωρων νεογνών, που νοσηλεύτηκαν στην μονάδα εντατικής θεραπείας του μαιευτικού τμήματος του ΜΑΡΙΚΑ ΗΛΙΑΔΗ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ, κατά την περίοδο 1/12/2004 με 1/3/2005. Τα δείγματα συλλέχθηκαν τη δεύτερη ημέρα ζωής των νεογνών και από κάθε νεογνό παίρνουμε περίπου 3 ml αίματος.

Τα παραπάνω δείγματα φυγοκεντρούνται άμεσα για 15 λεπτά στις 3000 στροφές/λεπτό με σκοπό να συλλεχθεί ο ορός. Με πιπέτα PASTEUR συλλέγεται και μεταφέρεται ο ορός σε σωληνάκια, τα οποία φυλάσσονται στην κατάψυξη (-80°C). Αφού συγκεντρωθούν όλα τα δείγματα αίματος τοποθετούνται μέσα σε ένα κλειστό δοχείο από φελιζόλ, το οποίο περιέχει πάγο και μεταφέρονται από το νοσοκομείο στα εργαστήρια του ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ.

Με τη βοήθεια της υγρής χρωματογραφίας (HPLC) και αφού ακολουθηθεί μια συγκεκριμένη πορεία, η οποία περιγράφεται εκτενέστερα παρακάτω, επιχειρείται η ανίχνευση της λιποδιαλυτής βιταμίνης Ε στα συγκεκριμένα δείγματα αίματος.

4.2 Όργανα και Αντιδραστήρια

Τα όργανα που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα πτυχιακή μελέτη είναι:

- Υγρός Χρωματογράφος Υψηλής Απόδοσης (HPLC) της εταιρείας AGILENT, σειρά 1100 με αντλία σταθερής ροής. Η στήλη που χρησιμοποιήθηκε ήταν και ο ανιχνευτής που χρησιμοποιήθηκε ήταν υπεριώδους-ορατού (UV-VIS) μεταβαλλόμενου μήκους κύματος στα 295 και 325nm.
- Φυγόκεντρος 5417C της εταιρίας erpendorf .

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα πτυχιακή μελέτη είναι:

- Το kit αντιδραστηρίων (reagent kit) της CHROMSYSTEMS για τον HPLC προσδιορισμό των λιποδιαλυτών βιταμινών Α και Ε σε ορό/πλάσμα. Αυτό περιέχει μία φιάλη κινητής φάσης, αντιδραστήριο καταβύθισης I (precipitation reagent I), αντιδραστήριο καταβύθισης II (precipitation reagent II), πρότυπο διάλυμα (serum calibration standard) και εσωτερικό πρότυπο (internal standard).

4.3 Η μέθοδος HPLC

4.3.1 Γενικά

Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (*High Performance Liquid Chromatography*), ονομάζεται η μέθοδος χρωματογραφίας στήλης, η οποία εκτελείται με τη βοήθεια ενός συγκροτήματος οργάνων (συσκευή υγρού χρωματογράφου). Ως κινητή φάση χρησιμοποιούνται αδρανείς διαλύτες (οργανικοί, νερό, ρυθμιστικά διαλύματα και άλλα), υπό ελεγχόμενη πίεση, ενώ η στατική φάση αποτελείται από πυριτική πηκτή ή από πολυμερείς ενώσεις.

Ανάλογα με το είδος της στατικής φάσης, η μέθοδος HPLC αποδίδει χρωματογραφικούς διαχωρισμούς σύμφωνα με τις αρχές προσρόφησης ή της κατανομής ή συνδυασμού αυτών ή της ιοντο-ανταλλαγής ή τέλος της μοριακής διήθησης.

Η συσκευή HPLC αποτελείται από διάφορα όργανα και εξαρτήματα τα οποία συνδεδεμένα λειτουργούν ως ενιαίο συγκρότημα. Τα βασικότερα από αυτά είναι:

- Οι φιάλες (reservoirs) των υγρών διαλυτών της κινητής φάσης. Είναι κοινές γυάλινες φιάλες αντιδραστηρίων στις οποίες τοποθετούνται είτε καθαροί οργανικοί διαλύτες ή νερό υψηλής καθαρότητας ή ρυθμιστικά διαλύματα, ή μίγματα αυτών.

- Ο θάλαμος εισαγωγής του δείγματος (injector). Στο θάλαμο αυτό εισάγεται το δείγμα υπό μορφή διαλύματος με ειδική σύριγγα. Το δείγμα παραμένει εκεί μέχρι να το παραλάβουν οι διαλύτες της κινητής φάσης και να το οδηγήσουν προς τη στήλη.
- Η στήλη ανάλυσης (analytical column) του δείγματος. Είναι ένας ευθύγραμμος κυλινδρικός σωλήνας από ανοξείδωτο ατσάλι μικρού μήκους και διαμέτρου, που στο εσωτερικό του βρίσκεται ειδικά συσκευασμένο από πίεση το προσροφητικό υλικό επί του οποίου θα γίνει ο διαχωρισμός των συστατικών του δείγματος. Τα συστατικά αυτά, μεταφέρονται από τους διαλύτες της κινητής φάσης, με διαφορετική ταχύτητα έκλουσης το καθένα, από τη στήλη προς τον ανιχνευτή.
- Οι αντλίες πίεσης (pumps) για τη ροή των διαλυτών, με τη βαλβίδα ανάμιξης και προγραμματισμού ροής αυτών. Είναι παλινδρομικές αντλίες με τις οποίες παραλαμβάνονται οι διαλύτες από τις φιάλες με πίεση, διέρχονται από τον εγχυτή και οδεύουν προς τη στήλη. Ο αναμίκτης-προγραμματιστής ροής είναι ηλεκτρονικά ρυθμιζόμενος και ελέγχει την πίεση και τη ροή των διαλυτών καθώς και την αναλογία ανάμιξης και μεταβολής αυτής, κατά τη διαδικασία της ανάλυσης.
- Ο ανιχνευτής (detector) ή οι ανιχνευτές για την ανίχνευση των διαχωρισμένων συστατικών του δείγματος. Είναι ένα ανεξάρτητο όργανο υψηλής τεχνολογίας, το οποίο υποδέχεται το έκλουσμα των διαχωρισμένων συστατικών του δείγματος, ανιχνεύοντας τα ένα προς ένα, ποιοτικά αλλά και ποσοτικά. Το σήμα του ανιχνευτή μεταβιβάζεται στο σύστημα επεξεργασίας των δεδομένων.
- Το σύστημα επεξεργασίας των δεδομένων, αποτελούμενο από τον ολοκληρωτή (integrator) ή τον υπολογιστή (computer), για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων και από τον καταγραφέα (recorder), για την καταγραφή του χρωματογραφήματος.

4.3.2 Αρχή της μεθόδου

Τα συστατικά διαχωρίζονται καθώς διέρχονται από τη στατική φάση της στήλης, με τη βοήθεια της κινητής φάσης που αποτελείται από διαλύτες κατάλληλης πολικότητας για το διαχωρισμό. Από τη σύγκριση του χρόνου έκλουσης με αυτούς προτύπων ουσιών σε όμοιες χρωματογραφικές συνθήκες γίνεται προσδιορισμός του κάθε συστατικού.

4.4 Προετοιμασία δειγμάτων για μέτρηση στην HPLC

Τα δείγματα αποψύχονται και τοποθετούνται σε ένα «stand». Κάθε ένα υπόκειται στην ίδια ακριβώς διαδικασία, ώστε να πάρει την τελική του μορφή και να μπορέσει να αναλυθεί μέσω της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης. Τοποθετούμε μέσα σε ένα φωτοπροστατευόμενο πλαστικό erendorf με χρήση αυτόματης πιπέτας:

- 200 μl ορό από το αντίστοιχο δείγμα
- 20 μl internal standard
- 25 μl precipitation reagent I

Τα παραπάνω αναδεύονται για 30 δευτερόλεπτα σε vortex και κατόπιν προσθέτουμε με αυτόματη πιπέτα 400 μl. Φυγοκεντρούμε για 10 λεπτά στα 9000 g.

Μετά το τέλος της φυγοκέντρωσης με πιπέτα Pasteur μεταφέρουμε σε vial το υπερκείμενο. Αφού κλείσουμε το vial το δείγμα είναι έτοιμο για μέτρηση στην HPLC.

Τα δείγματα ύστερα από την επεξεργασία που υφίστανται μπορούν να διατηρηθούν στην ψύξη (+2 με +8 °C) μέχρι και για 12 ώρες.

4.5 Μέθοδος ανάλυσης HPLC

Η μέθοδος ανάλυσης που υπαγορεύεται από το συγκεκριμένο kit είναι μία μέθοδος ταυτόχρονου προσδιορισμού βιταμινών Α και Ε στον ορό. Την μέθοδο ανάλυσης την χαρακτηρίζουν οι εξής παράμετροι:

Πρόγραμμα ισοκρατικής έκλουσης.

Ροή διαλυτών: 1,5 ml/min

Θερμοκρασία στήλης: 25 °C

Όγκος ένεσης: 50 µl

UV-ανιχνευτής: 325, 295 nm.

Πρώτα εκλύεται η βιταμίνη Α και η ανίχνευσή της γίνεται με τον UV ανιχνευτή στα 325 nm. Ο χρόνος ανασχέσεως της ρετινόλης είναι περίπου τα 2,5 min. Συνεπώς στα 3,5 min μεταβάλλουμε το μήκος κύματος του ανιχνευτή στα 295 nm έτσι ώστε να είναι εφικτός ο προσδιορισμός της βιταμίνης Ε. Η βιταμίνη Ε εκλύεται στα 10 min περίπου. Ενώ το εσωτερικό πρότυπο έχει χρόνο κατάσχεσης περίπου τα 5 min. Η βιταμίνη Α μελετήθηκε στα πλαίσια άλλης πτυχιακής μελέτης.

Για να γίνει κάποια μέθοδος kit πρέπει να είναι πιστοποιημένη και διακριβωμένη. Το συγκεκριμένο kit της CHROMSYSTEMS χρησιμοποιείται σε νοσοκομεία και διαγνωστικά κέντρα καθώς οι ανάγκες τους απαιτούν αποτελέσματα απόλυτα ακριβή και πιστοποιημένα. Στη μέθοδο ταυτόχρονου προσδιορισμού των βιταμινών Α, Ε η ανάκτηση των βιταμινών έχει υπολογιστεί 103,9% και 97,5% αντίστοιχα.

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Όπως φαίνεται από το χρωματογράφημα του πρότυπου διαλύματος η βιταμίνη Ε εμφανίζεται στα 10 min και ανιχνεύεται με ανιχνευτή υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) στα 295 nm. Τα φάσματα UV-Vis που ελήφθησαν παρατίθενται στο τέλος της εργασίας.

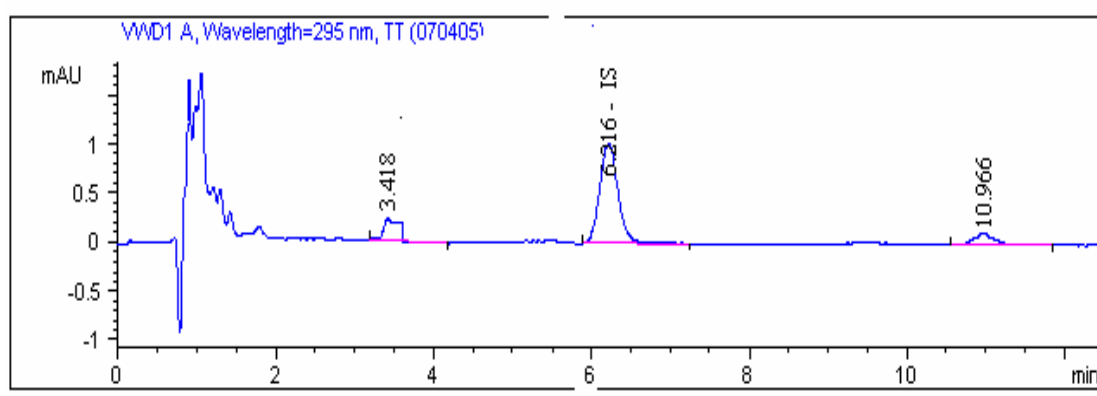
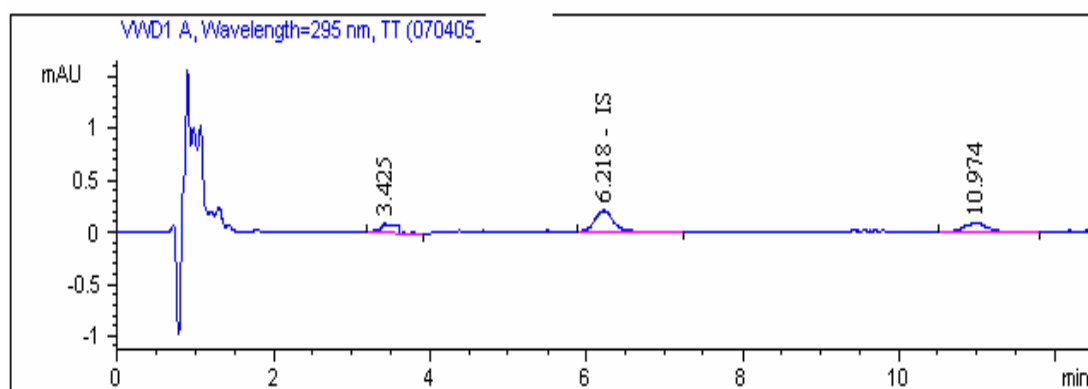
Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται η εβδομάδα κύησης κάθε νεογνού, το βάρος σε g , το φύλο και η ποσότητα βιταμίνης Ε σε mg/l που προσδιορίστηκε.

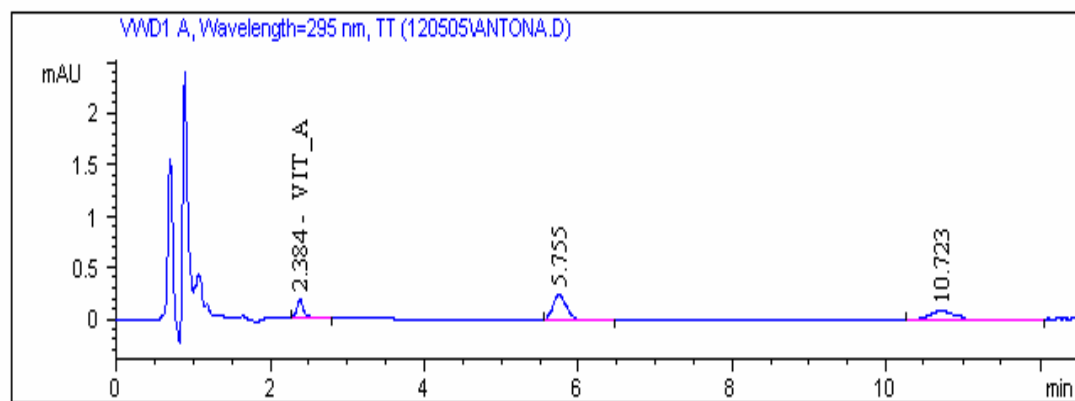
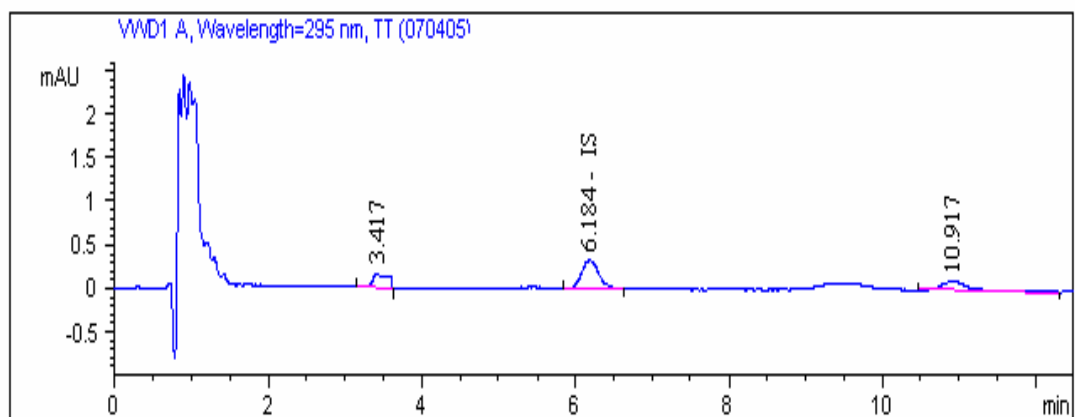
A/A	ΦΥΛΟ	ΕΒΔ.ΚΥΗΣΗΣ	ΒΑΡΟΣ (g)	α-τοκοφερόλη (mg/l)
1	Θ	26	900	5,850
2	Θ	31	1400	7,490
3	Θ	27	980	5,230
4	Θ	26	950	5,140
5	A	26	920	4,870
6	A	32	1210	5,250
7	Θ	32	1530	8,039
8	A	30	1300	7,520
9	Θ	29	1040	6,772
10	Θ	35	2100	10,070
11	Θ	31	1420	8,120
12	Θ	30	1360	9,615
13	Θ	35	2500	11,390
14	A	33	1950	13,880
15	A	28	1010	6,200
16	Θ	28	1100	4,346
17	A	32	1550	8,310

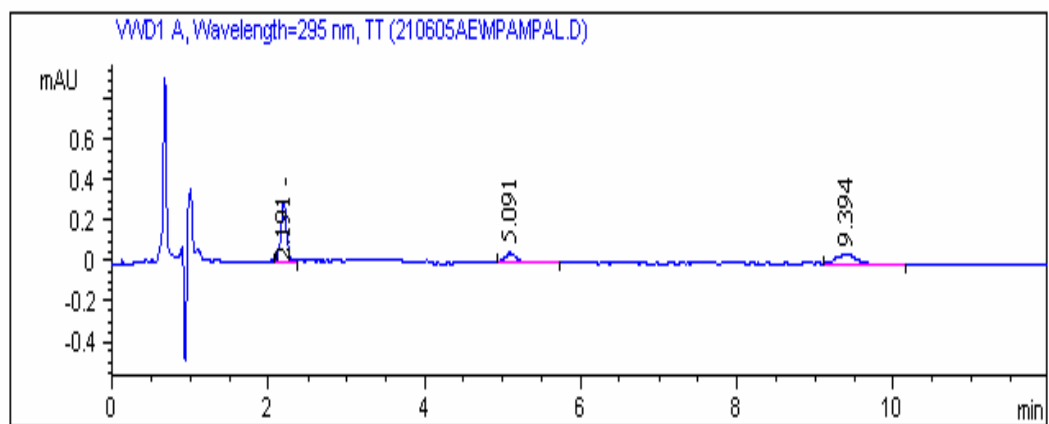
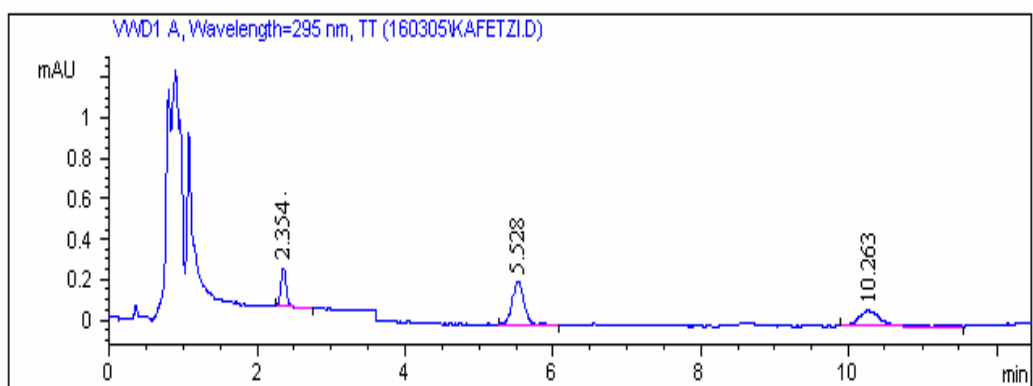
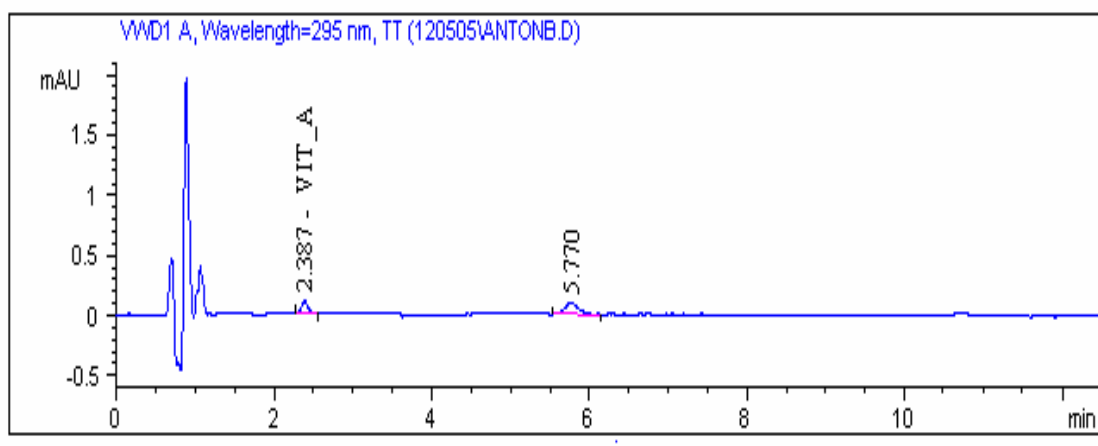
18	Θ	34	2000	14,74
19	Θ	29	1080	5,953
20	A	28	990	5,680
21	A	34	1980	12,05
22	A	33	1900	12,61
23	A	31	1200	8,890
24	A	31	1100	10,190
25	Θ	29	1000	6,230
26	A	30	1140	6,570
27	A	30	1020	5,200
28	A	31	1170	7,820
29	Θ	29	1040	4,085
30	Θ	32	1320	12,360

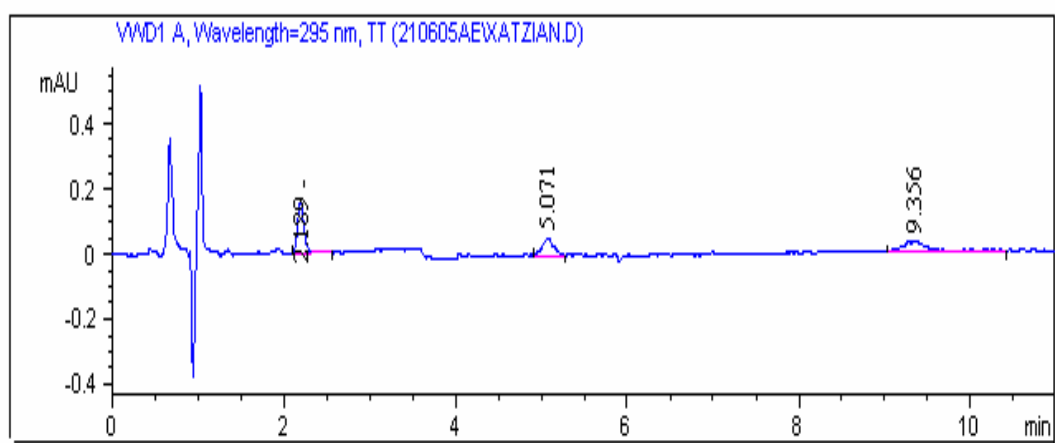
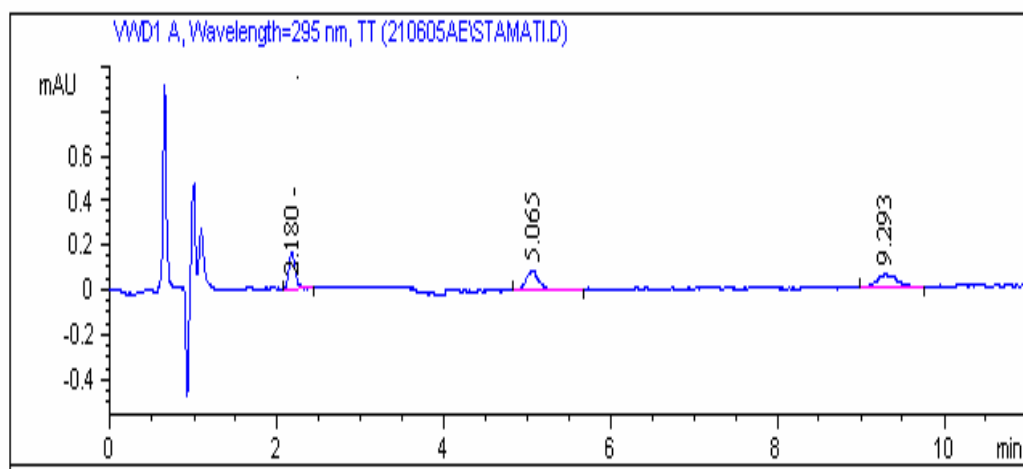
Έγινε στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων στο στατιστικό πακέτο MINITAB για να δούμε αν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της ηλικίας κύησης και της συγκέντρωσης της βιταμίνης E στο αίμα. Ως επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε το 95%. Βρέθηκε πολύ ισχυρή συσχέτιση (0,790) με $p\text{-value}=0,000$.

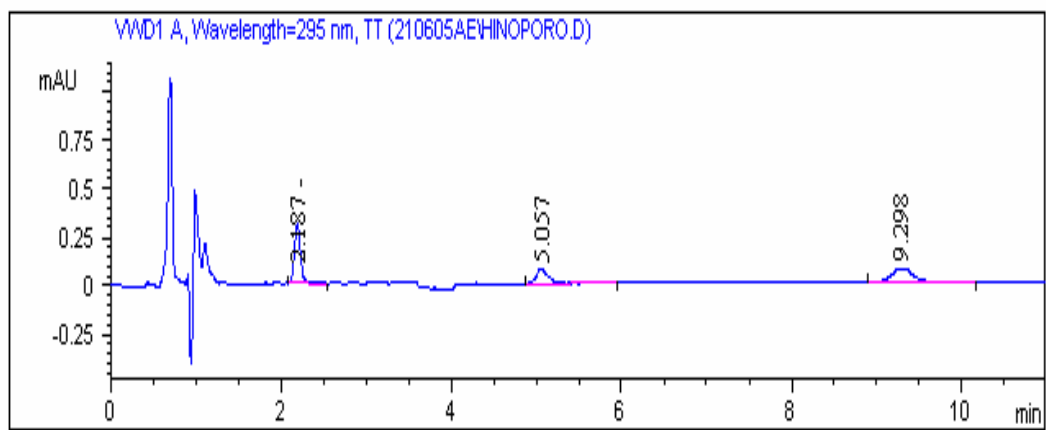
ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ











6. ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Αναλύσαμε δείγματα από 30 πρόωρα νεογνά, 16 κορίτσια και 14 αγόρια, με ηλικία κύησης από 26 έως 35 εβδομάδες. Όλα τα παραπάνω νεογνά ήταν στην μονάδα εντατικής θεραπείας του νοσοκομείου Μαρίκα Ηλιάδη.

Το εύρος τιμών της βιταμίνης E, που προέκυψαν ύστερα από ανάλυση των παραπάνω δειγμάτων με τη μέθοδο του kit της Chromsystems για την HPLC και ανίχνευση της α-τοκοφερόλης μέσω του ανιχνευτή υπεριώδους στα 295 nm, είναι από 4,085 έως 14,74 mg/l.

Ο μέσος όρος του βάρους ήταν $1338 \pm 0,16$ g και η ηλικία κύησης ήταν κατά μέσο όρο $30,40 \pm 2,55$. Η μέση συγκέντρωση της βιταμίνης E στον ορό του αίματος προσδιορίστηκε $8,02 \pm 2,96$ mg/l. Για τα νεογνά δεν έχουν οριστεί φυσιολογικές τιμές βιταμίνης E διεθνώς, θεωρείται ότι υπάρχει ανεπάρκεια όταν η τιμή της α-τοκοφερόλης ορού είναι κάτω από 11,61 $\mu\text{mol/l}$ ή 5 mg/l. Υπήρχαν 3 νεογνά (A/A 5, 16, 29) με τιμές κάτω του 5 mg/l, τα οποία είχαν ηλικία κύησης 26, 28 και 29 εβδομάδες αντίστοιχα και πολύ χαμηλό βάρος. Αν λάβουμε υπόψη ότι οι φυσιολογικές τιμές των ενηλίκων είναι 5-20 mg/l, υποθέτουμε ότι ο μέσος όρος τοκοφερόλης ορού που προέκυψε για τα 30 εξεταζόμενα πρόωρα νεογνά είναι φυσιολογικός και δεν υποδηλώνει κάποια ανεπάρκεια. Η τιμή που βρέθηκε είναι αρκετά υψηλότερη από αυτές που αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία και κυμαίνονται συνήθως στα εξής πλαίσια: 2-4 mg/l.

Παρατηρείται μία αύξηση της ποσότητας της βιταμίνης E όσο αυξάνεται και η εβδομάδα κύησης στην οποία γεννήθηκε το νεογνό. Όσο πιο πρόωρο είναι τόσο μικρότερη είναι η τιμή της βιταμίνης E στον ορό του αίματός του. Από την στατιστική ανάλυση που έγινε στην παρούσα πτυχιακή μελέτη, η ηλικία κύησης βρέθηκε να έχει θετική συσχέτιση και μάλιστα πολύ ισχυρή με τη συγκέντρωση της α-τοκοφερόλης. Υπάρχουν διφορούμενα αποτελέσματα στις μελέτες που εξετάζουν τη συσχέτιση της βιταμίνης E και της διάρκειας κύησης. Έτσι ενώ οι Dison et al⁴⁰ προσδιορίζουν μεγαλύτερες τιμές στα πρόωρα απ' ότι στα τελειόμνηνα, οι Baydas et al³⁶ αποδεικνύουν το αντίθετο. Αυτό είναι αναμενόμενο

για δύο λόγους, πρώτον όπως έχουμε προαναφέρει το οξειδωτικό stress είναι μεγαλύτερο σε πρόωρα νεογνά και δεύτερον το τελευταίο τρίμηνο της κύησης το βρέφος αναπτύσσει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση βιταμίνης E.

7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στη διεθνή βιβλιογραφία δεν υπάρχουν αρκετά άρθρα που να μελετούν τα επίπεδα των βιταμινών στο αίμα των πρόωρων νεογνών. Αυτό γίνεται κυρίως διότι δεν είναι δυνατή η λήψη μεγάλης ποσότητας αίματος από τα νεογνά και συνεπώς προκύπτει μικρή ποσότητα πλάσματος ή ορού, το οποίο δεν είναι επαρκές για τις περισσότερες χρωματογραφικές μεθόδους που έχουν αναπτυχθεί.

Στην παρούσα πτυχιακή μελέτη προσδιορίστηκε η ποσότητα της βιταμίνης E στον ορό 30 νεογνών και βρέθηκε ότι κυμαίνεται σε φυσιολογικά επίπεδα. Επίσης προέκυψε ότι η συγκέντρωση της τοκοφερόλης στον ορό εξαρτάται από την προωρότητα.

Είναι η πρώτη φορά που γίνεται μελέτη επιπέδων βιταμίνης E σε πρόωρα νεογνά σε ελληνικό πληθυσμό.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1.** Thakur, M and Srivastava, U. *Vitamin-E metabolism and its application*. Nutrition Research. 1996:16(10), pp.1767-1809.
- 2.** Χίου Α. *Μέταλλα, Βιταμίνες και Διατροφή*. Αθήνα 2001
- 3.** Συντώσης Λ., Σκενδέρη Κ. *Διατροφή και Μεταβολισμός*. Αθήνα 2001
- 4.** Δημόπουλος Κ.Λ. και Ανδρικόπουλος Ν.Κ., *Διατροφή*. Εκδόσεις Μπιστικέα, Αθήνα 1996.
- 5.** Groff J.L. and Gropper S.S., *Advanced Nutrition and Human Metabolism*. Wadsworth, USA 2000.
- 6.** Ζερφυρίδης Γ.Κ., *Διατροφή του ανθρώπου*. Εκδόσεις Παχούδη, Θεσσαλονίκη 1998.
- 7.** Comps G.F. *The vitamins*. Academic press. USA, 1996.
- 8.** Shills M. E., Olson J. A., Shike M. *Modern nutrition in health and disease*.
- 9.** Karlson P. *Βιοχημεία*. Εκδόσεις Λίτσας. Αθήνα 1984.
- 10.** Lehninger A.L. *Principles of biochemistry*. Worth publishers. USA 1998.
- 11.** Δημόπουλος Α. Κ., Αντωνοπούλου Σ. *Βασική Βιοχημεία*. Αθήνα 2000.
- 12.** Rader DJ, Brewer HB. *Abetalipoproteinemia. New insights into lipoprotein assembly and vitamin E metabolism from a rare genetic disease*. JAMA 1993:270(7), pp.865-869.
- 13.** Bassler XH. *On the problematic nature of vitamin E requirements: net vitamin E*. Z fur Ernährungswissenschaft 1991:30(3), pp.174-180.
- 14.** Paterson PG, Gore DRJ, Card RT. *Vitamin E deficiency and deformability in the rat*. J Nutr Biochem 1994:5, pp.298-302.
- 15.** Muller DP. *Vitamin E therapy in retinopathy of prematurity*. Eye_1992:6, pp.221-225
- 16.** Badamchian M, Spangelo BI, Bao Y, Hagiwara Y, Hagiwara H, Ueyama H, Goldstein AL. *Isolation of a vitamin E analog from a green barley leaf*

- extract that stimulates release of prolactin and growth hormone from rat anterior pituitary cells in vitro.* J Nutr Biochem 1994;5, pp.145-150.
- 17.**Reznick AZ, Witt EH, Silbermann M, Packer L. *The threshold of age in exercise and antioxidants action.* EXS 1992;62, pp.423-427.
 - 18.**Sokol RJ. *Vitamin E and neurological deficits.* Adv Pediatr 1990;37, pp.119-148.
 - 19.**Fahn S. *The endogenous toxin hypothesis of the etiology of Parkinson's disease and a pilot trial of high-dosage antioxidants in an attempt to slow the progression of the illness.* Ann NY Acad Sci 1989;570, pp.186-196.
 - 20.**Westermarck T, Antila E, Atroshi F. *Vitamin E therapy in neurological diseases.* In: Packer L, Fuchs J eds. Vitamin E in Health and Disease, chapter 56 New YorkMarcel Dekker, 1993: pp.799.
 - 21.**Lal H, Pogacar S, Daly PR, Pm-i SK. *Behavioral and neuropathological manifestations of nutritionally induced central nervous system "aging" in the rat.* Prog Brain Res 1973;40, pp.129-140.
 - 22.**Shandra AA, Kryzhanovsky GN. *Antiepileptic effects of synthetic pharmacologic agents and vitamin preparations used in combination.* Zh Nevropathol Psikhiatr 1984: 84, pp.889-903.
 - 23.**Harding AE. *Vitamin E and the nervous system.* Crit Rev in Neurobiol. 1987;3(1), pp.89-103.
 - 24.**Scott ML. *Vitamin E. In The Fat-soluble Vitamins,* Handbook of Lipid Research 2 1978:Plenum Press New York, pp. 133-210.
 - 25.**Krause Mendelson, M. *Food, Nutrition and Diet Therapy,* 10th ed. In: Mahan, L.K., Escott-Stymp, S. (eds). USA: WB. Saunders Company, 2000
 - 26.**Prior, R.L. and Cao, G. *Antioxidant Capacity and Polyphenolic Components of Ieas: Implications for Altering In Vivo Antioxidant Status.* Society For Experimental Biology and Medicine. 1999;2220(4), pp.255-261.
 - 27.**Μπόσκου, Δ., *Χημεία Τροφίμων,* Εκδόσεις Γαρταγάνη: Θεσσαλονίκη, 1997.

- 28.** Zhu, N. et al., *Identification of Reaction Products of (-) – epigallocatechin, (-) epigallocatechin gallate and pyrogallol with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl Radical*, Food Chemistry, 2001:73, pp. 345-349.
- 29.** Γαλάρης, Δ. και Δούλιας, Π.Θ., *Βιολογικά Αντιοξειδωτικά*, Χημικά Χρονικά. 2001“2, ππ.49-50.
- 30.** Fiers W. et al. *More than one way to die: apoptosis, necrosis and reactive damage*. Oncogene. 1999:18, pp.7719-7730.
- 31.** Robles, R., Palomino, N. and Robles A., *Oxidative stress in the neonate*. Early Human Development 2001:65(2), pp.S75-S81
- 32.** Frank L., Price L.T. and Whitney P.L., *Possible mechanism for late gestational development of the antioxidant enzymes in the fetal rat lung*. Biol. Neonate 1996: 70, pp. 116–127.
- 33.** Buhimschi, I.A., Buhimschi C.S., Pupkin M., Weiner C.P., *Beneficial Impact of Term Labor:Nonenzymatic Antioxidant Reserve in the Human Fetus*. Am J Obstet Gynecol 2002.
- 34.** Friel, J.K., Widneww, J.A., Jiang, T., Belkhode, L.S., Rebouche, J.C., Ziegler, E.E., *Antioxidant Status and Oxidant Stress may associated with vitamin E intakes in very low birth weight infants dying the first month of life*. Nutrition Research 2002:22, pp.55-64.
- 35.** Cui, K., Luo, X., Xu, K., Ven Murthy, M.R., *Role of oxidative stress in neurodegeneration: recent developments in assay methods for oxidative stress and nutraceutical antioxidants*. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry 2004:28(5), pp.771-799.
- 36.** Baydas, G., Karatas, F., Gursu, M.F., Bozkurt, H.A., Ilhan, N., Yasar, A., Canatan, H., *Antioxidant Vitamin Levels in Term and Preterm Infants and Their Relation to Maternal Vitamin Status*. Archives of Medical Research 2002:33(3), pp.276-280.

- 37.**Mino M. *Fetomaternal vitamin E status*. In: Packer L, Fuchs J, ed. *Vitamin E in Health and Disease*, chap. 65, New York Marcel Dekker Inc., 1993: pp.965.
- 38.**Dju MY, Mason KE, Filer LJ. *Vitamin E (tocopherol) in human fetuses and placenta*. *Etudes Néonatales* 1952: 1, pp.49-60.
- 39.**Galinier, A., Periquet, B., Lambert, W., Garcia, J., Assouline, C., Rolland, M., Thouvenot, J-P., *Reference range for micronutrients and nutritional marker proteins in cord blood of neonates appropriated for gestational ages*. *Early Human Development* 2005.
- 40.**Dison P.J., Lockitch G., Halstead A.C., Pendray M.R., Macnab A. and Wittmann B.K.,. *Influence of maternal factors on cord and neonatal plasma micronutrient levels*, *Am J Perinatol* 1993;10, pp. 30–35.
- 41.**Gorodischer R. *Micronutrients and drug response: Vitamin A and vitamin E in the fetus and in the newborn*. *Dev Pharmacol Ther* 1990;15, pp.166-172.
- 42.**Karp WB, Robertson AF. *Vitamin E in neonatology*. *Adv Pediatr* 1986;33, pp. 127-147.
- 43.**Johnson L, Bowen FW, Abassi S, Herrmann N, Weston M, Sacks L, Porat R, Stahl G, Peckman G, Delivoria-Papadopoulos M, Quinn G, Schaffer D. *Relationship of prolonged pharmacologic serum levels of vitamin E to incidence of sepsis and necrotizing enterocolitis in infants with birth weight 1,500 grams or less*. *Pediatr* 1985;75, pp.619-638.