

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ORIGINAL PAPER

Προσδιορισμός επιπέδων αντιοξειδωτικών ουσιών στο αίμα μετά από πλούσια σε αντιοξειδωτικά διατροφή

ΣΚΟΠΟΣ Σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης της διατροφής στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού. Οι περισσότερες μελέτες συσχετίζουν τη βελτίωση μιας παθολογικής κατάστασης με την πρόσληψη βιταμινών ή άλλων αντιοξειδωτικών ουσιών. Λίγες μελέτες αναφέρονται στην επίδραση ενός διατροφικού συστατικού ή μιας ομάδας τροφίμων στα επίπεδα αντιοξειδωτικών στον ορό και τη συσχέτιση αυτών με την υγεία και την πιθανή πρόληψη παθολογικών καταστάσεων. ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του ορού (TAC) σε ομάδα 40 εθελοντών (1η αιμοληψία). Όλα τα μέλη της ομάδας συμπλήρωσαν ειδικό ερωτηματολόγιο σχετικά με διατροφικές ή άλλες συνήθειες που είναι γνωστό ότι μπορεί να επηρεάζουν την αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού. Από αυτούς, οι 17 ήταν άνδρες και οι 23 γυναίκες. Στους εθελοντές δόθηκε ειδική διαίτα –πλούσια σε αντιοξειδωτικές ουσίες– για 30 ημέρες και μετρήθηκε η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του ορού (2η αιμοληψία). Στη συνέχεια, ακολούθησε τρίτη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του ορού μετά από ελεύθερη διατροφή για 15 ημέρες (3η αιμοληψία). Σε όλα τα δείγματα μετρήθηκε η συγκέντρωση των ολικών αντιοξειδωτικών με τη μέθοδο TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity), όπου προσδιορίστηκε η επίδραση της προσθήκης 10 μL αραιωμένου 1/10 ορού στην οξείδωση του ABTS από το σύστημα ferryl μωσφαιρίνης- H_2O_2 με το antioxidant assay kit της Cayman. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ Η μέτρηση των ολικών αντιοξειδωτικών στον ορό σε συνέχεια της ειδικής διαίτας παρουσίασε αύξηση 62% ($p=0,000$) και σε ορισμένες περιπτώσεις έφθασε έως και 150%, ενώ μετά από την ελεύθερη διατροφή 15 ημερών παρατηρήθηκε μια μικρή –αλλά όχι σημαντική– μείωση της TAC κατά 4,9% ($p=0,119$) από τη 2η αιμοληψία. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ Από τα αποτελέσματα προέκυψε το συμπέρασμα για τη θετική επίδραση της πλούσιας σε αντιοξειδωτικά διατροφής στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού και μέσω αυτής στην πιθανή πρόληψη εκφυλιστικών νόσων.

Τα επίπεδα αντιοξειδωτικών στο αίμα αντιπροσωπεύουν τη γενική αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού. Η αντιοξειδωτική ικανότητα του ορού οφείλεται κατά κύριο λόγο στο ασκορβικό οξύ (50–60 $\mu\text{mol/L}$), στην α-τοκοφερόλη (10–40 $\mu\text{mol/L}$), στη γλουταθειόνη (325–650 $\mu\text{mol/L}$), στο λιποϊκό οξύ (0,1–0,7 $\mu\text{mol/L}$), στο ουρικό οξύ και στην ουρία (260–450 $\mu\text{mol/L}$), στο β -καροτένιο (0,5–1 $\mu\text{mol/L}$), στην ουβικινόνη (συνένζυμο Q10) (5 $\mu\text{mol/L}$) και στη χολερυθρίνη (4–7 $\mu\text{mol/L}$). Αρκετές έρευνες έχουν συσχετίσει τα χαμηλά επίπεδα αντιοξειδωτικών με διάφο-

ρες παθολογικές καταστάσεις,^{1,2} όπως είναι ο καρκίνος,^{3,4} η νόσος Alzheimer, η νόσος Parkinson, ο διαβήτης,^{5,6} η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η υπέρταση,^{7,8} οι καρδιοπάθειες,^{9,10} καθώς και με τη γήρανση.^{11–13} Ωστόσο, το ερώτημα κατά πόσο τα χαμηλά επίπεδα αντιοξειδωτικών είναι υπεύθυνα για την εμφάνιση της νόσου ή είναι αποτέλεσμα αυτής εξακολουθεί να παραμένει υπό διερεύνηση.¹⁴

Έχει διαπιστωθεί ότι οι υψηλές συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικών στο αίμα αυξάνουν την άμυνα του οργανισμού έναντι εκφυλιστικών νόσων.^{15–19} Επιδημιολογικές μελέτες

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2011, 28(1):57–62
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2011, 28(1):57–62

Ε. Λυμπεράκη,
Φ. Ελευθερίου,
Σ. Μακρή,
Χ. Πέτρου

Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, Σχολή
Επαγγελματιών Υγείας, Αλεξάνδρειο
Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα
Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

Determination of serum
antioxidants following a diet rich in
antioxidants

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

Αντιοξειδωτικές ουσίες
Διατροφή
Οξειδωτικό stress
TAC

Υποβλήθηκε 1.3.2010
Εγκρίθηκε 16.3.2010

συσχετίζουν την κατανάλωση αντιοξειδωτικών ουσιών με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων και καρκίνου, ενώ σε πολλές περιπτώσεις αντιοξειδωτικές ουσίες έχουν χρησιμοποιηθεί σε θεραπευτικά σχήματα.²⁰⁻²⁴ Ωστόσο, τα αποτελέσματα των ερευνών, πολλές φορές, είναι αντικρουόμενα. Μολονότι πολλές μελέτες έχουν δείξει ευεργετική επίδραση των αντιοξειδωτικών, κάποιες άλλες έχουν διαπιστώσει αμφίβολη βελτίωση της υγείας, καθώς και τοξικές ανεπιθύμητες ενέργειες.²⁵⁻²⁷ Ορισμένοι ερευνητές υποστηρίζουν την ύπαρξη καλύτερων αποτελεσμάτων όταν η λήψη αντιοξειδωτικών γίνεται μέσω της διατροφής και όχι με τη χρήση φαρμακευτικών προϊόντων.²⁸

Το πλεονέκτημα που προκύπτει από τη λήψη αντιοξειδωτικών με τη διατροφή θεωρείται ότι οφείλεται στο γεγονός ότι οι τροφές περιέχουν συνδυασμό αντιοξειδωτικών ουσιών –με διαφορετικό αντιοξειδωτικό δυναμικό– που μπορούν να συμμετέχουν σε πολλές αντιδράσεις, απομακρύνοντας αποτελεσματικά τις ελεύθερες ρίζες.²⁹⁻⁴⁰ Επιπλέον, η απορρόφηση μιας αντιοξειδωτικής ουσίας ενδέχεται να επηρεάζεται από την παρουσία μιας άλλης ένωσης. Ωστόσο, είναι γνωστό ότι μεγάλες συγκεντρώσεις συγκεκριμένων αντιοξειδωτικών, σε συνδυασμό με ορισμένους άλλους παράγοντες, μπορεί να έχουν και προοξειδωτική δράση.⁴¹⁻⁴³

Επιπλέον, οι ελεύθερες ρίζες δεν έχουν πάντα αρνητική επίδραση, εφ' όσον ο οργανισμός διατηρεί τον έλεγχο της περιορισμένης παραγωγής και δράσης τους. Ελεύθερες ρίζες μονοξειδίου του αζώτου (NO) παράγονται από τα μακροφάγα, με στόχο την καταστροφή των βακτηρίων, ενώ NO παράγεται επίσης από τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων για να προκαλέσει διαστολή του αγγείου και αναστολή συγκόλλησης αιμοπεταλίων.^{44,45}

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μέτρηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του ορού μετά από πλούσια σε αντιοξειδωτικά διατροφή, χωρίς τη χρήση φαρμακευτικών προϊόντων. Στα τρόφιμα, τα σπουδαιότερα αντιοξειδωτικά είναι οι βιταμίνες E και C, τα φλαβονοειδή, το β-καροτένιο, το λυκοπένιο, οι πολυφαινόλες, οι κατεχίνες, οι ανθοκυανίνες και η λουτεΐνη, ενώ τα πλέον πλούσια σε αντιοξειδωτικά τρόφιμα θεωρούνται ο καφές, το πράσινο τσάι, η μπανάνα, τα φασόλια, το καλαμπόκι, το κόκκινο κρασί, η μύρα, το μήλο, η ντομάτα, η πατάτα, η σοκολάτα και τα έλαια.⁴⁶⁻⁵⁴

Ένας συνδυασμός τροφίμων με υψηλή περιεκτικότητα σε βιταμίνη E (φυτικά έλαια), βιταμίνη C (χυμός φρούτων, λαχανικά), λυκοπένιο (ντομάτα) και πολυφαινόλες (κόκκινο κρασί, καφές, σοκολάτα, ελαιόλαδο), καροτενοειδή (φρούτα, λαχανικά) προτάθηκε, μεταξύ άλλων, για την ενίσχυση σε αντιοξειδωτικά της διαίτας των εθελοντών που συμμετείχαν στην έρευνα.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Στη συγκεκριμένη έρευνα εξετάστηκαν 40 υγιείς εθελοντές, άνδρες και γυναίκες, ηλικίας από 20–60 ετών. Κάποιοι από αυτούς ήταν καπνιστές, ενώ οι γυναίκες που συμμετείχαν δεν βρίσκονταν σε κατάσταση εγκυμοσύνης. Έγιναν τρεις αιμοληψίες σε διάστημα 45 ημερών. Όλες οι αιμοληψίες πραγματοποιήθηκαν από 8:30–11:00 π.μ. Κατά τη διάρκεια της πρώτης αιμοληψίας συλλέχθηκαν πληροφορίες για τις διατροφικές συνήθειες των συμμετεχόντων, ενώ τους δόθηκαν οδηγίες για τη διατροφή τους κατά τις επόμενες 30 ημέρες. Η ειδική διατροφή περιελάμβανε τρόφιμα πλούσια σε βιταμίνη E (φυτικά έλαια), βιταμίνη C (χυμός φρούτων, λαχανικά), λυκοπένιο (ντομάτα) και πολυφαινόλες (κόκκινο κρασί, καφές, σοκολάτα, ελαιόλαδο), καροτενοειδή (φρούτα, λαχανικά) και κατεχίνες (πράσινο τσάι). Η μέση ημερήσια πρόσληψη αντιοξειδωτικών ήταν περίπου 3,3 mmol trolox equivalent (TE). Την 30ή ημέρα έγινε συλλογή του δεύτερου δείγματος αίματος. Σε αυτή τη φάση, οι συμμετέχοντες συμπλήρωσαν ερωτηματολόγιο που αποτύπωνε τη διατροφή που ακολούθησαν κατά τη διάρκεια των 30 ημερών. Η τρίτη αιμοληψία έγινε 15 ημέρες μετά και αφού δόθηκε οδηγία στους συμμετέχοντες για επιστροφή σε ελεύθερη διατροφή.

Προσδιορισμός ολικής αντιοξειδωτικής δράσης (TAC)

Τα δείγματα του αίματος φυγοκεντρήθηκαν στις 3.000 rpm για 10 min, χωρίς αντιπηκτικό, και διαχωρίστηκε ο ορός. Τα δείγματα συντηρήθηκαν στους -70 °C για 7–15 ημέρες. Για τη μέτρηση των ολικών αντιοξειδωτικών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity).⁵⁵⁻⁵⁹ Ακριβέστερα, προσδιορίστηκε η επίδραση της προσθήκης 10 μL αραιωμένου 1/10 ορού στην οξειδωση του 2,2'-αζινο-δις(3-αιθυλβενζοθειαζολινο)-6-σουλφονικού οξέος (ABTS) από το σύστημα ferryl μιοσφαιρίνης-H₂O₂ με το antioxidant assay kit της Cayman. Ως μάρτυρας, και για την παρασκευή πρότυπης καμπύλης, χρησιμοποιήθηκε το trolox, που αποτελεί υδατοδιαλυτό ανάλογο της βιταμίνης E. Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως ισοδύναμα trolox.

Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με τη χρήση του Student's t-test.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

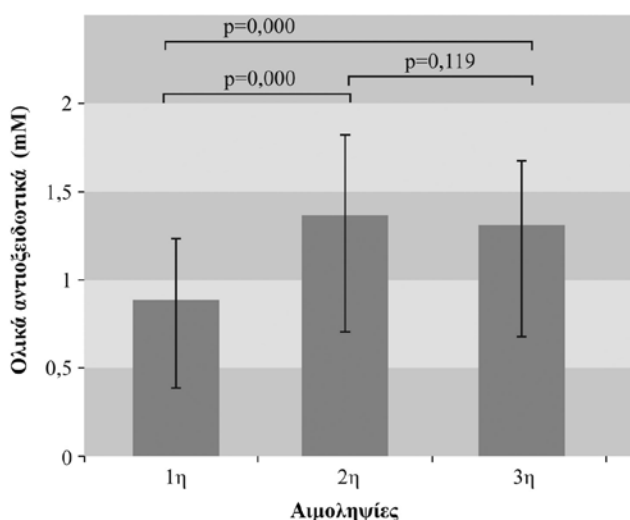
Από τα 40 άτομα που συμμετείχαν στην έρευνα, 7 δεν ακολούθησαν την ειδική διαίτα και εξαιρέθηκαν από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων. Με εξαίρεση μία περίπτωση, στην οποία δεν παρατηρήθηκε κάποια μεταβολή, και 3 περιπτώσεις, όπου παρατηρήθηκε μείωση ολικών αντιοξειδωτικών μετά από την εφαρμογή της ειδικής διαίτας, στις υπόλοιπες περιπτώσεις παρατηρήθηκε αύξηση των ολικών αντιοξειδωτικών του ορού μετά από την εφαρμογή της διαίτας, τα οποία διατηρήθηκαν σε σημαντικά

Πίνακας 1. Ποσοστά μεταβολής ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας μετά από την εφαρμογή πλούσιας σε αντιοξειδωτικά διαίτας 30 ημερών (2η αιμοληψία) και στη συνέχεια ελεύθερης διαίτας 15 ημερών (3η αιμοληψία) σε 33 δείγματα.

1η αιμοληψία	2η αιμοληψία		3η αιμοληψία		
Ολικά αντιοξειδωτικά (mM)	Ολικά αντιοξειδωτικά (mM)	Μεταβολή (%) σε σύγκριση με την 1η αιμοληψία	Ολικά αντιοξειδωτικά (mM)	Μεταβολή (%) σε σύγκριση με την 1η αιμοληψία	Μεταβολή (%) σε σύγκριση με τη 2η αιμοληψία
0,779±0,441	1,262±0,575	+ 62,0%	1,200±0,479	+ 54,0%	- 4,9%

Η στατιστική επεξεργασία έγινε με το Student's t-test για όλα τα δείγματα

αυξημένα επίπεδα 15 ημέρες μετά την επιστροφή σε ελεύθερη διαίτα. Συγκεκριμένα, η παρατηρούμενη αύξηση μετά από τη διαίτα των 30 ημερών ήταν κατά μέσο όρο 62,0%



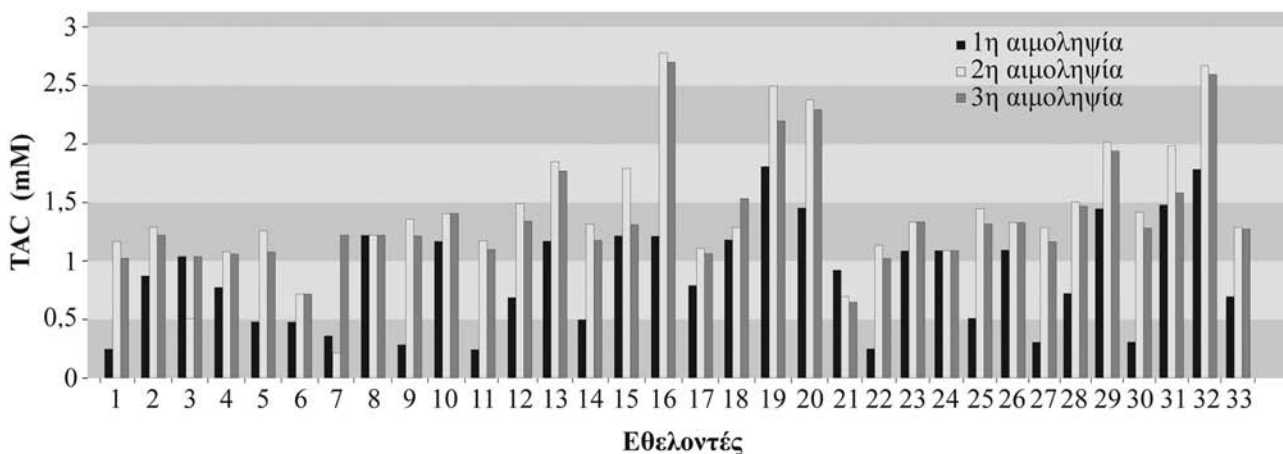
Εικόνα 1. Μέσα επίπεδα ολικών αντιοξειδωτικών στον ορό, στην αρχή του προγράμματος (1η αιμοληψία), μετά από ειδική διαίτα 30 ημερών, πλούσια σε αντιοξειδωτικά (2η αιμοληψία), και μετά από επιστροφή σε ελεύθερη διαίτα για 15 ημέρες (3η αιμοληψία).

($p=0,000$). Αυξημένα κατά 54,0% ($p=0,000$) διατηρήθηκαν τα επίπεδα και μετά την πάροδο των 15 ημερών ελεύθερης διατροφής (πίν. 1). Με εξαίρεση μία περίπτωση στην οποία δεν παρατηρήθηκε μεταβολή μετά από την επιστροφή σε ελεύθερη διαίτα και 3 περιπτώσεις όπου παρουσιάστηκε αύξηση, γενικά παρατηρήθηκε μικρή μείωση μεταξύ των επιπέδων των αντιοξειδωτικών της τρίτης αιμοληψίας σε σχέση με τη δεύτερη. Η παρατηρούμενη μείωση ήταν κατά μέσο όρο 4,9% ($p=0,119$) (εικόνες 1, 2).

Στα 7 άτομα που δεν ακολούθησαν την ειδική διαίτα έγιναν δύο αιμοληψίες, κατά τις οποίες δεν παρουσιάστηκε σημαντική μεταβολή στην TAC. Στη δεύτερη αιμοληψία παρατηρήθηκε αύξηση $3,6\pm 2\%$.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η έρευνα έδειξε στατιστικά σημαντική αύξηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του ορού μετά από διαίτα πλούσια κυρίως σε βιταμίνες E, C, λυκοπένιο και φλαβονοειδή. Μάλιστα, η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα παρέμεινε σε υψηλά επίπεδα 15 ημέρες μετά τη λήξη της εφαρμογής της ειδικής διαίτας. Άλλωστε, οι εθελοντές



Εικόνα 2. Επίπεδα ολικών αντιοξειδωτικών στον ορό 33 εθελοντών, στην αρχή του προγράμματος (1η αιμοληψία), μετά από ειδική διαίτα 30 ημερών, πλούσια σε αντιοξειδωτικά (2η αιμοληψία), και μετά από επιστροφή σε ελεύθερη διαίτα για 15 ημέρες (3η αιμοληψία).

που δεν ακολούθησαν συστηματικά την ειδική διαίτα δεν παρουσίασαν αξιοσημείωτη μεταβολή στην αντιοξειδωτική ικανότητα του ορού. Ο μεταβολισμός, οι καθημερινές συνήθειες και η δραστηριότητα, καθώς και οι διατροφικές προτιμήσεις του καθένα, εξηγούν τις διαφοροποιήσεις στην ποσοστιαία μεταβολή των ολικών αντιοξειδωτικών μετά από τη λήψη της ειδικής διαίτας. Σημειώνεται ότι στα άτομα που συμμετείχαν δεν δόθηκαν συμπληρώματα διατροφής, ενώ προτάθηκε ένας αριθμός τροφίμων τα οποία έπρεπε να συμπεριληφθούν στην καθημερινή διαίτα, αλλά οι περιλαμβανόμενες ποσότητες και οι συνδυασμοί αφέθηκαν στην προτίμηση του εθελοντή. Ωστόσο, τα διά-

φορα συστατικά, ανάλογα και με το τρόφιμο ή τον τρόπο κατεργασίας, έχουν διαφορετικό ποσοστό απορρόφησης, ενώ οι διάφοροι συνδυασμοί τροφίμων επηρεάζουν την απορρόφηση, καθώς και τον προστατευτικό ρόλο των αντιοξειδωτικών ουσιών. Επίσης, κάποια τρόφιμα περιέχουν προοξειδωτικά, όπως σίδηρο και χαλκό, γεγονός που, επίσης, πρέπει να λαμβάνεται υπ' όψη.

Τα αποτελέσματα παρουσιάζουν ενδιαφέρον και μπορεί να αποτελέσουν το έναυσμα για την περαιτέρω διερεύνηση της επίδρασης της κατεργασίας, του συνδυασμού τροφών, καθώς και άλλων παραγόντων στην αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού.

ABSTRACT

Determination of serum antioxidants following a diet rich in antioxidants

E. LIMBERAKI, F. ELEFThERIOU, S. MAKRI, C. PETROU

Department of Medical Laboratory Studies, Faculty of Health and Caring Professions, Alexander Technological Educational Institute of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2011, 28(1):57-62

OBJECTIVE Since free radicals can cause damage to lipids, proteins and DNA, they are thought to be involved in the pathogenesis of various diseases. Cancer, Alzheimer's disease, arthritis, atherosclerosis and heart disease are associated with oxidative damage. High concentrations of antioxidants in the blood appear to increase the defence of the organism against certain diseases, and treatment with antioxidants is often proposed as part of the therapeutic regime. Dietary ingredients such as vitamins play an important role in the effort of the organism to counteract free radicals, although research findings are sometimes contradictory. Administration of synthetic antioxidants as a dietary supplement does not appear to have the same beneficial effect as consumption of the same antioxidants as food ingredients. The kind of antioxidants in food and the food preparation procedure and food mixtures used, also influence their effectiveness. **METHOD** The level of the total antioxidant capacity (TAC) was measured in the serum of 40 male and female healthy volunteers before (1st blood sample) and after (2nd blood sample) they had followed a special diet rich in antioxidants for 30 days. Detailed records were maintained before the study and during the 30 day period of the special diet, which was rich mainly in vitamins C and E, lycopene and flavonoids. After the 30 day period and the 2nd blood sampling, the volunteers were allowed to follow a free diet for 15 days, after which a 3rd blood sample was taken. Antioxidant activity was estimated by the influence of 10 µL of serum on the oxidation of 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS) by the ferryl myoglobin-H₂O₂ system. Trolox, the water soluble analogue of vitamin E, was used as control. The TAC was expressed as trolox equivalents. **RESULTS-CONCLUSIONS** An average 62% (p=0.000) increase in total antioxidant capacity was observed after the 30 day period of antioxidant rich diet, and this increase was maintained after the following 15 days of free diet (54.0%, p=0.000). Those people who did not follow the diet showed no significant differences in their serum TAC levels throughout the study.

Key words: Antioxidants, Diet, Oxidative stress, TAC

Βιβλιογραφία

1. EVANS MD, DIZDAROGLU M, COOKE MS. Oxidative DNA damage and disease: Induction, repair and significance. *Mutat Res* 2004, 567:1-61
2. MEZZETTI A, LAPENNA D, ROMANO F, COSTANTINI F, PIERDOMENICO NICO SD, De CESARE D ET AL. Systemic oxidative stress and its relationship with age and illness. *Associazione Medica "Sabina". J Am Geriatr Soc* 1996, 44:823-827
3. KLAUNIG JE, KAMENDULIS LM. The role of oxidative stress in car-

- cinogenesis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2004, 44:239–267
4. OMENN GS, GOODMAN GE, THORNQUIST MD, ROSENSTOCK L, BARNHART S, GYLYS-COLWELL I ET AL. The carotene and retinol efficacy trial (CARET) to prevent lung cancer in high-risk populations: Pilot study with asbestos-exposed workers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1993, 2:381–387
 5. DIERCKX N, HORVATH G, VAN GILS C, VERTOMMEN J, VAN DE VLIET J, De LEEUW I ET AL. Oxidative stress status in patients with diabetes mellitus: Relationship to diet. *Eur J Clin Nutr* 2003, 57:999–1008
 6. CERIELLO A, BORTOLOTTI N, FALLETTI E, TABOGA C, TONUTTIL, CRESCENTINI A ET AL. Total radical-trapping antioxidant parameter in NIDDM patients. *Diabetes Care* 1997, 20:194–197
 7. MORIEL P, PAVNIK FL, ZANELLA MT, BERTOLAMI MC, ABDALLA DS. Lipid peroxidation and antioxidants in hyperlipidemia and hypertension. *Biol Res* 2000, 33:105–112
 8. PARLOW RA, SACHDEV P, SALONIKAS C, LUX O, JORM AF, NAIDOO D. Associations between plasma antioxidants and hypertension in a community-based sample of 415 Australians aged 60–64. *J Hum Hypertens* 2005, 19:219–226
 9. TRIBBLE DL. AHA Science Advisory. Antioxidant consumption and risk of coronary heart disease: Emphasis on vitamin C, vitamin E, and beta-carotene: A statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation* 1999, 99:591–595
 10. PRYOR WA. Vitamin E and heart disease: Basic science to clinical intervention trials. *Free Radic Biol Med* 2000, 28:141–164
 11. ERDEN-INAL M, SUNAL E, KANBAK G. Age-related changes in the glutathione redox system. *Cell Biochem Funct* 2002, 20:61–66
 12. LENA Z G. Role of mitochondria in oxidative stress and ageing. *Biochim Biophys Acta* 1998, 1366:53–67
 13. WEI YH. Oxidative stress and mitochondrial DNA mutations in human aging. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998, 217:53–63
 14. STANNER SA, HUGHES J, KELLY CN, BUTTRISS J. A review of the epidemiological evidence for the “antioxidant hypothesis”. *Public Health Nutr* 2004, 7:407–422
 15. ABUDU N, MILLER JJ, ATTAELMANNAN M, LEVINSON SS. Vitamins in human arteriosclerosis with emphasis on vitamin C and vitamin E. *Clin Chim Acta* 2004, 339:11–25
 16. MARUSIN AV, SALLYUKOV VB, BRAGINA EY. Antioxidant activity of blood plasma in individuals with neoplasms. *Bull Exp Biol Med* 2002, 133:481–483
 17. BLOCK G, PATTERSON B, SUBAR A. Fruit, vegetables, and cancer prevention: A review of the epidemiological evidence. *Nutr Cancer* 1992, 18:1–29
 18. BOAZ M, SMETANA S, WEINSTEIN T, MATAS Z, GAFTER U, IAINA A ET AL. Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in end stage renal disease (SPACE): Randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2000, 356:1213–1218
 19. BOLTON-SMITH C, WOODWARD M, TUNSTALL-PEDOE H. The Scottish Heart Health Study. Dietary intake by food frequency questionnaire and odds ratios for coronary heart disease risk. II. The antioxidant vitamins and fibre. *Eur J Clin Nutr* 1992, 46:85–93
 20. WINKLHOFFER-ROOB BM, ROCK E, RIBALTA J, SHMERLING DH, ROOB JM. Effects of vitamin E and carotenoid status on oxidative stress in health and disease. Evidence obtained from human intervention studies. *Mol Aspects Med* 2003, 24:391–402
 21. VAN DEN BERG R, VAN VLIET T, BROEKMANS WM, CNUBBEN NH, VAES WH, ROZA L ET AL. A vegetable/fruit concentrate with high antioxidant capacity has no effect on biomarkers of antioxidant status in male smokers. *J Nutr* 2001, 131:1714–1722
 22. ZUREIK M, GALAN P, BERTRAIS S, MENNEN L, CZERNICHOW S, BLACHER J ET AL. Effects of long-term daily low-dose supplementation with antioxidant vitamins and minerals on structure and function of large arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004, 24:1485–1491
 23. PRIOR RL. Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *Am J Clin Nutr* 2003, 78:570S–578S
 24. SATIA-ABOUTA J, KRISTAL AR, PATTERSON RE, LITTMAN AJ, STRATTON KL, WHITE E. Dietary supplement use and medical conditions: The VITAL study. *Am J Prev Med* 2003, 24:43–51
 25. GREENBERG ER. Vitamin E supplements: Good in theory, but is the theory good? *Ann Intern Med* 2005, 142:75–76
 26. MILLER ER 3rd, PASTOR-BARRIUSO R, DALAL D, RIEMERSMA RA, APPEL LJ, GUALLAR E. Meta-analysis: High-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Ann Intern Med* 2005, 142:37–46
 27. HUANG HY, APPEL LJ. Supplementation of diets with alpha-tocopherol reduces serum concentrations of gamma- and delta-tocopherol in humans. *J Nutr* 2003, 133:3137–3140
 28. HERCBERG S, GALAN P, PREZIOSI P, BERTRAIS S, MENNEN L, MALVY D ET AL. The SU.VI.MAX study: A randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Arch Intern Med* 2004, 164:2335–2342
 29. BALLUZ LS, KIESZAK SM, PHILEN RM, MULINARE J. Vitamin and mineral supplement use in the United States. Results from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Fam Med* 2000, 9:258–262
 30. BEHRENS WA, MADÈRE R. Alpha- and gamma tocopherol concentrations in human serum. *J Am Coll Nutr* 1986, 5:91–96
 31. BENDICH A, MACHLIN LJ. Safety of oral intake of vitamin E. *Am J Clin Nutr* 1988, 48:612–619
 32. CAO G, BOOTH SL, SADOWSKI JA, PRIOR RL. Increases in human plasma antioxidant capacity after consumption of controlled diets high in fruit and vegetables. *Am J Clin Nutr* 1998, 68:1081–1087
 33. CAO G, SOFIC E, PRIOR RL. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *J Agric Food Chem* 1996, 44:3426–3431
 34. COSTANTINO JP, KULLER LH, BEGG L, REDMOND CK, BATES MW. Serum level changes after administration of a pharmacologic dose of beta-carotene. *Am J Clin Nutr* 1988, 48:1277–1283
 35. JOHN JH, ZIEBLAND S, YUDKIN P, ROE LS, NEIL HA, OXFORD FRUIT AND VEGETABLE STUDY GROUP. Effects of fruit and vegetable consumption on plasma antioxidant concentrations and blood pressure: A randomised controlled trial. *Lancet* 2002, 359:1969–1974
 36. NODA Y, ANZAI K, MORI A, KOHNO M, SHINMEI M, PACKER L. Hydroxyl and superoxide anion radical scavenging activities of natural source antioxidants using the computerized JES-FR30 ESR spectrometer system. *Biochem Mol Biol*

- Int* 1997, 42:35–44
37. OMAYE ST, BURRI BJ, SWENDSEID ME, HENNING SM, BRIGGS LA, BOWEN HT ET AL. Blood antioxidants changes in young women following beta-carotene depletion and repletion. *J Am Coll Nutr* 1996, 15:469–474
 38. PATTERSON BH, BLOCK G, ROSENBERGER WF, PEE D, KAHLE LL. Fruit and vegetables in the American diet: Data from the NHANES II survey. *Am J Public Health* 1990, 80:1443–1449
 39. SEN CK, PACKER L. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *Am J Clin Nutr* 2000, 72(Suppl 2):653S–669S
 40. TAKAMATSU S, TAKAMATSU M, SATOH K, IMAIZUMI T, YOSHIDA H, HIRAMOTO M ET AL. Effects on health of dietary supplementation with 100 mg d-alpha-tocopheryl acetate, daily for 6 years. *J Int Med Res* 1995, 23:342–357
 41. CARRA A, FREI B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB J* 1999, 13:1007–1024
 42. VALKO M, MORRIS H, CRONIN MT. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem* 2005, 12:1161–1208
 43. HALLIWELL B. Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and *in vivo* studies? *Arch Biochem Biophys* 2008, 476:107–112
 44. FANG FC, VAZQUEZ-TORRES A. Nitric oxide production by human macrophages: There's NO doubt about it. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002, 282:L941–L943
 45. IGNARRO LJ, BUGA GM, WOOD KS, BYRNS RE, CHAUDHURI G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987, 84:9265–9269
 46. BEECHER GR. Overview of dietary flavonoids: Nomenclature, occurrence and intake. *J Nutr* 2003, 133:3248S–3254S
 47. CAO G, ALESSIO HM, CUTLER RG. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radic Biol Med* 1993, 14:303–311
 48. OU B, HAMPSCH-WOODILL M, PRIOR RL. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J Agric Food Chem* 2001, 49:4619–4626
 49. PRIOR RL, WU X, SCHAICH K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem* 2005, 53:4290–4302
 50. XIANQUAN S, SHI J, KAKUDA Y, YUEMING J. Stability of lycopene during food processing and storage. *J Med Food* 2005, 8:413–422
 51. RODRIGUEZ-AMAYA DB. Food carotenoids: Analysis, composition and alterations during storage and processing of foods. *Forum Nutr* 2003, 56:35–37
 52. BAUBLIS AJ, LU C, CLYDESDALE FM, DECKER EA. Potential of wheat-based breakfast cereals as a source of dietary antioxidants. *J Am Coll Nutr* 2000, 19(Suppl 3):308S–311S
 53. RIETVELD A, WISEMAN S. Antioxidant effects of tea: Evidence from human clinical trials. *J Nutr* 2003, 133:3285S–3292S
 54. MAIANI G, CASTÓN MJ, CATASTA G, TOTI E, CAMBRODÓN IG, BYSTED A ET AL. Carotenoids: Actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. *Mol Nutr Food Res* 2009, 53(Suppl 2):194–218
 55. CAO G, PRIOR RL. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clin Chem* 1998, 44:1309–1315
 56. EREL O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004, 37:277–285
 57. EREL O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem* 2004, 37:112–119
 58. JANASZEWSKA A, BARTOSZ G. Assay of total antioxidant capacity: Comparison of four methods as applied to human blood plasma. *Scand J Clin Lab Invest* 2002, 62:231–236
 59. RICE-EVANS CA. Measurement of total antioxidant activity as a marker of antioxidant status *in vivo*: Procedures and limitations. *Free Radic Res* 2000, 33(Suppl):S59–S66
- Corresponding author:*
- E. Limberaki, Department of Medical Laboratory Studies, Faculty of Health and Caring Professions, Alexander Technological Educational Institute of Thessaloniki, GR-574 00 Sindos, Thessaloniki, Greece
e-mail: evlimper@mls.teithe.gr