

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ORIGINAL PAPER

Επίπεδα αντιοξειδωτικών ουσιών σε ορό αίματος καρκινοπαθών που υποβάλλονται σε χημειοθεραπευτική αγωγή

ΣΚΟΠΟΣ Η παρούσα εργασία επιχειρεί να εκτιμήσει το οξειδωτικό stress των ασθενών με καρκίνο που υποβάλλονται σε χημειοθεραπευτική αγωγή και να συσχετίσει τα επίπεδα της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας στον ορό των ασθενών –οι οποίοι δεν λαμβάνουν πρόσθετα διατροφής– με το φύλο και τη συχνότητα της αγωγής. **ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ** Η έρευνα πραγματοποιήθηκε στη Θεσσαλονίκη. Το δείγμα της έρευνας αποτέλεσαν 51 ασθενείς ηλικίας 35–65 ετών, 16 άνδρες και 35 γυναίκες, που έπασχαν από διάφορες μορφές καρκίνου και υποβάλλονταν σε χημειοθεραπευτική αγωγή. Κανένας από τους ασθενείς δεν χρησιμοποιούσε πρόσθετα διατροφής. Οι 17 ασθενείς ελάμβαναν την αγωγή μία φορά την εβδομάδα, ενώ οι 34 ασθενείς μία φορά ημερησίως. Οι αιμοληψίες πραγματοποιήθηκαν πριν από τη λήψη της αγωγής. Σε όλα τα δείγματα μετρήθηκε η συγκέντρωση ολικών αντιοξειδωτικών στον ορό με τη μέθοδο TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) και έγινε σύγκριση με το φύλο και τη συχνότητα της λήψης του φαρμάκου. **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ** Από τις μετρήσεις παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στα επίπεδα της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του ορού όλων των ασθενών κατά 67,3% σε σύγκριση με τα επίπεδα των υγιών ατόμων ($p=0,001$). Παράλληλα, εμφανίστηκε διαφοροποίηση στα επίπεδα της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας ανάλογα με το χρόνο λήψης της χημειοθεραπευτικής αγωγής, καθώς και με το φύλο. Μεγαλύτερη κατά 24,2% μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του ορού παρατηρήθηκε στους άνδρες, έναντι των γυναικών ($p=0,055$). Τα αποτελέσματα έδειξαν μεγαλύτερη κατά 28,4% μείωση στους ασθενείς που λάμβαναν την αγωγή καθημερινά, έναντι των ασθενών που τη λάμβαναν εβδομαδιαία ($p=0,001$). **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ** Εκτιμάται ότι τα επίπεδα των αντιοξειδωτικών στον ορό αίματος καρκινοπαθών μειώνονται αρκετά κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας, γεγονός που οφείλεται στην παραγωγή ελευθέρων ριζών, τόσο λόγω της ασθένειας όσο και λόγω της χημειοθεραπευτικής αγωγής. Η επιβεβαιωμένα μειωμένη άμυνα του οργανισμού των συγκεκριμένων ατόμων πρέπει να ληφθεί σοβαρά υπ' όψη. Πιθανή λήψη αντιοξειδωτικών ουσιών μέσω της διατροφής ή των φαρμακευτικών προϊόντων –ειδικά όταν αυτές δεν δρουν ανταγωνιστικά με τη χημειοθεραπευτική αγωγή– θα βοηθούσε στην άμυνα του οργανισμού των ασθενών.

Οι ελεύθερες ρίζες φαίνεται να είναι υπεύθυνες για τους μηχανισμούς καρκινογένεσης ή να δημιουργούνται από αυτούς. Τα καρκινικά κύτταρα προκαλούν μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του οργανισμού.¹⁻³ Η δράση πολλών χημειοθεραπευτικών σχημάτων βασίζεται στην παραγωγή ελευθέρων ριζών,^{4,5} ενώ άλλα σχήματα έχουν ως αποτέλεσμα τη μείωση των αντιοξειδωτικών στον ορό και τους ιστούς.⁶⁻¹¹ Οι ασθενείς που λαμβάνουν χημειοθεραπεία

εμφανίζουν αύξηση σε ελεύθερες ρίζες θειοβαρβιτουρικού οξέος, καθώς και σε λιπιδικά υπεροξειδία.¹²⁻¹⁴ Ένας άλλος λόγος παραγωγής ελευθέρων ριζών κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας είναι η φαγοκυττάρωση των καρκινικών κυττάρων.¹⁵ Η συγκέντρωση της γλουταθειόνης μειώνεται σημαντικά σε χημειοθεραπευτικά σχήματα που περιέχουν τα συστατικά βουσουλφάνη, καρμουστίνη (BCNU) και σι-σπλατίνη.¹⁶⁻¹⁸ Τα περισσότερα αντινεοπλασματικά φάρμακα

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2011, 28(2):251–256
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2011, 28(2):251–256

Ε. Λυμπεράκη,
Φ. Ελευθερίου,
Γ. Γάσπαρης,
Ε. Καραλέκος,
Χ. Πέτρου

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

Serum antioxidant levels in
patients during chemotherapy

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

Οξειδωτικό stress
TAC
Φύλο
Χημειοθεραπεία

Υποβλήθηκε 14.6.2010
Εγκρίθηκε 7.7.2010

δημιουργούν υψηλά επίπεδα οξειδωτικού stress στα βιοσυστήματα. Οι συγκεκριμένες κατηγορίες φαρμάκων περιλαμβάνουν τις ανθρακυκλίνες, τους αλκυλιωτικούς παράγοντες, τα σύμπλοκα λευκόχρυσου, τις επιποδοφυλοτοξίνες και τις καμπθοθεκίνες,¹⁹ ενώ άλλες κατηγορίες φαρμάκων, όπως οι ταξάνες, τα αντιφυλλικά και τα ανάλογα νουκλεοσιδίων, παράγουν μικρότερα επίπεδα ελευθέρων ριζών.

Η ελλιπής άμυνα του οργανισμού έναντι των ελευθέρων ριζών κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες ή ακόμη και μεταστάσεις.²⁰

Υπολογίζεται ότι 50% των καρκινοπαθών χρησιμοποιούν κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας ή της ακτινοθεραπείας διαιτητικά συμπληρώματα (κυρίως αντιοξειδωτικές ουσίες).^{21,22} Πολλοί ερευνητές θεωρούν ότι τα αντιοξειδωτικά μειώνουν την τοξικότητα της χημειοθεραπείας και της ακτινοθεραπείας και, μερικές φορές, αυξάνουν την αποτελεσματικότητα αυτών των σχημάτων θεραπείας, ενώ μειώνουν τις ανεπιθύμητες ενέργειες των φαρμάκων.^{23–27} Μερικές βιταμίνες, όπως οι C και E, είναι αντιοξειδωτικές ουσίες και δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες εμποδίζοντας τη δημιουργία του οξειδωτικού stress κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας και της ακτινοθεραπείας.^{28–30} Ταυτόχρονα, έχει αποδειχθεί ότι σε ορισμένες περιπτώσεις οι βιταμίνες C, E και τα καρτενοειδή αυξάνουν την αποτελεσματικότητα της χημειοθεραπείας.^{31–33} Αντίθετα, μερικά κλινικά δεδομένα δείχνουν ότι τα εν λόγω αντιοξειδωτικά θέτουν σε κίνδυνο την αποτελεσματικότητα της χημειοθεραπείας.³⁴ Η βιταμίνη C, για παράδειγμα, μπορεί να χρησιμοποιείται από τα καρκινικά κύτταρα για τη μεταφορά της γλυκόζης σε αυτά και έτσι να βοηθά τον πολλαπλασιασμό τους και την ανθεκτικότητά τους.^{35–37} Παρ' όλο που *in vitro* έρευνες δείχνουν αντικαρκινική δράση της βιταμίνης C, οι ερευνητές θεωρούν ότι τα αποτελέσματα εξαρτώνται από το είδος της καλλιέργειας που θα χρησιμοποιηθεί.^{38–42} Ανάλογα αποτελέσματα έχουν προκύψει από μελέτες σχετικές με τη βιταμίνη E.⁴³

Όλες οι αντιοξειδωτικές ουσίες δεν έχουν την ίδια δράση απέναντι στα χημειοθεραπευτικά σχήματα^{44–46} και ο ρόλος των ελευθέρων ριζών ROS στην απόπτωση που προκαλούν τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα είναι αδιευκρίνιστος. Τα μικρού μοριακού βάρους αντιοξειδωτικά, η γλουταθειόνη (GSH), η N-ακετυλο-κυστεΐνη (NAC) και το α-λιποϊκό οξύ περιέχουν πυρηνόφιλες σουλφυδρυλικές ομάδες. Ενώ όλα τα αντιοξειδωτικά αποτοξινώνουν τις ελεύθερες ρίζες, αυτά που διαθέτουν πυρηνόφιλες ομάδες απενεργοποιούν τα ηλεκτρονιόφιλα ενδιάμεσα των αντινεοπλασματικών φαρμάκων που δρουν με αντιδράσεις πυρηνόφιλης υποκατάστασης. Τέτοια φάρμακα είναι αυτά που περιέχουν

σύμπλοκα λευκόχρυσου και αλκυλιωτικούς παράγοντες. Ο ανταγωνισμός των πυρηνόφιλων αντιοξειδωτικών και των πυρηνόφιλων κυτταρικών στόχων των αντικαρκινικών φαρμάκων μειώνει την αποτελεσματικότητα της θεραπείας. Στα πυρηνόφιλα αντιοξειδωτικά ανήκει και το σελήνιο που υπάρχει στις σεληνοπρωτεΐνες, παρ' όλο που ως ανόργανο στοιχείο δεν λειτουργεί ως αντιοξειδωτικό.^{47–50}

Συμπερασματικά, όταν η παραγωγή των ελευθέρων ριζών από ένα χημειοθεραπευτικό σχήμα συμμετέχει στην κυτταροτοξικότητα του φαρμάκου, τότε το αντιοξειδωτικό αντιτάσσεται στην αντινεοπλασματική δράση του φαρμάκου. Όταν όμως οι ελεύθερες ρίζες παράγονται ως ανεπιθύμητη ενέργεια του φαρμάκου, τότε το αντιοξειδωτικό μπορεί να χρησιμεύσει στη μείωση των ανεπιθύμητων ενεργειών του φαρμάκου, χωρίς να παρεμβαίνει στη δραστηριότητά του.^{48,50} Έτσι, θεωρείται σημαντικό να είναι γνωστή η ακριβής δράση του φαρμάκου και ο ρόλος του, ώστε να είναι εφικτή η υποβοήθηση του οργανισμού με διατροφικά πρόσθετα.

Σε αυτή τη μελέτη προσδιορίστηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα σε 51 ασθενείς κατά τη διάρκεια χημειοθεραπείας.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Για την ερευνητική μελέτη συλλέχθηκαν δείγματα ορού καρκινοπαθών, οι οποίοι είχαν υποβληθεί σε χημειοθεραπεία. Όλα τα δείγματα συλλέχθηκαν πριν από τη λήψη της χημειοθεραπευτικής αγωγής, στις 08:00 π.μ., σε αποστειρωμένα σωληνάρια χωρίς αντιπηκτικό. Οι 17 ασθενείς –7 άνδρες και 10 γυναίκες– είχαν λάβει την προηγούμενη αγωγή πριν από 1 εβδομάδα, ενώ οι 34 ασθενείς –9 άνδρες και 25 γυναίκες– ελάμβαναν καθημερινά χημειοθεραπευτική αγωγή. Τα χημειοθεραπευτικά σχήματα περιείχαν βουσουλφάνη, ετοποσιδίη και κυκλοφωσφαμίδη, διαζωκινόνη και θειοτέπα. Επιλέχθηκαν ασθενείς που δεν ελάμβαναν συμπληρώματα διατροφής. Οι οροί που επιλέχθηκαν για τη μέτρηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας ήταν μη λιπαιμικοί, μη αιμολυμένοι, ενώ πληρούσαν τις προϋποθέσεις καταλληλότητας του δείγματος που προβλέπονται για τις εν λόγω μετρήσεις και διατηρήθηκαν σε κατάψυξη στους -80 °C έως 1 μήνα. Από τα προς εξέταση δείγματα, τα 16 αντιστοιχούσαν σε άνδρες και τα 35 σε γυναίκες, ενώ οι ηλικίες των ασθενών από τους οποίους ελήφθησαν τα δείγματα ήταν 35–65 ετών. Παράλληλα, μετρήθηκαν 36 (18 άνδρες και 18 γυναίκες) δείγματα φυσιολογικών ατόμων παρόμοιων ηλικιών.

Προσδιορισμός ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC)

Για τη μέτρηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του ορού ασθενών και υγιών χρησιμοποιήθηκαν ειδικά kit αντιδραστηρίων.^{51,52} Για τη μέτρηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του ορού προσδιορίστηκε η επίδραση της προσθήκης 10 μL αραιωμένου 1/10 ορού στην οξείδωση του 2,2-αζινο-δις(3-αιθυλβενζοθειαζολινο)-

6-σουλφονικού οξέος από το σύστημα ferryl μισοσφαιρίνης-H₂O₂ με το antioxidant assay kit της εταιρείας Cayman. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε το trolox, που αποτελεί υδατοδιαλυτό ανάλογο της βιταμίνης E.

Στατιστική επεξεργασία

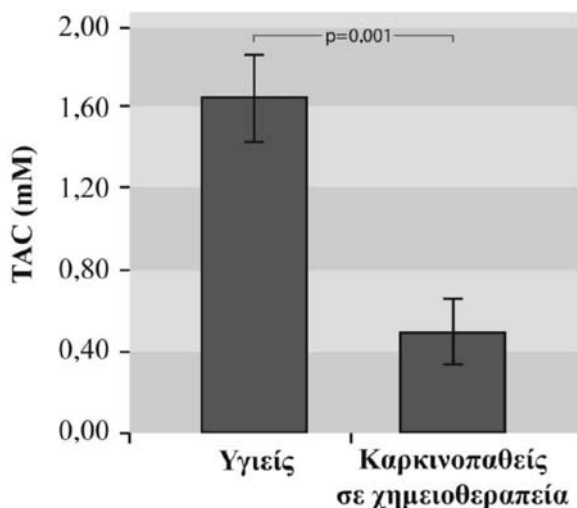
Για τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το Student's t-test, για ανεξάρτητα δείγματα.⁵³

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η μέτρηση των ολικών αντιοξειδωτικών (TAC) σε ορό καρκινοπαθών κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας παρουσίασε μείωση κατά 67,3% σε σύγκριση με υγιή άτομα της ίδιας ηλικίας (p=0,001) (εικ. 1). Η μείωση της TAC ήταν μεγαλύτερη κατά 28,4% σε ασθενείς που ελάμβαναν χημειοθεραπεία ημερησίως, έναντι εκείνων που την ελάμβαναν εβδομαδιαία (p=0,001) (εικ. 2). Επίσης, 24,2% μεγαλύτερη μείωση των ολικών αντιοξειδωτικών παρατηρήθηκε στους άνδρες ασθενείς σε σχέση με τις γυναίκες (p=0,055) (εικ. 3).

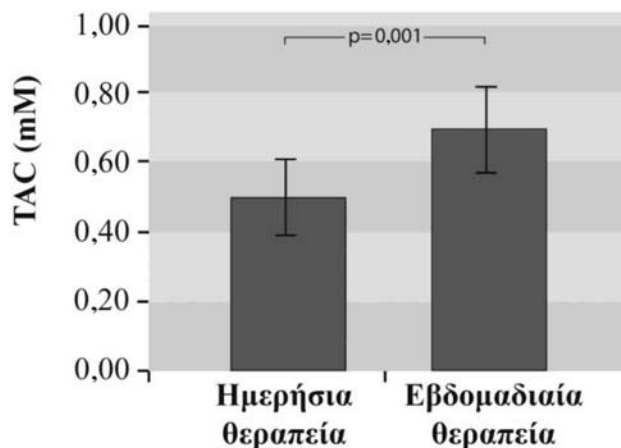
ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ερμηνεύοντας τα αποτελέσματα των μετρήσεων, η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα στον ορό των ασθενών παρουσιάζεται να είναι εμφανώς μειωμένη (κατά 67,3%) σε σχέση με τα επίπεδα υγιών ατόμων (p=0,001).

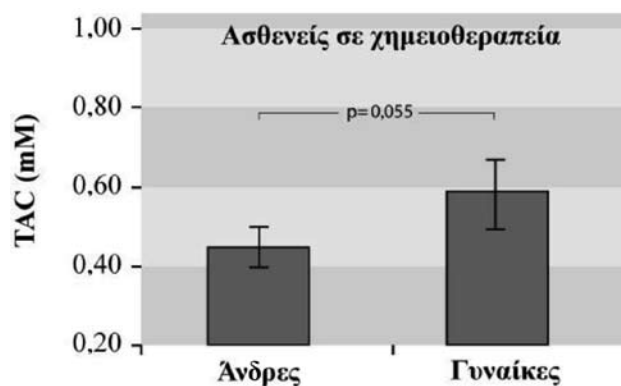


Εικόνα 1. Μέση συγκέντρωση ολικών αντιοξειδωτικών στον ορό ασθενών κατά τη διάρκεια χημειοθεραπείας και υγιών αντίστοιχης ηλικίας.

p=0,001 (αποτελέσματα σύγκρισης των τιμών με ομάδα υγιών αντίστοιχης ηλικίας με εφαρμογή του στατιστικού προγράμματος Student's t-test για ανεξάρτητα δείγματα)



Εικόνα 2. Μέση συγκέντρωση ολικών αντιοξειδωτικών στον ορό ασθενών ανάλογα με τη συχνότητα λήψης χημειοθεραπευτικής αγωγής.



Εικόνα 3. Μέση συγκέντρωση ολικών αντιοξειδωτικών στον ορό ασθενών κατά τη διάρκεια χημειοθεραπείας στα δύο φύλα.

Η μείωση των αντιοξειδωτικών φθάνει το 58,6% στους ασθενείς που λαμβάνουν χημειοθεραπεία μία φορά την εβδομάδα και το 70,4% σε αυτούς που λαμβάνουν χημειοθεραπεία καθημερινά (πίν. 1). Επειδή τα περισσότερα χημειοθεραπευτικά φάρμακα απεκκρίνονται μέσα σε λίγες

Πίνακας 1. Μέση συγκέντρωση ολικών αντιοξειδωτικών στον ορό ασθενών και υγιών, καθώς και εκτίμηση ύπαρξης στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ τους (η στατιστική επεξεργασία έγινε με το Student's t-test. Τα αποτελέσματα κάθε ομάδας συγκρίθηκαν με τα αποτελέσματα της ομάδας των υγιών).

Ομάδα	n	TAC (mM)	p	Μείωση
Υγιείς	36	1,62		
Ασθενείς	51	0,53	0,001	67,3%
Ανδρες	16	0,44	0,05	72,9%
Γυναίκες	35	0,58	0,05	64,2%
Αγωγή ημερησίως	34	0,48	0,001	70,4%
Αγωγή εβδομαδιαία	17	0,67	0,001	58,6%

ώρες ή λίγες ημέρες, η μείωση των αντιοξειδωτικών μπορεί να οφείλεται στην παρουσία του φαρμάκου,¹⁶⁻¹⁸ ειδικά στην ομάδα των ασθενών που ελάμβαναν τη χημειοθεραπευτική αγωγή καθημερινά. Επίσης, 10–20% μείωση οφείλεται στην παρουσία του νεοπλασματος, ενώ το υπόλοιπο μπορεί να οφείλεται στο βιολογικό και το συναισθηματικό stress, καθώς και στην κυτταροτοξική διαδικασία της χημειοθεραπευτικής αγωγής.

Διαχωρίζοντας τα δείγματα σε άνδρες και γυναίκες, παρατηρείται ότι στα επίπεδα των αντιοξειδωτικών οι γυναίκες εμφάνιζαν μεγαλύτερες τιμές σε σύγκριση με τους άνδρες, σε ποσοστό 57% των γυναικών έναντι 43% των ανδρών. Διαφοροποίηση στα συμπτώματα και διαφορετική απόκριση στις αντικαρκινικές θεραπείες ανάμεσα στα δύο φύλα έχουν παρατηρηθεί και από άλλους ερευνητές.⁵⁴

Τα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν τη μειωμένη άμυνα του οργανισμού κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας. Επί πλέον, επιβεβαιώνεται η μείωση της αντιοξειδωτικής κατάστασης του οργανισμού εξ αιτίας πιθανόν της μεγαλύτερης παραγωγής ελευθέρων ριζών κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας. Θα μπορούσε ίσως να προταθεί η λήψη αντιοξειδωτικών κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας, ώστε να βελτιωθεί η άμυνα του οργανισμού, καθώς και οι τυχόν ανεπιθύμητες ενέργειες του φαρμάκου.²⁰ Φυσικά, αυτό μπορεί να γίνει μόνο στις περιπτώσεις όπου η λήψη αντιοξειδωτικών δεν αντισταθμίζει τη δράση της χημειοθεραπευτικής αγωγής. Σε αυτή την περίπτωση, πρέπει να χορηγηθεί συγκεκριμένη κατηγορία αντιοξειδωτικών που δεν επεμβαίνουν στη δράση της χημειοθεραπευτικής αγωγής.

ABSTRACT

Serum antioxidant levels in patients during chemotherapy

E. LIMBERAKI, P. ELEFThERIOU, G. GASPARIS, E. KARALEKOS, C. PETROU

*Department of Medical Laboratory Studies, School of Health and Medical Care Professions,
Alexander Technological Educational Institute of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece*

Archives of Hellenic Medicine 2011, 28(2):251–256

OBJECTIVE Chemotherapy results of increase in free radical formation and depletion of tissue antioxidants. It has also been claimed that antioxidants can increase the effectiveness of cytotoxic therapy and their use during chemotherapy has been recommended, although some clinicians advise their patients against the use of antioxidant dietary supplements during chemotherapy, suggesting that they could be harmful the therapy. The aims of this study were to determine the antioxidant status of patients during chemotherapy and its correlation with sex and with frequency of administration of the chemotherapy. **METHOD** Serum trolox equivalent antioxidant capacity (TAC) was measured in 51 patients (16 male and 35 female) during chemotherapy. 17 patients were receiving their therapy once a week and 34 daily. Antioxidant activity was estimated by the effect of serum on the oxidation of 2,2'-azino-bis(3-ethylbenthiiazoline)-6-sulfonic acid by the ferryl myoglobin-H₂O₂ system. Trolox, the water soluble analogue of vitamin E, was used as the control. The antioxidant concentration was expressed as trolox equivalents. **RESULTS-CONCLUSIONS** A significant decrease in serum TAC was observed in all the patients during chemotherapy (by a mean of 67.3% decrease compared to normal levels, p=0.001). There was also a differentiation in serum TAC related to both sex and the frequency of chemotherapy: Lower serum TAC levels were detected in male patients, and in patients receiving chemotherapeutic drugs daily, compared to those receiving chemotherapy once a week.

Key words: Chemotherapy, Oxidative stress, Sex, TAC

Βιβλιογραφία

- AKINLOYE O, ADARAMOYE O, KAREEM O. Changes in antioxidant status and lipid peroxidation in Nigerian patients with prostate carcinoma. *Pol Arch Med Wewn* 2009, 119:526–532
- LIN CC, YIN MC. B vitamins deficiency and decreased anti-oxidative state in patients with liver cancer. *Eur J Nutr* 2007, 46:293–299
- ARIOZ DT, CAMUZCUOGLU H, TOY H, KURT S, CELIK H, AKSOY N. Serum prolidase activity and oxidative status in patients with stage I endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2009, 19:1244–1247
- SHACTER E, WILLIAMS JA, HINSON RM, SENTÜRKER S, LEE YJ. Oxidative stress interferes with cancer chemotherapy: Inhibition

- of lymphoma cell apoptosis and phagocytosis. *Blood* 2000, 96:307–313
5. LEE YJ, SHACTER E. Oxidative stress inhibits apoptosis in human lymphoma cells. *J Biol Chem* 1999, 274:19792–19798
 6. WEIJL NI, CLETON FJ, OSANTO S. Free radicals and antioxidants in chemotherapy-induced toxicity. *Cancer Treat Rev* 1997, 23:209–240
 7. SANGEETHA P, DAS UN, KORATKAR R, SURYAPRABHA P. Increase in free radical generation and lipid peroxidation following chemotherapy in patients with cancer. *Free Radic Biol Med* 1990, 8:15–19
 8. DÜRKEN M, AGBENU J, FINCKH B, HÜBNER C, PICHLMEIER U, ZELLER W ET AL. Deteriorating free radical trapping capacity and antioxidant status in plasma during bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1995, 15:757–762
 9. LAUTERBURG BH, NGUYEN T, HARTMANN B, JUNKER E, KÜPFER A, CERNY T. Depletion of total cysteine, glutathione, and homocysteine in plasma by ifosfamide/mesna therapy. *Cancer Chemother Pharmacol* 1994, 35:132–136
 10. CLEMENS MR, LADNER C, SCHMIDT H, EHNINGER G, EINSELE H, BÜHLER E ET AL. Decreased essential antioxidants and increased lipid hydroperoxides following high-dose radiochemotherapy. *Free Radic Res Commun* 1989, 7:227–232
 11. CROHNS M, LIIPPO K, ERHOLA M, KANKAANRANTA H, MOILANEN E, ALHO H ET AL. Concurrent decline of several antioxidants and markers of oxidative stress during combination chemotherapy for small cell lung cancer. *Clin Biochem* 2009, 42:1236–1245
 12. LADNER C, EHNINGER G, GEY KF, CLEMENS MR. Effect of etoposide (VP16-213) on lipid peroxidation and antioxidant status in a high-dose radiochemotherapy regimen. *Cancer Chemother Pharmacol* 1989, 25:210–212
 13. HUNNISETT A, DAVIES S, McLAREN-HOWARD J, GRAVETT P, FINN M, GUERET-WARDLE D. Lipoperoxides as an index of free radical activity in bone marrow transplant recipients. *Biol Trace Elem Res* 1995, 47:125–132
 14. FAURE H, COUDRAY C, MOUSSEAU M, DUCROS V, DOUKI T, BIANCHINI F ET AL. 5-hydroxymethyluracil excretion, plasma TBARS and plasma antioxidant vitamins in adriamycin-treated patients. *Free Radic Biol Med* 1996, 20:979–983
 15. GADJEVA V, DIMOV A, GEORGIEVA N. Influence of therapy on the antioxidant status in patients with melanoma. *J Clin Pharm Ther* 2008, 33:179–185
 16. MITCHELL JR, SMITH CV, HUGHES H, LAUTERBURG BH, HORNING MG. Overview of alkylation and peroxidation mechanisms in acute lethal hepatocellular injury by chemically reactive metabolites. *Semin Liver Dis* 1981, 1:143–150
 17. DWIVEDI C, ABU-GHAZALEH A, GUENTHER J. Effects of diallyl sulfide and diallyl disulfide on cisplatin-induced changes in glutathione and glutathione-S-transferase activity. *Anticancer Drugs* 1996, 7:792–794
 18. BHUVARAHAMURTHY V, BALASUBRAMANIAN N, GOVINDASAMY S. Effect of radiotherapy and chemoradiotherapy on circulating antioxidant system of human uterine cervical carcinoma. *Mol Cell Biochem* 1996, 158:17–23
 19. GILLE L, NOHL H. Analyses of the molecular mechanism of adriamycin-induced cardiotoxicity. *Free Radic Biol Med* 1997, 23:775–782
 20. TEN KATE M, VAN DER WAL JB, SLUITER W, HOFLAND LJ, JEEKEL J, SONNEVELD P ET AL. The role of superoxide anions in the development of distant tumour recurrence. *Br J Cancer* 2006, 95:1497–1503
 21. BURSTEIN HJ, GELBER S, GUADAGNOLI E, WEEKS JC. Use of alternative medicine by women with early-stage breast cancer. *N Engl J Med* 1999, 340:1733–1739
 22. VAN DE CREEK L, ROGERS E, LESTER J. Use of alternative therapies among breast cancer outpatients compared with the general population. *Altern Ther Health Med* 1999, 5:71–76
 23. PACE A, SAVARESE A, PICARDO M, MARESCA V, PACETTI U, DEL MONTE G ET AL. Neuroprotective effect of vitamin E supplementation in patients treated with cisplatin chemotherapy. *J Clin Oncol* 2003, 21:927–931
 24. IARUSSI D, AURICCHIO U, AGRETTO A, MURANO A, GIULIANO M, CASALE F ET AL. Protective effect of coenzyme Q10 on anthracyclines cardiotoxicity: Control study in children with acute lymphoblastic leukemia and non-Hodgkin lymphoma. *Mol Aspects Med* 1994, 15(Suppl):s207–s212
 25. WEIJL NI, ELSEENDOORN TJ, LENTJES EG, HOPMAN GD, WIPKINK-BAKKER A, ZWINDERMAN AH ET AL. Supplementation with antioxidant micronutrients and chemotherapy-induced toxicity in cancer patients treated with cisplatin-based chemotherapy: A randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Eur J Cancer* 2004, 40:1713–1723
 26. LEGHA SS, WANG YM, MACKAY B, EWER M, HORTOBAGYI GN, BENJAMIN RS ET AL. Clinical and pharmacologic investigation of the effects of alpha-tocopherol on adriamycin cardiotoxicity. *Ann NY Acad Sci* 1982, 393:411–418
 27. MILLS EE. The modifying effect of beta-carotene on radiation and chemotherapy induced oral mucositis. *Br J Cancer* 1988, 57:416–417
 28. WITENBERG B, KALIR HH, RAVIV Z, KLETTER Y, KRAVTSOV V, FABIAN I. Inhibition by ascorbic acid of apoptosis induced by oxidative stress in HL-60 myeloid leukemia cells. *Biochem Pharmacol* 1999, 57:823–832
 29. ANTUNES LM, DARIN JD, BIANCHI MD. Protective effects of vitamin C against cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in adult rats: A dose-dependent study. *Pharmacol Res* 2000, 41:405–411
 30. SONNEVELD P. Effect of alpha-tocopherol on the cardiotoxicity of adriamycin in the rat. *Cancer Treat Rep* 1978, 62:1033–1036
 31. TEICHER BA, SCHWARTZ JL, HOLDEN SA, ARA G, NORTHEY D. *In vivo* modulation of several anticancer agents by beta-carotene. *Cancer Chemother Pharmacol* 1994, 34:235–241
 32. CHINERY R, BROCKMAN JA, PEELER MO, SHYR Y, BEAUCHAMP RD, COFFEY RJ. Antioxidants enhance the cytotoxicity of chemotherapeutic agents in colorectal cancer: A p53-independent induction of p21WAF1/CIP1 via C/EBPbeta. *Nat Med* 1997, 3:1233–1241
 33. RUTZ HP, LITTLE JB. Modification of radiosensitivity and recovery from X ray damage *in vitro* by retinoic acid. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1989, 16:1285–1288

34. D'ANDREA GM. Use of antioxidants during chemotherapy and radiotherapy should be avoided. *CA Cancer J Clin* 2005, 55:319–321
35. VERA JC, RIVAS CI, FISCHBARG J, GOLDE DW. Mammalian facilitative hexose transporters mediate the transport of dehydroascorbic acid. *Nature* 1993, 364:79–82
36. VERA JC, RIVAS CI, VELÁSQUEZ FV, ZHANG RH, CONCHA II, GOLDE DW. Resolution of the facilitated transport of dehydroascorbic acid from its intracellular accumulation as ascorbic acid. *J Biol Chem* 1995, 270:23706–23712
37. GUAIQUIL VH, VERA JC, GOLDE DW. Mechanism of vitamin C inhibition of cell death induced by oxidative stress in glutathione-depleted HL-60 cells. *J Biol Chem* 2001, 276:40955–40961
38. CLÉMENT MV, RAMALINGAM J, LONG LH, HALLIWELL B. The *in vitro* cytotoxicity of ascorbate depends on the culture medium used to perform the assay and involves hydrogen peroxide. *Antioxid Redox Signal* 2001, 3:157–163
39. LESPERANCE ML, OLIVOTTO IA, FORDE N, ZHAO Y, SPEERS C, FOSTER H ET AL. Mega-dose vitamins and minerals in the treatment of non-metastatic breast cancer: A historical cohort study. *Breast Cancer Res Treat* 2002, 76:137–143
40. OMENN GS, GOODMAN GE, THORNQUIST MD, BARMES J, CULLEN MR, GLASS A ET AL. Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *N Engl J Med* 1996, 334:1150–1155
41. BJELAKOVIC G, NIKOLOVA D, SIMONETTI RG, GLUUD C. Antioxidant supplements for prevention of gastrointestinal cancers: A systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2004, 364:1219–1228
42. LONN E, BOSCH J, YUSUF S, SHERIDAN P, POGUE J, ARNOLD JM ET AL. Effects of long-term vitamin E supplementation on cardiovascular events and cancer: A randomized controlled trial. *JAMA* 2005, 293:1338–1347
43. BAIRATI I, MEYER F, GÉLINAS M, FORTIN A, NABID A, BROCHET F ET AL. A randomized trial of antioxidant vitamins to prevent second primary cancers in head and neck cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 2005, 97:481–488
44. CONKLIN KA. Dietary antioxidants during cancer chemotherapy: Impact on chemotherapeutic effectiveness and development of side effects. *Nutr Cancer* 2000, 37:1–18
45. CONKLIN KA. Cancer chemotherapy and antioxidants. *J Nutr* 2004, 134:3201S–3204S
46. LAMSON DW, BRIGNALL MS. Antioxidants in cancer therapy; their actions and interactions with oncologic therapies. *Altern Med Rev* 1999, 4:304–329
47. TOBEY RA, ENGER MD, GRIFFITH JK, HILDEBRAND CE. Zinc-induced resistance to alkylating agent toxicity. *Cancer Res* 1982, 42:2980–2984
48. ZUNINO F, PRATESI G, MICHELONI A, CAVALLETTI E, SALA F, TOFANETTI O. Protective effect of reduced glutathione against cisplatin-induced renal and systemic toxicity and its influence on the therapeutic activity of the antitumor drug. *Chem Biol Interact* 1989, 70:89–101
49. BALDEW GS, MOL JG, de KANTER FJ, VAN BAAR B, de GOEIJ JJ, VERMEULEN NP. The mechanism of interaction between cisplatin and selenite. *Biochem Pharmacol* 1991, 41:1429–1437
50. DAUBEUF S, BALIN D, LEROY P, VISVIKIS A. Different mechanisms for gamma-glutamyltransferase-dependent resistance to carboplatin and cisplatin. *Biochem Pharmacol* 2003, 66:595–604
51. KORACEVIC D, KORACEVIC G, DJORDJEVIC V, ANDREJEVIC S, COSIC V. Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *J Clin Pathol* 2001, 54:356–361
52. PERRY LA, GOSSMAN AB. The role of the laboratory in the diagnosis of Cushing's syndrome. *Ann Clin Biochem* 1997, 34:345–359
53. PRESS WH, TEUKOLSKY SA, VETTERLING WT, FLANNERY BP. *Numerical recipes in C: The art of scientific computing*. 2nd ed. Cambridge University Press, New York, 1992
54. McCANN J. Gender differences in cancer that don't make sense – or do they? *J Natl Cancer Inst* 2000, 92:1560–1562

Corresponding author:

E. Limberaki, Department of Medical Laboratory Studies, School of Health and Care Professions, Alexander Technological Educational Institute of Thessaloniki, GR-574 00 Sindos, Greece
e-mail: evlimper@mls.teithe.gr