



Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Σχολή Επιστημών Φυσικής Αγωγής,
Αθλητισμού και Διαιτολογίας
Τμήμα Διαιτολογίας & Διατροφολογίας



ΤΜΗΜΑ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ
ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΟΛΟΓΙΑΣ

Πτυχιακή Εργασία

“Μελέτη της επίδρασης διατροφικής παρέμβασης με βάση τις αρχές της Μεσογειακής διατροφής στο οξειδωτικό στρες του αίματος ασθενών υπό φαρμακευτική αντιμετώπιση εξάρτησης από οπιοειδή με μεθαδόνη και βουπρενορφίνη”.

“Study of the effect of a nutritional intervention on the basis of Mediterranean diet on blood oxidative stress of patients with opioid-use disorders under opioid maintenance treatment with methadone and buprenorphine”.



Δήμητρα Ι. Καραφυλλάκη

Τρίκαλα, 2023

Επιτροπή

Βεσκούκης Αριστείδης (Επιβλέπων)

Επίκουρος Καθηγητής στην Οξειδοαναγωγική Βιολογία της Διατροφής και της Άσκησης,
Τμήμα Διαιτολογίας και Διατροφολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Κουρέτας Δημήτριος

Καθηγητής στη Φυσιολογία Ζωικών Οργανισμών – Τοξικολογία, Τμήμα Βιοχημείας και
Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες.....	5
Περίληψη.....	6
Abstract.....	7
1. Εισαγωγή.....	8
1.1 Ελεύθερες ρίζες.....	8
1.2 Παραγωγή Ελευθέρων Ριζών	8
1.2.1 Ενδογενείς πηγές παραγωγής Ελευθέρων Ριζών και ROS.....	10
1.2.2 Εξωγενείς πηγές παραγωγής Ελευθέρων Ριζών.....	12
1.3 Βιολογικές Δράσεις Ελευθέρων Ριζών	13
1.4 Αντιοξειδωτικά και ROS	14
1.4.1 Γλουταθειόνη.....	15
1.4.2 Βιοσύνθεση της Γλουταθειόνης.....	16
1.4.3 Προστατευτική και Αντιοξειδωτική Δράση της Γλουταθειόνης.....	17
1.5 Οξειδωτικό στρες.....	19
1.6 Θεραπεία υποκατάστασης οπιοειδών.....	21
1.6.1 Μεθαδόνη.....	21
1.6.2 Μεταβολισμός και μηχανισμός δράσης της μεθαδόνης.....	22
1.6.3 Βουπρενορφίνη.....	24
1.6.4 Μεταβολισμός της βουπρενορφίνης.....	25
1.7 Μεσογειακή Διατροφή.....	25
1.7.1 Οφέλη της Μεσογειακής Διατροφής.....	27
1.7.2 Μεσογειακή Διατροφή και Οξειδωτικό στρες.....	28
1.7.3 Μεσογειακή Διατροφή και Ντοπαμινεργική νευροδιαβίβαση.....	29
1.7.4 Μεσογειακή Διατροφή και Οπιοειδή.....	30
2. Σκοπός.....	30

3. Υλικά και Μέθοδοι.....	31
3.1 Σχεδιασμός της μελέτης.....	31
3.2 Παρέμβαση.....	32
3.3 Συλλογή και χειρισμός του αίματος.....	33
3.4 Φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός της συγκέντρωσης της γλουταθειόνης (GSH) στο ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα	33
3.5 Φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) στο ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα.....	35
3.6 Στατιστική ανάλυση.....	36
4. Αποτελέσματα.....	37
4.1 Γλουταθειόνη (GSH)	37
4.2 Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC).....	38
5. Συζήτηση.....	39
6.Συντομογραφίες.....	40
7. Βιβλιογραφία.....	41
7.1 Βιβλιογραφία στην Αγγλική.....	41
7.2 Βιβλιογραφία στην Ελληνική.....	53

Ευχαριστίες

Η παρούσα πτυχιακή εργασία πραγματοποιήθηκε στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, στο Τμήμα Διαιτολογίας και Διατροφολογίας, κατά το έτος 2023. Η ολοκλήρωση αυτής της πτυχιακής θα ήταν αδύνατη χωρίς την πολύτιμη βοήθεια του κ. Αριστείδη Σ. Βεσκούκη, Επίκουρου καθηγητή Οξειδοαναγωγικής Βιολογίας της Διατροφής και της Άσκησης. Του εκφράζω ένα μεγάλο ευχαριστώ για όλη τη βοήθεια, την υποστήριξη και τον πολύτιμο χρόνο που διέθεσε κατά τη διάρκεια εκπόνησης της πτυχιακής μου εργασίας. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον κ. Λεβεντέλη Χ. για την άριστη συνεργασία, τη φιλοξενία στους χώρους και τα εργαστήρια του ΟΚΑΝΑ και τους ασθενείς των Μονάδων Φαρμακευτικής Αντιμετώπισης Εξάρτησης του ΟΚΑΝΑ. Στο ίδιο πλαίσιο ευγνωμοσύνης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Κουρέτα Δ., καθηγητή Φυσιολογίας Ζωικών οργανισμών – Τοξικολογίας, για τη δυνατότητα που μου έδωσε να εκπονήσω την πτυχιακή μου εργασία στο εργαστήριο Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών, όπου απέκτησα γνώσεις, εμπειρία και ενδιαφέρον για το αντικείμενο. Οφείλω επίσης ένα μεγάλο ευχαριστώ στην κ. Μακρή Σωτηρίνα για την προθυμία, τη βοήθεια και τον πολύτιμο χρόνο που διέθεσε, για την ολοκλήρωση της πειραματικής διαδικασίας της πτυχιακής. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω πολύ τους γονείς μου και την αδερφή μου, οι οποίοι υπήρξαν πάντα ένα ανεκτίμητο στήριγμα για μένα και στους οποίους οφείλω όλη τη διαδρομή των σπουδών μου, μέχρι σήμερα.

Περίληψη

Η ανάπτυξη και η υιοθέτηση αποτελεσματικών θεραπειών για τη διαταραχή της χρήσης οπιοειδών αποτελούν επείγουσες ανάγκες της δημόσιας υγείας. Η εφαρμογή διατροφικών παρεμβάσεων με ευεργετικές επιδράσεις στους εξαρτημένους ασθενείς μπορούν να αποτελέσουν έναυσμα για τη βελτίωση της ψυχικής και σωματικής τους υγείας και κατ' επέκταση της ποιότητας ζωής τους. Η προστατευτική δράση της Μεσογειακής διατροφής έχει μελετηθεί εκτενώς και τα πιθανά οφέλη της είναι πολυεπίπεδα καθώς τα πολλά φυτοχημικά συστατικά της έχουν υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα με αποτέλεσμα να βελτιώνουν την οξειδοαναγωγική κατάσταση του αίματος και να αντιμετωπίζουν το οξειδωτικό στρες. Αξίζει να σημειωθεί ότι η αντιοξειδωτική άμυνα του αίματος των ασθενών που βρίσκονται υπό φαρμακευτική αντιμετώπιση της εξάρτησης από οπιοειδή είναι μειωμένη. Σκοπός, επομένως, της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της επίδρασης διατροφικής παρέμβασης με βάση τις αρχές της Μεσογειακής διατροφής στην αντιοξειδωτική ικανότητα του αίματος ασθενών που βρίσκονται υπό φαρμακευτική αντιμετώπιση της εξάρτησης από οπιοειδή με μεθαδόνη και βουπρενορφίνη. Στη μελέτη συμμετείχαν εθελοντικά ασθενείς-μέλη του Οργανισμού Κατά των Ναρκωτικών (ΟΚΑΝΑ). Χωρίστηκαν τυχαία σε δύο ομάδες και ειδικότερα την πειραματική ομάδα που αποτελούνταν από ασθενείς που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης με βουπρενορφίνη και μεθαδόνη ($n=7$ και $n=8$, αντίστοιχα) και στην ομάδα ελέγχου (7 ασθενείς υπό βουπρενορφίνη και 5 υπό μεθαδόνη). Η ομάδα παρέμβασης λάμβανε καθημερινά για 90 ημέρες τρία γεύματα με βάση τις αρχές της Μεσογειακής Διατροφής που ήταν ευγενική χορηγία της εταιρείας συστηματικής εστίασης *Γευσήνους*, ενώ στην ομάδα ελέγχου δεν εφαρμόστηκε καμία παρέμβαση. Αναφορικά με τα αποτελέσματα, βρέθηκε ότι οι ασθενείς υπό βουπρενορφίνη είχαν υψηλότερη συγκέντρωση του αντιοξειδωτικού γλουταθειόνη (GSH) των ερυθροκυττάρων σε σχέση με τους ασθενείς υπό μεθαδόνη, μετά τη χορήγηση της πειραματικής δίαιτας ($p=0,033$). Επίσης, παρατηρήθηκε μία τάση αύξησης ($p=0,063$) της συγκέντρωσης της GSH στους ασθενείς υπό μεθαδόνη στις 90 ημέρες μετά τη χορήγηση της πειραματικής δίαιτας σε σύγκριση με την έναρξη του πειράματος (ημέρα 1). Επιπλέον, οι ασθενείς υπό μεθαδόνη είχαν υψηλότερη ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (total antioxidant capacity, TAC) στο πλάσμα στις 90 ημέρες μετά τη χορήγηση της πειραματικής δίαιτας σε σύγκριση με την έναρξη του πειράματος (ημέρα 1) ($p=0,030$). Τα ευρήματα της μελέτης έδειξαν ότι η εξεταζόμενη διατροφική παρέμβαση βελτίωσε την αντιοξειδωτική ικανότητα του αίματος των ασθενών υπό μεθαδόνη. Συμπερασματικά, φαίνεται ότι η μελλοντική υιοθέτηση από τον ΟΚΑΝΑ για τους ασθενείς του ενός διατροφικού πλάνου βασισμένου στο μεσογειακό πρότυπο, θα μπορούσε ενδεχομένως να εντείνει την ευεργετική δράση των φαρμάκων που λαμβάνουν οι ασθενείς και κατ' επέκταση να βελτιώσει το οξειδωτικό στρες στο αίμα τους.

Λέξεις κλειδιά: Μεσογειακή διατροφή, οπιοειδή, οξειδωτικό στρες, γλουταθειόνη, ολική αντιοξειδωτική ικανότητα, μεθαδόνη, βουπρενορφίνη.

Abstract

The development and implementation of effective treatments for opioid use disorders (OUDs) are urgent public health needs. The implementation of nutritional interventions with beneficial effects on patients with OUDs could improve their mental and physical health and, thus, the quality of their lives. The protective effects of the Mediterranean diet have been extensively studied and its potential benefits are multifaceted since its numerous phytochemical components exert potent antioxidant capacity resulting in the improvement of blood redox status and in protection against oxidative stress. Noteworthy, the blood antioxidant defence of patients who are under medication-assisted treatment (MAT) of addiction to opioids is reduced. Therefore, the purpose of the present study was to investigate the effects of a nutritional intervention based on the principles of Mediterranean diet on the blood antioxidant capacity of patients who are under MAT with methadone and buprenorphine. Patients who are members of the Greek Organization Against Drugs (OKANA) voluntarily participated in the study. They were randomly divided into two groups, namely the experimental group consisting of patients in MAT with buprenorphine and methadone ($n=7$ and $n=8$, respectively) and the control group (7 patients under buprenorphine and 5 patients under methadone). The experimental group received daily for 90 days three meals based on the principles of the Mediterranean diet, which were kindly offered by the catering company *Gefsinous*, whereas no intervention was applied to the members of the control group. It was found that the patients under buprenorphine had a higher concentration of the antioxidant glutathione (GSH) in erythrocytes compared to the patients under methadone, after the administration of the experimental diet ($p=0.033$). Also, a trend ($p=0.063$) towards an increase of GSH concentration was observed in the patients under methadone 90 days after the administration of the experimental diet compared to the beginning of the experiment (day 1). In addition, the patients under methadone had higher total antioxidant capacity (TAC) in plasma 90 days after the administration of the experimental diet compared to day 1 ($p=0.030$). According to the findings of the present investigation, the examined nutritional intervention improved the antioxidant capacity of the blood of the patients under methadone. In conclusion, it appears that the future adoption of a nutritional plan based on the Mediterranean model by OKANA, could possibly intensify the beneficial effects of MAT on patients with OUDs, therefore helping them face oxidative stress in their blood.

Key words: Mediterranean diet, opioids, oxidative stress, glutathione, total antioxidant capacity, methadone, buprenorphine.

1. Εισαγωγή

1.1 Ελεύθερες Ρίζες

Ως ελεύθερη ρίζα ορίζεται ένα άτομο ή μόριο που διαθέτει ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική του στιβάδα και δύναται να υπάρξει αυτόνομα. Η παρουσία μη συζευγμένων ηλεκτρονίων καθιστούν τις ελεύθερες ρίζες ιδιαίτερα ασταθείς και δραστικές έναντι στα βιομόρια, όπως είναι οι πρωτεΐνες, τα λιπίδια και το DNA, και προσδίδει σε αυτές την ικανότητα διάσπασης ηλεκτρονίων, αποσκοπώντας στην επίτευξη της σταθερότητάς τους (Phaniendra et al. 2015, Powers & Jackson 2008). Χαρακτηριστικές ελεύθερες ρίζες είναι το ανιόν υπεροξειδίου (O_2^-), η ρίζα υπεροξυλίου ($ROO^\cdot$) και άλλες (Tanveer et al. 2023). Οι ελεύθερες ρίζες ανήκουν σε μια ευρύτερη κατηγορία ενώσεων που λέγονται δραστικές μορφές και περιλαμβάνουν, επίσης, και μόρια που χημικά δεν είναι ελεύθερες ρίζες. Ανάλογα με το κεντρικό τους άτομο, οι δραστικές μορφές διακρίνονται στις δραστικές μορφές οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS), τις δραστικές μορφές αζώτου (reactive nitrogen species, RNS) (Fragou et al. 2023). Μια καλά μελετημένη ROS είναι το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2). Οι ROS παράγονται ως παραπροϊόντα κατά τη διάρκεια διαφόρων κυτταρικών μεταβολικών αντιδράσεων, ειδικά στα μιτοχόνδρια.

Στην επιστημονική κοινότητα επικρατούσε η αντίληψη ότι οι ελεύθερες ρίζες αποτελούν επιβλαβείς βιολογικές οντότητες για το κύτταρο και κατ' επέκταση για έναν οργανισμό (Veskoukis 2020). Η άποψη αυτή υποστηρίχτηκε κυρίως από το εύρημα ότι οι ελεύθερες ρίζες αντιδρούν εύκολα με όλα τα βιολογικά μακρομόρια προκαλώντας οξειδωτική τροποποίηση και απώλεια λειτουργίας (Di Meo & Venditti 2020). Πλέον, είναι γνωστό ότι σε μέτρια βέλτιστες συγκεντρώσεις έχουν ευεργετικά αποτελέσματα καθώς συμμετέχουν σε διάφορες θεμελιώδεις φυσιολογικές λειτουργίες, όπως είναι η άμυνα έναντι παθογόνων, η κυτταρική σηματοδότηση και η γονιδιακή έκφραση (Valko et al. 2007). Ωστόσο, αυξημένες ή μειωμένες, δηλαδή μη βέλτιστες, συγκεντρώσεις ελεύθερων ριζών και ROS ενδέχεται να προκαλέσουν ανισορροπία σε βιοχημικές οδούς του κυττάρου, τοξικότητα και κατ' επέκταση οξειδωτικό στρες (Liu and Mabury 2020, Zeb 2020).

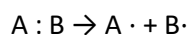
1.2 Παραγωγή Ελευθέρων Ριζών

Οι ROS εμφανίζονται στους ζωντανούς οργανισμούς κατά τη διάρκεια του φυσιολογικού κυτταρικού μεταβολισμού και μπορούν να είναι επιβλαβείς για καθοριστικά βιομόρια, συμπεριλαμβανομένων των λιπιδίων, των υδατανθράκων, των νουκλεϊκών οξέων και των πρωτεϊνών (Cetin Cakmak & Gülçin 2019). Η παραγωγή ελεύθερων ριζών αποτελεί απόκριση τόσο εξωγενών όσο και ενδογενών ερεθισμάτων (Εικόνα 1). Οι κύριες ενδογενείς πηγές είναι τα μιτοχόνδρια, οι οξειδάσες του NADPH, το κυτόχρωμα P450 και η οξειδάση ξανθίνης (Halliwell & Gutteridge 2015, Zhang et al. 2023). Στους εξωγενείς παράγοντες συγκαταλέγονται η υπερϊώδης ακτινοβολία, η ρύπανση του περιβάλλοντος, το κάπνισμα, η κατάχρηση αλκοόλ, τα βαρέα μέταλλα και η ποιότητα ζωής (Madhu et al. 2022, Ruzza et al. 2021). Σε υγιείς οργανισμούς υπάρχει μία λεπτή ισορροπία μεταξύ της παραγωγής και της

απομάκρυνσης των ελεύθερων ριζών, η οποία εγγυάται ότι παραμένουν σε επαρκείς συγκεντρώσεις (Çalışkan & Çalışkan 2018).

Είναι γνωστό ότι οι ελεύθερες ρίζες σχηματίζονται μέσω τριών διαφορετικών μηχανισμών:

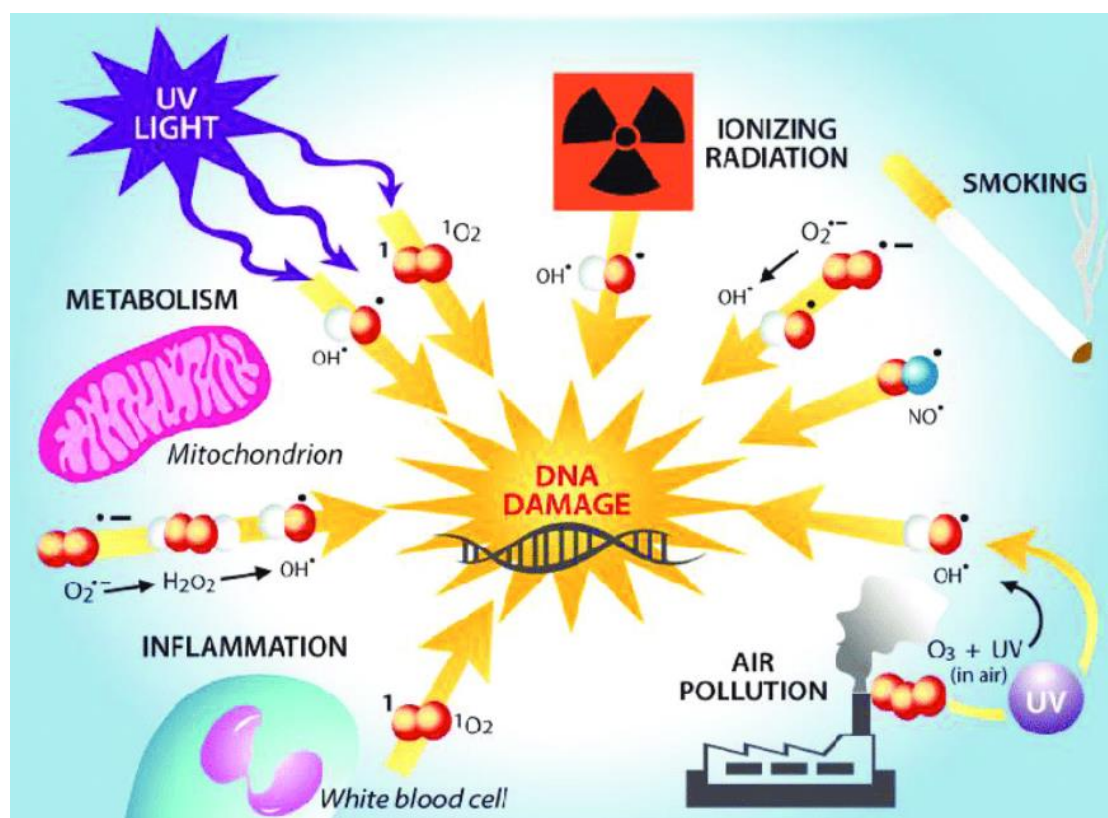
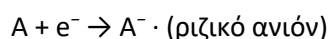
1) Ομολυτική διάσπαση: Πρόκειται για τη διάσπαση του ομοιοπολικού δεσμού ενός μορίου αφήνοντας ένα από τα κοινά ηλεκτρόνια σε κάθε θραύσμα.



2) Ετερολυτική διάσπαση: Η διάσπαση του δεσμού πραγματοποιείται με μη συμμετρικό τρόπο σχηματίζοντας έτσι δύο ιόντα, ένα θετικά και ένα αρνητικά φορτισμένο.



3) Μεταφορά ηλεκτρονίων: Πρόκειται για την προσθήκη ή την αφαίρεση ηλεκτρονίων από μη ριζικό μόριο και αποτελεί τον πιο κοινό μηχανισμό σχηματισμού ηλεκτρονίων.



Εικόνα 1: Πηγές ελεύθερων ριζών που προκαλούν οξειδωτικό στρες (Zamora & Villamena 2020)

1.2.1 Ενδογενείς πηγές παραγωγής Ελευθέρων Ριζών και ROS

A) Οξειδωτική φωσφορυλίωση

Η ενζυμική ή μη ενζυμική δημιουργία ROS είναι εφικτό να πραγματοποιηθεί σε διάφορα κυτταρικά διαμερίσματα, επί παραδείγματι στα μιτοχόνδρια, το ενδοπλασματικό δίκτυο, τα υπεροξεισώματα και τα λυσοσώματα (Malard et al. 2021). Εντούτοις, η πλειοψηφία αυτών δημιουργείται στα μιτοχόνδρια, κυτταρικά οργανίδια υπεύθυνα για τη διατήρηση της κυτταρικής βιοενέργειας μέσω της παραγωγής τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP), η οποία αποτελεί την πιο σημαντική λειτουργία των μιτοχονδρίων (Harrington et al., 2023). Οι ROS σχηματίζονται κυρίως στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETC) κατά την παραγωγή ATP (Nissanka & Moraes 2018, Tirichen et al. 2021, Wu et al. 2023). Η ETC αποτελείται από τέσσερα πρωτεϊνικά συμπλέγματα, το σύμπλοκο της δεϋδρογενάσης (NADH) (I), το σύμπλοκο ηλεκτρικής δεϋδρογενάσης, το σύμπλεγμα αναγωγάσης κυτοχρώματος c (III), το σύμπλεγμα οξειδάσης κυτοχρώματος c (IV) και δύο ελεύθερα διερχόμενα μόρια, την ουβοκινόνη και το κυτόχρωμα c, που μεταφέρουν ηλεκτρόνια μέσω αντιδράσεων οξειδοαναγωγής. Στην ETC υπάρχουν δύο οδοί μεταφοράς ηλεκτρονίων, και συγκεκριμένα το σύμπλεγμα I,III και IV, με NADH ως υπόστρωμα και το σύμπλοκο II,III και IV, με ηλεκτρικό οξύ ως υπόστρωμα. Η ροή ηλεκτρονίων στην ETC συνδέεται με τη δημιουργία μίας βαθμίδωσης πρωτονίων κατά μήκος της εσωτερικής μεμβράνης και η ενέργεια που συσσωρεύεται χρησιμοποιείται από τη συνθήση του ATP για την παραγωγή ATP (Zhao et al. 2019). Απώτερος στόχος των ηλεκτρονίων που βρίσκονται στην ETC είναι τα μόρια οξυγόνου (O_2). Υπό κανονικές συνθήκες, τα μόρια O_2 ανάγονται ώστε να παράγουν νερό. Ωστόσο, ορισμένα ηλεκτρόνια ανάγουν το O_2 δημιουργώντας έτσι ROS.

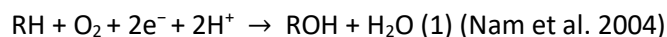
B) Οξειδάσες του NADPH

Η οξειδάση NADPH (NOX) είναι ένα ενζυμικό σύμπλεγμα πολλαπλών υπομονάδων που συμμετέχουν στη δημιουργία O_2^- , H_2O_2 και HOCl, διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο σε διάφορες βιολογικές λειτουργίες. Στην οικογένεια NOX περιλαμβάνονται επτά ισομορφές (NOX1, NOX2, NOX3, NOX4, NOX5, DUOX1, DUOX2) που μοιράζονται δομικές ομοιότητες, αλλά διαφέρουν ανάλογα με την κατανομή των ιστών και τα ρυθμιστικά συστήματα (Nocella et al. 2023). Τα ένζυμα αυτά εντοπίζονται σε φαγοκύτταρα, όπως τα ουδετερόφιλα, τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα, καθώς και στα ενδοθηλιακά και τα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα. Οι ROS παράγονται από τις παραπάνω ισομορφές όταν τα φαγοκύτταρα αλληλεπιδράσουν με παθογόνους μικροοργανισμούς, προκαλώντας αύξηση της κατανάλωσης O_2 , ώστε να επιτευχθεί η εξουδετέρωσή τους. Συγκεκριμένα, το O_2^- παράγεται όταν οι NOX μεταφέρουν ηλεκτρόνια από τις NADPH σε ομάδες αίμης, δινουκλεοτίδια αδενίνης φλαβίνης (FAD) και τελικά στο μοριακό οξυγόνο (Sofiullah et al. 2023).

Γ) Κυτόχρωμα P450

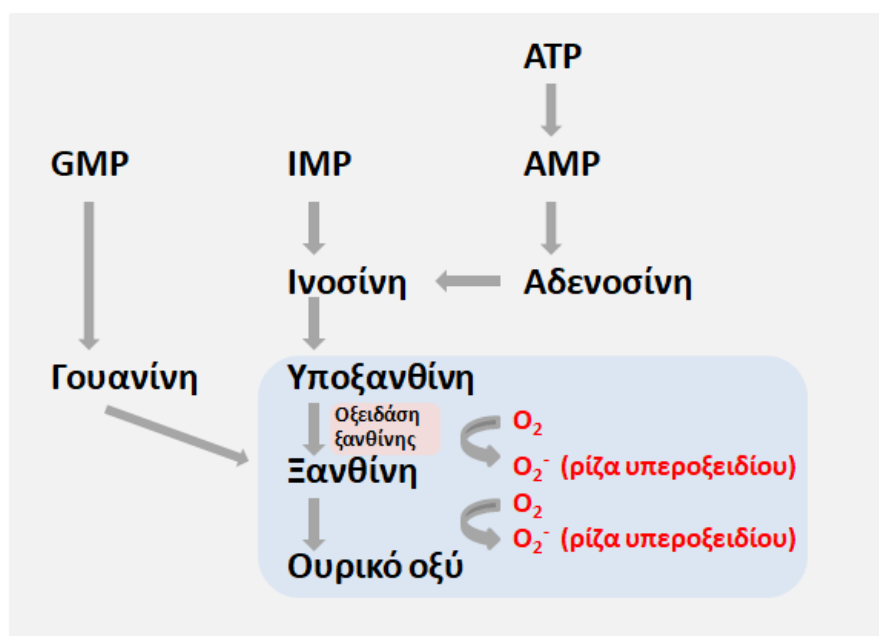
Το κυτόχρωμα P450 (CYP4) ανήκει σε μια οικογένεια ενζύμων υπεύθυνων για την οξείδωση των ενδογενών λιπαρών οξέων και των εικοσανοειδών, κατέχοντας κρίσιμο ρόλο στη

ρύθμιση πολλών οδών σηματοδότησης των εικοσανοειδών (Zhou et al. 2023). Η παρακάτω εξίσωση (1) καταλύεται από το CYP4 οδηγώντας στον σχηματισμό ROS.



Δ) Οξειδάση ξανθίνης

Η οξειδάση της ξανθίνης είναι ένα ένζυμο ευρέως καταμεμημένο στη φύση που κατέχει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό των πουρινών, καταλύοντας την οξειδωτική υδροξυλίωση της υποξανθίνης σε ξανθίνη και της ξανθίνης σε ουρικό οξύ (Hille 2023). Η ξανθίνη αποτελεί προϊόν διάσπασης από τη φωσφορική γουανοσίνη (guanosine phosphate, GMP) και η υποξανθίνη από τη μονοφωσφορική αδενοσίνη (adenosine monophosphate, AMP) και τη μονοφωσφορική ινοσίνη (inosine monophosphate, IMP). Στον ανθρώπινο οργανισμό, όταν η υποξανθίνη οξειδώνεται σε ουρικό οξύ σε δύο στάδια μέσω της ξανθίνης από το ένζυμο οξειδάση της ξανθίνης, παράγεται O_2^- (Saugstad 2023). Τα κύρια στάδια σχηματισμού ουρικού οξέως και κατ' επέκταση παραγωγής O_2^- παρουσιάζονται παρακάτω (Σχήμα 1).



Σχήμα 1: Παραγωγή ριζών υπεροξειδίου (O_2^-). ATP (Adenosine triphosphate): τριφωσφορική αδενοσίνη, GMP (Guanosine phosphate): φωσφορική γουανοσίνη, IMP (Inosine monophosphate): μονοφωσφορική ινοσίνη, AMP (Adenosine monophosphate): μονοφωσφορική αδενοσίνη.

1.2.2 Εξωγενείς πηγές παραγωγής Ελευθέρων Ριζών

A) Υπεριώδης ακτινοβολία

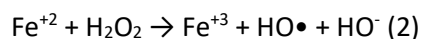
Η υπεριώδης ακτινοβολία βλάπτει έμμεσα το δέρμα οδηγώντας στη δημιουργία ROS. Οι ROS που παράγονται από διάφορους ενδογενείς φωτοευαίσθητοποιητές θεωρούνται ως μία από τις κύριες αποκρίσεις της βλάβης του δέρματος που προκαλείται από την υπεριώδη ακτινοβολία (Dong et al. 2023, Karran & Brem 2016). Το οξειδωτικό στρες που προκαλείται από την υπεριώδη ακτινοβολία μειώνει τον εσωτερικό μηχανισμό αντιοξειδωτικής άμυνας, που ακολουθείται από την αύξηση των ROS τόσο στην επιδερμίδα όσο και στο χόριο, έχοντας ως αποτέλεσμα την έναρξη των παθολογιών που σχετίζονται με τη φωτογήρανση (Tanveer et al. 2023).

B) Κάπνισμα

Παράγοντας ενίσχυσης της βλαπτικής ιδιότητας των ROS αποτελεί ο καπνός του τσιγάρου. Ο καπνός του τσιγάρου περιέχει μια ποικιλία ενώσεων, όπως νικοτίνη, πίσσα, μονοξείδιο του άνθρακα και πολυκυκλικές αρωματικές ενώσεις, οδηγώντας στην αύξηση των ROS και κατ' επέκταση σε κυτταρική απόπτωση (Su et al. 2023). Η έκθεση του οργανισμού στις ουσίες αυτές μπορεί να προκαλέσει οξειδωτική βλάβη στα κύτταρα επηρεάζοντας τη φυσιολογική τους λειτουργία (Marinucci et al. 2022).

Γ) Διατροφή

Η τοξικότητα που προκαλείται από βαρέα μέταλλα έχει αποδειχθεί ότι αποτελεί σημαντικό κίνδυνο για τον άνθρωπο δημιουργώντας πολλά προβλήματα υγείας (Tahir & Alkheraije 2023). Αξίζει να σημειωθεί ότι ορισμένα μέταλλα, όπως το αλουμίνιο (Al), δύνανται να αποβληθούν μέσω διαδικασιών απομάκρυνσης, ωστόσο άλλα μέταλλα όπως ο μόλυβδος (Pb), το αρσενικό (As) και το κάδμιο (Ca) συσσωρεύονται στο σώμα και κατ' επέκταση εισέρχονται στην τροφική αλυσίδα μέσω της γεωργικής και βιομηχανικής δραστηριότητας, οδηγώντας σε χρόνια τοξικότητα (Vanisree C.R. et al. 2022). Τα βαρέα μέταλλα προκαλούν τον σχηματισμό νέων ριζών κι έτσι δρουν ως προοξειδωτικά. Επίσης, η υπερβολική αύξηση του ενδοκυτταρικού σιδήρου μέσω της αντίδρασης Fenton, μπορεί να οδηγήσει στον σχηματισμό ενεργών ειδών οξυγόνου (ROS) (Babaei-Abraki et al. 2023). Η εξίσωση (2) παρουσιάζει την αντίδραση Fenton, όπου ιόντα δισθενούς σιδήρου (Fe^{+2}) αντιδρούν με υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2).



Πιο συγκεκριμένα η αντίδραση Fenton είναι μια σειρά αλυσιδωτών αντιδράσεων όπου περιλαμβάνονται αντιδράσεις υπεροξειδίων με τον σίδηρο παράγοντας έτσι ρίζες υδροξυλίου. Τέλος, ελεύθερες ρίζες μπορούν να δημιουργηθούν από τοξίνες που περιέχονται σε ποικίλα εντομοκτόνα, χημικά λιπάσματα και εντομοκτόνα. Με την κατανάλωση διάφορων τροφίμων, όπως φρούτων και λαχανικών, οι ουσίες αυτές

εισέρχονται απευθείας στον οργανισμό, προκαλώντας πρόωρη γήρανση, εκφυλιστικές ασθένειες και επιβαρύνοντας καρδιαγγειακές νόσους (Rahaman et al. 2023).

1.3 Βιολογικές Δράσεις Ελευθέρων Ριζών

Οι ελεύθερες ρίζες έχουν διττή επίδραση, καθώς συμβάλλουν στην επιτέλεση σημαντικών κυτταρικών λειτουργιών, αλλά έχουν συσχετιστεί και με παθολογικές καταστάσεις εάν σημειωθεί ανισορροπία μεταξύ ελευθέρων ριζών και της αντιοξειδωτικής τους άμυνας.

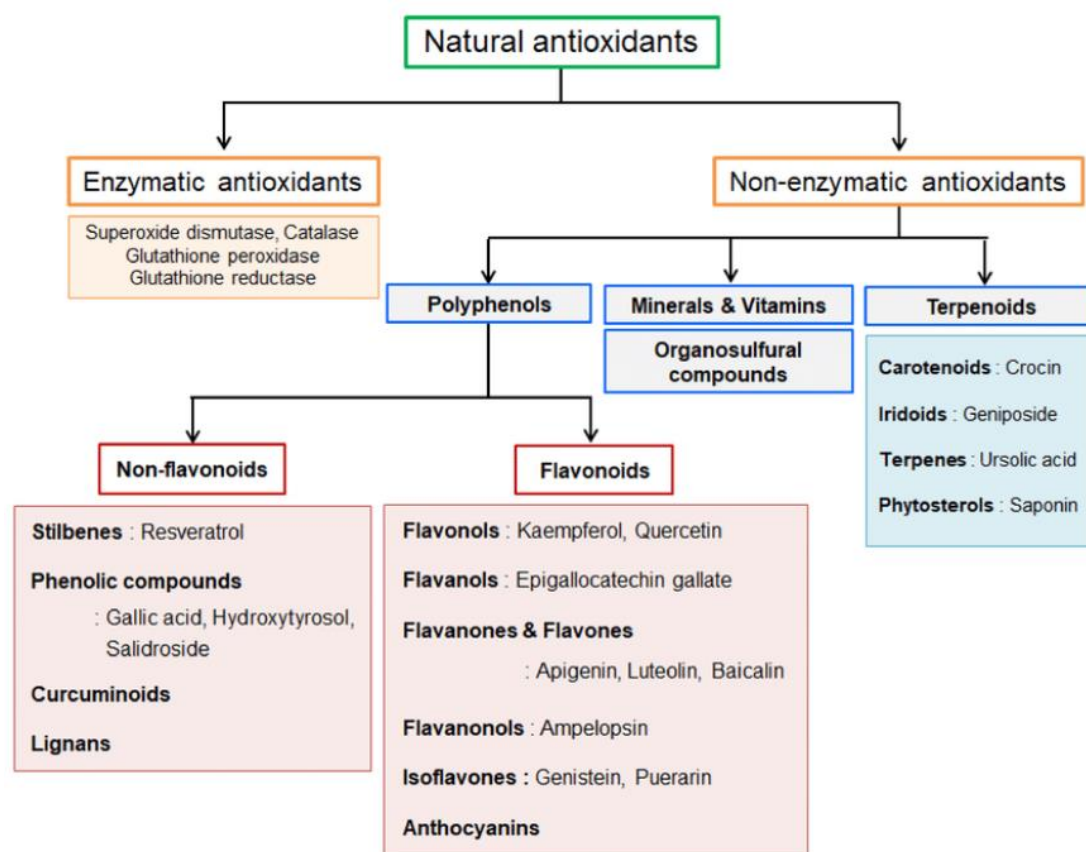
Την τελευταία δεκαετία είναι πλέον γνωστό ότι οι ζωντανοί οργανισμοί έχουν αναπτύξει μηχανισμούς χρησιμοποίησης των ελευθέρων ριζών προς όφελος της φυσιολογικής τους λειτουργίας, αποτελώντας κρίσιμους μεσολαβητές της φυσιολογικής κυτταρικής λειτουργίας (Zamora & Villamena 2020). Τόσο οι ROS, όσο και RNS, κατέχουν σημαντική θέση στη ρύθμιση αρκετών ενδοκυτταρικών μηχανισμών και συμβάλλουν σε διάφορα μονοπάτια κυτταρικής σηματοδότησης τα οποία εμπλέκονται στην προσαρμογή των μυών (Kerksick & Zuhl 2015). Η δημιουργία των ROS και RNS στους μύες, κατά τη διάρκεια της άσκησης, αποτελεί ένα ευρέως αποδεκτό φαινόμενο (Kolodziej & O'Halloran 2021). Κατά τη διάρκεια μυϊκής άσκησης, η μικρή αύξηση της παραγωγής των ROS που έχει παρατηρηθεί, συμβάλλει στη ρύθμιση της οξειδοαναγωγικής σηματοδότησης, προάγοντας την έκφραση γονιδίων και οδηγώντας στην αύξηση οξειδωτικών φαινοτύπων των σκελετικών μυών (Kolodziej & O'Halloran, 2021, Powers et al. 2011). Επιπλέον, λειτουργίες των ελευθέρων ριζών αποτελούν η ρύθμιση του αγγειακού τόνου, η ανοσολογική απόκριση και η ενίσχυση της διαβιβαστικής λειτουργίας, η οποία συμβάλλει στη λειτουργία των υποδοχέων των T-λεμφοκυττάρων (Paragalanis 2014).

Απεναντίας, οι ελεύθερες ρίζες, ιστορικά θεωρούμενες επικίνδυνες, είχαν την ευθύνη ως δράστες πολλαπλών παθοφυσιολογικών καταστάσεων, όπως καρδιαγγειακές παθήσεις, φλεγμονές, κληρονομικές ασθένειες, γήρανση και άλλες ασθένειες (Varela & Farhana 2023). Οι υψηλές ή χαμηλές συγκεντρώσεις ελευθέρων ριζών φαίνεται ότι καθίστανται επιζήμιες για το κύτταρο και κατ' επέκταση για τον οργανισμό, χωρίς ωστόσο τα ερευνητικά δεδομένα να είναι ξεκάθαρα (Veskoukis et al. 2020). Έχει αποδειχτεί ότι οι μειωμένες συγκεντρώσεις ROS σε παιδιά με άσθμα μπορεί να θεωρηθούν ως πιθανός δείκτης της σοβαρότητας του άσθματος (Makieieva et al. 2023). Επιπροσθέτως, η περίσσεια ελευθέρων ριζών είναι πιθανό να οδηγήσει σε νευροεκφυλισμό και νευρωνική βλάβη, η οποία σχετίζεται με διαταραχές της διάθεσης (Lai et al. 2023). Στο πλαίσιο αυτό αξίζει να σημειωθεί ότι η υπέρμετρη παραγωγή ROS μπορεί, επίσης, να αυξήσει την παραγωγή πρωτεϊνικών συσσωματωμάτων συνεπάγοντας στην επιδείνωση των νευροεκφυλιστικών νόσων (van Dam & Dansen 2020). Επιπροσθέτως, το οξειδωτικό στρες που προκύπτει από την απορρυθμισμένη παραγωγή ROS φαίνεται ότι οδηγεί σε βλάβες στον μηχανισμό της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης, προκαλώντας ανισορροπία στο δυναμικό οξειδοαναγωγής των μιτοχονδρίων και σημαντική απώλεια των μιτοχονδριακών λειτουργιών συνεπάγοντας μειωμένη παραγωγή ATP (Annesley & Fisher 2019, Makinde et al. 2023). Τέλος, οι ROS συχνά πυροδοτούν την κυτταρική απόπτωση προκαλώντας δομικές αλλαγές, κατακερματισμό και ρήξη του συστήματος της μιτοχονδριακής μεμβράνης, συνεπάγοντας τον κυτταρικό θάνατο (Chen et al. 2018). Ωστόσο, η μελατονίνη που συγκεντρώνεται σε

μεγάλο βαθμό στα μιτοχόνδρια προστατεύει τις πρωτεΐνες, τα λιπίδια και το DNA από την οξειδωτική βλάβη που προκαλείται από τις ελεύθερες ρίζες (Ahmad et al. 2023).

1.4 Αντιοξειδωτικά και ROS

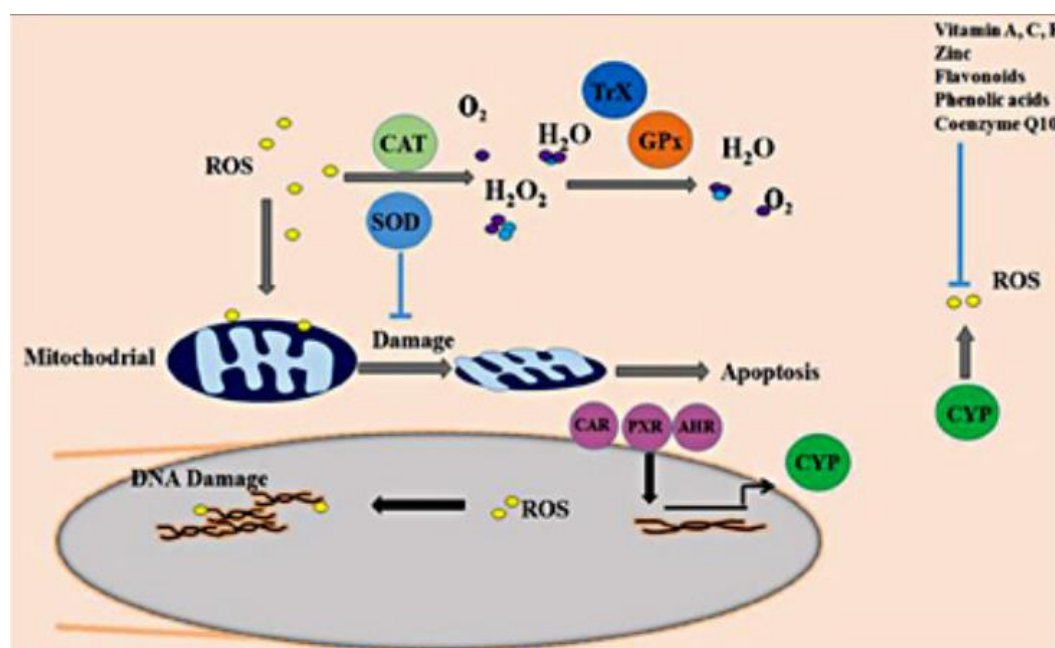
Τα αντιοξειδωτικά κατηγοριοποιούνται σε δύο κατηγορίες, στα αντιοξειδωτικά με ενζυμική και μη ενζυμική δράση (Εικόνα 4) (Averill-Bates 2023). Τα ενζυμικά αντιοξειδωτικά παράγονται ενδογενώς στο σώμα μας, ενώ κάποια υπάρχουν και στις τροφές, τα μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά είναι συστατικά πολλών φρούτων και λαχανικών κατά κύριο λόγο, ωστόσο αρκετά παράγονται και ενδογενώς (Lee and Im 2021). Πιο συγκεκριμένα και ενδεικτικά, τα ενδογενή ενζυμικά αντιοξειδωτικά αποτελούνται από την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, τη δισμουτάση του υπεροξειδίου και την καταλάση, ενώ τα μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά είναι το ουρικό οξύ, το λιποϊκό οξύ, η χολερυθρίνη, η γλουταθειόνη και η μετατονίνη (Neha et al. 2019). Στα αντιοξειδωτικά με μη ενζυμική δράση συγκαταλέγονται η βιταμίνη C, η βιταμίνη E, οι φυτικές πολυφαινόλες, τα καροτενοειδή και η γλουταθειόνη.



Εικόνα 4: Ταξινόμηση των φυσικών αντιοξειδωτικών (Lee and Im 2021).

Τα αντιοξειδωτικά εξουδετερώνουν τις ελεύθερες ρίζες και διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στη διατήρηση των καλύτερων κυτταρικών λειτουργιών (Neha et al. 2019). Η έντονη παραγωγή τους μπορεί να προκαλέσει βλάβες στο DNA και στα μιτοχόνδρια. Η παραγωγή αυτή έχει συνδεθεί με τη δραστηριότητα των ενζύμων του κυτοχρώματος P450 (CYP), η οποία διαμεσολαβείται από τους ξενικούς υποδοχείς υποδοχέα αρυλικών

υδρογονανθράκων (AhR), τον υποδοχέα εγκυμοσύνης X (PXR) και τον συστατικό υποδοχέα ανδροστάνης (CAR). Τα ενζυμικά αντιοξειδωτικά, που αναφέρονται παραπάνω, μπορούν να δράσουν άμεσα ή έμμεσα καταλύοντας τις ROS για την προστασία των κυττάρων. Απεναντίας, τα μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά μπορούν να εξουδετερώσουν την οξειδωτική επίδραση με την προώθηση αντιοξειδωτικών ενζύμων ή την άμεση επεξεργασία της οξειδωτικής αλυσιδωτής αντίδρασης (He et al. 2017). Τέλος, τόσο το ενζυμικό όσο και το μη ενζυμικό αντιοξειδωτικό σύστημα είναι απαραίτητα για την κυτταρική απόκριση προκειμένου να αντιμετωπιστεί το οξειδωτικό στρες υπό φυσιολογικές συνθήκες. Ως εκ τούτου, τα αντιοξειδωτικά ένζυμα όπως η CAT, η SOD και η GSH-Px και οι μη ενζυμικοί υποδοχείς ηλεκτρονίων όπως η GSH επηρεάζονται και χρησιμοποιούνται ως δείκτες για την αξιολόγηση του επιπέδου του οξειδωτικού στρες (Li et al. 2015). Τέλος, αποτελέσματα από πειράματα σε ζώα έχουν δείξει ότι ο λόγος GSH προς GSSG (GSH/GSSG) στο πλάσμα μειώνεται ως απόκριση στο ιστικό οξειδωτικό στρες (J D Adams et al. 1983). Συνεπώς, η GSH/GSSG μπορεί να είναι προτιμότερη από την GSH ή την GSSG από μόνη της ως συνολικός δείκτης της οξειδοαναγωγικής κατάστασης και, ως εκ τούτου, χρησιμοποιείται ως δείκτης οξειδωτικού στρες (Jones 2002).

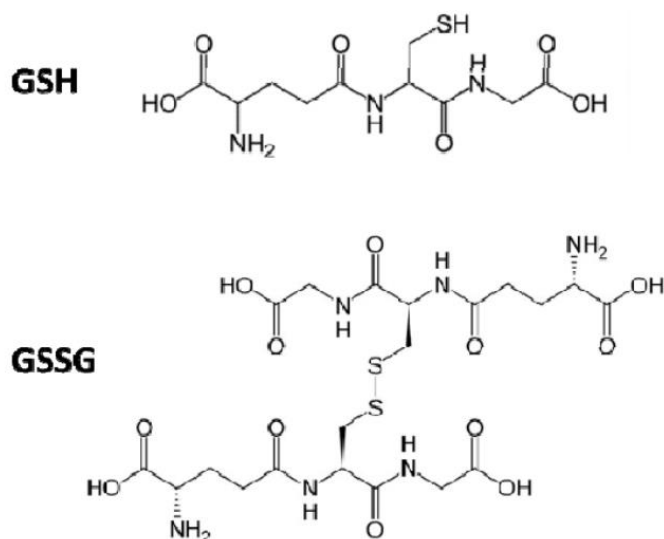


Εικόνα 5: Παραγωγή των ROS και δράση των αντιοξειδωτικών (He et al. 2017).

1.4.1 Γλουταθειόνη

Η ιστορία της γλουταθειόνης (glutathione, GSH) ξεκινάει το 1888, όταν ο de Rey-Pailhade περιέγραψε μια ουσία που είχε την ιδιότητα να ανάγει το θείο (S) σε υδρόθειο (H₂S) σε εκχυλίσματα μαγιάς και την ονόμασε "φιλόθειον" (De Rey-Pailhade 1888). Έκτοτε ακολούθησαν αρκετές έρευνες σχετικά με τη σύνθεση της γλουταθειόνης, έως το 1921 όταν

ο Άγγλος βιοχημικός Frederick G. Hopkins απομόνωσε ένα διπεπτίδιο που περιείχε γλουταμινικό οξύ (glutamic acid, Glu) και κυστεΐνη (cysteine, Cys) από μαγιά και ζωικούς ιστούς και το ονόμασε "γλουταθειόνη" (Hopkins 1921). Πλέον είναι γνωστό ότι η GSH είναι ένα μικρό τριπεπτίδιο που βρίσκεται σε χιλιοστομοριακές συγκεντρώσεις σε όλα σχεδόν τα ευκαρυωτικά κύτταρα καθώς και σε πολλά προκαρυωτικά (Oestreicher & Morgan 2019). Αποτελεί ένα σημαντικό αντιοξειδωτικό που διατηρεί την ομοιόσταση των οξειδοαναγωγικών καταστάσεων στα κύτταρα και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση των φυσιολογικών λειτουργιών όλων των κυττάρων *in vivo* (Aoyama 2021). Η GSH ανήκει στην κατηγορία των αντιοξειδωτικών με μη-ενζυμική δράση μετατρέποντας το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) σε μη τοξικά προϊόντα (Cox et al. 2009). Είναι μία από τις ενδογενείς ουσίες που εμπλέκονται στον μεταβολισμό ενδογενών (π.χ. οιστρογόνα, λευκοτριένια, προσταγλανδίνες) και εξωγενών ενώσεων (π.χ. φάρμακα, ξеноβιοτικά που δεν παράγουν ενέργεια) (Dickinson & Forman 2002). Εμφανίζεται σε δύο ελεύθερες μορφές, την ανηγμένη (GSH) θειολική και την οξειδωμένη δισουλφιδική μορφή (glutathione disulfide, GSSG) (Εικόνα 6) (Vašková et al. 2023). Σε ένα κύτταρο η GSH συναντάται κατά 98 έως 99% στην ανηγμένη της μορφή, ενώ το υπόλοιπο ποσοστό είναι με τη μορφή GSSG ή ως μικτά δισουλφίδια (Kern & Kehrer 2005).

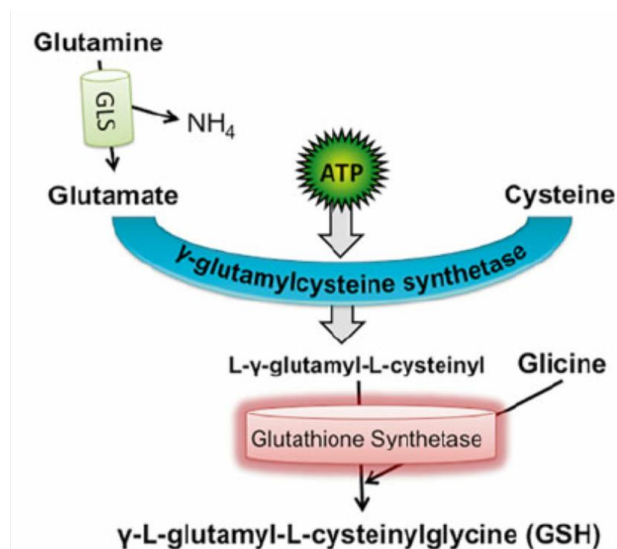
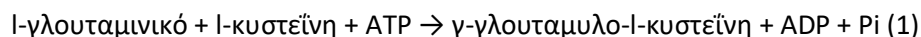


Εικόνα 6: Χημικές δομές της γλουταθειόνης (GSH) και του δισουλφιδίου της γλουταθειόνης (GSSG) (Bertoni et al. 2019).

1.4.2 Βιοσύνθεση της Γλουταθειόνης

Η GSH βιοσυντίθεται στο κυτταρόλυμα σχεδόν σε όλα τα κύτταρα από τρία αμινοξέα, το γλουταμινικό οξύ, τη γλυκίνη και την κυστεΐνη, σε αντιδράσεις που καταλύονται από δύο ένζυμα, τη συνθετάση της γ-γλουταμυλοκυστεΐνης και τη συνθετάση της GSH (Εικόνα 7) (Meister & Anderson, 1983, Pearson & Cowan 2021). Τα ευκαρυωτικά κύτταρα συνθέτουν την GSH με τις διαδοχικές δράσεις των ενζύμων γ-γλουταμινικό-κυστεϊνικό λιγάση (GCL) και συνθετάση της GSH που εντοπίζονται στο κυτταρόλυμα (Wang et al. 2021). Ωστόσο, η GSH

εντοπίζεται και σε αρκετά οργανίδια του κυττάρου, όπως στον πυρήνα, τα μιτοχόνδρια, το ενδοπλασματικό δίκτυο και τα υπεροξεισώματα (Hwang et al. 1992). Συγκεκριμένα, τα μιτοχόνδρια, το πιο οξειδοαναγωγικά ενεργό οργανίδιο, περιέχουν το 10-15% της συνολικής κυτταρικής GSH (Deneke and Fanburg, 1989). Η σύνθεση της GSH περιλαμβάνει δύο ενζυμικά στάδια που απαιτούν ATP:

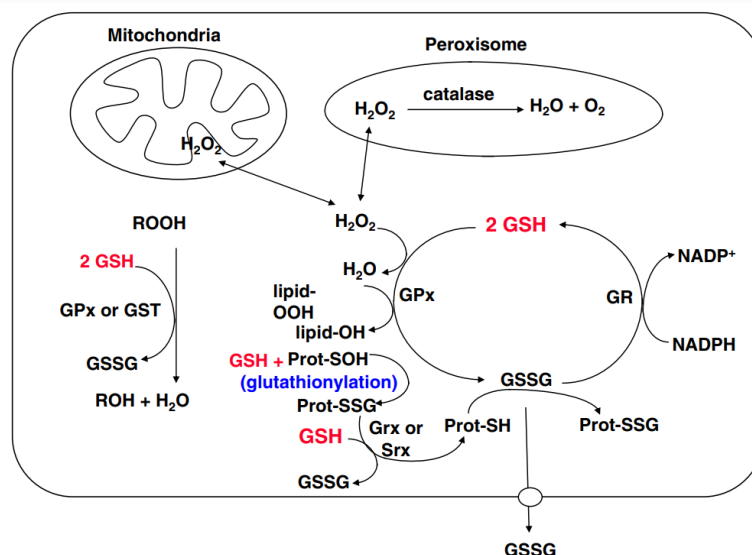


Εικόνα 7: Το μονοπάτι σύνθεσης της γλουταθειόνης (GSH) που περιλαμβάνει τρία αμινοξέα ως πρόδρομες ουσίες, κυστεΐνη, γλυκίνη και γλουταμινικό οξύ, τα οποία μπορούν να παραχθούν με την υδρόλυση της γλουταμίνης (Cruzat & Tirapegui 2015).

1.4.3 Προστατευτική και Αντιοξειδωτική Δράση της Γλουταθειόνης

Οι εκτιμήσεις για τις αντιοξειδωτικές λειτουργίες στην πρόληψη του οξειδωτικού στρες εξακολουθούν να επισκιάζουν μεγάλο μέρος της τρέχουσας φιλοσοφίας και κατανόησης της σημασίας της GSH στα ζώα και τα φυτά. Η γλουταθειόνη αποτελεί την πιο άφθονη ένωση θειόλης χαμηλού μοριακού βάρους που συντίθεται στα κύτταρα κατέχοντας κρίσιμο ρόλο στην προστασία των κυττάρων από την οξειδωτική βλάβη, στην αποτοξίνωση και την αντιοξείδωση εξωγενών και ενδογενών ενώσεων, καθώς και την τοξικότητα των ξενοβιοτικών και στη διατήρηση της οξειδοαναγωγικής ομοιόστασης (Dringen 2000, Forman et al. 2009). Απεναντίας, οι ROS μπορούν να τροποποιήσουν τις κυτταρικές λειτουργίες και το οξειδωτικό στρες μπορεί να διαταράξει το ενδοκυττάριο περιβάλλον, με αποτέλεσμα την εμφάνιση ασθενών κυττάρων ή να θέσει σε κίνδυνο την επιβίωση των κυττάρων (Adeoye et al. 2018). Η GSH είναι ένα από τα σημαντικότερα ενδογενή αντιοξειδωτικά που συμμετέχουν άμεσα στην εξουδετέρωση των ελεύθερων ριζών και των ROS, καθώς και στη διατήρηση των εξωγενών αντιοξειδωτικών, όπως οι βιταμίνες C και E,

στις ανηγμένες, βιολογικά ενεργές μορφές τους (Dringen 2000). Ο ρόλος της ενδογενούς GSH είναι απαραίτητος για την προστασία των θειολικών ομάδων των πρωτεϊνών από οξειδωτικές βλάβες προκειμένου να διατηρηθεί η ενζυμική δραστηριότητα (Cardoso et al. 1998). Μικρές μεταβολές στην ενδοκυττάρια GSH σε απόκριση σε οξειδωτικό στρες έχουν αντίκτυπο στην GSSG προκαλώντας επιπτώσεις στην οξειδοαναγωγική σηματοδότηση των κυττάρων που εξαρτώνται από τη θειόλη (Kern & Kehrer 2005). Η αντιοξειδωτική λειτουργία της GSH επιτυγχάνεται σε μεγάλο βαθμό με αντιδράσεις που καταλύονται από την υπεροξειδάση της GSH (GPx) (Εικόνα 8). Η GPx ελαττώνει το υπεροξείδιο του υδρογόνου και το υπεροξείδιο των λιπιδίων, καθώς η GSH οξειδώνεται σε GSSG (Lu 2013). Στη συνέχεια η GSSG ανάγεται σε GSH από την αναγωγάση GSSG, δημιουργώντας έναν οξειδοαναγωγικό κύκλο (Lu 2009). Τα οργανικά υπεροξείδια μπορούν να αναχθούν από την GPx και την GSH S-τρανσφεράση. Η καταλάση μπορεί επίσης να μειώσει το υπεροξείδιο του υδρογόνου, ωστόσο υπάρχει μόνο στο υπεροξείδιο. Το γεγονός αυτό καθιστά την GSH ιδιαίτερα σημαντική στα μιτοχόνδρια για την άμυνα έναντι τόσο του φυσιολογικά (eustress) όσο και του παθολογικά παραγόμενου οξειδωτικού στρες (distress) (Fernández-Checa et al. 1997, Garcia-Ruiz & Fernandez-Checa 2006). Το κυτταρικό δυναμικό οξειδοαναγωγής είναι κρίσιμο για τη φυσιολογική κυτταρική φυσιολογία, και η αναλογία GSH/GSSG είναι ένας πολύ αξιόπιστος δείκτης αυτού (Owen & Butterfield 2010). Στην περίπτωση που το οξειδωτικό στρες υπερνικά την ικανότητα του κυττάρου να ανάγει την GSSG σε GSH προκαλώντας κάποια μετατόπιση της οξειδοαναγωγικής ισορροπίας, η GSSG εξάγεται από το κύτταρο ή αντιδρά με μια πρωτεϊνική σουλφυδρυλική ομάδα δημιουργώντας ένα μικτό δισουλφίδιο GSH. Με τον μηχανισμό αυτό το οξειδωτικό στρες εξαντλεί την κυτταρική GSH (Lu 2009). Τέλος, όσον αφορά το διατροφικό πλαίσιο, τα επίπεδα της γλουταθειόνης μπορούν να βελτιωθούν με τους εξής τρόπους: Καταναλώνοντας τροφές πλούσιες σε θείο, όπως σκόρδο, κρεμμύδια, λάχανο, κουνουπίδι, μπρόκολο, κατανάλωση βιοδραστικής πρωτεΐνης ορού γάλακτος που βρίσκεται στο μη παστεριωμένο και μη βιομηχανικά παραγόμενο γάλα, το οποίο αποτελεί εξαιρετική πηγή κυστεΐνης και των δομικών αμινοξέων για τη σύνθεση της γλουταθειόνης, άσκηση και λήψη μιας οικογένειας αντιοξειδωτικών που περιλαμβάνουν τη βιταμίνη C και E (με τη μορφή μικτών τοκοφερολών), τα οποία συνεργάζονται όλα μαζί για την ανακύκλωση της γλουταθειόνης (Nuttall et al. 1998).

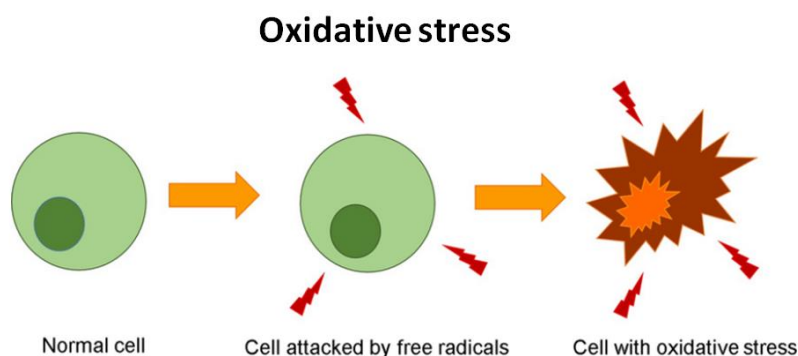


Εικόνα 8: Αντιοξειδωτική λειτουργία της GSH (Lu 2013).

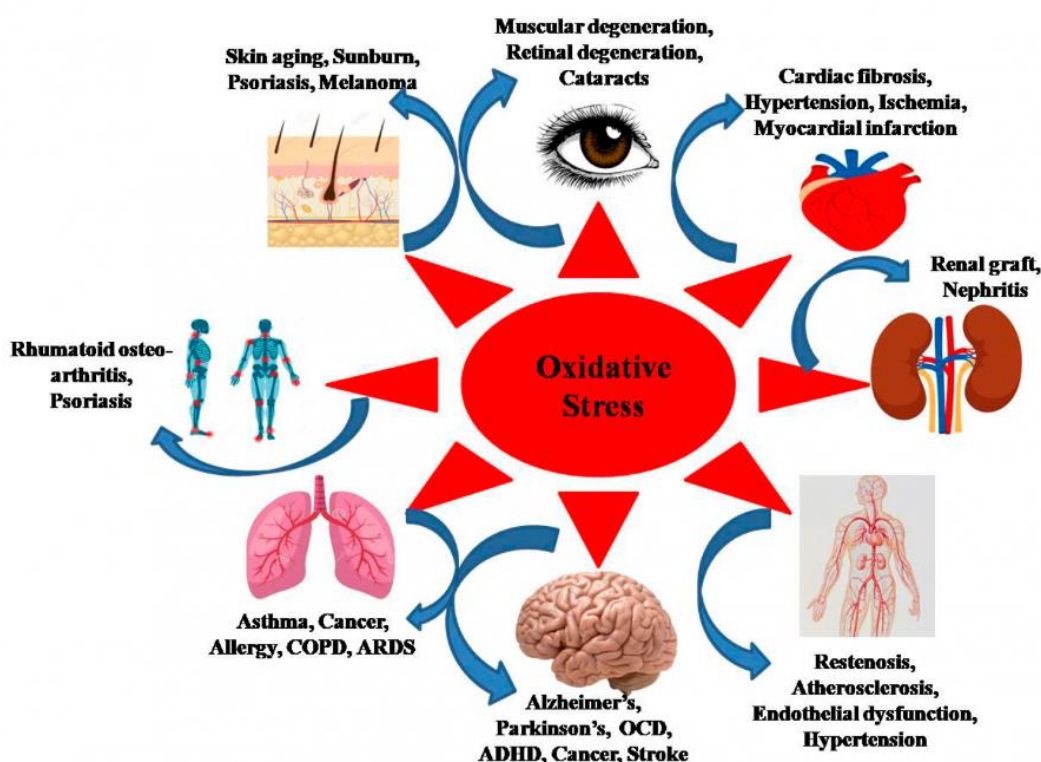
1.5 Οξειδωτικό στρες

Ως οξειδωτικό στρες ορίζεται η ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικών (ελεύθερες ρίζες και ROS γενικότερα) και αντιοξειδωτικών υπέρ των πρώτων με αποτέλεσμα τη διαταραχή της οξειδοαναγωγικής σηματοδότησης και του ελέγχου (Jones 2006). Υπό φυσιολογικές συνθήκες, οι μηχανισμοί παραγωγής και αδρανοποίησης των ROS βρίσκονται σε ισορροπία, η οποία διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση διαφόρων φυσιολογικών διεργασιών στο κύτταρο (Zhang et al. 2023). Ωστόσο, όταν η παραγωγή προϊόντων οξείδωσης υπερβαίνει εκείνη των αντιοξειδωτικών προϊόντων, δημιουργώντας ανισορροπία, προκαλείται οξειδωτικό στρες (Gulcin 2020). Το οξειδωτικό στρες απορρυθμίζει μια σειρά κυτταρικών λειτουργιών και οδηγεί σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις στις οποίες οι ROS υπερκαλύπτουν τις αντιοξειδωτικές άμυνες του οργανισμού, οδηγώντας σε οξειδωτική τροποποίηση σε βιολογικά μακρομόρια, ιστικό τραυματισμό και επιταχυνόμενο κυτταρικό θάνατο με συσχέτιση με πολλές ασθένειες (Εικόνα 2) (Sindhi et al. 2013). Η ανισορροπία αυτή μπορεί να προκληθεί από ποικίλους παράγοντες όπως τα φάρμακα, το περιβάλλον, η κατανάλωση αλκοόλ, η ακτινοβολία και η θερμοκρασία (Li et al, 2015). Το οξειδωτικό στρες έχει εμπλακεί στην αιτιολογία της υπέρτασης, της αντίστασης στην ινσουλίνη, του μεταβολικού συνδρόμου και άλλων χρόνιων παθήσεων (Bulló et al. 2011). Ειδικότερα, η εμφάνιση νευρολογικών, νεφρολογικών και πνευμονολογικών ασθενειών έχει συσχετιστεί με το οξειδωτικό στρες (Kowalczyk et al. 2021). Επίσης, το αυξημένο οξειδωτικό στρες έχει ενοχοποιηθεί για την παθογένεια καρδιαγγειακών παθήσεων, του καρκίνου, της αθηροσκλήρωσης, της χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας, της νόσου Αλτσχάιμερ και πολλών άλλων χρόνιων ασθενειών (Εικόνα 3) (Forman & Zhang 2021, Yi et al. 2022). Ωστόσο, η σχέση αιτίου-αιτιατού μεταξύ των ελευθέρων ριζών και των παραπάνω παθήσεων δεν έχει επιβεβαιωθεί, καθώς υπάρχει ανάγκη για περαιτέρω μελέτη τέτοιων αλληλεπιδράσεων και τον προσδιορισμό αιτίου και αποτελέσματος (Ashleigh et al. 2023, Vallese et al. 2023, Veskoukis et al. 2020). Τέλος, ως βιοδείκτης του οξειδωτικού στρες

ορίζεται μια ένωση, δομή ή διεργασία που μπορεί να προσδιοριστεί σε ένα ζωντανό ον ή σε στερεά ή ρευστά μέρη αυτού και αποτελεί αξιόπιστο δείκτη του οξειδωτικού στρες, οπότε πρέπει να είναι ειδικός, σχετικά σταθερός, να έχει προγνωστική αξία και να είναι ενδεικτικός της κατάστασης της υγείας ή της ασθένειας ενός ιστού, οργάνου ή ατόμου που σχετίζεται με το οξειδωτικό στρες (Mandal 2017, Robson et al. 2018, Veskoukis et al. 2019).



Εικόνα 2: Οξειδωτικό στρες (Mohd Sukri 2021).



Εικόνα 3: Συσχέτιση οξειδωτικού στρες με ποικίλες παθήσεις (Rosado-Pérez et al. 2021).

1.6 Θεραπεία υποκατάστασης οπιοειδών

Η ανάπτυξη και η εφαρμογή αποτελεσματικών θεραπειών για τη διαταραχή της χρήσης οπιοειδών (opioid use disorder, OUD) και η πρόληψη της υπερδοσολογίας αποτελούν επείγουσες ανάγκες δημόσιας υγείας (Luba et al. 2023). Τις τελευταίες δεκαετίες, οι θάνατοι από υπερβολική δόση βρίσκονται σε υψηλό επίπεδο και τα περισσότερα άτομα με OUD δεν λαμβάνουν τη συνιστώμενη θεραπεία (Ahmad et al. 2022). Συγκεκριμένα, στην Ελλάδα για τη θεραπεία υποκατάστασης οπιοειδών χρησιμοποιούνται οι ουσίες μεθαδόνη, με τη μορφή διαλύματος, και βουπρενορφίνη, με τη μορφή δισκίων, οι οποίες διατίθενται αποκλειστικά από τον Οργανισμό Κατά των Ναρκωτικών (ΟΚΑΝΑ) και σε ειδικά προφυλαγμένους χώρους εντός των θεραπευτικών μονάδων του (Λεβεντέλης 2016).

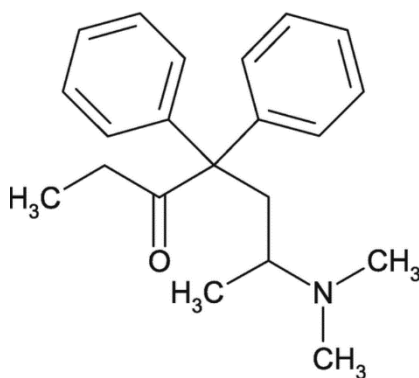
Τα οπιοειδή προέρχονται από το όπιο, το οποίο εξάγεται από τους σπόρους της παπαρούνας (*Papaver somniferum*), και το κύριο δραστικό συστατικό τους είναι η μορφίνη (Ozdemir et al. 2023). Το 1805, η μορφίνη, απομονώθηκε από το όπιο και αναγνωρίστηκε ως ισχυρό παυσίπονο (Abdulmalek & Hardiman 2023). Σήμερα, είναι γνωστό ότι τα οπιοειδή φάρμακα είναι ισχυρά και αποτελεσματικά αναλγητικά, ωστόσο η χρήση τους μπορεί να συσχετιστεί με σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες όπως η ανοχή, η εξάρτηση και η αναπνευστική καταστολή (Michaelides et al. 2023). Όσον αφορά την ανασταλτική δράση των οπιοειδών είναι γενικά διττή, καθώς δρουν τόσο στο άκρο του προσυναπτικού νεύρου, αναστέλλοντας την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστή, όσο και στον μετασυναπτικό νευρώνα (Leventelis et al. 2019). Οι υποδοχείς οπιοειδών, που υπάρχουν στο κεντρικό νευρικό σύστημα και στους περιφερικούς ιστούς, είναι ότι ρυθμίζουν, επίσης, διάφορες καρδιακές λειτουργίες μέσω διαφορετικών οδών σηματοδότησης (Mehta & Patel 2023). Τα οπιοειδή μακράς δράσης (long-acting opioids, LAO), όπως είναι η μεθαδόνη και η βουπρενορφίνη, έχουν αξιολογηθεί με επιτυχία για τις ευεργετικές τους επιδράσεις σε διάφορες καρδιαγγειακές παθήσεις, όπως για παράδειγμα έμφραγμα του μυοκαρδίου, τραυματισμοί ισχαιμικής επαναιμάτωσης και αθηροσκλήρωση, ωστόσο η υπερβολική δόση μπορεί να οδηγήσει σε διάφορες επιπλοκές. Για τον λόγο αυτό, πριν από την έναρξη της θεραπείας υποκατάστασης με μεθαδόνη, ο ασθενής οφείλει να υποβληθεί σε αξιολόγηση των παραγόντων κινδύνου που μπορούν να οδηγήσουν σε κατάχρηση ή εκτροπή φαρμάκων και να διαπιστώσει ότι το όφελος της θεραπείας υπερσχύει των βλαβών (Durrani & Bansal 2022). Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι η δράση των αναλγητικών οπιοειδών δεν περιορίζεται απλά στην ανακούφιση του σωματικού και ψυχολογικού πόνου, αλλά μπορούν, επίσης, να συμβάλλουν στην καταπολέμηση του άγχους, των διαταραχών ύπνου, των αρνητικών συναισθηματικών καταστάσεων και να επιφέρουν στο άτομο μία αίσθηση ευεξίας (Walwyn et al. 2010).

1.6.1 Μεθαδόνη

Η μεθαδόνη είναι ένας εγκεκριμένος συνθετικός αγωνιστής οπιοειδών από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA), ο οποίος χρησιμοποιείται ευρέως για τη θεραπεία τόσο

του χρόνιου πόνου όσο και της OUD (APA, 2022). Αποτελεί έναν πλήρη αγωνιστή του υποδοχέα μ (μ) των οπιοειδών και έχει μια ορισμένη συγγένεια με τους υποδοχείς δ (δ) και κ (κ), καθώς και με της υποδοχείς στο κεντρικό νευρικό σύστημα (Mortensen et al. 2023). Η χημική δομή της μεθαδόνης απεικονίζεται παρακάτω στην Εικόνα 9. Ο χρόνος ημιζωής της μεθαδόνης σε ασθενείς με OUD είναι 24 έως 36 ώρες, παρέχοντας έτσι παρατεταμένη συγκέντρωση του οπιοειδούς αυτού στο αίμα, ενώ ο χρόνος ημιζωής της σε ασθενή που δεν έχει λάβει οπιοειδή είναι περίπου 55 ώρες (Grissinger 2011, Murphy & Szokol 2019). Η θεραπεία με μεθαδόνη στοχεύει στην καταστολή της στέρησης λόγω χρήσης οπιοειδών, στη μείωση της επιθυμίας για λήψη οπιοειδών (craving), στον αποκλεισμό των επιπτώσεων των παράνομων οπιοειδών και στη διευκόλυνση της συμμετοχής των ασθενών σε ψυχοκοινωνικές και μη φαρμακολογικές παρεμβάσεις (Ghanem et al. 2022). Η χρήση της μεθαδόνης, ως μεθόδου θεραπείας συντήρησης για την εξάρτηση από ηρωίνη, εμφανίστηκε στα μέσα της δεκαετίας του 1960 και τα προγράμματα θεραπείας με οπιοειδή δημιουργήθηκαν λόγω της απόρριψης της ιατρικής κοινότητας να θεραπεύσει τον πληθυσμό ασθενών με διαταραχή χρήσης οπιοειδών (Stroud et al. 2022). Με βάση τα δεδομένα της τελευταίας δεκαετίας, τα προγράμματα θεραπείας συντήρησης με μεθαδόνη διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στην αντιμετώπιση της τρέχουσας επιδημίας οπιοειδών και σημαντικά στοιχεία τεκμηριώνουν την αποτελεσματικότητα της θεραπείας και τη σημασία της επαρκούς δόσης για την αποτελεσματικότητά της (D'Aunno et al. 2019).

Οι κατευθυντήριες οδηγίες που δημοσιεύθηκαν από την Ομάδα Δράσης Μεθαδόνης της Αμερικανικής Εταιρείας Εθισμού (ASAM) συνιστούν ένα εύρος αρχικής δόσης από 10 mg έως 30 mg, επαναξιολογώντας κάθε 2-4 ώρες όταν επιτυγχάνονται τα μέγιστα επίπεδα (Kampman & Jarvis 2015). Με το πέρας την περιόδου έναρξης, η δοσολογία της μεθαδόνης τη δεύτερη εβδομάδα φτάνει τα 50 - 80 mg και, τέλος, αυξάνεται στη βέλτιστη αποτελεσματική δόση των 80 - 100 mg, η οποία, ωστόσο, βασίζεται στους στόχους της θεραπείας και στην εξάρτηση του ασθενούς (Schuckit 2016).



Εικόνα 9: Χημική δομή της μεθαδόνης (Vidal and Külpmann 2019).

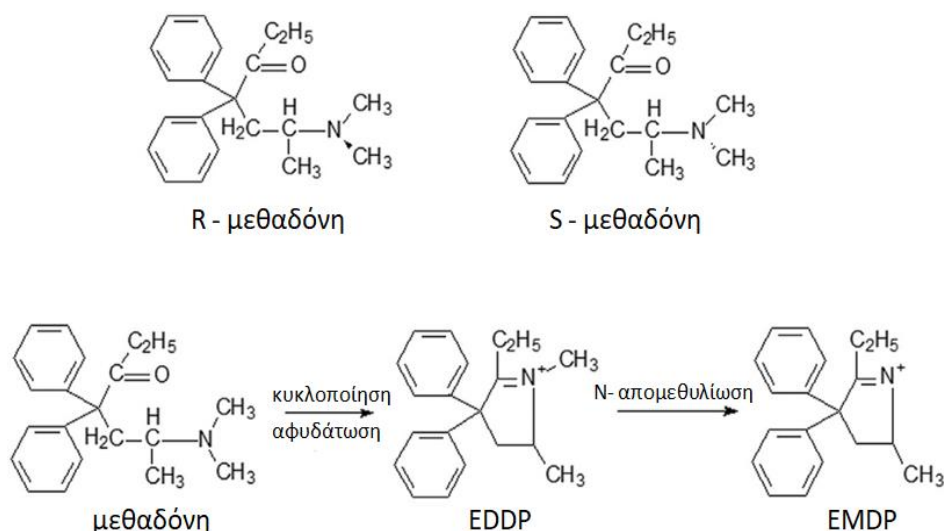
1.6.2 Μεταβολισμός και μηχανισμός δράσης της μεθαδόνης

Κατά την ανάπτυξη της OUD, τα ναρκωτικά κατάχρησης καταλαμβάνουν κάποιες δομές του μεταιχμιακού συστήματος, που αποτελείται από ανατομικές δομές που βρίσκονται μεταξύ

του φλοιού και του υποθαλάμου, και του κυκλώματος μάθησης και μνήμης, με αποτέλεσμα τη δυσκολία στην επεξεργασία της μνήμης (Cao et al. 2023). Οι δομές αυτές αποτελούνται από νευρώνες ντοπαμίνης που προβάλλουν από την κοιλιακή τμηματική περιοχή προς τον επικλινή πυρήνα, τον υπόκαμπο, τον προμετωπιαίο φλοιό και την αμυγδαλή (Hyman et al. 2006). Η ενεργοποίηση των προβολών ντοπαμίνης από την κοιλιακή περιοχή στον επικλινή πυρήνα και η απελευθέρωση ντοπαμίνης στον επικλινή πυρήνα σχετίζονται στενά με την ανταμοιβή και τη θετική ενίσχυση των εθιστικών φαρμάκων, ξεκινώντας έτσι την ανάπτυξη της OUD (Hyman et al. 2006). Ως εκ τούτου, τα φάρμακα που στοχεύουν τον μ υποδοχέα είναι ζωτικής σημασίας για τη θεραπεία των διαταραχών της χρήσης οπιοειδών. Στην πραγματικότητα, τα περισσότερα εγκεκριμένα και κλινικά χρησιμοποιούμενα φάρμακα για τη διαταραχή της χρήσης οπιοειδών (δηλαδή ναλτρεξόνη, βουπρενορφίνη και μεθαδόνη) αλληλεπιδρούν άμεσα με τον μ υποδοχέα (Cao et al. 2023).

Όσον αφορά τον μεταβολισμό της μεθαδόνης λαμβάνει χώρα στο ήπαρ μέσω του κυτοχρώματος P450 (CYP450), κυρίως μέσω των CYP3A4 και CYP2B6, οδηγώντας σε ποικίλες επιδράσεις λόγω πολυμορφισμών ενζύμων και αλληλεπιδράσεων μεταξύ φαρμάκων (Kreek et al. 2019, Lynch 2005).). Πιο συγκεκριμένα, η μεθαδόνη υφίσταται N-απομεθυλίωση με αποτέλεσμα τον σχηματισμό μίας εξαιρετικά ασταθούς ένωσης που υφίσταται αυθόρμητη κυκλοποίηση και αφυδάτωση για σχηματισμό 2-αιθυλ-1,5-διμεθυλ-3,3-διφαινυλοπυρρολίνιο (EDDP), το οποίο στη συνέχεια μετατρέπεται σε 2-αιθυλο5-μεθυλ-3,3-διφαινυλ-1-πυρρολίνη (EMDP) (Εικόνα 10) (Volpe et al. 2018). Και οι δύο μεταβολίτες είναι ανενεργοί και απεκκρίνονται από τους νεφρούς (Lugo et al. 2005). Στην N-απομεθυλίωση της μεθαδόνης συμμετέχουν αρκετά ένζυμα CYP, όπως το CYP3A4, το CYP2B6, το CYP2C19, το CYP2D6, το CYP2C9 και το CYP2C8.

Όσον αφορά την αλληλεπίδραση της μεθαδόνης με άλλα φάρμακα, δεδομένου ότι μπορεί να χορηγηθεί σε συνδυασμό με αντιψυχικά φάρμακα, σε ασθενείς που βρίσκονται στο στάδιο της θεραπείας, οι αλληλεπιδράσεις αυτές μπορεί να μειώσουν την αποτελεσματικότητά της ή να προκληθούν ανεπιθύμητες ενέργειες (Volpe et al. 2018). Είναι γνωστό ότι τα αντιψυχικά φάρμακα έχουν τη δυνατότητα να αναστέλλουν ή να επάγουν τα ένζυμα CYP, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που εμπλέκονται στον μεταβολισμό της μεθαδόνης. Κάποια από αυτά είναι η κετοконаζόλη, η φλουконаζόλη, η μικοναζόλη και η ιτρακοναζόλη, ωστόσο υπάρχουν και τρόφιμα που διαθέτουν ανασταλτικές ιδιότητες όπως ο χυμός γκρέιπφρουτ (*Citrus paradisi*) και τα εκχυλίσματα υπερικού (*Hypericum perforatum*), γνωστό και ως βαλσαμόχορτο (Gong et al. 2019, Gougis et al. 2022).



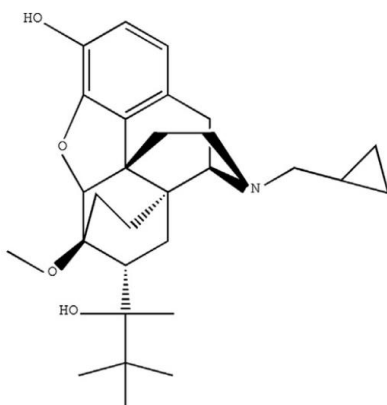
Εικόνα 10: Εναντιομερή μεθαδόνης και μεταβολισμός που προκαλείται από το CYP. EDDP: 2-αιθυλ-1,5-διμεθυλ-3,3-διφαινυλοπυρρολίνιο, EMDP: 2-αιθυλο5-μεθυλ-3,3-διφαινυλ-1-πυρρολίνη (Volpe et al. 2018).

1.6.3 Βουπρενορφίνη

Η βουπρενορφίνη είναι ένας μερικός αγωνιστής των μ και κ υποδοχέων των οπιοειδών, ο οποίος διακόπτει την επιθυμία και τα συμπτώματα στέρησης, χωρίς να προκαλεί συναισθήματα ευφορίας (Εικόνα 11) (Edinoff et al. 2023, Kurpalli et al. 2021). Οι μερικοί αγωνιστές, οι οποίοι τυπικά παρουσιάζουν μερική απόκριση σε σύγκριση με έναν πλήρη αγωνιστή, μπορεί να εμφανίσουν ένα προγενέστερο φαινόμενο πλατώ, που αναφέρεται ως «φαινόμενο οροφής» (ceiling effect), το οποίο βασίζεται στην εγγενή δραστηριότητα, ενώ μπορεί να διαφέρει ανάλογα με τους εμπλεκόμενους υποδοχείς ή ιστούς (Infantino et al. 2021). Ο μερικός αγωνισμός που εμφανίζει η βουπρενορφίνη στους υποδοχείς, αποτρέπει την υπερδοσολογία και τη δηλητηρίαση που σχετίζεται με την ίδια τη βουπρενορφίνη (Kumar et al. 2022, Shulman et al. 2019).

Η ενεργοποίηση των κ υποδοχέων παίζει ρόλο στην εμφάνιση συμπτωμάτων στέρησης και κατάθλιψης, ωστόσο η βουπρενορφίνη συμβάλλει στην ανάπτυξη θετικής διάθεσης και ευχάριστων συναισθημάτων, καθώς ανταγωνίζεται αυτή τη δραστηριότητα, επιβραδύνοντας την (Λεβεντέλης 2018). Σύμφωνα με τον Εθνικό Οργανισμό Φαρμάκων (ΕΟΦ), η βουπρενορφίνη αποτελεί μία σχετικά πιο ασφαλή ουσία συγκριτικά με τη μεθαδόνη, διότι έχει μικρότερη καρδιοτοξικότητα και διαθέτει χαμηλότερες πιθανότητες πρόκλησης αναπνευστικής καταστολής. Σήμερα, είναι ένα από τα πιο διαδεδομένα συνταγογραφούμενα φάρμακα και διαθέτει, αναμφισβήτητα, μεγάλη δυνατότητα ευρείας διάδοσης λόγω της σχετικής ευκολίας χρήσης και της ασφάλειάς της (Shulman et al. 2019). Η βουπρενορφίνη διατίθεται συνήθως ως προϊόν συνδυασμού με ναλοξόνη, η οποία προορίζεται να δράσει αποτρεπτικά στη χορήγηση της βουπρενορφίνης ενδοφλεβίως

(Mendelson and Jones 2003, Ordean and Tubman-Broeren 2023). Τέλος, όπως στη μεθαδόνη έτσι και στη βουπρενορφίνη, ο συνδυασμός της με ηρεμιστικά και αλκοόλ θα πρέπει να αποφεύγεται λόγω φαρμακοδυναμικής αλληλεπίδρασης (Dematteis et al. 2017).



Εικόνα 11: Χημική δομή της βουπρενορφίνης (Wang et al. 2013).

1.6.4 Μεταβολισμός της βουπρενορφίνης

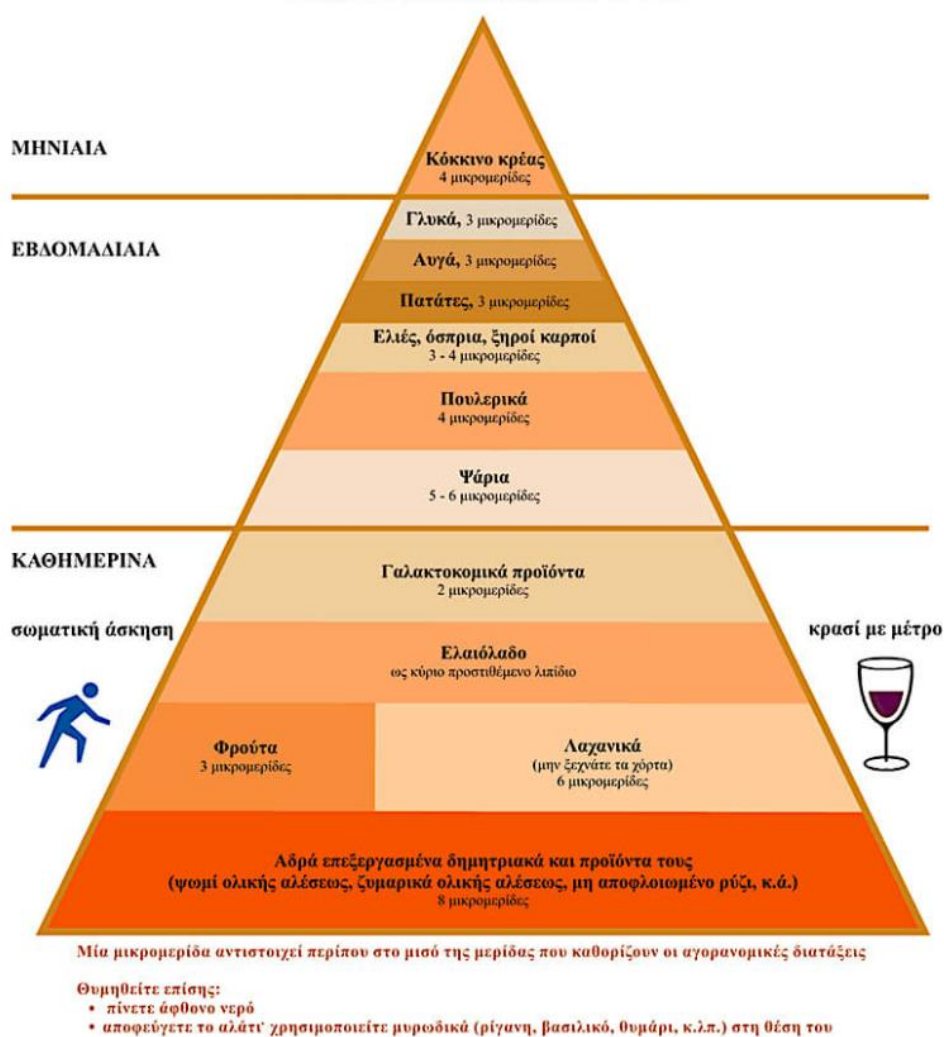
Κατά τη χορήγησή της, η βουπρενορφίνη διασπάται από ένζυμα των κυτοχρωμάτων P4503A4 και P4502C8 (CYP3A4 και CYP2C8) σε έναν ενεργό μεταβολίτη (νορβουπρενορφίνη), μέσω N-απαλκυλίωσης, που έχει ασθενή εγγενή δραστηριότητα (McPhail et al. 2021). Ο μέσος χρόνος ημιζωής της βουπρενορφίνης είναι περίπου 38 ώρες (25 έως 70 ώρες) μετά από υπογλώσσια χορήγηση (Kumar et al. 2022). Κατά την υπογλώσσια χορήγηση της βουπρενορφίνης σε συνδυασμό με ναλοξόνη, η ναλοξόνη υφίσταται σχεδόν πλήρη μεταβολισμό πρώτης διόδου και, επομένως, έχει ελάχιστη φαρμακολογική δράση (Mortensen et al. 2023).

Αξίζει να σημειωθεί ότι, όταν ένας ασθενής που λαμβάνει βουπρενορφίνη λαμβάνει ένα οπιοειδές, όπως για παράδειγμα ηρωίνη ή φαιντανύλη, ο κίνδυνος υπερδοσολογίας μειώνεται σημαντικά καθώς υπάρχουν λιγότεροι υποδοχείς διαθέσιμοι για δέσμευση (Gudin and Fudin 2020). Επιπλέον, η μεγαλύτερη διάρκεια κατάληψης υποδοχέα αναφέρεται ότι οδηγεί σε λιγότερο σοβαρά συμπτώματα στέρησης και μείωση της λαχτάρας σε σύγκριση με άλλα οπιοειδή (Walton & Bruce 2021). Αυτά τα χαρακτηριστικά έχουν οδηγήσει αυτή τη χημική ουσία στο επίκεντρο της παγκόσμιας συζήτησης σχετικά με τη χρήση και τη θεραπεία ουσιών (Sivils et al. 2022).

1.7 Μεσογειακή Διατροφή

Ο όρος «Μεσογειακή Διατροφή» χρησιμοποιείται συχνά για να περιγράψει τις διατροφικές συνήθειες των λαών που κατοικούν γύρω από τις ακτές της Μεσογείου Θάλασσας, όπως η

Ελλάδα, η νότια Ιταλία και η νότια Ευρώπη γενικότερα, με πολυάριθμα αποδεδειγμένα οφέλη για την υγεία των κατοίκων (Corella et al. 2018, Martimianaki et al. 2022). Η μεσογειακή κουζίνα χαρακτηρίζεται κυρίως από την υψηλή πρόσληψη φρούτων και λαχανικών, ξηρών καρπών, δημητριακών, οσπρίων και ελαιολάδου (ως κύριας μορφής ακόρεστων προστιθέμενων λιπιδίων), τα οποία με τη σειρά της είναι πλούσια σε φυτικές ίνες, βιταμίνες, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και ολιγοστοιχεία όπως απεικονίζεται παρακάτω στην πυραμίδα της μεσογειακής διατροφής από το “Ανώτατο Ειδικό Επιστημονικό Συμβούλιο Υγείας, Υπουργείο Υγείας και Πρόνοιας” (Εικόνα 12) (Tomou et al. 2022). Ο συνδυασμός αυτού του τύπου διατροφής με την καθημερινή σωματική άσκηση και τη μέτρια κατανάλωση κρασιού αποτελεί ένα βασικό συστατικό υγείας και της ευημερίας στον μεσογειακό πολιτισμό, γεγονός που καθιστά τη μεσογειακή διατροφή μία από τις πιο υγιεινές και βιώσιμες δίαιτες (Serra-Majem et al. 2020). Αξίζει να σημειωθεί ότι, το 2010 η παραδοσιακή μεσογειακή διατροφή, εκδοχή της οποίας αποτελεί και η ελληνική, ανακηρύχθηκε από τον Εκπαιδευτικό, Επιστημονικό και Πολιτιστικό Οργανισμό των Ηνωμένων Εθνών (United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization, UNESCO) ως «άυλο πολιτιστικό αγαθό της ανθρωπότητας» (Arjona Garrido et al. 2023). Ως εκ τούτου, η μεσογειακή διατροφή είναι ένα *modus vivendi*, δηλαδή δεν είναι μόνο μια υγιεινή διατροφή, απεναντίας αποτελεί μια σύνθετη έννοια δεξιοτήτων, γνώσεων, πρακτικών και παραδόσεων, ένας τρόπος ζωής δηλαδή που βασίζεται στην κατανάλωση μέτριων μερίδων φαγητού, τη χρήση τοπικών εποχιακών προϊόντων για την παρασκευή τροφίμων, τη συναναστροφή και τη συντροφικότητα προωθώντας έτσι την κοινωνική αλληλεπίδραση (slow food) (Ingrassia et al. 2023, Trichoroulou 2021).



Εικόνα 12: Πυραμίδα της Μεσογειακής Διατροφής. Πηγή: Ανώτατο Ειδικό Επιστημονικό Συμβούλιο Υγείας, Υπουργείο Υγείας και Πρόνοιας.

1.7.1 Οφέλη της Μεσογειακής Διατροφής

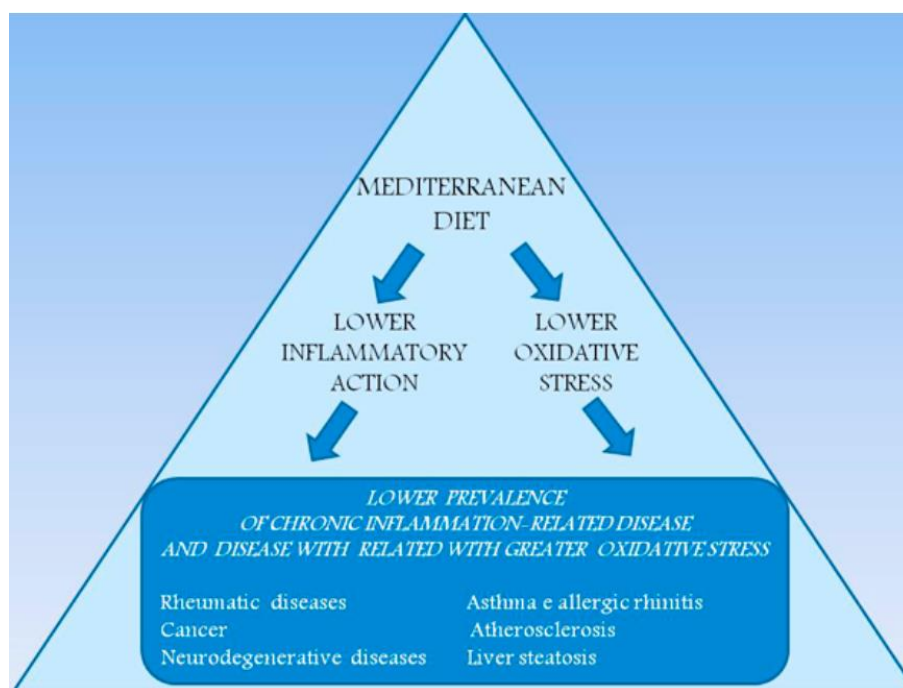
Η προστατευτική επίδραση και τα πιθανά οφέλη της μεσογειακής διατροφής έναντι αρκετών χρόνιων εκφυλιστικών ασθενειών, της χρόνιας νεφρικής νόσου, του καρκίνου του μαστού και της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας έχουν επισημανθεί από αρκετές μελέτες (Bryl et al. 2023, Buck et al. 2023, Chen et al. 2023, D'Alessandro et al. 2023, Li and Zhou, 2022). Πιο συγκεκριμένα, η προστατευτική δράση σε νευροεκφυλιστικές ασθένειες επιτυγχάνεται χάρη στο πλούσιο περιεχόμενο της μεσογειακής διατροφής σε αντιοξειδωτικά, φυτικές ίνες και ωμέγα-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (Franco et al. 2023, Loughrey et al. 2017, van den Brink et al. 2019). Επιπρόσθετα, στοιχεία αυτού του τύπου διατροφής, όπως μειωμένη πρόσληψη κόκκινου κρέατος, κορεσμένων λιπαρών οξέων, γλυκών και η αυξημένη κατανάλωση ψαριών, φαίνονται πολλά υποσχόμενα για τη μείωση των συμπτωμάτων της σκλήρυνσης κατά πλάκας ή της σοβαρότητας της κόπωσης (Ertas Öztürk et al. 2023). Σημαντικά αποτελέσματα ερευνών υπογραμμίζουν την κατανάλωση N-3

PUFAs, ιδιαίτερα εικοσαπεντανοϊκού οξέος (EPA) και εικοσιδυαεξανοϊκού οξέος (DHA), στην έκβαση της εξέλιξης του καρκίνου του μαστού και στη μείωση των παρενεργειών της χημειοθεραπείας (Augimeri and Bonofiglio 2023). Επίσης, αποτελέσματα έρευνας υποδεικνύουν ότι τα φλαβονοειδή, οι πολυφαινόλες και αρκετοί μεταβολίτες τους μπορούν να μειώσουν αποτελεσματικά το βλαπτικό δυναμικό των ελεύθερων ριζών και κατ' επέκταση να συμβάλουν στα οφέλη για την υγεία από δίαιτες πλούσιες σε φρούτα και λαχανικά (Nauser and Gebicki 2019). Στο πλαίσιο της καρδιαγγειακής νόσου, η μεσογειακή διατροφή πιθανόν να μπορεί να διαδραματίσει προστατευτικό ρόλο έναντι της νόσου (Doundoulakis et al. 2023). Ωστόσο, εξακολουθεί να υπάρχει κάποια αβεβαιότητα όσον αφορά τις επιδράσεις της μεσογειακής διατροφής στα κλινικά σημεία και στους παράγοντες κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου, τόσο για την πρωτογενή όσο και για τη δευτερογενή πρόληψη (Rees et al. 2019). Η μελέτη PREDIMED (Prevención con Dieta MEDiterránea), η οποία σχεδιάστηκε για να αξιολογήσει τις μακροπρόθεσμες επιδράσεις της μεσογειακής διατροφής στη συχνότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων σε άτομα υψηλού καρδιαγγειακού κινδύνου, έδειξε ότι η συχνότητα εμφάνισης σοβαρών καρδιαγγειακών επεισοδίων ήταν χαμηλότερη μεταξύ των ατόμων που ακολουθούσαν μεσογειακή διατροφή συμπληρωμένη με έξτρα παρθένο ελαιόλαδο ή ξηρούς καρπούς από ό,τι μεταξύ των ατόμων που ακολουθούσαν διατροφή με μειωμένα λιπαρά (Estruch et al. 2018). Τέλος, παρά το γεγονός ότι, η μέτρια προσκόλληση στη μεσογειακή διατροφή σχετίζεται με χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης διαβήτη τύπου 2 και σημαντική μείωση της εμφάνισης της νόσου (Sobiecki et al. 2023), δεν έχει βρεθεί καμία συσχέτιση μεταξύ της προσκόλλησης στη μεσογειακή διατροφή και του διαβήτη τύπου 2 σε έναν μη μεσογειακό πληθυσμό (Bossel et al. 2023).

1.7.2 Μεσογειακή Διατροφή και Οξειδωτικό στρες

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει συσχέτιση μεταξύ του οξειδωτικού στρες και μιας δυτικού τύπου διατροφής πλούσιας σε λίπη και εξευγενισμένα σάκχαρα (Tomasello et al. 2016). Η αυξημένη ποσότητα και συχνότητα λήψης των παραπάνω προϊόντων έχει φανεί ότι προκαλούν φλεγμονή και παραγωγή ROS (Agus et al. 2016, Zhang et al. 2013). Απεναντίας, η μεσογειακή διατροφή, η οποία χαρακτηρίζεται από υψηλή περιεκτικότητα σε μονοακόρεστα και πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, διαθέτει αντιφλεγμονώδη δράση μειώνοντας το οξειδωτικό στρες, όπως παρατηρήθηκε στη μελέτη PREDIMED (Martínez-González et al. 2015). Η επικρατέστερη υπόθεση σχετικά με τον μηχανισμό αυτής της συσχέτισης είναι η μείωση του οξειδωτικού στρες λόγω της αντιοξειδωτικής ικανότητας της διατροφής (Visioli and Galli 2001). Ποικίλα φυτοχημικά συστατικά της μεσογειακής διατροφής μπορούν να λειτουργήσουν ως αντιοξειδωτικά για την προστασία από το οξειδωτικό στρες (Chen and Blumberg 2008). Το προφίλ των θρεπτικών συστατικών της μεσογειακής διατροφής και των σημερινών κατευθυντήριων γραμμών της Ιταλίας και των ΗΠΑ συνδέεται με χαμηλότερη φλεγμονώδη δράση και μειωμένο ή απουσία οξειδωτικού στρες των συστατικών της (Tronato 2012). Τα δύο αυτά χαρακτηριστικά της σύνθεσης της μεσογειακής διατροφής εξηγούν τον χαμηλότερο επιπολασμό σε κλινικές και επιδημιολογικές μελέτες ρευματικών, εκφυλιστικών, νευρολογικών και μεταβολικών

νοσημάτων καθώς και ασθενειών όπως ο καρκίνος και η αθηροσκλήρωση (Εικόνα 13). Η μεγαλύτερη προσήλωση στο προφίλ της μεσογειακής διατροφής σχετίζεται με χαμηλότερο επιπολασμό και σοβαρότητα αυτών των παθήσεων. Επίσης, υποστηρίζεται η υπόθεση ότι το μειωμένο οξειδωτικό στρες είναι ένας πιθανός μηχανισμός που συνδέει τη μεσογειακή διατροφή με μειωμένο κίνδυνο καρδιαγγειακών παθήσεων (Bulló et al. 2011). Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι η συσχέτιση μεταξύ της μεσογειακής διατροφής και του οξειδωτικού στρες στο πλάσμα είναι ισχυρή και δεν επηρεάζεται από γενετικούς ή κοινούς περιβαλλοντικούς παράγοντες (Dai et al. 2008).



Εικόνα 13: Αντιφλεγμονώδεις μηχανισμοί της μεσογειακής διατροφής (Trovato 2012).

1.7.3 Μεσογειακή Διατροφή και Ντοπαμινεργική νευροδιαβίβαση

Ο εγκέφαλος κατέχει σημαντική θέση στη ρύθμιση της όρεξης και της διατροφής (Kerem and Lawson 2021). Έχει προταθεί ότι η ντοπαμινεργική νευροδιαβίβαση μπορεί να τροποποιηθεί από την κατανάλωση συγκεκριμένων τροφίμων (Norgren et al. 2006). Επίσης, η αφθονία των θρεπτικών συστατικών, που αποτελεί χαρακτηριστικό της μεσογειακής διατροφής, κατέχει καθοριστικό ρόλο στη σύνθεση των νευροδιαβιβαστών και την προώθηση κρίσιμων βιοχημικών διεργασιών (Ray et al. 2020). Πιο συγκεκριμένα, ο υποθάλαμος χρησιμεύει ως κέντρο ολοκλήρωσης των νευρωνικών οδών που αναστέλλουν ή διεγείρουν την πρόσληψη τροφής (Yeo and Heisler 2012). Αυτές οι οδοί ελέγχονται από μια πολύπλοκη αλληλεπίδραση νευροδιαβιβαστών στους συναπτικούς υποδοχείς. Ειδικότερα, όταν προσλαμβάνεται τροφή, απελευθερώνονται στην κυκλοφορία ορισμένες ορμόνες του εντέρου, όπως η λεπτίνη, η γκρελίνη, το πεπτίδιο-1 που μοιάζει με τη γλυκαγόνη (GLP1) και η ινσουλίνη (Moris et al, 2022). Αυτές οι ορμόνες ενεργοποιούν τις νευρωνικές οδούς που πυροδοτούν τη συναπτική δραστηριότητα (Parker and Bloom 2012).

Ο βιοχημικός αυτός μηχανισμός διευκολύνει τη συναπτική πλαστικότητα, η οποία με τη σειρά της συμβάλλει στις σκέψεις, τα συναισθήματα και τις συμπεριφορές του ατόμου (Reich and Hölscher 2022, Sominsky et al. 2018).

1.7.4 Μεσογειακή Διατροφή και Οπιοειδή

Κατά τη διαταραχή χρήσης οπιοειδών (opioid use disorder, OUD) η υγεία του ατόμου τίθεται σε κίνδυνο καθώς επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό οι διατροφικές του συνήθειες (Nabirour et al, 2014). Σε γενικές γραμμές, ο πληθυσμός με OUD έχει διαταραγμένο και χαοτικό τρόπο ζωής και το μεγαλύτερο μέρος των εισοδημάτων του ξοδεύεται κυρίως σε ψυχοδραστικές ουσίες έναντι των τροφίμων (Mahboub et al. 2021). Το γεγονός αυτό συνεπάγεται τη σημαντική μείωση της πρόσληψης τροφής και την εμφάνιση ανεπαρκειών σε μικροθρεπτικά συστατικά, οδηγώντας έτσι συχνά σε περιπτώσεις υποσιτισμού (Kemény et al. 2021). Επιπρόσθετοι παράγοντες που επηρεάζουν τη διατροφική κατάσταση των χρηστών ψυχοδραστικών ουσιών περιλαμβάνουν τον τύπο, τη συχνότητα και τη διάρκεια της χρήσης τους και την παρουσία μολυσματικών ασθενειών (Santolaria-Fernández et al. 1995). Έρευνες που σύγκριναν την επίδραση της μεσογειακής διατροφής και των δυτικών διατροφικών συνθηκών στις εθιστικές ιδιότητες της μορφίνης καθώς και στους παράγοντες υποτροπής του φαρμάκου, έδειξαν ότι οι δίαιτες βασισμένες στο Δυτικού τύπου διατροφικό πρότυπο παρουσίασαν επαναφορά της μορφίνης (morphine-reinstatement) και τροποποιημένη νευροδιαβίβαση σε αντίθεση με τη μεσογειακή δίαιτα (Milanesi et al. 2019).

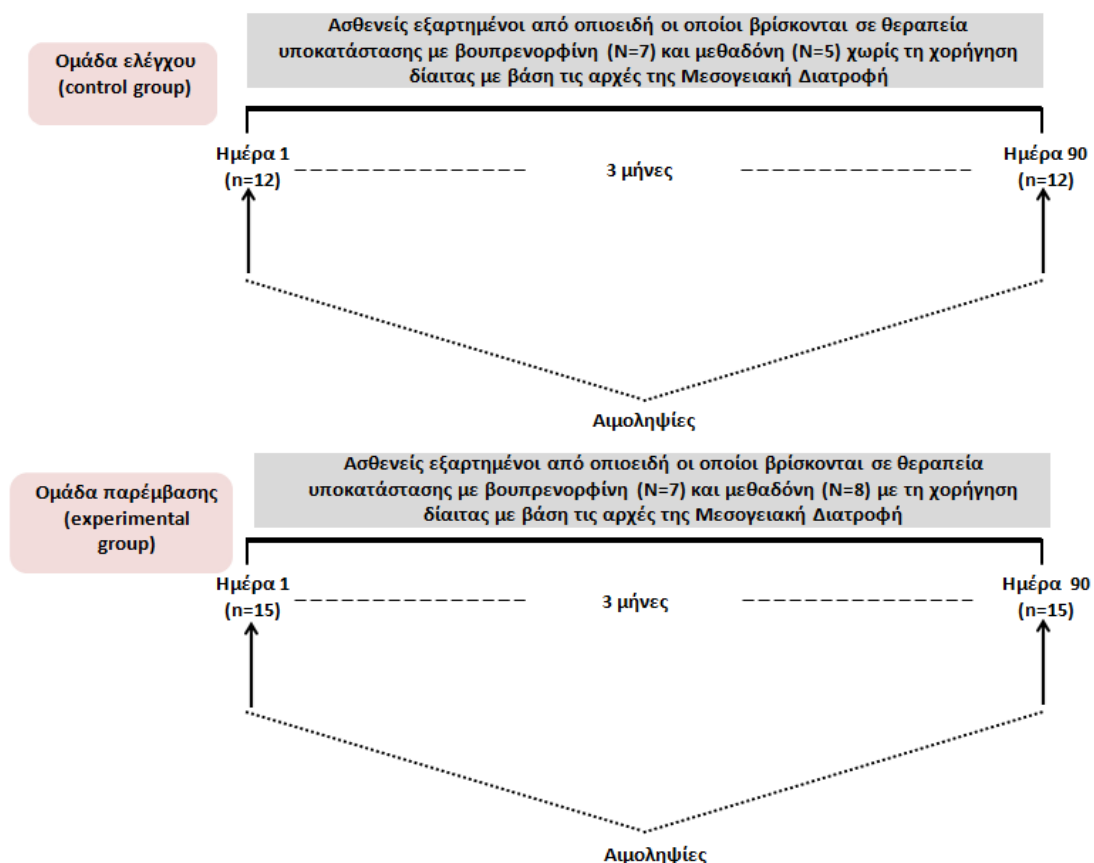
2. Σκοπός

Ποικίλες μελέτες που έχουν διεξαχθεί στο πλαίσιο της επίδρασης της μεσογειακής διατροφής στο οξειδωτικό στρες του αίματος παρουσιάζουν θετικά αποτελέσματα. Ωστόσο, η πιθανή ευεργετική δράση αυτού του τύπου διατροφής σε άτομα που βρίσκονται σε στάδιο απεξάρτησης από τα οπιοειδή και τα οποία χαρακτηρίζονται από έντονο οξειδωτικό περιβάλλον και οξειδωτικό στρες στο αίμα τους, δεν έχει μελετηθεί. Η ερευνητική αυτή μελέτη αποσκοπεί στη διερεύνηση της επίδρασης της μεσογειακής διατροφής στο οξειδωτικό στρες του αίματος σε ασθενείς που βρίσκονται υπό φαρμακευτική αντιμετώπιση της εξάρτησης από οπιοειδή με μεθαδόνη και βουπρενορφίνη. Απώτερος σκοπός της μελέτης αποτελεί η προσκόλληση των εξαρτημένων ασθενών σε αυτό το πρότυπο διατροφής με αποτέλεσμα την υιοθέτησή του στις δομές απεξάρτησης του ΟΚΑΝΑ.

3. Υλικά και Μέθοδοι

3.1 Σχεδιασμός της μελέτης

Στην παρούσα μελέτη, συμμετείχαν εθελοντικά ασθενείς του Οργανισμού Κατά των Ναρκωτικών (Αθήνα) που είναι εξαρτημένοι από οπιοειδή και βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης με βουπρενορφίνη και μεθαδόνη. Όλοι οι ασθενείς έδωσαν γραπτή συναίνεση για τη συμμετοχή τους στη μελέτη έπειτα από αναλυτική προσωπική ενημέρωση σχετικά με την διεξαγωγή της έρευνας, τους στόχους και τα οφέλη της. Όλα τα προσωπικά δεδομένα των ασθενών και οι πληροφορίες που συγκεντρώθηκαν διατηρούνται αυστηρά απόρρητα σε υπολογιστές που προστατεύονται με κωδικό πρόσβασης εντός του OKANA, δεν μεταφέρονται ποτέ εκτός του ιδρύματος και είναι προσβάσιμα μόνο στους ερευνητές. Σύμφωνα με τα κριτήρια συμμετοχής στη μελέτη, οι ασθενείς έπρεπε να είναι άνω των 20 ετών, να εμφανίζουν σωματική ή ψυχολογική εξάρτηση και να βρίσκονται υπό ενεργή διαταραχή χρήσης ουσιών. Στα κριτήρια αποκλεισμού συμπεριλαμβάνονταν η εμφάνιση σοβαρής οργανικής νόσου που θα εμπόδιζε την παρακολούθηση του προγράμματος καθώς και οι υποτροπές σε άλλες ψυχοτρόπες ουσίες εκτός των χορηγηθέντων. Όλοι οι ασθενείς υπόκεινταν σε εβδομαδιαίες ουροληψίες για τον έλεγχο παράλληλης χρήσης άλλων οπιοειδών. Η μεθαδόνη χορηγείται ως πόσιμο διάλυμα καθαρής μεθαδόνης διαλυμένης σε νερό με αναλογία 1:10. Η μέση ημερήσια δόση χορήγησης κυμαίνεται μεταξύ 65 και 75 mg ημερησίως. Η βουπρενορφίνη διατίθεται σε μορφή δισκίων των 8 mg και των 2 mg, με μέση ημερήσια δόση 14-16 mg. Όλες οι ημερήσιες δόσεις ακολουθούν τα εθνικά και διεθνή πρότυπα των συγκεκριμένων φαρμακευτικών ουσιών. Βάσει του πειραματικού σχεδιασμού, ο διαχωρισμός των ασθενών πραγματοποιήθηκε τυχαιοποιημένα με τη χρήση λογισμικού υπολογιστή. Οι συμμετέχοντες χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, την ομάδα παρέμβασης (experimental group), η οποία λάμβανε γεύματα βασισμένα στο μεσογειακό διατροφικό πρότυπο, και την ομάδα ελέγχου (control group), η οποία δεν ακολουθούσε το διατροφικό αυτό πρότυπο (Σχήμα 2). Οι δύο ομάδες διαχωρίστηκαν σε δύο επιμέρους υποομάδες βάσει της φαρμακευτικής θεραπείας υποκατάστασης οπιοειδών που λάμβαναν. Συγκεκριμένα, η ομάδα παρέμβασης αποτελείται από ασθενείς που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης με βουπρενορφίνη (n=7) και ασθενείς που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης με μεθαδόνη (n=8). Η ομάδα ελέγχου αποτελείται από ασθενείς που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης με βουπρενορφίνη στους οποίους δεν εφαρμόστηκε καμία παρέμβαση (n=7) και ασθενείς που βρίσκονται σε θεραπεία υποκατάστασης με μεθαδόνη στους οποίους, επίσης, δεν εφαρμόστηκε καμία παρέμβαση (n=5).



Σχήμα 2: Ο πειραματικός σχεδιασμός της μελέτης

3.2 Παρέμβαση

Η χορήγηση γευμάτων βασισμένων στο μεσογειακό διατροφικό πρότυπο διήρκησε 90 ημέρες (τρεις μήνες) και τα γεύματα δίνονταν πρωί, μεσημέρι και βράδυ. Τα διατροφικά γεύματα ήταν μία ευγενική χορηγία της εταιρείας συστηματικής εστίασης *Γευσήνους*, που δραστηριοποιείται στο Κρυονέρι Αττικής. Τα διατροφικά σκευάσματα προετοιμάζονταν καθημερινά σύμφωνα με το πρότυπο της μεσογειακής διατροφής (55-60% υδατάνθρακες, 10-15% πρωτεΐνες και 30-35% λιπαρά οξέα) και παραδίνονταν στους ασθενείς σε έτοιμη μορφή γευμάτων και συγκεκριμένα πρωινό, μεσημεριανό και βραδινό. Σε κάθε γεύμα περιλαμβάνονταν δημητριακά ολικής άλεσης, ψωμί, ζυμαρικά, ρύζι, παρθένο ελαιόλαδο, φρούτα (ένα μήλο) και λαχανικά εποχής (λάχανο, μαρούλι, καρότο, ντομάτα, κρεμμύδι). Καθημερινά διατίθονταν γαλακτοκομικά (τυρί κίτρινο χαμηλών λιπαρών, γάλα) σε ένα γεύμα καθώς και όσπρια σε ένα γεύμα. Επιπλέον, σε εβδομαδιαία βάση δίνονταν αυγά (τρία γεύματα), κοτόπουλο (δύο γεύματα), ψάρι (τρία γεύματα) και κόκκινο κρέας (χοιρινό ή μοσχάρι) σε ένα γεύμα. Όλα τα διατροφικά σκευάσματα ακολουθούσαν τα πρότυπα ποιότητας HACCP για την προετοιμασία, τη παρασκευή, τη συσκευασία και τη διανομή. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία και προηγούμενες μελέτες παρέμβασης με παρόμοιο πειραματικό σχεδιασμό, όσον αφορά τη διάρκεια και το είδος της παρέμβασης, έδειξαν ότι

μια διατροφή βασισμένη στο μεσογειακό πρότυπο βελτιώνει παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με καρδιαγγειακά νοσήματα (Estruch et al. 2006, Lairon 2007, Vincent-Baudry et al. 2005). Πριν την έναρξη καθώς και με το πέρας της παρέμβασης πραγματοποιήθηκαν αιμοληψίες από όλους τους συμμετέχοντες και των δύο ομάδων, ώστε να μετρηθεί η συγκέντρωση του αντιοξειδωτικού μορίου γλουταθειόνη (GSH) στα ερυθροκύτταρα και η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (total antioxidant capacity, TAC) στο πλάσμα των ασθενών.

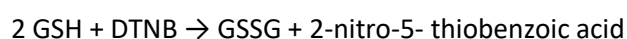
3.3 Συλλογή και χειρισμός του αίματος

Η πραγματοποίηση των αιμοληψιών για τη συλλογή δειγμάτων έγινε πριν την έναρξη της παρέμβασης, δηλαδή της χορήγησης των γευμάτων (Ημέρα 1), και τρεις μήνες μετά, δηλαδή αμέσως μετά τη λήξη της χορήγησης γευμάτων (Ημέρα 90). Το αίμα συλλέχθηκε σε φιαλίδια με αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA), ως αντιπηκτικό. Πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρωση στα 1370 g, για 10 λεπτά, στους 4°C ώστε να επιτευχθεί ο διαχωρισμός του πλάσματος από το ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα. Το υπερκείμενο πλάσμα συλλέχθηκε σε πλαστικά φιαλίδια και αποθηκεύτηκε στους -80°C έως την πραγματοποίηση της μέτρησης της TAC. Στα ερυθροκύτταρα που βρίσκονταν ως ίζημα προστέθηκε απιονισμένο νερό (1:1 v/v), πραγματοποιήθηκε φυγοκέντρωση (4000 g, για 15 λεπτά, στους 4°C) και το υπερκείμενο συλλέχθηκε και διατηρήθηκε σε πλαστικά φιαλίδια στους -80°C. Το υπερκείμενο αυτό υγρό αποτελεί το ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα (red blood cell lysate, RBCL), στο οποίο μετρήθηκαν η συγκέντρωση της GSH και της αιμοσφαιρίνης. Τα πρωτόκολλα μέτρησης των παραπάνω βιοδεικτών περιγράφονται αναλυτικά παρακάτω.

3.4 Φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός της συγκέντρωσης της γλουταθειόνης (GSH) στο ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα

Αρχή της μεθόδου

Το πειραματικό πρωτόκολλο βασίζεται στην οξείδωση της GSH από το διθειοδύο-νιτροβενζοϊκό οξύ (DTNB). Η GSH αντιδρά με το DTNB παράγοντας GSSG (την οξειδωμένη της μορφή) και 2-νιτρο-5-θειοβενζοϊκό οξύ σύμφωνα με την παρακάτω αντίδραση, το οποίο είναι χρωμοφόρο προϊόν με μέγιστη οπτική απορρόφηση στα 412 nm. Η GSH παράγεται από την GSSG μέσω της δράσης της αναγωγάσης της γλουταθειόνης.



Αντιδραστήρια

- Φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα 67mM (pH 7,95) (Phosphate buffer). Για την παρασκευή 500 mL φωσφορικού ρυθμιστικού διαλύματος απαιτούνται 25 mL από το δισόξινο φωσφορικό κάλιο (KH₂PO₄) (67 mM) και 500 mL από το όξινο φωσφορικό δινάτριο (Na₂HPO₄) (67 mM). Για το KH₂PO₄ χρειάζονται 0,227 g

διαλυμένα σε 25 mL νερού. Για το Na_2HPO_4 χρειάζονται 5,94 g διαλυμένα σε 475 mL νερού. Σε ένα ποτήρι ζέσεως αναμειγνύονται τα δύο διαλύματα. Τέλος, το pH διορθώνεται με την προσθήκη υπεροξειδίου του νατρίου (NaOH) ή υδροχλωρίου (HCl) 1 N έως την τιμή 7,95.

- Διθειοδύο-νιτροβενζοϊκό οξύ 1mM (DTNB) σε 1% κιτρικό νάτριο (sodium citrate) διαλυμένα σε απιονισμένο νερό. Αρχικά διαλύονται 39,6 mg DTNB σε 100 ml του 1% διαλύματος του κιτρικού νατρίου, για να δώσει μία συγκέντρωση ίση με 1 mM.
- Κιτρικό νάτριο. Το DTNB διαλύεται σε κιτρικό νάτριο το οποίο εμποδίζει σημαντικές αλλαγές στο pH.

Πειραματική διαδικασία

1. Σε πλαστικά φιαλίδια errendorf τοποθετούνται τα ακόλουθα αντιδραστήρια σύμφωνα με τον πίνακα:

Αντιδραστήριο	Δείγμα ελέγχου (Όγκος σε mL)	Δείγμα μελέτης (Όγκος σε mL)
Phosphate buffer 67 mM, pH 7,95	660	660
Απεσταγμένο νερό	20	—
Αιμόλυμα	—	20
DTNB 1 mM	330	330

2. Πραγματοποιείται ανάδευση (Vortex).
3. Τα φιαλίδια επώζονται στο σκοτάδι για 15 λεπτά. Η διατήρησή τους στο σκοτάδι αποσκοπεί στην πραγματοποίηση της αντίδρασης μεταξύ του DTNB και της GSH.
4. Πραγματοποιείται μέτρηση της απορρόφησης στα 412 nm με πλαστική κυψελίδα.

Υπολογισμοί

Συγκέντρωση της GSH (mmol/L) = $(\text{Abs}_{\text{δείγματος}} - \Delta \text{Abs}_{\text{υφλού}} / 13,6) * 262,6$, όπου το 13,6 είναι ο συντελεστής μοριακής απόσβεσης του DTNB, το 262,6 αποτελεί τον συντελεστή αραίωσης, που προκύπτει διαιρώντας τον τελικό όγκο (1010 μL) με τον όγκο του αιμόλυματος (20 μL) ($1010/20 = 50,5$), πολλαπλασιάζοντας με 2 για τον συνυπολογισμό της 1:1 αραίωσης που πραγματοποιήθηκε για τη λύση των ερυθροκυττάρων και με $2*1,3$ για τον συνυπολογισμό της πρώτης (500 μL αιμόλυματος/500 μL 5% TCA) και της δεύτερης αραίωσης (390 μL /300 μL ή 260 μL /200 μL) που έγινε από το TCA 5%.

Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης της GSH εκφράζεται ως προς την αιμοσφαιρίνη (mmol/ g Hb). Η αιμοσφαιρίνη υπολογίζεται με τη βοήθεια ενός εμπορικά διαθέσιμου kit και πρέπει να εκφραστεί σε g/L ώστε η μονάδα αυτή να είναι σε συμφωνία με τη συγκέντρωση της GSH που υπολογίστηκε προηγουμένως (mmol/L). Συνεπώς, μετά τη φωτομέτρηση η τιμή της αιμοσφαιρίνης υπολογίζεται σε g/dL. Πολλαπλασιάζοντας την τιμή αυτή με $10*2$, μετατρέπεται σε g/L και ταυτόχρονα λαμβάνεται υπόψη την 1:1 αραίωση κατά τη λύση των ερυθροκυττάρων.

3.5 Φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) στο ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα

Αρχή της μεθόδου

Η TAC στη συγκεκριμένη μέθοδο υπολογίζεται χρησιμοποιώντας το DPPH (2,2-διφαινυλο-1-πικρυλ-υδραζύλιο). Παρουσία μορίων που δρουν ως δότες υδρογόνων και βρίσκονται στο πλάσμα, η παραπάνω ρίζα (DPPH•) ανάγεται προς σχηματισμό της αντίστοιχης υδραζίνης (1,1-διφαινυλο-2-πικρυλ-υδραζίνη). Η μετατροπή της ρίζας υπολογίζεται με φωτομέτρηση στα 520 nm.

Αντιδραστήρια

- Φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα 10 mM (pH 7,4) (Phosphate buffer). Για την παρασκευή 500 mL φωσφορικού ρυθμιστικού διαλύματος απαιτούνται 100 mL από το δισόξινο φωσφορικό κάλιο (KH_2PO_4) (10 mM) και 400 mL από το όξινο φωσφορικό δινάτριο (Na_2HPO_4) (10 mM). Για το KH_2PO_4 χρειάζονται 0,136 g διαλυμένα σε 100 mL νερό. Για το Na_2HPO_4 χρειάζονται 0,712 g διαλυμένα σε 400 mL νερού. Σε ένα ποτήρι ζέσεως αναμειγνύονται τα δύο διαλύματα. Τέλος, το pH διορθώνεται με την προσθήκη υπεροξειδίου του νατρίου (NaOH) ή υδροχλωρίου (HCl) 1 N έως την τιμή 7,4.
- DPPH 0,1 mM. Αρχικά προστίθενται 0,02 g DPPH σε 5 ml μεθανόλης και αναδεύονται. Το διάλυμα αραιώνεται 100 φορές με μεθανόλη και πραγματοποιείται ανάδευση.

Πειραματική διαδικασία

1. Σε πλαστικά φιαλίδια erpendorf τοποθετούνται τα ακόλουθα αντιδραστήρια σύμφωνα με τον πίνακα:

Αντιδραστήρια	Δείγμα μελέτης (Όγκος σε mL)	Δείγμα μελέτης (Όγκος σε mL)
Phosphate buffer 10 mM, pH 7,4	500	480
DPPH 0,1 mM	500	500
Πλάσμα	—	20

2. Πραγματοποιείται ανάδευση (Vortex).
3. Επώαση στο σκοτάδι για 60 λεπτά. Κατά τη διάρκεια της επώασης οι αντιοξειδωτικές ουσίες του πλάσματος εξουδετερώνουν τη ρίζα DPPH μετατρέποντάς τη στην πιο σταθερή ένωση υδραζίνη.
4. Φυγοκέντρηση για 3 λεπτά στα 15.000 g στους 25°C.
5. Μέτρηση οπτικής απορρόφησης στα 520 nm με πλαστική κυψελίδα.

Υπολογισμοί

Τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως $\mu\text{mol DPPH που ανάχθηκαν/ml πλάσματος} = [(\% \text{ Abs μείωση}/100) \cdot 50 \cdot 50]/1000$. Αρχικά, πραγματοποιείται διαίρεση με το 100 ώστε να μετατραπεί η ποσοστιαία μείωση της απορρόφησης σε απλή μείωση της απορρόφησης. Στη συνέχεια πολλαπλασιάζεται με το 100 ($50 \cdot 50$), διότι η συγκέντρωση του DPPH στην κυψελίδα είναι $50 \mu\text{mol/L}$ και η αραίωση του πλάσματος στην κυψελίδα είναι 50-πλάσια ($1000 \mu\text{L στην κυψελίδα}/20 \mu\text{L πλάσματος του δείγματος στην κυψελίδα} = 50$). Τέλος, η μετατροπή των ml ορού σε L του πλάσματος πραγματοποιείται με τη διαίρεση με 1000.

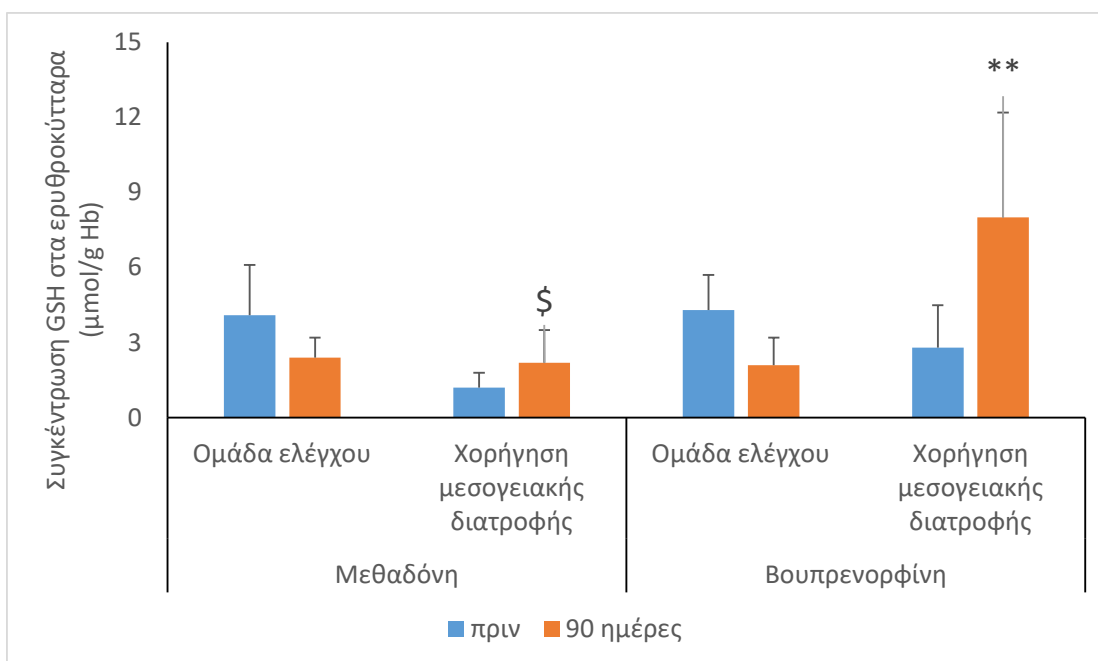
3.6 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε μέσω της ανάλυσης διακύμανσης τριών παραγόντων με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (3-way ANOVA, repeated measures). Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέσος όρος $\pm$ τυπική απόκλιση (Mean $\pm$ SD). Το επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο $p < 0,05$. Για όλες τις στατιστικές αναλύσεις χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα IBM SPSS Statistics, version 20.0.

4. Αποτελέσματα

4.1 Γλουταθειόνη (GSH)

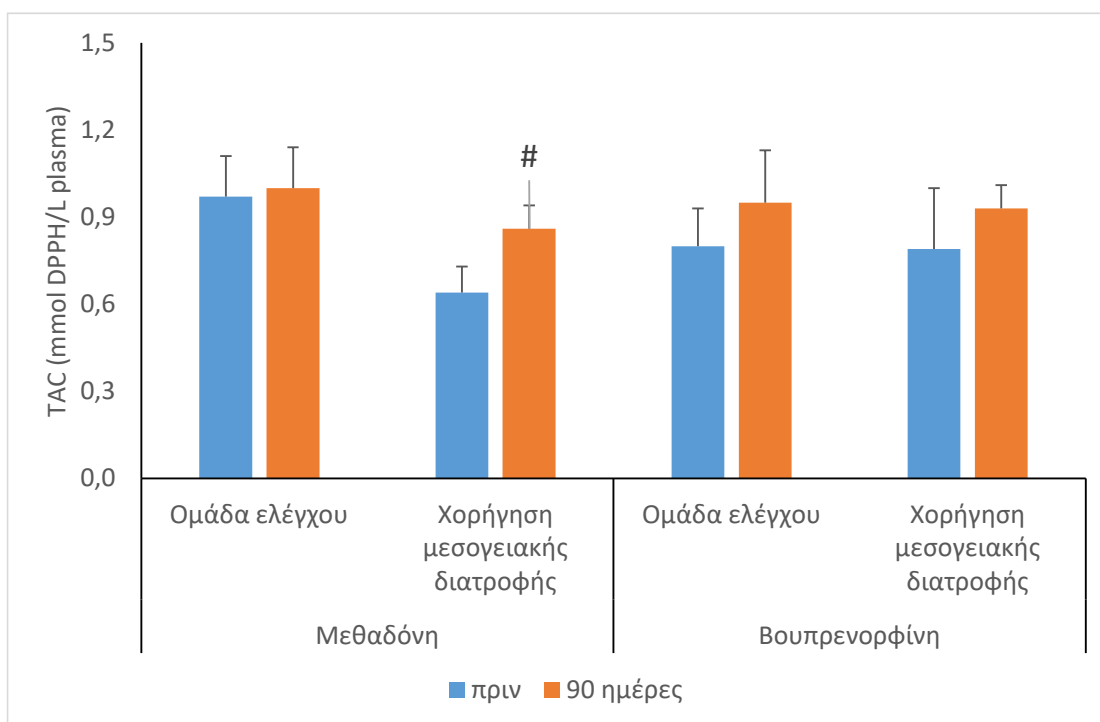
Σύμφωνα με τα αποτελέσματα για την GSH, βρέθηκε κύρια επίδραση του χρόνου ($p=0,041$). Όπως φάνηκε από τις ζευγαρωτές συγκρίσεις, οι ασθενείς υπό βουπρενορφίνη είχαν υψηλότερη συγκέντρωση GSH σε σχέση με τους ασθενείς υπό μεθαδόνη, μετά τη χορήγηση της πειραματικής δίαιτας ($p=0,033$). Επίσης, παρατηρήθηκε μία τάση αύξησης ($p=0,063$) της συγκέντρωσης της GSH στους ασθενείς υπό μεθαδόνη στις 90 ημέρες μετά τη χορήγηση της πειραματικής δίαιτας σε σύγκριση με την έναρξη του πειράματος (1 Ημέρα) (Εικόνα 14).



Εικόνα 14: Τα αποτελέσματα της επίδρασης διατροφικής παρέμβασης με βάση τις αρχές της Μεσογειακής Διατροφής στη συγκέντρωση της GSH των ερυθροκυττάρων ασθενών υπό φαρμακευτική αντιμετώπιση εξάρτησης από οπιοειδή με μεθαδόνη και βουπρενορφίνη. **: Στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο θεραπειών υποκατάστασης (μεθαδόνη και βουπρενορφίνη) στην ίδια ομάδα την ίδια χρονική στιγμή. \$: Τάση για στατιστικά σημαντική διαφορά στην ίδια ομάδα σε σύγκριση με τη στιγμή πριν.

4.2 Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC)

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα για την TAC, βρέθηκε κύρια επίδραση του χρόνου ($p=0,039$) και τάση εμφάνισης κύριας επίδρασης της παρέμβασης ($p=0,065$). Όπως φάνηκε από τις ζευγαρωτές συγκρίσεις, οι ασθενείς υπό μεθαδόνη είχαν υψηλότερη συγκέντρωση TAC στις 90 ημέρες μετά τη χορήγηση της πειραματικής δίαιτας σε σύγκριση με την έναρξη του πειράματος (1 Ημέρα) ($p=0,030$) (Εικόνα 15).



Εικόνα 15: Τα αποτελέσματα της επίδρασης διατροφικής παρέμβασης με βάση τις αρχές της Μεσογειακής Διατροφής στην TAC του πλάσματος ασθενών υπό φαρμακευτική αντιμετώπιση εξάρτησης από οπιοειδή με μεθαδόνη και βουπρενορφίνη. #: Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σύγκριση με την τιμή της χρονικής στιγμής πριν στην ίδια θεραπεία υποκατάστασης.

Συνολικά, φάνηκε ότι η εξεταζόμενη διατροφική παρέμβαση βελτίωσε την αντιοξειδωτική ικανότητα του αίματος των ασθενών υπό μεθαδόνη, μέσω της αύξησης της συγκέντρωσης της GSH και της TAC.

5. Συζήτηση

Η παρουσία οξειδωτικού στρες στο αίμα χρηστών ψυχοδραστικών ουσιών αποτελεί βασικό βιοχημικό χαρακτηριστικό των ασθενών αυτών, όπως έχει βρεθεί σε προηγούμενες μελέτες (Arezoomandan et al., 2022, Leventelis et al. 2019, Salarian et al. 2018). Το μεσογειακό διατροφικό πρότυπο έχει συσχετιστεί με τη βελτίωση δεικτών του οξειδωτικού στρες στο αίμα μειώνοντας τον κίνδυνο εμφάνισης πολλαπλών χρόνιων ασθενειών και αυξάνοντας το προσδόκιμο ζωής. Επομένως, η παρούσα μελέτη εστιάζει στη διερεύνηση της πιθανής ευεργετικής επίδρασης διατροφικής παρέμβασης με βάση τις αρχές της μεσογειακής διατροφής στο οξειδωτικό στρες του αίματος σε ασθενείς που βρίσκονται υπό φαρμακευτική αντιμετώπιση της εξάρτησης από οπιοειδή με μεθαδόνη και βουπρενορφίνη. Για τον σκοπό αυτό, μελετήθηκε στο αίμα των συμμετεχόντων η συγκέντρωση της GSH και η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC), που αποτελούν βασικούς αντιοξειδωτικούς δείκτες του αίματος. Βάσει των αποτελεσμάτων φάνηκε ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα του αίματος των ασθενών υπό μεθαδόνη βελτιώθηκε μέσω την διατροφικής παρέμβασης. Τα ευρήματα αυτά συνάδουν με τα αποτελέσματα παρόμοιας διατροφικής παρέμβασης, καθώς η μεσογειακή διατροφή αύξησε τα επίπεδα της GSH στο αίμα (Yurtdaş et al. 2022).

Η μεσογειακή διατροφή αποτελείται από ποικίλα φυτοχημικά συστατικά τα οποία δύνανται να λειτουργήσουν ως αντιοξειδωτικά για την προστασία από το οξειδωτικό στρες. Κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι συστατικά της μεσογειακής διατροφής μπορούν να βελτιώσουν την οξείδωση των βιομορίων του κυττάρου, καταστέλλοντας έτσι τα επίπεδα φλεγμονωδών δεικτών (Chiu et al. 2016, Meza-Miranda et al. 2014, Ortner Hadžiabdić et al. 2016). Τα αποτελέσματα αυτά της ευεργετικής δράσης της μεσογειακής διατροφής αποδίδονται στο προφίλ των θρεπτικών συστατικών της. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η μεσογειακή διατροφή με έμφαση στο παρθένο ελαιόλαδο, καθώς συνδέεται με υψηλότερα επίπεδα αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος (Razquin et al. 2009). Επιπρόσθετα, τα αποτελέσματα έρευνας με 564 συμμετέχοντες που επιλέχθηκαν τυχαιοποιημένα από το πρόγραμμα PREDIMED, συγκλίνουν προς την έκβαση της παρούσας μελέτης. Πιο συγκεκριμένα, φάνηκε ότι η ετήσια παρέμβαση ακολουθώντας μια μεσογειακή δίαιτα, αυξάνει τα επίπεδα της TAC στο πλάσμα του αίματος (Zamora-Ros et al. 2013).

Αξίζει να σημειωθεί ότι είναι διαθέσιμα ελάχιστα ερευνητικά δεδομένα σχετικά με τα επίπεδα και τις τροποποιήσεις των βιοδεικτών οξειδοαναγωγής του αίματος ασθενών που βρίσκονται υπό φαρμακευτική αντιμετώπιση της εξάρτησης από οπιοειδή μετά από διατροφικές παρεμβάσεις. Ωστόσο, η φαρμακευτική αγωγή υποκατάστατων που λαμβάνουν μετριάξει τις επιβλαβείς επιδράσεις της ηρωίνης στην οξειδοαναγωγική κατάσταση των ασθενών (Leventelis et al. 2019). Συμπερασματικά, εύλογα προκύπτει ότι η ενίσχυσή τους με την ταυτόχρονη προσκόλληση -και πιθανώς μελλοντική υιοθέτηση- ενός πλάνου βασισμένου στο μεσογειακό πρότυπο, θα μπορούσε ενδεχομένως να εντείνει την ευεργετική δράση των υποκατάστατων που λαμβάνουν οι ασθενείς και κατ' επέκταση να βελτιώσει το οξειδωτικό στρες στο αίμα τους.

6. Συντομογραφίες

AMP (Adenosine monophosphate): Μονοφωσφορική Αδενοσίνη

ATP (Adenosine triphosphate): Τριφωσφορική Αδενοσίνη

EDTA (Ethylene diamine tetraacetic acid): Αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ

ETC (Electron Transport Chain): Αλυσίδα Μεταφοράς Ηλεκτρονίων

FDA (Food and Drug Administration): Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων

GMP (Guanosine phosphate): Φωσφορική Γουανοσίνη

GSH (Glutathione): Γλουταθειόνη

GSSG (Glutathione disulfide): Δισουλφίδιο της Γλουταθειόνης

IMP (Inosine monophosphate): Μονοφωσφορική Ινοσίνη

LAO (Long-acting Opioids): Οπιοειδή μακράς δράσης

NADH (NADH dehydrogenase complex): Σύμπλοκο Δεϋδρογενάσης NADH

NADPH (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Dhosphate): Φωσφορικό δινουκλεοτίδιο νικοτιναμίδης αδερίνης

OUD (Opioid Use Disorder): Διαταραχή Χρήσης Οπιοειδών

RBCL (Red Blood Cell Lysate): Ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα

RNS (Reactive Nitrogen Species): Δραστικές μορφές αζώτου

ROS (Reactive Oxygen Species): Δραστικές μορφές οξυγόνου

TAC (Total Antioxidant Capacity): Ολική Αντιοξειδωτική Ικανότητα

7. Βιβλιογραφία

7.1 Βιβλιογραφία στην Αγγλική

- APA (American Psychiatric Association), 2022. APA Dictionary of Psychology. Available from: <https://dictionary.apa.org/methadone>
- Abdulmalek, S., Hardiman, G., 2023. Genetic and epigenetic studies of opioid abuse disorder - the potential for future diagnostics. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 23, 361–373. <https://doi.org/10.1080/14737159.2023.2190022>
- Adeoye, O., Olawumi, J., Opeyemi, A., Christiania, O., 2018. Review on the role of glutathione on oxidative stress and infertility. *JBRA Assist. Reprod.* 22, 61–66. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20180003>
- Agus, A., Denizot, J., Thévenot, J., Martinez-Medina, M., Massier, S., Sauvanet, P., Bernalier-Donadille, A., Denis, S., Hofman, P., Bonnet, R., Billard, E., Barnich, N., 2016. Western diet induces a shift in microbiota composition enhancing susceptibility to Adherent-Invasive *E. coli* infection and intestinal inflammation. *Sci. Rep.* 6, 19032. <https://doi.org/10.1038/srep19032>
- Ahmad, S.B., Ali, A., Bilal, M., Rashid, S.M., Wani, A.B., Bhat, R.R., Rehman, M.U., 2023. Melatonin and Health: Insights of Melatonin Action, Biological Functions, and Associated Disorders. *Cell. Mol. Neurobiol.* 43, 2437–2458. <https://doi.org/10.1007/s10571-023-01324-w>
- Annesley, S.J., Fisher, P.R., 2019. Mitochondria in Health and Disease. *Cells* 8. <https://doi.org/10.3390/cells8070680>
- Aoyama, K., 2021. Glutathione in the Brain. *Int. J. Mol. Sci.* 22. <https://doi.org/10.3390/ijms22095010>
- Arezoomandan, M., Zhiani, R., Mehrzad, J., Motavalizadehkakhky, A., Eshрати, S., Arezoomandan, R., 2022. Inflammatory, oxidative stress and cognitive functions in patients under maintenance treatment with methadone or buprenorphine and healthy subjects. *J. Clin. Neurosci. Off. J. Neurosurg. Soc. Australas.* 101, 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2022.04.018>
- Arjona Garrido, Á., Monserrat Hernández, M., Checa Olmos, J.C., 2023. Healthy Eating in the Spanish University Community: A Case Study. *Nutrients* 15. <https://doi.org/10.3390/nu15092053>
- Ashleigh, T., Swerdlow, R.H., Beal, M.F., 2023. The role of mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease pathogenesis. *Alzheimers Dement.* 19, 333–342. <https://doi.org/10.1002/alz.12683>
- Augimeri, G., Bonofiglio, D., 2023. Promising Effects of N-Docosahexaenoyl Ethanolamine in Breast Cancer: Molecular and Cellular Insights. *Mol. Basel Switz.* 28. <https://doi.org/10.3390/molecules28093694>
- Averill-Bates, D.A., 2023. The antioxidant glutathione. *Vitam. Horm.* 121, 109–141. <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2022.09.002>
- Babaei-Abraki, S., Karamali, F., Nasr-Esfahani, M.H., 2023. Ferroptosis: The functions of Nrf2 in human embryonic stem cells. *Cell. Signal.* 106, 110654. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2023.110654>
- Bertoni, Albertini, Facchini, Prata, Passerini, 2019. Glutathione-Loaded Solid Lipid Microparticles as Innovative Delivery System for Oral Antioxidant Therapy. *Pharmaceutics* 11, 364. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11080364>
- Betül Çalışkan, Ali Cengiz Çalışkan, 2018. EPR Analysis of Antioxidant Compounds, in: Rizvan Ahmad (Ed.), *Free Radicals, Antioxidants and Diseases*. IntechOpen, Rijeka, p. Ch. 4. <https://doi.org/10.5772/intechopen.74294>

- Bossel, A., Waeber, G., Garnier, A., Marques-Vidal, P., Kraege, V., 2023. Association between Mediterranean Diet and Type 2 Diabetes: Multiple Cross-Sectional Analyses. *Nutrients* 15. <https://doi.org/10.3390/nu15133025>
- Bryl, A., Mrugacz, M., Falkowski, M., Zorena, K., 2023. A Mediterranean Diet May Be Protective in the Development of Diabetic Retinopathy. *Int. J. Mol. Sci.* 24. <https://doi.org/10.3390/ijms241311145>
- Buck, A.N., Vincent, H.K., Newman, C.B., Batsis, J.A., Abbate, L.M., Huffman, K.F., Bodley, J., Vos, N., Callahan, L.F., Shultz, S.P., 2023. Evidence-Based Dietary Practices to Improve Osteoarthritis Symptoms: An Umbrella Review. *Nutrients* 15. <https://doi.org/10.3390/nu15133050>
- Bulló, M., Lamuela-Raventós, R., Salas-Salvadó, J., 2011. Mediterranean diet and oxidation: nuts and olive oil as important sources of fat and antioxidants. *Curr. Top. Med. Chem.* 11, 1797–1810. <https://doi.org/10.2174/156802611796235062>
- Cao, D.-N., Li, F., Wu, N., Li, J., 2023. Insights into the mechanisms underlying opioid use disorder and potential treatment strategies. *Br. J. Pharmacol.* 180, 862–878. <https://doi.org/10.1111/bph.15592>
- Cardoso, S.M., Pereira, C., Oliveira, C.R., 1998. The Protective Effect of Vitamin E, Idebenone and Reduced Glutathione on Free Radical Mediated Injury in Rat Brain Synaptosomes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 246, 703–710. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1998.8563>
- Cetin Cakmak, K., Gülçin, İ., 2019. Anticholinergic and antioxidant activities of usnic acid-an activity-structure insight. *Toxicol. Rep.* 6, 1273–1280. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.11.003>
- Chen, C.-Y.O., Blumberg, J.B., 2008. Phytochemical composition of nuts. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 17 Suppl 1, 329–332.
- Chen, G., Leary, S., Niu, J., Perry, R., Papadaki, A., 2023. The Role of the Mediterranean Diet in Breast Cancer Survivorship: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies and Randomised Controlled Trials. *Nutrients* 15. <https://doi.org/10.3390/nu15092099>
- Chen, Y., Zhou, Z., Min, W., 2018. Mitochondria, Oxidative Stress and Innate Immunity. *Front. Physiol.* 9, 1487. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01487>
- Chiu, H.-F., Shen, Y.-C., Huang, T.-Y., Venkatakrishnan, K., Wang, C.-K., 2016. Cardioprotective Efficacy of Red Wine Extract of Onion in Healthy Hypercholesterolemic Subjects. *Phytother. Res. PTR* 30, 380–385. <https://doi.org/10.1002/ptr.5537>
- Corella, D., Coltell, O., Macian, F., Ordovás, J.M., 2018. Advances in Understanding the Molecular Basis of the Mediterranean Diet Effect. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 9, 227–249. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032217-020802>
- Cox, A.G., Winterbourn, C.C., Hampton, M.B., 2009. Mitochondrial peroxiredoxin involvement in antioxidant defence and redox signalling. *Biochem. J.* 425, 313–325. <https://doi.org/10.1042/BJ20091541>
- Cruzat, V., Tirapegui, J., 2015. Glutamine and Skeletal Muscle. p. 12. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1932-1_38
- Dai, J., Jones, D.P., Goldberg, J., Ziegler, T.R., Bostick, R.M., Wilson, P.W., Manatunga, A.K., Shallenberger, L., Jones, L., Vaccarino, V., 2008. Association between adherence to the Mediterranean diet and oxidative stress. *Am. J. Clin. Nutr.* 88, 1364–1370. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.26528>
- D'Alessandro, C., Giannese, D., Panichi, V., Cupisti, A., 2023. Mediterranean Dietary Pattern Adjusted for CKD Patients: The MedRen Diet. *Nutrients* 15. <https://doi.org/10.3390/nu15051256>

- D'Aunno, T., Park, S.E., Pollack, H.A., 2019. Evidence-based treatment for opioid use disorders: A national study of methadone dose levels, 2011-2017. *J. Subst. Abuse Treat.* 96, 18–22. <https://doi.org/10.1016/j.jsat.2018.10.006>
- De, R.-P., 1888. Sur un corps d'origine organique hydrogénant le soufre á froid. *C R Acad Sci* 106, 1683.
- Dematteis, M., Auriacombe, M., D'Agnone, O., Somaini, L., Szerman, N., Littlewood, R., Alam, F., Alho, H., Benyamina, A., Bobes, J., Daulouede, J.P., Leonardi, C., Maremmanni, I., Torrens, M., Walcher, S., Soyka, M., 2017. Recommendations for buprenorphine and methadone therapy in opioid use disorder: a European consensus. *Expert Opin. Pharmacother.* 18, 1987–1999. <https://doi.org/10.1080/14656566.2017.1409722>
- Deneke, S.M., Fanburg, B.L., 1989. Regulation of cellular glutathione. *Am. J. Physiol.-Lung Cell. Mol. Physiol.* 257, L163–L173. <https://doi.org/10.1152/ajplung.1989.257.4.L163>
- Di Meo, S., Venditti, P., 2020. Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2020, 9829176. <https://doi.org/10.1155/2020/9829176>
- Dickinson, D.A., Forman, H.J., 2002. Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochem. Pharmacol.* 64, 1019–1026. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(02\)01172-3](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(02)01172-3)
- Dong, Y., Han, F., Su, Y., Sun, B., Zhao, W., Pan, C., 2023. High uric acid aggravates apoptosis of lung epithelial cells induced by cigarette smoke extract through downregulating PRDX2 in chronic obstructive pulmonary disease. *Int. Immunopharmacol.* 118, 110056. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.110056>
- Doundoulakis, I., Farmakis, I.T., Theodoridis, X., Konstantelos, A., Christoglou, M., Kotzakioulafi, E., Chrysoula, L., Siargkas, A., Karligkiotis, A., Kyprianou, G., Mastromanolis, E., Soulaïdopoulos, S., Zafeiropoulos, S., Antza, C., Tsiachris, D., Chourdakis, M., 2023. Effects of dietary interventions on cardiovascular outcomes: a network meta-analysis. *Nutr Rev* nuad080. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuad080>
- Dringen, R., 2000. Metabolism and functions of glutathione in brain. *Prog. Neurobiol.* 62, 649–671. [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(99\)00060-X](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(99)00060-X)
- Edinoff, A.N., Fahmy, O.H., Spillers, N.J., Zaheri, A.R., Jackson, E.D., De Witt, A.J., Wenger, D.M., Cornett, E.M., Skidmore, K.L., Kaye, A.M., Kaye, A.D., 2023. Low-Dose Initiation of Buprenorphine: A Narrative Review. *Curr. Pain Headache Rep.* 27, 175–181. <https://doi.org/10.1007/s11916-023-01116-3>
- Ertuş Öztürk, Y., Helvacı, E.M., Sökülmez Kaya, P., Terzi, M., 2023. Is Mediterranean diet associated with multiple sclerosis related symptoms and fatigue severity? *Nutr. Neurosci.* 26, 228–234. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2022.2034241>
- Estruch, R., Martínez-González, M.A., Corella, D., Salas-Salvadó, J., Ruiz-Gutiérrez, V., Covas, M.I., Fiol, M., Gómez-Gracia, E., López-Sabater, M.C., Vinyoles, E., Arós, F., Conde, M., Lahoz, C., Lapetra, J., Sáez, G., Ros, E., 2006. Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial. *Ann. Intern. Med.* 145, 1–11. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-145-1-200607040-00004>
- Estruch, R., Ros, E., Salas-Salvadó, J., Covas, M.-I., Corella, D., Arós, F., Gómez-Gracia, E., Ruiz-Gutiérrez, V., Fiol, M., Lapetra, J., Lamuela-Raventós, R.M., Serra-Majem, L., Pintó, X., Basora, J., Muñoz, M.A., Sorlí, J.V., Martínez, J.A., Fitó, M., Gea, A., Hernán, M.A., Martínez-González, M.A., 2018. Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet Supplemented with Extra-Virgin Olive Oil or Nuts. *N. Engl. J. Med.* 378, e34. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1800389>
- Fernández-Checa, J.C., Kaplowitz, N., García-Ruiz, C., Colell, A., Miranda, M., Marí, M., Ardite, E., Morales, A., 1997. GSH transport in mitochondria: defense against TNF-induced oxidative stress and alcohol-induced defect. *Am. J. Physiol.* 273, G7–17. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1997.273.1.G7>

- Forman, H.J., Zhang, H., 2021. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nat. Rev. Drug Discov.* 20, 689–709. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00233-1>
- Forman, H.J., Zhang, H., Rinna, A., 2009. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Mol. Aspects Med.* 30, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2008.08.006>
- Fragou, F., Theofanous, A., Deligiannakis, Y., Louloudi, M., 2023. Nanoantioxidant Materials: Nanoengineering Inspired by Nature. *Micromachines* 14. <https://doi.org/10.3390/mi14020383>
- Franco, G.A., Interdonato, L., Cordaro, M., Cuzzocrea, S., Di Paola, R., 2023. Bioactive Compounds of the Mediterranean Diet as Nutritional Support to Fight Neurodegenerative Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 24. <https://doi.org/10.3390/ijms24087318>
- Garcia-Ruiz, C., Fernandez-Checa, J.C., 2006. Mitochondrial glutathione: hepatocellular survival-death switch. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 21 Suppl 3, S3-6. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2006.04570.x>
- Ghanem, N., Dromgoole, D., Hussein, A., Jermyn, R.T., 2022. Review of medication-assisted treatment for opioid use disorder. *Journal of Osteopathic Medicine* 122, 367–374. <https://doi.org/10.1515/jom-2021-0163>
- Gong, Y., Haque, S., Chowdhury, P., Cory, T.J., Kodidela, S., Yallapu, M.M., Norwood, J.M., Kumar, S., 2019. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cytochrome P450 inhibitors for HIV treatment. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 15, 417–427. <https://doi.org/10.1080/17425255.2019.1604685>
- Gougis, P., Géraud, A., Hilmi, M., Vozy, A., Campedel, L., Abbar, B., Allio, C., De Chatillon, S., Portalier, A., Lapray, F., Choquet, S., Spano, J.-P., Rey, F., Mir, O., Funck-Brentano, C., Hamy, A.-S., 2022. Cytochrome P-450-mediated herb and food-drug interactions can be identified in cancer patients through patient self-reporting with a tablet application: results of a prospective observational study. *ESMO Open* 7, 100650. <https://doi.org/10.1016/j.esmoop.2022.100650>
- Grissinger, M., 2011. Keeping patients safe from methadone overdoses. *P T Peer-Rev. J. Formul. Manag.* 36, 462–466.
- Gudin, J., Fudin, J., 2020. A Narrative Pharmacological Review of Buprenorphine: A Unique Opioid for the Treatment of Chronic Pain. *Pain Ther.* 9, 41–54. <https://doi.org/10.1007/s40122-019-00143-6>
- Gulcin, İ., 2020. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Arch. Toxicol.* 94, 651–715. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 2015. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001>
- Harrington, J.S., Ryter, S.W., Plataki, M., Price, D.R., Choi, A.M.K., 2023. Mitochondria in health, disease, and aging. *Physiol. Rev.* 103, 2349–2422. <https://doi.org/10.1152/physrev.00058.2021>
- He, L., He, T., Farrar, S., Ji, L., Liu, T., Ma, X., 2017. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cell. Physiol. Biochem. Int. J. Exp. Cell. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 44, 532–553. <https://doi.org/10.1159/000485089>
- Hille, R., 2023. Xanthine Oxidase—A Personal History. *Molecules* 28. <https://doi.org/10.3390/molecules28041921>
- Hopkins, F.G., 1921. On an Autoxidisable Constituent of the Cell. *Biochem. J.* 15, 286–305. <https://doi.org/10.1042/bj0150286>

- Hwang, C., Sinskey, A.J., Lodish, H.F., 1992. Oxidized redox state of glutathione in the endoplasmic reticulum. *Science* 257, 1496–1502. <https://doi.org/10.1126/science.1523409>
- Hyman, S.E., Malenka, R.C., Nestler, E.J., 2006. Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Annu. Rev. Neurosci.* 29, 565–598. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.29.051605.113009>
- Infantino, R., Mattia, C., Locarini, P., Pastore, A.L., Maione, S., Luongo, L., 2021. Buprenorphine: Far Beyond the “Ceiling”. *Biomolecules* 11. <https://doi.org/10.3390/biom11060816>
- Ingrassia, M., Altamore, L., Columba, P., Rafferlati, S., Lo Grasso, G., Bacarella, S., Chironi, S., 2023. Mediterranean Diet, Sustainability, and Tourism—A Study of the Market’s Demand and Knowledge. *Foods* 12. <https://doi.org/10.3390/foods12132463>
- J D Adams, J., B H Lauterburg, J R Mitchell, 1983. Plasma glutathione and glutathione disulfide in the rat: regulation and response to oxidative stress. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 227, 749.
- Jones, D.P., 2006. Extracellular Redox State: Refining the Definition of Oxidative Stress in Aging. *Rejuvenation Res.* 9, 169–181. <https://doi.org/10.1089/rej.2006.9.169>
- Jones, D.P., 2002. [11] Redox potential of GSH/GSSG couple: Assay and biological significance, in: Sies, H., Packer, L. (Eds.), *Methods in Enzymology*. Academic Press, pp. 93–112. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(02\)48630-2](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(02)48630-2)
- Kampman, K., Jarvis, M., 2015. American Society of Addiction Medicine (ASAM) National Practice Guideline for the Use of Medications in the Treatment of Addiction Involving Opioid Use. *J. Addict. Med.* 9, 358–367. <https://doi.org/10.1097/ADM.0000000000000166>
- Karran, P., Brem, R., 2016. Protein oxidation, UVA and human DNA repair. *DNA Repair* 44, 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2016.05.024>
- Kemény, L.V., Robinson, K.C., Hermann, A.L., Walker, D.M., Regan, S., Yew, Y.W., Lai, Y.C., Theodosakis, N., Rivera, P.D., Ding, W., Yang, L., Beyer, T., Loh, Y.-H.E., Lo, J.A., van der Sande, A.A.J., Sarnie, W., Kotler, D., Hsiao, J.J., Su, M.Y., Kato, S., Kotler, J., Bilbo, S.D., Chopra, V., Salomon, M.P., Shen, S., Hoon, D.S.B., Asgari, M.M., Wakeman, S.E., Nestler, E.J., Fisher, D.E., 2021. Vitamin D deficiency exacerbates UV/endorphin and opioid addiction. *Sci. Adv.* 7. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abe4577>
- Kerem, L., Lawson, E.A., 2021. The Effects of Oxytocin on Appetite Regulation, Food Intake and Metabolism in Humans. *Int. J. Mol. Sci.* 22. <https://doi.org/10.3390/ijms22147737>
- Kerksick, C.M., Zuhl, M., 2015. Mechanisms of Oxidative Damage and Their Impact on Contracting Muscle., in: Lamprecht, M. (Ed.), *Antioxidants in Sport Nutrition*. CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton (FL).
- Kern, J.C., Kehrer, J.P., 2005. Free radicals and apoptosis: relationships with glutathione, thioredoxin, and the BCL family of proteins. *Front. Biosci. J. Virtual Libr.* 10, 1727–1738. <https://doi.org/10.2741/1656>
- Kiran, T.R., Otlu, O., Karabulut, A.B., 2023. Oxidative stress and antioxidants in health and disease. *Journal of Laboratory Medicine* 47, 1–11. <https://doi.org/10.1515/labmed-2022-0108>
- Kolodziej, F., O’Halloran, K.D., 2021. Re-Evaluating the Oxidative Phenotype: Can Endurance Exercise Save the Western World? *Antioxid. Basel Switz.* 10. <https://doi.org/10.3390/antiox10040609>
- Kowalczyk, P., Sulejczak, D., Kleczkowska, P., Bukowska-Ośko, I., Kucia, M., Popiel, M., Wietrak, E., Kramkowski, K., Wrzosek, K., Kaczyńska, K., 2021. Mitochondrial Oxidative Stress—A Causative Factor and Therapeutic Target in Many Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 22. <https://doi.org/10.3390/ijms222413384>

- Kreek, M.J., Reed, B., Butelman, E.R., 2019. Current status of opioid addiction treatment and related preclinical research. *Sci. Adv.* 5, eaax9140. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax9140>
- Kuppalli, S., Seth, R., Orhurhu, V., Urits, I., Kaye, A.D., Hunter, C., Gulati, A., Adekoya, P., Kaye, A.M., Jones, M.R., 2021. Recent Advances in the Treatment of Opioid Use Disorder. *Curr. Pain Headache Rep.* 25, 23. <https://doi.org/10.1007/s11916-021-00941-8>
- Lai, J.Y., Ho, J.X., Kow, A.S.F., Liang, G., Tham, C.L., Ho, Y.-C., Lee, M.T., 2023. Interferon therapy and its association with depressive disorders - A review. *Front. Immunol.* 14, 1048592. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1048592>
- Lairon, D., 2007. Intervention studies on Mediterranean diet and cardiovascular risk. *Mol. Nutr. Food Res.* 51, 1209–1214. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700097>
- Lee, Y., Im, E., 2021. Regulation of miRNAs by Natural Antioxidants in Cardiovascular Diseases: Focus on SIRT1 and eNOS. *Antioxidants* 10, 377. <https://doi.org/10.3390/antiox10030377>
- Leventelis, C., Goutzourelas, N., Kortsinidou, A., Spanidis, Y., Toulia, G., Kampitsi, A., Tsitsimpikou, C., Stagos, D., Veskoukis, A.S., Kouretas, D., 2019. Buprenorphine and Methadone as Opioid Maintenance Treatments for Heroin-Addicted Patients Induce Oxidative Stress in Blood. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2019, 9417048. <https://doi.org/10.1155/2019/9417048>
- Li, Q., Zhou, J., 2022. Influence of dietary patterns and physical activity on bone mineral content and density, osteoporosis among children with stimulant use. *Front. Pediatr.* 10, 976258. <https://doi.org/10.3389/fped.2022.976258>
- Li, S., Tan, H.-Y., Wang, N., Zhang, Z.-J., Lao, L., Wong, C.-W., Feng, Y., 2015. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 16, 26087–26124. <https://doi.org/10.3390/ijms161125942>
- Liu, R., Mabury, S.A., 2020. Synthetic Phenolic Antioxidants: A Review of Environmental Occurrence, Fate, Human Exposure, and Toxicity. *Environ. Sci. Technol.* 54, 11706–11719. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c05077>
- Loughrey, D.G., Lavecchia, S., Brennan, S., Lawlor, B.A., Kelly, M.E., 2017. The Impact of the Mediterranean Diet on the Cognitive Functioning of Healthy Older Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Adv. Nutr.* 8, 571–586. <https://doi.org/10.3945/an.117.015495>
- Lu, S.C., 2013. Glutathione synthesis. *Biochim. Biophys. Acta* 1830, 3143–3153. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.09.008>
- Lu, S.C., 2009. Regulation of glutathione synthesis. *Glutathione Health Dis.* 30, 42–59. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2008.05.005>
- Luba, R., Martinez, S., Jones, J., Pravetoni, M., Comer, S.D., 2023. Immunotherapeutic strategies for treating opioid use disorder and overdose. *Expert Opin. Investig. Drugs* 32, 77–87. <https://doi.org/10.1080/13543784.2023.2173062>
- Lugo, R.A., Satterfield, K.L., Kern, S.E., 2005. Pharmacokinetics of methadone. *J. Pain Palliat. Care Pharmacother.* 19, 13–24.
- Lynch, M.E., 2005. A review of the use of methadone for the treatment of chronic noncancer pain. *Pain Res. Manag.* 10, 133–144. <https://doi.org/10.1155/2005/286713>
- Madhu, N.R., Sarkar, B., Slama, P., Jha, N.K., Ghorai, S.K., Jana, S.K., Govindasamy, K., Massanyi, P., Lukac, N., Kumar, D., Kalita, J.C., Kesari, K.K., Roychoudhury, S., 2022. Effect of Environmental Stressors, Xenobiotics, and Oxidative Stress on Male Reproductive and Sexual Health. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1391, 33–58. https://doi.org/10.1007/978-3-031-12966-7_3

- Mahboub, N., Rizk, R., Karavetian, M., de Vries, N., 2021. Nutritional status and eating habits of people who use drugs and/or are undergoing treatment for recovery: a narrative review. *Nutr. Rev.* 79, 627–635. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuaa095>
- Makieieva, N.I., Andrushchenko, V.V., Malakhova, V.M., Tkachenko, A.S., Onishchenko, A.I., Polyakov, V.V., Vygivska, L.A., 2023. THE LEVEL OF REACTIVE OXYGEN SPECIES AS A MARKER OF ASTHMA SEVERITY IN CHILDREN. *Wiadomosci Lek. Wars. Pol.* 1960 76, 205–212. <https://doi.org/10.36740/WLek202301128>
- Makinde, E., Ma, L., Mellick, G.D., Feng, Y., 2023. Mitochondrial Modulators: The Defender. *Biomolecules* 13. <https://doi.org/10.3390/biom13020226>
- Malard, E., Valable, S., Bernaudin, M., Pérès, E., Chatre, L., 2021. The Reactive Species Interactome in the Brain. *Antioxid. Redox Signal.* 35, 1176–1206. <https://doi.org/10.1089/ars.2020.8238>
- Mandal, P., 2017. Potential biomarkers associated with oxidative stress for risk assessment of colorectal cancer. *Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 390, 557–565. <https://doi.org/10.1007/s00210-017-1352-9>
- Marinucci, L., Coniglio, M., Valenti, C., Massari, S., Di Michele, A., Billi, M., Bruscoli, S., Negri, P., Lombardo, G., Cianetti, S., Pagano, S., 2022. In Vitro effects of alternative smoking devices on oral cells: Electronic cigarette and heated tobacco product versus tobacco smoke. *Arch. Oral Biol.* 144, 105550. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2022.105550>
- Martimianaki, G., Peppas, E., Valanou, E., Papatesta, E.M., Klinaki, E., Trichopoulou, A., 2022. Today's Mediterranean Diet in Greece: Findings from the National Health and Nutrition Survey—HYDRIA (2013–2014). *Nutrients* 14. <https://doi.org/10.3390/nu14061193>
- Martínez-González, M.A., Salas-Salvadó, J., Estruch, R., Corella, D., Fitó, M., Ros, E., 2015. Benefits of the Mediterranean Diet: Insights From the PREDIMED Study. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 58, 50–60. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2015.04.003>
- McPhail, B.T., Emoto, C., Butler, D., Fukuda, T., Akinbi, H., Vinks, A.A., 2021. Opioid Treatment for Neonatal Opioid Withdrawal Syndrome: Current Challenges and Future Approaches. *J. Clin. Pharmacol.* 61, 857–870. <https://doi.org/10.1002/jcph.1811>
- Mehta, A., Patel, B.M., 2023. Long-acting opioids and cardiovascular diseases: Help or hindrance! *Vascul. Pharmacol.* 149, 107144. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2023.107144>
- Meister, A., Anderson, M.E., 1983. GLUTATHIONE. *Annu. Rev. Biochem.* 52, 711–760. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.52.070183.003431>
- Mendelson, J., Jones, R.T., 2003. Clinical and pharmacological evaluation of buprenorphine and naloxone combinations: why the 4:1 ratio for treatment? *Drug Alcohol Depend.* 70, S29–37. [https://doi.org/10.1016/s0376-8716\(03\)00057-7](https://doi.org/10.1016/s0376-8716(03)00057-7)
- Meza-Miranda, E.R., Camargo, A., Rangel-Zuñiga, O.A., Delgado-Lista, J., Garcia-Rios, A., Perez-Martinez, P., Tasset-Cuevas, I., Tunez, I., Tinahones, F.J., Perez-Jimenez, F., Lopez-Miranda, J., 2014. Postprandial oxidative stress is modulated by dietary fat in adipose tissue from elderly people. *AGE* 36, 507–517. <https://doi.org/10.1007/s11357-013-9579-y>
- Michaelides, M., Levinstein, M., De Oliveira, P., Casajuana-Martin, N., Quiroz, C., Budinich, R., Rais, R., Rea, W., Ventriglia, E., Llopart, N., Casadó-Anguera, V., Moreno, E., Walther, D., Glatfelter, G., Weinshenker, D., Zarate, C., Casado, V., Baumann, M., Pardo, L., Ferre, S., 2023. Unique pharmacodynamic properties and low abuse liability of the μ -opioid receptor ligand (S)-methadone. *Res. Sq.* <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2644719/v1>

- Milanesi, L.H., Rossato, D.R., Dias, V.T., Kronbauer, M., D'Avila, L.F., Somacal, S., Duarte, T., Duarte, M.M.F., Emanuelli, T., Burger, M.E., 2019. Mediterranean X Western based diets: Opposite influences on opioid reinstatement. *Toxicol. Lett.* 308, 7–16. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2019.03.009>
- Mohd Sukri, N., 2021. Does vitamin C minimise exercise-induced oxidative stress? *Sport Sci. Health* 17. <https://doi.org/10.1007/s11332-021-00756-5>
- Moris, J.M., Heinold, C., Blades, A., Koh, Y., 2022. Nutrient-Based Appetite Regulation. *J. Obes. Metab. Syndr.* 31, 161–168. <https://doi.org/10.7570/jomes22031>
- Mortensen, J.B., Andersen, C.U., Eriksen, T., Lund, T., Pedersen, S., Møller, T., Sædder, E.A., 2023. [Not Available]. *Ugeskr. Laeger* 185, V09220529.
- Murphy, G.S., Szokol, J.W., 2019. Intraoperative Methadone in Surgical Patients: A Review of Clinical Investigations. *Anesthesiology* 131, 678–692. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000002755>
- Nabipour, S., Ayu Said, M., Hussain Habil, M., 2014. Burden and nutritional deficiencies in opiate addiction- systematic review article. *Iran. J. Public Health* 43, 1022–1032.
- Nam, W., Ryu, Y.O., Song, W.J., 2004. Oxidizing intermediates in cytochrome P450 model reactions. *JBIC J. Biol. Inorg. Chem.* 9, 654–660. <https://doi.org/10.1007/s00775-004-0577-5>
- Nauser, T., Gebicki, J.M., 2019. Fast reaction of carbon free radicals with flavonoids and other aromatic compounds. *Arch. Biochem. Biophys.* 674, 108107. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2019.108107>
- Neha, K., Haider, M.R., Pathak, A., Yar, M.S., 2019. Medicinal prospects of antioxidants: A review. *Eur. J. Med. Chem.* 178, 687–704. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.010>
- Nissanka, N., Moraes, C.T., 2018. Mitochondrial DNA damage and reactive oxygen species in neurodegenerative disease. *FEBS Lett.* 592, 728–742. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.12956>
- Nocella, C., D'Amico, A., Cammisotto, V., Bartimoccia, S., Castellani, V., Loffredo, L., Marini, L., Ferrara, G., Testa, M., Motta, G., Benazzi, B., Zara, F., Frati, G., Sciarretta, S., Pignatelli, P., Violi, F., Carnevale, R., Group, S., 2023. Structure, Activation, and Regulation of NOX2: At the Crossroad between the Innate Immunity and Oxidative Stress-Mediated Pathologies. *Antioxid. Basel Switz.* 12. <https://doi.org/10.3390/antiox12020429>
- Norgren, R., Hajnal, A., Mungarndee, S.S., 2006. Gustatory reward and the nucleus accumbens. *Peripher.-Cent. Interact. Control Food Intake Energy Balance* 89, 531–535. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.05.024>
- Nuttall, S.L., Martin, U., Sinclair, A.J., Kendall, M.J., 1998. Glutathione: in sickness and in health. *Lancet Lond. Engl.* 351, 645–646. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(05\)78428-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(05)78428-2)
- Oestreicher, J., Morgan, B., 2019. Glutathione: subcellular distribution and membrane transport. *Biochem. Cell Biol.* 97, 270–289. <https://doi.org/10.1139/bcb-2018-0189>
- Ordean, A., Tubman-Broeren, M., 2023. Safety and Efficacy of Buprenorphine-Naloxone in Pregnancy: A Systematic Review of the Literature. *Pathophysiol. Off. J. Int. Soc. Pathophysiol.* 30, 27–36. <https://doi.org/10.3390/pathophysiology30010004>
- Ortner Hadžiabdić, M., Vitali Čepo, D., Rahelić, D., Božikov, V., 2016. The Effect of the Mediterranean Diet on Serum Total Antioxidant Capacity in Obese Patients: A Randomized Controlled Trial. *J. Am. Coll. Nutr.* 35, 224–235. <https://doi.org/10.1080/07315724.2014.982770>
- Owen, J.B., Butterfield, D.A., 2010. Measurement of oxidized/reduced glutathione ratio. *Methods Mol. Biol. Clifton NJ* 648, 269–277. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-756-3_18

- Ozdemir, D., Allain, F., Kieffer, B.L., Darcq, E., 2023. Advances in the characterization of negative affect caused by acute and protracted opioid withdrawal using animal models. *Neuropharmacology* 232, 109524. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2023.109524>
- Parker, J.A., Bloom, S.R., 2012. Hypothalamic neuropeptides and the regulation of appetite. *Neuropharmacology* 63, 18–30. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.02.004>
- Pearson, S.A., Cowan, J.A., 2021. Glutathione-coordinated metal complexes as substrates for cellular transporters. *Met. Integr. Biometal Sci.* 13. <https://doi.org/10.1093/mtomcs/mfab015>
- Phaniendra, A., Jestadi, D.B., Periyasamy, L., 2015. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J. Clin. Biochem. IJCB* 30, 11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
- Powers, S.K., Jackson, M.J., 2008. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol. Rev.* 88, 1243–1276. <https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2007>
- Powers, S.K., Talbert, E.E., Adhihetty, P.J., 2011. Reactive oxygen and nitrogen species as intracellular signals in skeletal muscle. *J. Physiol.* 589, 2129–2138. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.201327>
- Rahaman, M.M., Hossain, R., Herrera-Bravo, J., Islam, M.T., Atolani, O., Adeyemi, O.S., Owolodun, O.A., Kambizi, L., Daştan, S.D., Calina, D., Sharifi-Rad, J., 2023. Natural antioxidants from some fruits, seeds, foods, natural products, and associated health benefits: An update. *Food Sci. Nutr.* 11, 1657–1670. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3217>
- Razquin, C., Martinez, J.A., Martinez-Gonzalez, M.A., Mitjavila, M.T., Estruch, R., Marti, A., 2009. A 3 years follow-up of a Mediterranean diet rich in virgin olive oil is associated with high plasma antioxidant capacity and reduced body weight gain. *Eur. J. Clin. Nutr.* 63, 1387–1393. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2009.106>
- Rees, K., Takeda, A., Martin, N., Ellis, L., Wijesekara, D., Vepa, A., Das, A., Hartley, L., Stranges, S., 2019. Mediterranean-style diet for the primary and secondary prevention of cardiovascular disease. *Cochrane Database Syst. Rev.* 3, CD009825. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009825.pub3>
- Reich, N., Hölscher, C., 2022. Beyond appetite: Acylated ghrelin as a learning, memory and fear behavior-modulating hormone. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 143, 104952. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104952>
- Robson, R., Kundur, A.R., Singh, I., 2018. Oxidative stress biomarkers in type 2 diabetes mellitus for assessment of cardiovascular disease risk. *Diabetes Metab. Syndr. Clin. Res. Rev.* 12, 455–462. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2017.12.029>
- Rosado-Pérez, J., Castelán-Martínez, O.D., Mújica-Calderón, A.J., Sánchez-Rodríguez, M.A., Mendoza-Núñez, V.M., 2021. Effect of Tai Chi on Markers of Oxidative Stress: Systematic Review and Meta-Analysis. *Int. J. Environ. Res. Public. Health* 18. <https://doi.org/10.3390/ijerph18073458>
- Ruzza, P., Honisch, C., Hussain, R., Siligardi, G., 2021. Free Radicals and ROS Induce Protein Denaturation by UV Photostability Assay. *Int. J. Mol. Sci.* 22. <https://doi.org/10.3390/ijms22126512>
- Salarian, A., Kadkhodaei, M., Zahmatkesh, M., Seifi, B., Bakhshi, E., Akhondzadeh, S., Adeli, S., Askari, H., Arbabi, M., 2018. Opioid Use Disorder Induces Oxidative Stress and Inflammation: The Attenuating Effect of Methadone Maintenance Treatment. *Iran. J. Psychiatry* 13, 46–54.
- Santolaria-Fernández, F.J., Gómez-Sirvent, J.L., González-Reimers, C.E., Batista-López, JoséN., Jorge-Hernández, JoséA., Rodríguez-Moreno, F., Martínez-Riera, A., Hernández-

- García, M.T., 1995. Nutritional assessment of drug addicts. *Drug Alcohol Depend.* 38, 11–18. [https://doi.org/10.1016/0376-8716\(94\)01088-3](https://doi.org/10.1016/0376-8716(94)01088-3)
- Saugstad, O.D., 2023. Oxygenation of the newborn. The impact of one molecule on newborn lives. *J. Perinat. Med.* 51, 20–26. <https://doi.org/10.1515/jpm-2022-0259>
- Schuckit, M.A., 2016. Treatment of Opioid-Use Disorders. *N. Engl. J. Med.* 375, 357–368. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1604339>
- Serra-Majem, L., Tomaino, L., Dernini, S., Berry, E.M., Lairon, D., Ngo de la Cruz, J., Bach-Faig, A., Donini, L.M., Medina, F.-X., Belahsen, R., Piscopo, S., Capone, R., Aranceta-Bartrina, J., La Vecchia, C., Trichopoulou, A., 2020. Updating the Mediterranean Diet Pyramid towards Sustainability: Focus on Environmental Concerns. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 17. <https://doi.org/10.3390/ijerph17238758>
- Shulman, M., Wai, J.M., Nunes, E.V., 2019. Buprenorphine Treatment for Opioid Use Disorder: An Overview. *CNS Drugs* 33, 567–580. <https://doi.org/10.1007/s40263-019-00637-z>
- Sindhi, V., Gupta, V., Sharma, K., Bhatnagar, S., Kumari, R., Dhaka, N., 2013. Potential applications of antioxidants – A review. *J. Pharm. Res.* 7, 828–835. <https://doi.org/10.1016/j.jopr.2013.10.001>
- Sivils, A., Lyell, P., Wang, J.Q., Chu, X.-P., 2022. Suboxone: History, controversy, and open questions. *Front. Psychiatry* 13, 1046648. <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2022.1046648>
- Sobiecki, J.G., Imamura, F., Davis, C.R., Sharp, S.J., Koulman, A., Hodgson, J.M., Guevara, M., Schulze, M.B., Zheng, J.-S., Agnoli, C., Bonet, C., Colorado-Yohar, S.M., Fagherazzi, G., Franks, P.W., Gundersen, T.E., Jannasch, F., Kaaks, R., Katzke, V., Molina-Montes, E., Nilsson, P.M., Palli, D., Panico, S., Papier, K., Rolandsson, O., Sacerdote, C., Tjønneland, A., Tong, T.Y.N., van der Schouw, Y.T., Danesh, J., Butterworth, A.S., Riboli, E., Murphy, K.J., Wareham, N.J., Forouhi, N.G., 2023. A nutritional biomarker score of the Mediterranean diet and incident type 2 diabetes: Integrated analysis of data from the MedLey randomised controlled trial and the EPIC-InterAct case-cohort study. *PLoS Med.* 20, e1004221. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1004221>
- Sofiullah, S.S.M., Murugan, D.D., Muid, S.A., Seng, W.Y., Kadir, S.Z., Abas, R., Ridzuan, N.R., Zamakshshari, N.H., Woon, C.K., 2023. Natural Bioactive Compounds Targeting NADPH Oxidase Pathway in Cardiovascular Diseases. *Molecules* 28. <https://doi.org/10.3390/molecules28031047>
- Sominsky, L., Jasoni, C.L., Twigg, H.R., Spencer, S.J., 2018. Hormonal and nutritional regulation of postnatal hypothalamic development. *J. Endocrinol.* 237, R47–R64. <https://doi.org/10.1530/JOE-17-0722>
- Su, L., Liu, J., Yue, Q., Zhang, S., Zhao, C., Sun, X., Xu, J., Jiang, X., Li, K., Li, B., Zhao, L., 2023. Evaluation of the Effects of E-Cigarette Aerosol Extracts and Tobacco Cigarette Smoke Extracts on Human Gingival Epithelial Cells. *ACS Omega* 8, 10919–10929. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c07324>
- Tahir, I., Alkheraije, K.A., 2023. A review of important heavy metals toxicity with special emphasis on nephrotoxicity and its management in cattle. *Front. Vet. Sci.* 10, 1149720. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1149720>
- Tanveer, M.A., Rashid, H., Tasduq, S.A., 2023. Molecular basis of skin photoaging and therapeutic interventions by plant-derived natural product ingredients: A comprehensive review. *Heliyon* 9, e13580. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13580>
- Tirichen, H., Yaigoub, H., Xu, W., Wu, C., Li, R., Li, Y., 2021. Mitochondrial Reactive Oxygen Species and Their Contribution in Chronic Kidney Disease Progression Through

- Oxidative Stress. Front. Physiol. 12, 627837. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.627837>
- Tomasello, G., Mazzola, M., Leone, A., Sinagra, E., Zummo, G., Farina, F., Damiani, P., Cappello, F., Gerges Geagea, A., Jurjus, A., Bou Assi, T., Messina, M., Carini, F., 2016. Nutrition, oxidative stress and intestinal dysbiosis: Influence of diet on gut microbiota in inflammatory bowel diseases. *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czechoslov.* 160, 461–466. <https://doi.org/10.5507/bp.2016.052>
- Tomou, E.-M., Skaltsa, H., Economou, G., Trichopoulou, A., 2022. Sustainable diets & medicinal aromatic plants in Greece: Perspectives towards climate change. *Food Chem.* 374, 131767. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131767>
- Trichopoulou, A., 2021. Mediterranean diet as intangible heritage of humanity: 10 years on. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 31, 1943–1948. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2021.04.011>
- Trovato, G., 2012. Behavior, nutrition and lifestyle in a comprehensive health and disease paradigm: skills and knowledge for a predictive, preventive and personalized medicine. *EPMA J.* 3, 8. <https://doi.org/10.1007/s13167-012-0141-2>
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., Telser, J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 39, 44–84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- Vallese, A., Cordone, V., Pecorelli, A., Valacchi, G., 2023. Ox-inflammasome involvement in neuroinflammation. *Free Radic. Biol. Med.* 207, 161–177. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2023.07.010>
- van Dam, L., Dansen, T.B., 2020. Cross-talk between redox signalling and protein aggregation. *Biochem. Soc. Trans.* 48, 379–397. <https://doi.org/10.1042/BST20190054>
- van den Brink, A.C., Brouwer-Brolsma, E.M., Berendsen, A.A.M., van de Rest, O., 2019. The Mediterranean, Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH), and Mediterranean-DASH Intervention for Neurodegenerative Delay (MIND) Diets Are Associated with Less Cognitive Decline and a Lower Risk of Alzheimer’s Disease—A Review. *Adv. Nutr.* 10, 1040–1065. <https://doi.org/10.1093/advances/nmz054>
- Vanisree C.R., Mahipal Singh Sankhla, Prashant Singh, Ekta B. Jadhav, Rohit Kumar Verma, Kumud Kant Awasthi, Garima Awasthi, Varad Nagar, 2022. Heavy Metal Contamination of Food Crops: Transportation via Food Chain, Human Consumption, Toxicity and Management Strategies, in: Hosam M. Saleh, Amal I. Hassan (Eds.), *Environmental Impact and Remediation of Heavy Metals*. IntechOpen, Rijeka, p. Ch. 4. <https://doi.org/10.5772/intechopen.101938>
- Varela, C.D., Farhana, A., 2023. Biochemistry, Superoxides., in: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Vašková, J., Kočan, L., Vaško, L., Perjési, P., 2023. Glutathione-Related Enzymes and Proteins: A Review. *Mol. Basel Switz.* 28. <https://doi.org/10.3390/molecules28031447>
- Veskoukis, A.S., Tsatsakis, A., Kouretas, D., 2020. Approaching reactive species in the frame of their clinical significance: A toxicological appraisal. *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.* 138, 111206. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111206>
- Vidal, C., Külpmann, W.-R., 2019. Methadon, in: Gressner, A.M., Arndt, T. (Eds.), *Lexikon Der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 1625–1625. https://doi.org/10.1007/978-3-662-48986-4_2118
- Vincent-Baudry, S., Defoort, C., Gerber, M., Bernard, M.-C., Verger, P., Helal, O., Portugal, H., Planells, R., Grolier, P., Amiot-Carlin, M.-J., Vague, P., Lairon, D., 2005. The Medi-RIVAGE study: reduction of cardiovascular disease risk factors after a 3-mo

- intervention with a Mediterranean-type diet or a low-fat diet. *Am. J. Clin. Nutr.* 82, 964–971. <https://doi.org/10.1093/ajcn/82.5.964>
- Visioli, F., Galli, C., 2001. The role of antioxidants in the mediterranean diet. *Lipids* 36, S49–S52. <https://doi.org/10.1007/s11745-001-0682-z>
- Volpe, D.A., Xu, Y., Sahajwalla, C.G., Younis, I.R., Patel, V., 2018. Methadone Metabolism and Drug-Drug Interactions: In Vitro and In Vivo Literature Review. *J. Pharm. Sci.* 107, 2983–2991. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2018.08.025>
- Walwyn, W.M., Miotto, K.A., Evans, C.J., 2010. Opioid pharmaceuticals and addiction: the issues, and research directions seeking solutions. *Drug Alcohol Depend.* 108, 156–165. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2010.01.001>
- Wang, Y., Yen, F.S., Zhu, X.G., Timson, R.C., Weber, R., Xing, C., Liu, Y., Allwein, B., Luo, H., Yeh, H.-W., Heissel, S., Unlu, G., Gamazon, E.R., Kharas, M.G., Hite, R., Birsoy, K., 2021. SLC25A39 is necessary for mitochondrial glutathione import in mammalian cells. *Nature* 599, 136–140. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04025-w>
- Wang, Y.-Y., Shen, X.-H., Li, H., Chen, F.-J., Fu, Y., Ding, L., 2013. A sensitive, simple and rapid HPLC–MS/MS method for simultaneous quantification of buprenorphine and its N-dealkylated metabolite norbuprenorphine in human plasma. *J. Pharm. Anal.* 3, 221–228. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2012.12.002>
- Wu, T., Li, Z., Wei, Y., 2023. Advances in understanding mechanisms underlying mitochondrial structure and function damage by ozone. *Sci. Total Environ.* 861, 160589. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160589>
- Yeo, G.S.H., Heisler, L.K., 2012. Unraveling the brain regulation of appetite: lessons from genetics. *Nat. Neurosci.* 15, 1343–1349. <https://doi.org/10.1038/nn.3211>
- Yi, X., Zhu, Q.-X., Wu, X.-L., Tan, T.-T., Jiang, X.-J., 2022. Histone Methylation and Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2022, 6023710. <https://doi.org/10.1155/2022/6023710>
- Yurtdaş, G., Akbulut, G., Baran, M., Yilmaz, C., 2022. The effects of Mediterranean diet on hepatic steatosis, oxidative stress, and inflammation in adolescents with non-alcoholic fatty liver disease: A randomized controlled trial. *Pediatr. Obes.* 17, e12872. <https://doi.org/10.1111/ijpo.12872>
- Zamora, P.L., Villamena, F.A., 2020. Clinical Probes for ROS and Oxidative Stress., in: Berliner, L.J., Parinandi, N.L. (Eds.), *Measuring Oxidants and Oxidative Stress in Biological Systems*. Springer, Cham (CH), pp. 13–38. https://doi.org/10.1007/978-3-030-47318-1_3
- Zamora-Ros, R., Serafini, M., Estruch, R., Lamuela-Raventós, R.M., Martínez-González, M.A., Salas-Salvadó, J., Fiol, M., Lapetra, J., Arós, F., Covas, M.I., Andres-Lacueva, C., 2013. Mediterranean diet and non enzymatic antioxidant capacity in the PREDIMED study: evidence for a mechanism of antioxidant tuning. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. NMCD* 23, 1167–1174. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2012.12.008>
- Zeb, A., 2020. Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. *J. Food Biochem.* 44, e13394. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13394>
- Zhang, C., Li, S., Yang, L., Huang, P., Li, W., Wang, S., Zhao, G., Zhang, M., Pang, X., Yan, Z., Liu, Y., Zhao, L., 2013. Structural modulation of gut microbiota in life-long calorie-restricted mice. *Nat. Commun.* 4, 2163. <https://doi.org/10.1038/ncomms3163>
- Zhang, Z., Huang, Q., Zhao, D., Lian, F., Li, X., Qi, W., 2023. The impact of oxidative stress-induced mitochondrial dysfunction on diabetic microvascular complications. *Front. Endocrinol.* 14, 1112363. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1112363>
- Zhao, R.-Z., Jiang, S., Zhang, L., Yu, Z.-B., 2019. Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review). *Int. J. Mol. Med.* 44, 3–15. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2019.4188>

Zhou, M., Li, J., Xu, J., Zheng, L., Xu, S., 2023. Exploring human CYP4 enzymes: Physiological roles, function in diseases and focus on inhibitors. Drug Discov. Today 28, 103560. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2023.103560>

7.2 Βιβλιογραφία στην Ελληνική

Βεσκούκης, ΑΣ. Η θεωρία των ελευθέρων ριζών στην τοξικολογία και ο ρόλος της διατροφής. Στο βιβλίο: Αριστείδης Τσατσάκης. Τοξικολογία στον σύγχρονο κόσμο. Ιατρικές εκδόσεις Νέον, 2021

Λεβεντέλης, Χ. (2016). Η βιοψυχοκοινωνική ανταπόκριση εξαρτημένων χρηστών ηρωίνης κατά τη διάρκεια προγράμματος υποκατάστασης με μεθαδόνη και βουπρενορφίνης. Διαθέσιμο από: Εθνικό Αρχείο Διδακτορικών Διατριβών.

Λεβεντέλης, Χ. (2018). Μέτρηση δεικτών οξειδωτικού stress στο αίμα τοξικομανών. (Μεταπτυχιακή Διπλωματική εργασία). Ανακτήθηκε από: <https://ir.lib.uth.gr/xmlui/bitstream/handle/11615/48247/17529.pdf?sequence=1>

Λιάππας, Ι., Παπαρρηγόπουλος, Θ., Μουσσάς Ι.Γ., Μέλλος, Ε., & Καραΐσκος. Α.Δ. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΑ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΩΝ ΟΥΣΙΟΕΞΑΡΤΗΣΕΩΝ (F11. Ψυχικές διαταραχές και διαταραχές της συμπεριφοράς λόγω χρήσης οπιοειδών).