



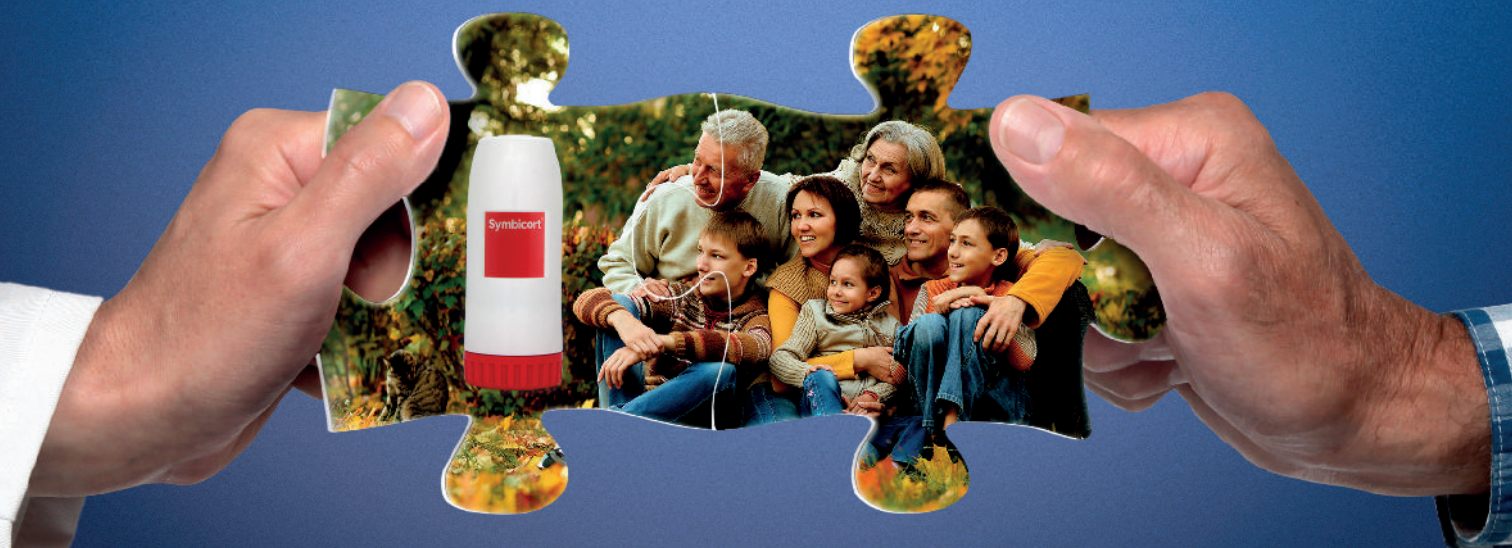
ISSN 2241-3081

ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ PHARMAKEFTIKI

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ ΜΕ ΘΕΜΑΤΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
A QUARTERLY EDITION ON PHARMACEUTICAL SCIENCES' TOPICS

ΤΟΜΟΣ 27 | ΤΕΥΧΟΣ I&II
VOLUME | ISSUE

ΙΑΝΟΥΑΡΙΟΣ - ΙΟΥΝΙΟΣ 2015
JANUARY - JUNE



Ποιοτική & Ποσοτική Σύνθεση

● Symbicort® Turbuhaler® 160 µg/4,5 µg/εισπνοή, κόνις για εισπνοή.

Κάθε εισπνεόμενη δόση (δηλαδή η δόση που απελευθερώνεται από το επιστόμιο της συσκευής) **περιέχει:** βουδεσονίδα 160 μικρογραμμάρια/εισπνοή και διυδρική φουμαρική φορμοτερόλη 4,5 μικρογραμμάρια/εισπνοή.

Κάθε μετρούμενη δόση περιέχει: βουδεσονίδα 200 μικρογραμμάρια/εισπνοή και διυδρική φουμαρική φορμοτερόλη 6 μικρογραμμάρια/εισπνοή. **Έκδοχα:** Λακτόζη μονοϋδρική 730 μικρογραμμάρια ανά δόση.

● Symbicort® Turbuhaler® 320 µg/9 µg/εισπνοή, κόνις για εισπνοή.

Κάθε εισπνεόμενη δόση (δηλαδή η δόση που απελευθερώνεται από το επιστόμιο της συσκευής) **περιέχει:** βουδεσονίδα 320 μικρογραμμάρια/εισπνοή και διυδρική φουμαρική φορμοτερόλη 9 μικρογραμμάρια/εισπνοή.

Κάθε μετρούμενη δόση περιέχει: βουδεσονίδα 400 μικρογραμμάρια/εισπνοή και διυδρική φουμαρική φορμοτερόλη 12 μικρογραμμάρια/εισπνοή. **Έκδοχα:** Λακτόζη μονοϋδρική 491 μικρογραμμάρια ανά δόση.

Για περισσότερες πληροφορίες, παρακαλούμε να απευθυνθείτε στην εταιρεία AstraZeneca



From vision to reality...

- Sponsorship
- Website & Digital Marketing
- Graphic Design
- Congress Organization
- Scientific Journals
- Financial Organization
- Media Office
- Travel Services

We've made it a science!

www.zita-management.com

CONTACT



ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ ΜΕ ΘΕΜΑΤΑ
ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΟΜΟΣ 27, ΤΕΥΧΟΣ Ι&ΙΙ,
ΙΑΝΟΥΑΡΙΟΣ - ΙΟΥΝΙΟΣ 2015

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΣΥΝΤΑΞΗΣ

A. Τσαντίλη

Καθηγήτρια, Πανεπιστήμιο Αθηνών,
tsantili@pharm.uoa.gr

ΑΡΧΙΣΥΝΤΑΚΤΗΣ

Γ.Α. Καρίκας

Καθηγητής, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό
Ίδρυμα Αθηνών, karikasg@teiath.gr

ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Κ. Δεμέτζος

Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Β. Δημόπουλος

Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

N. Κόλμαν

Galenica SA

X. Κοντογιώργης

PhD, Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Π. Κουρουνάκης

Ομοτ. Καθηγητής,

Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Π. Μαχαίρας

Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Σ. Νικολαρόπουλος

Αναπλ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Πατρών

Γ. Πάιρας

Επικ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Πατρών

Ε. Παντερή

Αναπλ. Καθηγήτρια, Πανεπιστήμιο Αθηνών

Δ. Ρέκκας

Αναπλ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Αθηνών

E-mail για κατάθεση εργασιών:

tsantili@pharm.uoa.gr , karikasg@teiath.gr

**Για την ηλεκτρονική έκδοση της «Φαρμακευτικής»
και οδηγίες προς συγγραφείς
επισκεφτείτε την διεύθυνση: www.hsmc.gr**

*Τα άρθρα που δημοσιεύονται στην "Φαρμακευτική"
καταχωρούνται στα Chemicals Abstracts,
EMBASE και SCOPUS*

PHARMAKEFTIKI

A QUARTERLY EDITION
ON PHARMACEUTICAL SCIENCES' TOPICS
VOLUME 27, ISSUE I&II,
JANUARY - JUNE 2015

EDITOR

A. Tsantili

Professor, University of Athens,
tsantili@pharm.uoa.gr

CO EDITOR

G.A. Karikas

Professor, Technological Educational
Institute of Athens, karikasg@teiath.gr

EDITORIAL BOARD

C. Demetzos

Professor, University of Athens

V.J. Demopoulos

Professor, University of Thessaloniki

N. Kolman

Galenica SA

Ch. Kontogiorgis

PhD, University of Thessaloniki

P. Kourounakis

Emeritus Professor,

University of Thessaloniki

P. Macheras

Professor, University of Athens

S. Nikolaropoulos

Associate Professor, University of Patras

G. Pairas

Assistant Professor, University of Patras

I. Panderi

Associate Professor, University of Athens

D. Rekkas

Associate Professor, University of Athens

E-mail for manuscript submission:

tsantili@pharm.uoa.gr , karikasg@teiath.gr

**For "Pharmakeftiki" electronic edition
and instructions to authors
please visit www.hsmc.gr**

*Articles published in "Pharmakeftiki" are indexed
in Chemical Abstracts, EMBASE and SCOPUS*

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ / CONTENTS

Επισκόπηση των Νεώτερων Αντιυπερλιπιδαιμικών Φαρμάκων <i>Φωτεινή Τσούκη, Ιωάννα Ανδρεάδου</i> _____	Overview of the newer hypolipidaemic agents <i>Fotini Tsouki, Ioanna Andreadou</i> _____
_____ 1-14	_____ 1-14
Boraginaceae: Διατροφική έκθεση σε τοξικά αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης <i>Χαρίλαος Δαμιανάκος, Ιωάννα Χήνου,</i> <i>Γεώργιος-Αλβέρτος Καρίκας</i> _____	Nutritional exposure to toxic pyrrolizidine alkaloids <i>Charilaos Damianakos, Ioanna Chinou,</i> <i>George-Albert Karikas</i> _____
_____ 15-30	_____ 15-30
Η διαμάχη για την εγκυρότητα της θεωρίας των ελευθέ- ρων ριζών ή οξειδωτικού stress για την γήρανση. Πρό- σφατες επιστημονικές αποδείξεις για τις οξειδωτικές βλάβες σε μοριακό επίπεδο, τα πειραματόζωα και μελέτες σε ανθρώπινους πληθυσμούς <i>Αθανάσιος Βαλαβανίδης, Θωμάς Βλαχογιάννη,</i> <i>Μιχαήλ Ράλλης</i> _____	The Controversy for the Validity of the Free Radical or Oxidative Stress Theory of Ageing. Recent Scientific Evidence for Oxidative Damage at Molecular Level, Animals and Ageing Population-based Studies <i>Athanasios Valavanidis, Thomais Vlachogianni,</i> <i>Michael Rallis</i> _____
_____ 31-50	_____ 31-50
Νέα - Εξελίξεις _____	News & Developments _____
_____ 53-54	_____ 53-54
Εκδηλώσεις _____	Meetings _____
_____ 55-56	_____ 55-56

Γραφείο Διοίκησης Ελληνικής Εταιρείας
Φαρμακοχημείας
ZITA MEDICAL MANAGEMENT
1ο χλμ. Παιανίας - Μαρκοπούλου
19002, Παιανία, Ελλάδα
Τηλ.: + 30 211 100 1764
E-mail: f.karaoulani@zita-management.com

Hellenic Society of Medicinal Chemistry
Management Office
ZITA MEDICAL MANAGEMENT
1st klm Peanias - Markopoulou
19002, Peania, Greece
Tel.: + 30 211 100 1764
E-mail: f.karaoulani@zita-management.com

VIAGRA[®] ODT

(sildenafil citrate) orodispersable tablets

Εδώ και τώρα!



ΜΕ ΕΥΧΑΡΙΣΤΗ
ΓΕΥΣΗ **ΛΕΜΟΝ!!!**



1. VIAGRA 50 mg Δισκία διασπειρόμενα στο στόμα, Περίληψη Χαρακτηριστικών του Προϊόντος.



GLOBAL ESTABLISHED PHARMA BUSINESS

PFIZER HELLAS A.E.

Λεωφ. Μεσογείων 243, 154 51 Ν. Ψυχικό, Τηλ. Επιστημονικής Ενημέρωσης: 210 6785800, Παραγγελιών: 210 8199060.

Η συνοπτική Π.Χ.Π. του προϊόντος ακολουθεί σε επόμενη σελίδα.

Επισκόπηση των Νεώτερων Αντιυπερλιπιδαιμικών Φαρμάκων

Φωτεινή Τσούκη, Ιωάννα Ανδρεάδου*

Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Ε.Κ.Π.Α., Πανεπιστημιόπολις, Ζωγράφου, Αθήνα 157 71

Περίληψη

Τα τελευταία χρόνια, λόγω της επικράτησης του δυτικού τρόπου ζωής η συχνότητα εμφάνισης διαταραχών των επιπέδων της χοληστερόλης στο αίμα έχει αυξηθεί δραματικά. Η υπερλιπιδαιμία είναι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση Στεφανιαίας Νόσου, η οποία ενοχοποιείται για το 50% περίπου των θανάτων στις Η.Π.Α. ετησίως. Η θεραπευτική αντιμετώπιση της υπερλιπιδαιμίας είναι απαραίτητη για την αποφυγή της εμφάνισης επιπλοκών από τη νόσο. Στη μετά 'στατίνες' εποχή οι νεώτερες προσεγγίσεις στη φαρμακευτική αγωγή και στην έρευνα αφορούν κυρίως μόρια με στοχευμένη δράση ώστε να επιτευχθεί ελαχιστοποίηση των ανεπιθύμητων ενεργειών και ανακούφιση των ασθενών καθώς η θεραπεία για την υπερλιπιδαιμία λαμβάνεται εφ' όρου ζωής. Τα νεώτερα φάρμακα που έχουν εισαχθεί στο εμπόριο είναι τα μακριάς αλύσου πολυακόρεστα ω-3 λιπαρά οξέα, τα οποία μέσω της δράσης τους σε πολλαπλά ενζυμικά συστήματα, οδηγούν σε ελάττωση των επιπέδων των τριγλυκεριδίων του αίματος, καθώς και το Alipogene tiparvonoc, το μοναδικό σκεύασμα γονιδιακής θεραπείας στην αντιμετώπιση της υπερλιπιδαιμίας, αποκλειστικά για

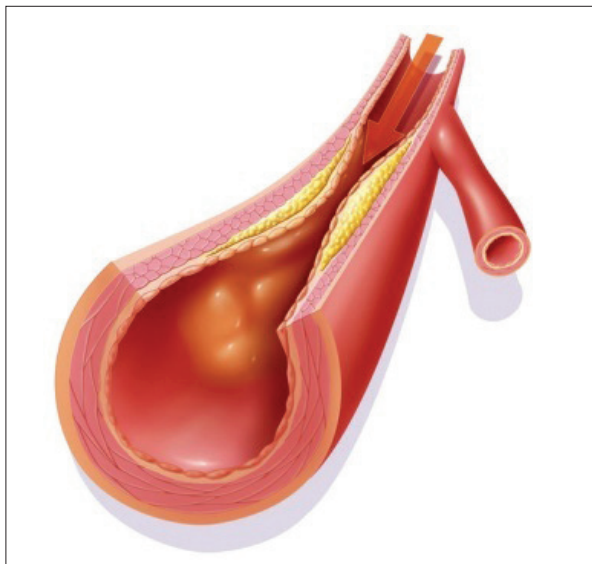
ασθενείς με ανεπάρκεια λιποπρωτεϊνικής λιπάσης, που στοχεύει στην αποκατάσταση της ανεπάρκειας αυτής. Αρκετά είναι τα φαρμακευτικά σκευάσματα που αναμένουν αυτή τη στιγμή την έγκρισή τους από τους αρμόδιους φορείς, με χαρακτηριστικότερο το μόριο Mipomersen, ένα ολιγονουκλεοτίδιο με δράση αντι-μεταφραστικού παράγοντα, το οποίο αναστέλλοντας τη σύνθεση της απολιποπρωτεΐνης-B επιτυγχάνει μείωση της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (LDL). Το Lomitapide, ένα μόριο που πρόκειται σύντομα να εισαχθεί στην αγορά, προκαλεί ελάττωση των επιπέδων της πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (VLDL) και των χυλομικρών, ενώ το ανάλογο της θυροξίνης Eprotirome, δρα ελαττώνοντας τα τριγλυκερίδια και την LDL-χοληστερόλη. Τέλος, πολλά είναι τα μόρια που υπόκεινται σε τρέχουσες κλινικές δοκιμές με τα επικρατέστερα να είναι τα Anacetrapib το οποίο αναστέλλει την πρωτεΐνη Cholesteryl ester transfer protein (CEPT), το AMG-145 που αναστέλλει την Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK-9) και το CER-001, ένα μόριο που μιμείται την δράση της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (HDL) στον οργανισμό.

Εισαγωγή

Τα λιπίδια του αίματος, δηλαδή η χοληστερόλη, οι εστέρες της χοληστερόλης και τα τριγλυκερίδια, κυκλοφορούν μεταξύ των ιστών του σώματος με τη μορφή λιποπρωτεϊνών. Οι λιποπρωτεΐνες είναι μακρομοριακά συμπλέγματα μεταξύ λιπιδίων και πρω-

τεϊνών οι οποίες απουσία λιπιδίων χαρακτηρίζονται ως απολιποπρωτεΐνες. Ανάλογα με την περιεκτικότητά τους σε λιπαρά συστατικά οι λιποπρωτεΐνες κατατάσσονται σε HDL, IDL, LDL και VLDL κατά σειρά αναλογίας πρωτεΐνης/λιπιδίων. Ο ρόλος της υψηλής πυκνότητας HDL είναι η συλλογή της χοληστε-

* Συγγραφέας υπεύθυνος για την αλληλογραφία: Ιωάννα Ανδρεάδου, E-mail: jandread@pharm.uoa.gr



Σχήμα 1: Απεικόνιση σχηματισμού αθηρώματος σε αρτηρία

ρόλης από τους περιφερικούς ιστούς και η μεταφορά της στο ήπαρ για αποικοδόμηση. Για το λόγο αυτό η HDL χαρακτηρίζεται ως “καλή” χοληστερόλη, καθώς συμβάλλει στην απομάκρυνση της χοληστερόλης από την κυκλοφορία. Αντίθετα οι υπόλοιπες ενδιάμεσης (IDL), χαμηλής (LDL) και πολύ χαμηλής (VLDL) περιεκτικότητας λιποπρωτεΐνες εκτελούν την αντίστροφη διαδικασία παραλαμβάνοντας τη χοληστερόλη από το ήπαρ και κατανέμοντας τη στους ιστούς.¹⁻³

1. Υπερλιπιδαιμίες

1.1. Επισκόπηση υπερλιπιδαιμιών

Οι υπερλιπιδαιμίες είναι παθολογικές καταστάσεις που χαρακτηρίζονται από αυξημένα επίπεδα λιπιδίων στο αίμα. Ανάλογα με την αιτιολογία τους κατατάσσονται σε πρωτοπαθή ή οικογενή και σε δευτεροπαθή ή επίκτητη υπερλιπιδαιμία. Η πρωτοπαθής υπερλιπιδαιμία οφείλεται σε συγκεκριμένη γενετική διαταραχή, όπως για παράδειγμα μια μετάλλαξη σε γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες-υποδοχείς των λιποπρωτεϊνών, ενώ την εμφάνισή της μπορεί να πυροδοτήσουν περιβαλλοντικά αίτια, όπως ο καθιστικός τρόπος ζωής, η αυξημένη κατανάλωση λιπαρών τροφών κ.α. Η δευτεροπαθής υπερλιπιδαιμία είναι αποτέλεσμα κάποιας προϋπάρχουσας μεταβολικής

βλάβης όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, κάποιας συνυπάρχουσας ασθένειας όπως το νεφρωσικό σύνδρομο ή ο υποθυρεοειδισμός, ή μπορεί να προκληθεί από τη λήψη φαρμάκων όπως διουρητικά, β-ανταγωνιστές ή οιστρογόνα. Περαιτέρω κατηγοριοποίηση των υπερλιπιδαιμιών βασίζεται στην αύξηση των επιμέρους λιποπρωτεϊνών δηλαδή των χυλομικρών (υπερχυλομικροναιμία ή μικτή υπερτριγλυκεριδαιμία), των VLDL (συνδυασμένη υπερλιπιδαιμία ή υπερτριγλυκεριδαιμία), των IDL (δυσβηταλιποπρωτεΐναιμία), ή των LDL-λιποπρωτεϊνών (υπερχοληστερολαιμία).^{4,5}

1.2. Αθηρωμάτωση

Η υπερλιπιδαιμία χρήζει άμεσης αντιμετώπισης καθώς είναι η κύρια αιτία της αθηρωμάτωσης των αγγείων, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε στεφανιαία νόσο, έμφραγμα του μυοκαρδίου, εγκεφαλικό ισχαιμικό επεισόδιο κ.α. Πιο συγκεκριμένα, κατά τη διαδικασία σχηματισμού του αθηρώματος κυρίαρχο ρόλο παίζει η LDL-λιποπρωτεΐνη και κυρίως η οξειδωμένη μορφή της. Τα οξειδωμένα σωματίδια της LDL είναι τοξικά για τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων και η βλάβη που τους προκαλούν πυροδοτεί την ανοσολογική απόκριση του οργανισμού. Έτσι, μέσω της συσσώρευσης σωματιδίων LDL, T-λεμφοκυττάρων, μακροφάγων και αιμοπεταλίων, τα οποία σε τελικό στάδιο περικλείονται από ινώδη σχηματισμό, δημιουργούνται οι καλούμενες αθηρωματικές πλάκες στα τοιχώματα των αγγείων (Σχήμα 1).

Αυτό έχει ως συνέπεια τη στένωση των αρτηριών και των φλεβών προκαλώντας ελάττωση ή και διακοπή της αιματικής ροής δια μέσω αυτών, καταλήγοντας τελικά σε ισχαιμία. Σε περίπτωση ρήξης της αθηρωματικής πλάκας, δηλαδή αποκόλλησής της από το τοίχωμα του αγγείου, δημιουργείται θρόμβος. Ο αποκολλημένος θρόμβος ονομάζεται έμβολο και μπορεί να προκαλέσει εμβολή ή σε περίπτωση που στερεί την αιμάτωση της καρδιάς, οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου.^{6,7}

1.3. Θεραπευτική αντιμετώπιση

Η συνήθης θεραπεία της υπερλιπιδαιμίας εστιάζεται κυρίως στην ελάττωση των επιπέδων της ολικής και της LDL-χοληστερόλης του ορού με τη χορήγηση αντιλιπιδαιμικών παραγόντων. Έτσι επιτυγχάνεται έλεγχος και καθυστέρηση της προόδου της καρδιαγγειακής νόσου που προκαλείται από την υπερλιπιδαιμία.

1.3.1. Προβλήματα

Η θεραπεία με αντιυπερλιπιδαιμικά φάρμακα δεν έχει κανένα αποτέλεσμα στην αντιστροφή της ήδη υπάρχουσας καρδιαγγειακής νόσου και κατά συνέπεια δεν είναι αρκετά αποτελεσματική στην πρόληψη ενός ισχαιμικού επεισοδίου. Ακόμα, σε πολλές περιπτώσεις οικογενών - δηλαδή γενετικά ελεγχόμενων - υπερλιπιδαιμιών, η θεραπευτική αντιμετώπιση με τα συνήθη αντιυπερλιπιδαιμικά φάρμακα (στατίνες, φιμπράτες, νιασίνη, δεσμευτικά των χολικών οξέων και αναστολείς απορρόφησης της χοληστερόλης) δεν επιφέρει τα αναμενόμενα αποτελέσματα^{8,9}. Παραδείγματος χάριν, ασθενείς υπό θεραπεία με στατίνες, αποτυγχάνουν να ελέγξουν τα επίπεδα της LDL-χοληστερόλης τους, ακόμη και με λήψη μεγάλων δόσεων, παρά το γεγονός ότι αυτή η κατηγορία φαρμάκων έχει θεωρηθεί ότι αποτέλεσε τομή στην αντιμετώπιση της υπερλιπιδαιμίας, με την ατορβαστατίνη να είναι παγκοσμίως πρώτη σε πωλήσεις¹⁰. Τέλος, μεγάλη μερίδα των ασθενών εμφανίζει δυσανεξία στις στατίνες, η οποία οδηγεί στην εμφάνιση αρκετών ανεπιθύμητων ενεργειών όπως η μυαλγία, επιβάλλοντας τη διακοπή της θεραπείας¹¹.

1.3.2. Σύγχρονες Προσεγγίσεις στην έρευνα νέων αντιυπερλιπιδαιμικών παραγόντων- η 'μετά στατίνες' εποχή

Η σύγχρονη έρευνα στη θεραπεία της υπερλιπιδαιμίας στοχεύει κυρίως στην ανακάλυψη μορίων που θα έχουν τα θεραπευτικά οφέλη των στατινών χωρίς να εμφανίζουν τις ανεπιθύμητες ενέργειές τους (κυρίως μυοπάθεια και ραβδομύολυση). Ακόμη υπάρχει ανάγκη για την ανακάλυψη μορίων με περισσότερο εκλεκτική δράση για αύξηση της αποτελεσματικότητας με ελάττωση της δόσης και αποφυγή των ανεπιθύμητων ενεργειών. Τέτοια μόρια θα μπορούσαν να είναι μονοκλωνικά αντισώματα με δράση αναστολέα ενζύμων ή υποδοχέων, ακόμα και μόρια που θα παρεμβαίνουν στη μετάφραση γονιδίων σχετιζόμενων με την ασθένεια. Τέλος, η ανακάλυψη μορίων-μιμητών της HDL-χοληστερόλης αποτελεί στόχο πολλών ερευνητικών ομάδων. Η HDL έχει διάφορες φυσιολογικές δράσεις που μπορούν να οδηγήσουν στη σταθεροποίηση των αθηρωματικών πλακών αλλά και στη μείωση του μεγέθους τους. Επίσης δρα απομακρύνοντας μεγάλες ποσότητες χοληστερόλης από την κυκλοφορία, βελτιώνοντας τη λειτουργία του αγγειακού εν-

δοθηλίου, προστατεύοντας έναντι του οξειδωτικού stress και καταστέλλοντας τη φλεγμονή. Είναι φανερό λοιπόν ότι η δράση μορίων-μιμητών της HDL στην αθηρωμάτωση αναμένεται να είναι ευεργετική.¹²

2. Αντιυπερλιπιδαιμικά φάρμακα νεώτερης γενιάς

Παρουσιάζονται νεώτερα αντιυπερλιπιδαιμικά φάρμακα που έχουν σχεδιαστεί και αναπτυχθεί με βάση τις σύγχρονες προσεγγίσεις και ήδη κυκλοφορούν ή βρίσκονται στο στάδιο έγκρισης. Τα νέα αυτά φάρμακα, μεταξύ αυτών μονοκλωνικά αντισώματα, σκευάσματα γονιδιακής θεραπείας και ολιγονουκλεοτίδια, αποτελούν ή στοχεύουν να αποτελέσουν εναλλακτικές θεραπείες έναντι κυρίως των μέχρι τώρα ευρέως χρησιμοποιούμενων στατινών και φιβρατών ή να συγχωρηθούν με αυτές. Συζητείται ο μηχανισμός δράσης τους, η θεραπευτική τους χρήση και τυχόν ανεπιθύμητες ενέργειες.

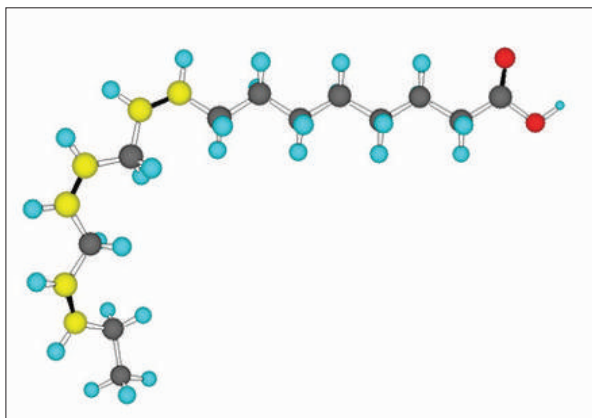
2.1 Συνταγογραφούμενα ω-3 λιπαρά οξέα

Τα μακρίας αλυσίδας πολυακόρεστα ω-3 λιπαρά οξέα και κυρίως το EPA (eicosapentaenoic acid, C20:5 n-3) και το DHA (docosahexaenoic acid, C22:6 n-3) εμφανίζουν υποτριγλυκεριδαιμικές ιδιότητες όταν χορηγούνται σε υψηλές δόσεις. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι η αποτελεσματικότητα του φαρμάκου εξαρτάται τόσο από τη χορηγούμενη δόση (αυξάνεται αναλογικά), όσο και από τα αρχικά επίπεδα των τριγλυκεριδίων του ορού: Όσο πιο αυξημένη είναι η αρχική συγκέντρωσή τους, τόσο μεγαλύτερη είναι η ελάττωσή τους μετά τη λήψη ω-3 λιπαρών οξέων¹³ (Σχήμα 2).

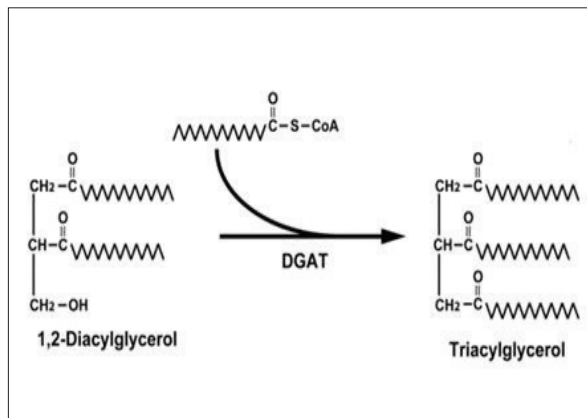
2.1.1 Μηχανισμός δράσης

Τα ω-3 λιπαρά οξέα αναστέλλουν άμεσα την ακετυλοτρανσφεράση της διακυλογλυκερόλης (DGAT) και την φωσφοϋδρολάση του φωσφατιδικού οξέος, δύο ένζυμα που παίζουν βασικό ρόλο στη βιοσύνθεση των τριγλυκεριδίων στο ήπαρ (Σχήμα 3).

Μέσω της αναστολής των ενζύμων αυτών ελαττώνεται η εκκρινόμενη ποσότητα VLDL-χοληστερόλης από το ήπαρ. Ταυτόχρονα, αυξάνεται η β-οξείδωση των λιπαρών οξέων στα υπεροξυσώματα και στα μιτοχόνδρια των ηπατικών κυττάρων, μέσω αυξημένης έκφρασης του πυρηνικού μεταγραφικού παράγοντα PPAR-α (ο PPAR-α είναι μέλος της οικογέ-



Σχήμα 2: Μοριακή απεικόνιση ενός ω-3 λιπαρού οξέος



Σχήμα 3: Η DGAT καταλύει την εξαρτώμενη από το ακέτυλο-CoA σύνθεση της τριακυλογλυκερόλης

νειας των πυρηνικών υποδοχέων PPAR – Peroxisome Proliferator Activated Receptors- που ρυθμίζουν το μεταβολισμό των λιπιδίων στα κύτταρα). Κατά συνέπεια, μειώνεται η διαθεσιμότητα των ελεύθερων λιπαρών οξέων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη σύνθεση τριγλυκεριδίων (TG) με αποτέλεσμα την ελάττωση των TG του πλάσματος. Τέλος, τα ω-3 λιπαρά οξέα αυξάνουν τα επίπεδα της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης (LPL) του πλάσματος μέσω επαγωγής των γονιδίων που την κωδικοποιούν στο λιπώδη ιστό. Η LPL είναι υπεύθυνη για την υδρόλυση των τριγλυκεριδίων των χυλομικρών και της VLDL, ενώ προωθεί επίσης την πρόσληψη των υπολειμμάτων τους από τα ηπατικά κύτταρα. Έτσι αυξάνεται η λιπολυτική ικανότητα του πλάσματος και ως αποτέλεσμα η κάθαρση του αίματος από TG, ενώ συγχρόνως αυξάνεται η ευαισθησία των VLDL σωματιδίων στην αποικοδόμηση από την LPL.¹⁴⁻¹⁶

2.1.2. Θεραπευτική αγωγή

Η αγωγή με ω-3 λιπαρά οξέα συνίσταται μόνο σε ασθενείς με πολύ υψηλά αρχικά επίπεδα τριγλυκεριδίων ορού, συγκεκριμένα υψηλότερα από 500 mg/dL ενώ η συνήθης χορηγούμενη δόση φτάνει τα 4 g ημερησίως. Στους ασθενείς αυτούς επιτυγχάνεται 45% ελάττωση των επιπέδων των TG, η οποία συνοδεύεται από μικρή αύξηση (9%) των επιπέδων της HDL. Με τη θεραπεία αυτή οι ασθενείς παρουσιάζουν μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου και παγκρεατίτιδας.¹³

Η απουσία ανεπιθύμητων ενεργειών και φαρμακευτικών αλληλεπιδράσεων με φάρμακα που μεταβολίζονται από το κυτόχρωμα P450 καθιστά τα ω-3 λιπαρά οξέα πολύτιμα στη συνδυαστική θεραπεία με στατίνες σε ασθενείς με μικτή υπερλιπιδαιμία.¹⁷

Στην αμερικανική αγορά κυκλοφορεί ήδη το συνταγογραφούμενο σκεύασμα Iovaza από καθαρά, συμπυκνωμένα ω-3 λιπαρά οξέα και είναι εγκεκριμένο από τον FDA για τη θεραπεία ασθενών με σοβαρή υπερτριγλυκεριδαιμία.¹⁸

2.2. Γονιδιακή θεραπεία- Alipogene tiparvonvec

Το φάρμακο Alipogene tiparvonvec που κυκλοφορεί με την εμπορική ονομασία Glybera είναι το πρώτο σκεύασμα γονιδιακής θεραπείας για την αντιμετώπιση της υπερλιπιδαιμίας που έχει προταθεί¹⁹. Στοχεύει στη θεραπεία ασθενών με υπερλιπιδαιμία λόγω ανεπάρκειας της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης (LPL Deficiency).

2.2.1. Ο ρόλος της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης (LPL)

Η LPL είναι ένα ένζυμο που συντίθεται κυρίως στους σκελετικούς μύες, στο λιπώδη ιστό και στο μυοκάρδιο και παίζει κύριο ρόλο στον έλεγχο της χοληστερόλης του οργανισμού. Συγκεκριμένα, καταλύει τον καταβολισμό των τριγλυκεριδίων, των χυλομικρών και των VLDL-λιποπρωτεϊνών, αποτρέποντας έτσι τη συσσώρευσή τους στο πλάσμα²⁰.

2.2.2. Ανεπάρκεια λιποπρωτεϊνικής λιπάσης (LPLD)

Η ανεπάρκεια σε LPL είναι μια κληρονομική αυτο-

σωμική υπολειπόμενη γενετική διαταραχή που οδηγεί στη σύνθεση μη λειτουργικού ενζύμου. Προκαλείται από μεταλλάξεις στο γονίδιο που κωδικοποιεί την LPL οδηγώντας στην εμφάνιση περισσότερων από 70 διαφορετικών, μη λειτουργικών μορφών του ενζύμου. Η LPLD μπορεί να οδηγήσει σε οξεία παγκρεατίτιδα, μια δυνητικά θανατηφόρο κατάσταση, ενώ μπορεί να εμφανιστεί σακχαρώδης διαβήτης καθώς και αθηροσκλήρωση²¹.

2.2.3 Δομή

Το Alipogene tiparvonoc περιέχει τη μορφή LPLS^{447x} του λειτουργικού ανθρώπινου γονιδίου της LPL, μια μορφή που οδηγεί σε αυξημένη απομάκρυνση των αθηροματογόνων μορφών της χοληστερόλης, σε χαμηλότερα επίπεδα TG και σε υψηλότερα επίπεδα HDL. Το γονίδιο μεταφέρεται μέσα σε έναν φορέα που δεν αντιγράφεται αυτόνομα και δεν ενσωματώνεται στο γονιδίωμα του οργανισμού. Ο φορέας αυτός αποτελείται από τμήματα αδενοϊών οροτύπων 1 και 2 (AAV1 και AAV2), κυτταρομεγαλοϊών (CMV) και ιών ηπατίτιδας. Με τα παραπάνω συστατικά εξασφαλίζεται η στόχευση του γονιδίου στα μυϊκά κύτταρα, τα κύρια “εργοστάσια” παραγωγής LPL.

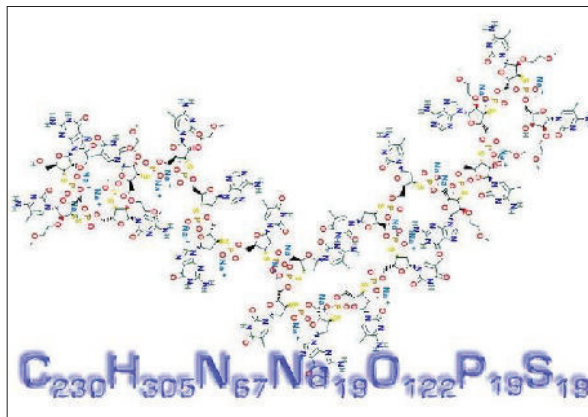
Το Alipogene tiparvonoc παράγεται με τεχνολογία ανασυνδυασμένου DNA με τη χρήση κυττάρων εντόμων και ανασυνδυασμένου ιού baculovirus²².

2.2.4 Θεραπευτική Αγωγή

Το Alipogene tiparvonoc διατίθεται σε έτοιμες συριγγες μιας χρήσεως για αυτοχορήγηση ενδομυϊκώς κατά προτίμηση στα κάτω άκρα. Μια δόση του φαρμάκου είναι αρκετή για να εξασφαλίσει την παρατεταμένη παρουσία της λειτουργικής πρωτεΐνης στον οργανισμό και ιδιαίτερα στους μύες όπου έχει γίνει η έγχυση. Η θεραπεία με το φάρμακο αυτό οδηγεί σε ελάττωση των επιπέδων των τριγλυκεριδίων μεγαλύτερη από 40%, με ανάλογη ελάττωση και των χυλομικρών της κυκλοφορίας. Έτσι επιτυγχάνεται ελάττωση του κινδύνου εμφάνισης θανατηφόρου οξείας παγκρεατίτιδας κατά 70%.^{19,22}

2.2.5 Ανεπιθύμητες ενέργειες

Δεν έχουν παρατηρηθεί σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες κατά τη χρήση του Alipogene tiparvonoc. Αντιθέτως, είναι καλά ανεκτό από τους ασθενείς και



Σχήμα 4: Μοριακή δομή του Mipomersen

ασφαλές. Συνιστάται ωστόσο η συγχρόνηση ήπιων ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων για την αποφυγή της ενεργοποίησης των κυτταροτοξικών T-λεμφοκυττάρων έναντι του φορέα, γεγονός που θα οδηγούσε στην καταστροφή του δραστικού μορίου.²³

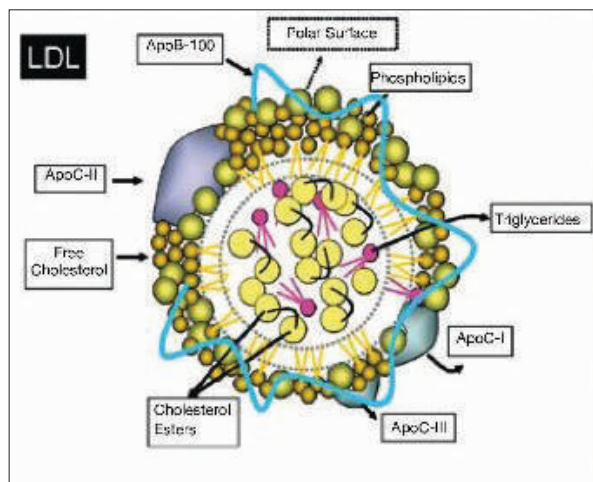
3. Φάρμακα που βρίσκονται στη φάση της έγκρισης

3.1 Mipomersen

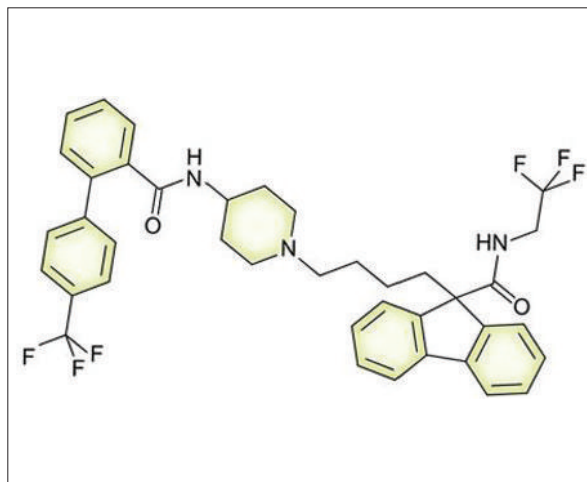
Το μόριο Mipomersen εγκρίθηκε το 2013 από το FDA και κυκλοφορεί στις Η.Π.Α. υπό την εμπορική ονομασία KYNAMRO. Στοιχεί στη θεραπεία ασθενών με σοβαρής μορφής υπερχοληστερολαιμία που βρίσκονται σε μεγάλο κίνδυνο για εμφάνιση στεφανιαίας νόσου και οι οποίοι αδυνατούν να μειώσουν τα επίπεδα της LDL-χοληστερόλης με τις συμβατικές αντι-υπερλιπιδαιμικές θεραπείες²⁴.

3.1.1 Μηχανισμός δράσης

Το Mipomersen είναι ένα ολιγονουκλεοτίδιο το οποίο λειτουργεί ως “αντιμεταφραστικός παράγοντας” (antisense drug), συνδεδεμένο με το mRNA και εμποδίζοντάς το να μεταφραστεί σε πολυπεπτιδική αλυσίδα. Φέρει αλληλουχία βάσεων συμπληρωματική προς την αλληλουχία του mRNA του γονιδίου που κωδικοποιεί την απολιποπρωτεΐνη ApoB (σχήμα 4). Έτσι, σχηματίζει συμπληρωματικά ζεύγη βάσεων με το mRNA, καθιστώντας το δίκλωνο και αναστέλλοντας τη μετάφρασή του σε ApoB. Με τον τρόπο αυτό “απενεργοποιείται” εμμέσως το γονίδιο της ApoB οδηγώντας



Σχήμα 5: Σχηματική απεικόνιση της LDL όπου φαίνεται το πρωτεϊνικό της τμήμα, αποτελούμενο από ApoB και ApoC



Σχήμα 6: Μοριακή δομή της λοπιταμίδης

σε χαμηλά επίπεδα διαθέσιμης απολιποπρωτεΐνης. Το Mirumersen φέρει επίσης τροποποιημένα νουκλεοτιδικά άκρα, γεγονός που το καθιστά ανθεκτικό στις νουκλεάσες, παρατείνοντας το χρόνο ζωής της στον οργανισμό.^{24,25}

3.1.2. Απολιποπρωτεΐνη ApoB

Η ApoB είναι η κύρια δομική απολιποπρωτεΐνη στα χυλομικρά και στην LDL-λιποπρωτεΐνη, δρώντας μάλιστα ως πρόσδεμα (ligand) μεταξύ των σωματιδίων LDL και των υποδοχέων τους στα κύτταρα της περιφέρειας (Σχήμα 5). Έτσι, με τη βοήθεια της ApoB εκτελείται η μεταφορά της χοληστερόλης στους περιφερικούς ιστούς. Η ApoB παίζει επίσης ρόλο στην έναρξη και την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης, προσελκύοντας τα μακροφάγα της κυκλοφορίας στο σημείο της σχηματιζόμενης πλάκας. Με αυτόν τον τρόπο εντείνεται η συσσώρευση συστατικών του αίματος στο αθήρωμα, επιταχύνοντας τη διόγκωσή του.³

Καθώς η σύνθεση των χυλομικρών και της LDL-χοληστερόλης δεν είναι δυνατή χωρίς την ενσωμάτωση της ApoB, η αναστολή της σύνθεσής της από το Mirumersen έχει ως αποτέλεσμα την ελάττωση της σύνθεσης χυλομικρών και LDL σωματιδίων στα ηπατοκύτταρα.²⁶

3.1.3. Θεραπευτική αγωγή

Το μόριο κυκλοφορεί υπο τη μορφή του μετα νατρί-

ου αλάτος του, σε ενέσιμη μορφή για υποδόρια χορήγηση σε έτοιμες προ-γεμισμένες μικρές σύριγγες κατάλληλες για αυτοχορήγηση. Αυτή η δυσχέρεια στη λήψη του φαρμάκου είναι πολύ πιθανό να οδηγήσει σε μειωμένη συμμόρφωση των ασθενών και για το λόγο αυτό μελετάται η ενσωμάτωσή του σε περισσότερο εύχρηστες φαρμακοτεχνικές μορφές.

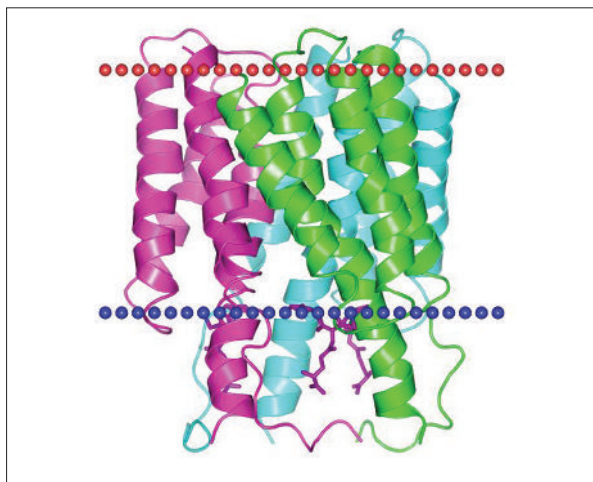
Το Mirumersen μειώνει τα επίπεδα της ApoB στα ηπατικά κύτταρα κατά 46% περίπου και τα επίπεδα της LDL-χοληστερόλης κατά 47% περίπου σε εθελοντές που παρουσίαζαν δυσανεξία στις στατίνες και βρισκόνταν σε αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου.²⁵

3.1.4 Ανεπιθύμητες ενέργειες

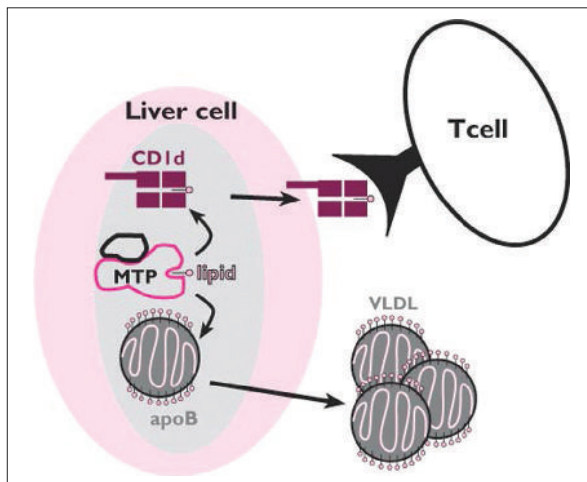
Οι ανεπιθύμητες ενέργειες που έχουν καταγραφεί κατά τη χρήση Mirumersen περιλαμβάνουν αυξημένα επίπεδα ηπατικών τρανσαμινασών καθώς και ηπατική στεάτωση. Λιγότερο σοβαρές είναι ο ερεθισμός στο σημείο της ένεσης και συμπτώματα γρίπης.

3.2. Lomitapide

Το μόριο Lomitapide της εταιρίας Aegerion Pharmaceuticals είναι ένας αναστολέας της μικροσωμικής πρωτεΐνης μεταφοράς τριγλυκεριδίων, το οποίο προορίζεται για χορήγηση από το στόμα σε ασθενείς με σοβαρή υπερλιπιδαιμία (σχήμα 6).



Σχήμα 7: Μοριακή απεικόνιση της μικροσωματικής πρωτεΐνης μεταφοράς τριγλυκεριδίων



Σχήμα 8: Σχηματική απεικόνιση της MTP καθώς 'φορτώνει' τα λιπίδια στην ApoB ώστε να μεταφερθούν στο αίμα ως VLDL

3.2.1. Μικροσωμική πρωτεΐνη μεταφοράς τριγλυκεριδίων MTP

Η μικροσωμική πρωτεΐνη μεταφοράς τριγλυκεριδίων (MTP) είναι μια ενδοκυττάρια πρωτεΐνη μεταφοράς λιπιδίων που συναντάται στον αυλό του ενδοπλασματικού δικτύου και είναι υπεύθυνη για την πρόσδεση και την επακόλουθη μεμβρανική μεταφορά λιπιδίων μορίων (σχήμα 7). Η MTP μεταφέρει τα τριγλυκερίδια, από τη θέση της λιπιδικής σύνθεσης, στην απολιποπρωτεΐνη ApoB, που συντίθεται στα ριβοσώματα, κατά το σχηματισμό των VLDL - λιποπρωτεϊνών.²⁷

3.2.2 Αναστολή της μικροσωματικής πρωτεΐνης μεταφοράς τριγλυκεριδίων MTP

Η αναστολή της MTP από το Lomitapide έχει ως αποτέλεσμα τη μεταφορά ανεπαρκούς ποσότητας τριγλυκεριδίων στην ApoB, το οποίο οδηγεί στην καταστροφή της νεοσυντιθέμενης απολιποπρωτεΐνης, με άμεση συνέπεια την αναστολή της έκκρισης των λιποπρωτεϊνών. Κατά την αναστολή της MTP παρεμποδίζεται η έκκριση τόσο των VLDL από το ήπαρ, όσο και των χυλομικρών από το λεπτό έντερο, με αποτέλεσμα την ελάττωση των επιπέδων των λιπιδίων στο πλάσμα (σχήμα 8).²⁸

3.2.3 Θεραπευτική αγωγή

Το Lomitapide έχει εμφανίσει πολύ ενθαρρυντικά

αποτελέσματα σε κλινικές δοκιμές φάσης II και III και πρόκειται να διοχετευτεί στην αγορά για την ελάττωση των επιπέδων της LDL-χοληστερόλης σε ασθενείς με ομοζυγωτική οικογενή υπερχοληστερολαιμία και για την ελάττωση των τριγλυκεριδίων σε ασθενείς με βαριάς μορφής οικογενή υπερχυλομικροναϊμία. Συγκεκριμένα, η χρήση Lomitapide σε δόση των 40 mg ημερησίως per os οδηγεί σε ελάττωση της LDL κατά 44% και των TG κατά 33%.²⁹

3.2.4 Ανεπιθύμητες ενέργειες

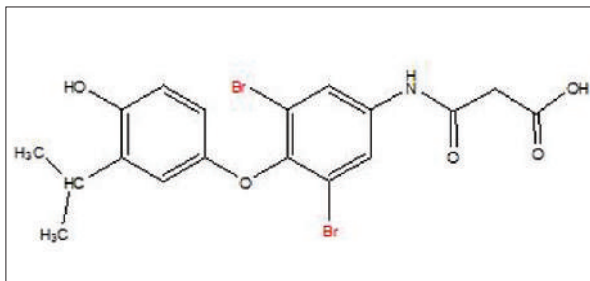
Οι συχνότερες ανεπιθύμητες ενέργειες που έχουν παρατηρηθεί με τη χρήση Lomitapide είναι οι ήπιες έως μέτριες γαστρεντερικές διαταραχές. Η απουσία σοβαρών ανεπιθύμητων ενεργειών καθιστά το μόριο αυτό πολύτιμο στην αντιμετώπιση δυο σοβαρών μορφών γενετικά καθοριζόμενων υπερλιπιδαιμιών.²⁹

3.3 Eprotirome

Το φάρμακο Eprotirome είναι ένα ανάλογο της θυρεοειδικής ορμόνης θυροξίνης (T4), το οποίο δρα ως εκλεκτικός αγωνιστής του β-υποδοχέα της τριϊωδοθυρονίνης (TRβ) και χρησιμοποιείται για την ελάττωση της χοληστερόλης του πλάσματος (σχήμα 9).

3.3.1 TRβ

Ο υποδοχέας TRβ αποτελεί τη μια από τις δύο ισο-



Σχήμα 9: Χημική δομή του eprotirome

μορφές του πυρηνικού TR υποδοχέα της θυρεοειδικής ορμόνης τριϊωδοθυρονίνης (T3). Μεσολαβεί για τις ενδοκρινείς δράσεις της T3 στο ήπαρ, στον εγκέφαλο και στους νεφρούς. Αυτές σχετίζονται με την ανάπτυξη, την κυτταρική διαφοροποίηση και το μεταβολισμό. Η μεσολαβούμενη από τον TRβ δράση της T3 στο μεταβολισμό της χοληστερόλης έχει μελετηθεί εκτενώς, δίνοντας τη βάση για τη χρήση θυρεοειδικών αναλόγων στην υπερλιπιδαιμία.³⁰

3.3.2 Μηχανισμός δράσης

Το Eprotirome ελαττώνει τα επίπεδα της LDL-χοληστερόλης στον οργανισμό αυξάνοντας την ηπατική της κάθαρση. Η σύνδεση του φαρμάκου με τον TRβ υποδοχέα στον πυρήνα των ηπατοκυττάρων οδηγεί στην ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων που ενισχύουν την έκφραση του γονιδίου που κωδικοποιεί τον υποδοχέα LDL-R. Έτσι, η αυξημένη σύνθεση του υποδοχέα της LDL καταλήγει στην αυξημένη πρόσληψή της από το ήπαρ και στην απομάκρυνσή της από την κυκλοφορία. Ακόμη, αυξάνεται ο αριθμός των SR-B1 υποδοχέων (scavenger receptor B1) της HDL-χοληστερόλης στα ηπατοκύτταρα. Έτσι αυξάνεται και η ηπατική κάθαρση της HDL οδηγώντας σε χαμηλότερα συνολικά επίπεδα χοληστερόλης στο πλάσμα. Το Eprotirome επιδρά και στην 7α-υδροξυλάση της χοληστερόλης, ένα ισοένζυμο του συστήματος του κυτοχρώματος P450 (CYP7A1) που δρα οξειδώνοντας τη χοληστερόλη κατά τη σύνθεση χολικών οξέων από αυτή. Η δραστηριότητα της 7α-υδροξυλάσης αυξάνεται, αυξάνοντας έτσι τη μετατροπή της χοληστερόλης σε χολικά οξέα, τα οποία εκκρίνονται στο λεπτό έντερο. Τέλος η απομάκρυνση των χολικών οξέων μέσω των κοπράνων αυξάνεται επίσης. Συνολικά, η αυξημένη πρόσληψη χοληστερόλης από το ήπαρ, η αυξη-

μένη διοχέτευσή της στη σύνθεση χολικών οξέων και η αυξημένη αποβολή των τελευταίων από το παχύ έντερο καταλήγει σε σημαντική ελάττωση της χοληστερόλης στον οργανισμό.^{31,32}

3.3.3 Θεραπευτική αγωγή

Το Eprotirome χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με στατίνες, φιβράτες και νιασίνη για τον αποτελεσματικότερο έλεγχο της χοληστερόλης του οργανισμού. Προς το παρόν η χρήση του στην αντιμετώπιση της υπερλιπιδαιμίας δεν είναι διαδεδομένη και διατίθεται για αυτόν το σκοπό μόνο στις Η.Π.Α. ενώ οι ασθενείς που το λαμβάνουν παρακολουθούνται συστηματικά. Επιφέρει μείωση της LDL-χοληστερόλης έως 57%. Επίσης, μειώνονται τα τριγλυκερίδια του ορού έως 33% καθώς και η δομική απολιποπρωτεΐνη B έως και 30%. Τέλος μειώνει τα επίπεδα της λιποπρωτεΐνης A Lp(a) του ορού έως και 43%. Αυτή η δράση του είναι ιδιαίτερα σημαντική καθώς η Lp(a) είναι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες αθηρωμάτωσης ενώ δεν ανταποκρίνεται στη θεραπεία με στατίνες.³³

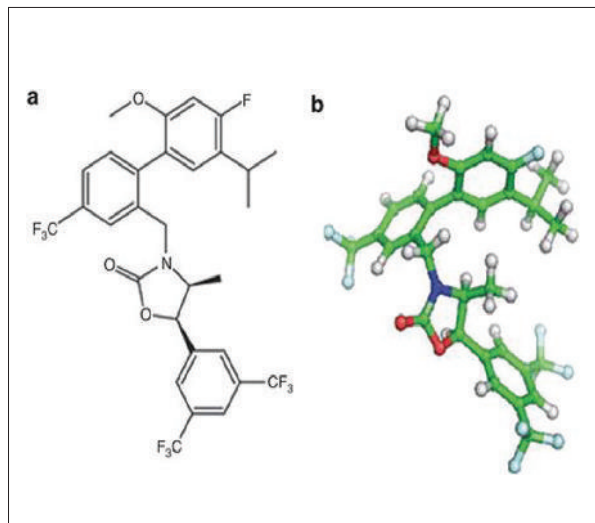
3.3.4 Ανεπιθύμητες ενέργειες

Παρ' όλο που το Eprotirome προκαλεί μείωση έως και 34% στη συνολική θυροξίνη του ορού (τα επίπεδα της T3 δεν επηρεάζονται), αυτό δεν οδηγεί στην εμφάνιση συμπτωμάτων από το θυρεοειδή. Δεν προκαλεί υπερή ή υπο-θυρεοειδισμό, δεν επηρεάζει το σωματικό βάρος, τον καρδιακό ρυθμό, την αρτηριακή πίεση ή τις ορμόνες του φύλου. Τα παραπάνω αποδίδονται στη μεγαλύτερη συγγένεια του φαρμάκου προς τον υποδοχέα TRβ, που είναι υπεύθυνος για τις υπολιπιδαιμικές δράσεις των θυρεοειδικών ορμονών, σε σχέση με τον TRα που κυριαρχεί στην καρδιά και στο σκελετό. Έτσι, συγκεντρώνεται στο ήπαρ ενώ η πρόσληψή του από εξωηπατικούς ιστούς είναι αμελητέα.³²

4. Φάρμακα που βρίσκονται στη φάση κλινικών δοκιμών

4.1 Anacetrapib

Το μόριο anacetrapib είναι ένας εκλεκτικός αναστολέας της πρωτεΐνης μεταφοράς εστέρων χοληστερόλης CEPT (cholesterylester transfer protein) (σχήμα 10), το οποίο αναπτύσσεται από την εταιρία Merck.



Σχήμα 10: α. Χημική Δομή β. Μοριακή απεικόνιση του Anacetrapib

Βρίσκεται στη φάση III των κλινικών δοκιμών ώστε να διαπιστωθεί η κλινική σπουδαιότητά του στη μείωση του κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου.³⁴

4.1.1. Πρωτεΐνη μεταφοράς εστέρων χοληστερόλης, CEPT

Η πρωτεΐνη CEPT συναντάται στο πλάσμα και προωθεί τη μεταφορά εστέρων της χοληστερόλης από τις μη αθηρωματογόνους HDL-λιποπρωτεΐνες προς αθηρωματογόνους λιποπρωτεΐνες που φέρουν στο μόριό τους την απολιποπρωτεΐνη ApoB, δηλαδή VLDL, IDL και LDL-λιποπρωτεΐνες. Επίσης η CEPT συμμετέχει και στην αντίστροφη μεταφορά της χοληστερόλης. Στο μονοπάτι αυτό, η χοληστερόλη των περιφερικών ιστών μεταφέρεται αρχικά στην HDL-λιποπρωτεΐνη, από την οποία στη συνέχεια είναι δυνατό να μεταφερθεί απ' ευθείας στο ήπαρ ή να μεταφερθεί, με τη βοήθεια της CEPT, σε LDL και VLDL-λιποπρωτεΐνες οι οποίες την αποδίδουν τελικά στο ήπαρ μέσω του υποδοχέα LDL-R (σχήμα 11).³⁵

4.1.2 Αναστολή της CEPT

Με βάση τα παραπάνω, ο αποκλεισμός της πρωτεΐνης CEPT με τη χορήγηση ενός αναστολέα της επηρεάζει την κατανομή εστέρων της χοληστερόλης μεταξύ LDL και HDL-λιποπρωτεΐνων. Συγκεκριμένα, η μεταφορά των εστέρων από την HDL στην LDL και

την VLDL δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί, άρα η μετατροπή της HDL σε LDL-χοληστερόλη αναστέλλεται. Ως αποτέλεσμα, αυξάνονται τα επίπεδα της “καλής” HDL στο πλάσμα, ενώ μειώνονται τα επίπεδα της “κακής”, αθηρωματογόνου LDL. Επίσης, έχει παρατηρηθεί μείωση των επιπέδων της απολιποπρωτεΐνης(a), η αύξηση της συγκέντρωσης της οποίας στο πλάσμα συνδέεται πιθανώς με την αθηροσκλήρωση.³⁵

4.1.3 Αποτελέσματα κλινικών μελετών

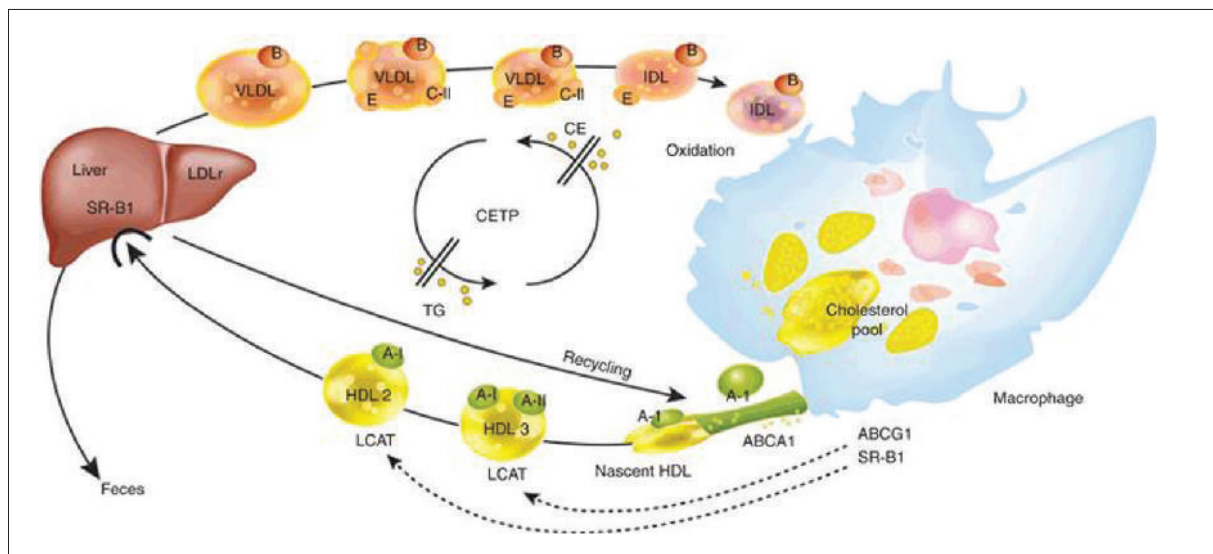
Οι κλινικές μελέτες φάσης II που προηγήθηκαν έδειξαν δοσοεξαρτώμενη ελάττωση των επιπέδων της LDL-χοληστερόλης και αύξηση των επιπέδων της HDL-χοληστερόλης. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι σε αντίθεση με το μόριο torcetrapib, το οποίο είχε αναπτυχθεί με υψηλές προσδοκίες αλλά εγκαταλείφθηκε μετά από κατακόρυφη αύξηση των θανάτων από καρδιαγγειακά επεισόδια, δεν παρουσιάστηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες από το καρδιαγγειακό. Έτσι, ενώ η ασφάλεια του anacetrapib έχει ήδη τεκμηριωθεί, μένει να αποδειχθεί και η κλινική αποτελεσματικότητά του.³⁶

4.1.4 Θεραπευτική αγωγή

Ο συνδυασμός anacetrapib με ατορβαστατίνη προκαλεί δοσοεξαρτώμενη ελάττωση της LDL μέχρι και 70% και επίσης δοσοεξαρτώμενη αύξηση της HDL μέχρι και 50%, ενώ δεν παρατηρούνται επιπτώσεις στην αρτηριακή πίεση ή τον καρδιακό ρυθμό των ασθενών. Σημαντικό πλεονέκτημα του φαρμάκου είναι επίσης η ικανοποιητική βιοδιαθεσιμότητά του που επιτυγχάνεται μετά την από του στόματος χορήγησης του καθώς και η καλή φαρμακοκινητική του, οι οποίες σε συνδυασμό με την απουσία σοβαρών ανεπιθύμητων ενεργειών το καθιστούν ελπιδοφόρο μόριο στην αντιυπερλιπιδαιμική αγωγή.³⁷

4.2 Μονοκλωνικό αντίσωμα AMG-145

Το AMG-145 έχει αναπτυχθεί από την εταιρία Amgen Pharmaceuticals και βρίσκεται στο στάδιο των κλινικών δοκιμών φάσης II. Πρόκειται για ένα εξ' ολοκλήρου ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα, το οποίο αποκλείει την Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9), μια πρωτεΐνη που ελαττώνει την ικανότητα του ήπατος να απομακρύνει την LDL-χοληστερόλη από την κυκλοφορία.³⁸



Σχήμα 11: Μηχανισμός δράσης της πρωτεΐνης μεταφοράς εστέρων χοληστερόλης CETP

4.2.1. PCSK9

Η PCSK9 δεσμεύει τον υποδοχέα LDL-R της LDL στα ηπατοκύτταρα και οδηγεί στην προς τα κάτω ρύθμιση του αριθμού των υποδοχέων στην επιφάνεια των κυττάρων. Κατά συνέπεια μειώνεται η ποσότητα LDL-χοληστερόλης που εισέρχεται στα ηπατοκύτταρα, με αποτέλεσμα να συσσωρεύεται στο πλάσμα.³⁹ Οι στατίνες αυξάνουν τον αριθμό των υποδοχέων LDL-R αλλά ταυτόχρονα αυξάνουν και τα επίπεδα της PCSK9 (σχήμα 12).^{40,41}

4.2.2 Αναστολή της PCSK9

Το μόριο AMG-145 προσδένεται στην PCSK9 που κυκλοφορεί στο αίμα, εμποδίζοντας την κατ' αυτόν τον τρόπο να συνδεθεί στον υποδοχέα LDL-R στα κύτταρα του ήπατος. Έτσι, ο υποδοχέας είναι ελεύθερος να προσδέσει την LDL-λιποπρωτεΐνη και να την απομακρύνει από την κυκλοφορία.⁴²

4.2.3. Θεραπευτική Αγωγή

Σε κλινικές δοκιμές φάσης I το AMG-145 αποδείχθηκε αρκετά αποτελεσματικό. Συγκεκριμένα, πολλαπλές δόσεις του σε συνδυασμό με χαμηλές έως μεσαίες δόσεις στατινών επέφεραν μείωση της LDL-χοληστερόλης του ορού κατά 81%. Κατά τις δοκιμές αυτές δεν παρατηρήθηκαν σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες ή θάνατοι, ενώ δεν ανιχνεύθηκαν αντισώματα

για την εξουδετέρωση του AMG-145 στον ορό των εθελοντών.³⁸

4.3 CER-001

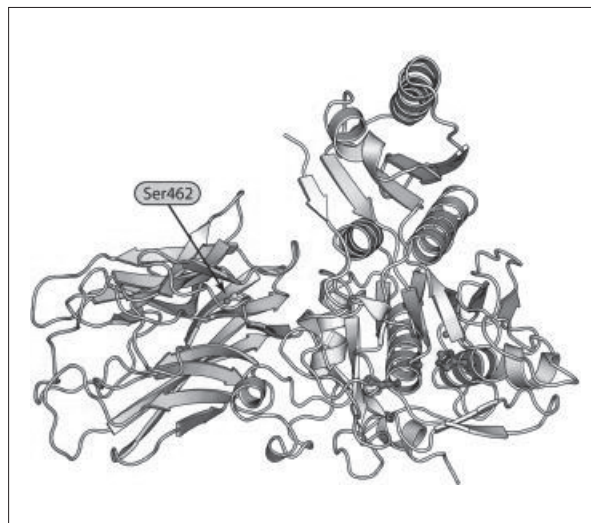
Το μόριο CER-001 έχει αναπτυχθεί από την εταιρία Cerenis Pharmaceuticals και βρίσκεται στο στάδιο των κλινικών δοκιμών φάσης II. Πρόκειται για ένα σύμπλοκο μεταξύ ανασυνδυασμένης ανθρώπινης απολιποπρωτεΐνης A-I (ApoA-I) και φωσφολιπιδίων, σχεδιασμένο για να μιμείται τη δράση της HDL-λιποπρωτεΐνης στον οργανισμό.⁴³

4.3.1. Απολιποπρωτεΐνη ApoA-I

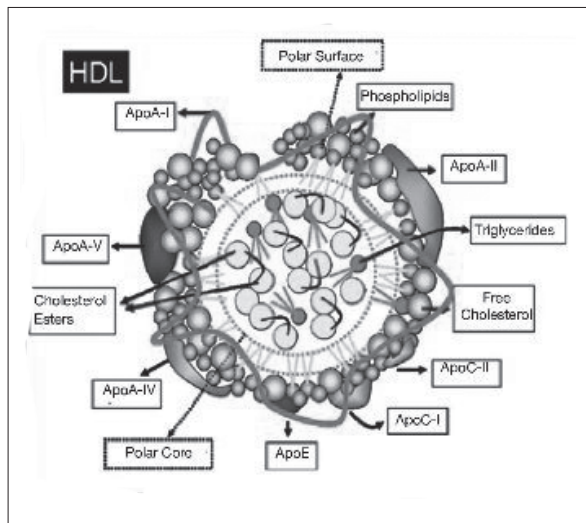
Η ApoA-I αποτελεί την κύρια δομική απολιποπρωτεΐνη της HDL-λιποπρωτεΐνης, ρόλος της οποίας είναι η συλλογή της χοληστερόλης από τους περιφερικούς ιστούς και η μεταφορά της στο ήπαρ για αποικοδόμηση (σχήμα 13).

4.3.2. Μηχανισμός Δράσης

Σε προκλινικές δοκιμές και κλινικές δοκιμές φάσης I το CER-001 αποδείχθηκε αρκετά αποτελεσματικό στην κινητοποίηση της χοληστερόλης των περιφερικών ιστών. Επίσης, προάγει τη διαδικασία της μεταφοράς της συσσωρευμένης χοληστερόλης από τα τοιχώματα των αγγείων προς το ήπαρ, όπου και αποικοδομείται. Έτσι, επιτυγχάνεται η σταδιακή



Σχήμα 12: Μοριακή δομή της PCSK9



Σχήμα 13: Σχηματική απεικόνιση της δομής της HDL όπου φαίνεται το πρωτεϊνικό της τμήμα, αποτελούμενο κυρίως από ApoA

απομάκρυνση των συσσωρευμένων λιπαρών συστατικών των αθηρωματικών πλακών από τα αγγειακά τοιχώματα, οδηγώντας σε αξιοσημείωτη ελάττωση της πιθανότητας εμφάνισης καρδιαγγειακών επεισοδίων ⁴⁴.

4.3.3 Θεραπευτική Αγωγή

Το CER-001 προορίζεται για ενδοφλέβια χορήγηση στην άμεση αντιμετώπιση των οξέων συμπτωμάτων της στεφανιαίας νόσου καθώς έχει επιδείξει άμεση δράση στην απομάκρυνση λιπιδικών συστατικών από τα αγγειακά τοιχώματα μέσω της HDL-μιμητικής του δράσης. ⁴⁵

Συμπεράσματα - Προοπτικές

Καθώς μέχρι και σήμερα οι στατίνες εξακολουθούν να είναι τα αποτελεσματικότερα, ασφαλέστερα και ευκολότερα διαθέσιμα φάρμακα για τη θεραπεία της υπερλιπιδαιμίας, το ζητούμενο στα νέα φάρμακα είναι να υπερτερούν σημαντικά σε θέματα ασφάλειας, αντοχής και αποτελεσματικότητας έναντι των υπάρχοντων θεραπειών. Ακόμη, η ένδειξη για χρήση σε

σπανιότερες μορφές υπερλιπιδαιμίας, οι οποίες συνήθως δεν ανταποκρίνονται ικανοποιητικά σε θεραπείες με στατίνες αποτελεί σημαντικό πλεονέκτημα.

Η σύγχρονη έρευνα προσανατολίζεται κυρίως στην εξεύρεση μορίων για τον εκλεκτικό αποκλεισμό ενζύμων και υποδοχέων που συμμετέχουν στον έλεγχο της χοληστερόλης, ενώ νέες προοπτικές στον τομέα αυτό ανοίγει η γονιδιακή θεραπεία. Τα πλέον αναγκαία μόρια στον έλεγχο της χοληστερόλης με στόχο τον περιορισμό της αθηρωμάτωσης θα πρέπει να δρουν είτε προωθώντας την αντίστροφη μεταφορά της χοληστερόλης από τους ιστούς στο ήπαρ, είτε την αύξηση της ηπατικής κάθαρσης της LDL-χοληστερόλης μέσω διαφόρων μηχανισμών.

Ωστόσο, το αυξανόμενο κόστος της αντιυπερλιπιδαιμικής θεραπείας, κυρίως σε ηλικιωμένους πληθυσμούς, με το προσδόκιμο ζωής να μεγαλώνει, ίσως οδηγήσει του αρμόδιους φορείς στο να συνειδητοποιήσουν ότι η πρόληψη της αθηροσκλήρωσης είναι πολύ αποτελεσματικότερη –και αξιοσημείωτα φθηνότερη– από τις όποιες προσπάθειες θεραπείας της ήδη εξελιγμένης ασθένειας με αντιυπερλιπιδαιμικά φάρμακα. □

Overview of the Newer Hypolipidaemic Agents

Fotini Tsouki, Ioanna Andreadou*

Department of Pharmaceutical Chemistry,
Faculty of Pharmacy, University of Athens,
Panepistimiopolis, Zografou, Athens, 15771, Greece

Summary

In recent years, due to the prevalence of the western lifestyle, various disorders in cholesterol levels in the bloodstream occur with an increased frequency. Hyperlipidemia is one of the most crucial factors leading to Coronary Heart Disease, which is responsible for about 50% of the deaths occurring in the U.S. annually. In order to avoid complications of the disease, it is mandatory to manage hyperlipidemia therapeutically. Newer approaches in drug treatment and clinical research are primarily focused on molecules exhibiting a targeted effect, so as to minimize side effects and maximize the relief for the patients, who are obliged to a lifetime of adherence to hypolipidemic treatment.

The newer drugs to be admitted to use include long-chain polyunsaturated ω -3 fatty acids, which, due to their effects in multiple

enzyme systems, result in lower triglyceride blood levels, as well as Alipogene tiparvovec, the only gene therapy agent used in hyperlipidemia treatment, exclusively for patients with lipoprotein lipase deficiency, and which is able to correct the deficiency.

Many are the drugs who have completed the clinical trials phase and are waiting for their approval from the qualified agencies. Such is the molecule Mipomersen, an antisense oligonucleotide, which by inhibiting Apolipoprotein-B synthesis results in decreased LDL-cholesterol blood levels. Lopitamide is another new agent, which decreases VLDL-cholesterol and chylomicron levels in the bloodstream, while the thromimetic Eprotirome decreases triglyceride and LDL serum levels.

The most promising molecules of the many currently undergoing clinical trials include Anacetrapib, a selective cholesteryl ester transfer protein inhibitor, AMG-145, a proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibitor, and CER-001, an HDL-mimetic molecule, which are all further analyzed in the present review.

***Corresponding author:** Ioanna Andreadou,
E-mail: jandread@pharm.uoa.gr

Βιβλιογραφία

1. Sadava D., Hillis D.M., Heller H.C., Berenbaum M.R. (2011) Life: The Science of Biology 9th Edition, San Francisco: Freeman. pp. 105–114.
2. Rhodes C., Stryer L., Tasker R. (1995). Biochemistry (4th ed.). San Francisco: W.H. Freeman. pp. 280, 703.
3. Mahley R.W., Innerarity T.L., Rall S.C., Weisgraber K.H. Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. *J. Lipid Res.* 25, 1277–94, 1985.
4. Chait A., Brunzell J.D. Acquired hyperlipidemia (secondary dyslipoproteinemias). *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 19, 259–78, 1990
5. Durrington P. Dyslipidaemia. *The Lancet* 362, 717–31, 2003.
6. Lusis A.J. Atherosclerosis. *Nature* 407, 233–241, 2000.
7. Stary H. C. (2003) Atlas of atherosclerosis: progression and regression. Parthenon Publishing Group 2nd ed. New York, pp. 16.
8. Moutzouri E, Kei A., Elisaf M.S., Milionis H.J. Management of dyslipidemias with fibrates, alone and in combination with statins: role of de-

- layed-release fenofibric acid. *Vas. Health Risk Manag.* 6, 525-539, 2010.
9. Félix-Redondo F.J., Grau M., Fernández-Bergés D. Cholesterol and Cardiovascular Disease in the Elderly. Facts and Gaps. *Aging Dis.* 4, 154-169, 2013.
 10. Simons J. The \$10 billion pill, *Fortune magazine*, January 20, 2003.
 11. Keen H.I., Krishnarajah J., Bates T.R., Watts G.F. Statin myopathy: the fly in the ointment for the prevention of cardiovascular disease in the 21st century? *Expert Opin. Drug Saf.* 13,1227-39, 2014.
 12. Toth P. The "Good Cholesterol" High-Density Lipoprotein. *Circulation* 111, e89-e91, 2005.
 13. Weitz D., Weintraub H., Fisher E., Schwartzbard A.Z., Fish Oil for the Treatment of Cardiovascular Disease *Cardiol. Rev.* 18, 258-263, 2010.
 14. Jacobson T.A. Role of n-3 fatty acids in the treatment of hypertriglyceridemia and cardiovascular disease, *Am. J. Clin. Nutr.* 87(suppl),1981S-90S, 2008.
 15. Phillipson B.E., Rothrock D.W., Connor W.E., Harris W.S., Illingworth D.R. Reduction of plasma lipids, lipoproteins and apoproteins by dietary fish oils in patients with hypertriglyceridemia. *N. Engl. J. Med.* 312,1210-6, 1985.
 16. Davidson M.H. Mechanisms for the hypotriglyceridemic effect of marine omega-3 fatty acids. *Am. J. Cardiol.* 98, 27i-33i, 2006.
 17. Hoskins M., Jacobson T.A. Combination use of statins and ω -3 fatty acids: an emerging therapy for combined hyperlipidemia. *Future Lipidol.* 1,579-91, 2006.
 18. Lovaza® (omega 3 acid ethyl esters capsules) package insert. Liberty Corners, NJ: Reliant Pharmaceuticals, 2007
 19. European Agency Backs Approval of a Gene Therapy, July 20, 2012.
 20. Mead J.R., Irvine S.A., Ramji D.P. Lipoprotein lipase: Structure, function, regulation and role in disease. *J. Mol. Med. (Berl.)* 80, 753-769, 2002.
 21. Brunzell J.D. (1999). Familial lipoprotein deficiency. In: Gene Reviews Pagon, R.A., Bird T.D., Dolan C.R., Stephens K., Adam M.P., eds. (University of Washington Press) Seattle, WA.
 22. Burnett J.R, Hooper A.J. Alipogene tiparvovec, an adeno-associated virus encoding the Ser 447X variant of the human lipoprotein lipase gene for the treatment of patients with lipoprotein lipase deficiency. *Curr. Opin. Mol. Ther.* 11, 681-691, 2009.
 23. Gaudet D., Méthot J., Déry S., Brisson D., Essiembre C., Tremblay G., Tremblay K., de Wal J., Twisk J., van den Bulk N., Sier-Ferreira V. van Deventer S. Efficacy and long-term safety of alipogene tiparvovec (AAV1-LPLS447X) gene therapy for lipoprotein lipase deficiency: an open-label trial. *Gene Ther.* 20, 361-369, 2013.
 24. Merki E., Graham M.J., Mullick A.E., Miller E.R, Crooke R.M., Pitas R.E., Joseph L.Witztum J.L., Tsimikas S., Antisense Oligonucleotide Directed to Human Apolipoprotein B-100 Reduces Lipoprotein(a) Levels and Oxidized Phospholipids on Human Apolipoprotein B-100 Particles in Lipoprotein(a) Transgenic Mice. *J. Am. Coll. Cardiol.* 57,1611-21, 2011.
 25. Visser M.E., Wagener G., Baker B.F., Geary R.S., Donovan J.M., Beuers U.H.W., Nederveen A.J., Verheij J., Trip M.D., Basart D.C.G., Kastelein J.J.P., Stroes E.S.G. Mipomersen, an apolipoprotein B synthesis inhibitor, lowers low-density lipoprotein cholesterol in high-risk statin-intolerant patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Eur. Heart J.* 33 , 1142-1149, 2012.
 26. Li N., Li Q., Tian X.Q., Qian H.Y., Yang Y.J. Mipomersen is a promising therapy in the management of hypercholesterolemia: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am. J. Cardiovasc. Drugs.* 14, 367-76, 2014.
 27. Wetterau J.R., Lin M.C., Jamil H. Microsomal triglyceride transfer protein. *Biochim. Biophys. Acta* 1345, 136-50, 1997.
 28. Cuchel M., Bloedon L. T., Szapary P. O., Kolansky D. M., Wolfe M. L., Sarkis A., Millar J. S., Ikewaki K., Siegelman E.S., Gregg R.E., Rader D.J. Inhibition of Microsomal Triglyceride Transfer Protein in Familial Hypercholesterolemia. *N. Engl. J. Med.* 356,148-56, 2007.
 29. Samaha F.F., McKenney J., Bloedon L.T., Sasiela W.J., Rader D.J. Inhibition of microsomal triglyceride transfer protein alone or with ezetimibe in patients with moderate hypercholesterolemia *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.* 5, 497-505, 2008.

30. Sjouke B., Langslet G., Ceska R., Nicholls S.J., Nissen S.E., Öhlander M., Ladenson P.W., Olsson A. G., Hovingh G.K., Kastelein J.J. Eprotirome in patients with familial hypercholesterolaemia (the AKKA trial): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2, 455-63, 2014.
31. Johansson L., Rudling M., Scanlan T.S., Lundasen T., Webb P., Baxter J., Angelin B., Parini P. Selective thyroid receptor modulation by GC-1 reduces serum lipids and stimulates steps of reverse cholesterol transport in euthyroid mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102,10297-302, 2005.
32. Underwood A.H., Emmett J.C., Ellis D., Flynn S.B., Leeson P.D., Benson G.M., Novelli R., Pearce N.J., Shah V.P. A thyromimetic that decreases plasma cholesterol levels without increasing cardiac activity *Nature* 324, 425-429, 1986.
33. Ladenson P.W., Kristensen J.D., Ridgway E.C., Olsson A.G., Carlsson B., Klein I., Baxter J.D., Angelin B. Use of the Thyroid Hormone Analogue Eprotirome in Statin-Treated Dyslipidemia. *N. Engl. J. Med.* 362, 906-916, 2010.
34. Gutstein D.E., Krishna R., Johns D., Surks H.K., Dansky H.M., Shah S., Mitchel Y.B., Arena J., Wagner J.A. Anacetrapib, a Novel CETP Inhibitor: Pursuing a New Approach to Cardiovascular Risk Reduction. *Clin. Pharmacol. Ther.* 91,109-122, 2012.
35. Barter P.J., Brewer H.B. Jr, Chapman M.J., Hennekens C.H., Rader D.J., Tal A.R. Cholesteryl Ester Transfer Protein: A Novel Target for Raising HDL and Inhibiting Atherosclerosis *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23:160-167, 2003.
36. Cannon C.P., Dansky H.M., Davidson M., Gotto A.M. Jr, Brinton E.A., Gould A.L., Stepanavage M., Liu S.X., Shah S., Rubino J., Gibbons P., Hermanowski-Vosatka A., Binkowitz B., Mitchel Y., Barter P. Design of the DEFINE trial: determining the efficacy and tolerability of CETP Inhibition with Anacetrapib. *Am. Heart J.* 158,513-519, 2009.
37. Bloomfield D., Carlson G.L., Sapre A., Tribble D., McKenney J.M., Littlejohn T.W. 3rd, Sisk CM., Mitchel Y., Pasternak R.C. Efficacy and safety of the cholesteryl ester transfer protein inhibitor anacetrapib as monotherapy and coadministered with atorvastatin in dyslipidemic patients *Am. Heart J.* 157, 352-360, 2009.
38. Dias C.S., Shaywitz A.J., Wasserman S.M., Smith B.P., Gao B., Stolman D.S., Crispino C.P., Smirnakis K.V., Emery M.G., Colbert A., Gibbs J.P., Retter M.W., Cooke B.P., Uy S.T., Matson M., Stein EA. Effects of AMG 145 on low-density lipoprotein cholesterol levels: results from 2 randomized, double-blind, placebo-controlled, ascending-dose phase 1 studies in healthy volunteers and hypercholesterolemic subjects on statins. *J. Am. Coll. Cardiol.* 60,1888-98, 2012.
39. Li S., Jun Li J. PCSK9: A key factor modulating atherosclerosis *J. Atheroscler. Thromb.* 2014. [Epub ahead of print]
40. Welder G., Zineh I., Pacanowski M.A., Troutt J.S., Cao G., Konrad R.J. High-dose atorvastatin causes a rapid sustained increase in human serum PCSK9 and disrupts its correlation with LDL cholesterol *J. LIPID RES.* 51, 2714-2721, 2010.
41. Awan Z., Seidah N.G., MacFadyen J.G., Benjannet S., Chasman D.I., Ridker P.M., Genest J. Rosuvastatin, proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 concentrations, and LDL cholesterol response: the JUPITER trial. *Clin. Chem.* 58, 183-189, 2012.
42. Stein E.A., Mellis S., Yancopoulos G.D., Stahl N., Logan D., Smith W.B., Lisbon E., Gutierrez M., Webb C., Wu R., Du Y., Kranz T., Gasparino E., Swergold G.D. Effect of a Monoclonal Antibody to PCSK9 on LDL Cholesterol. *N. Engl. J. Med.* 366,1108-1118, 2012.
43. Uehara Y., Saku K. High-density lipoprotein and atherosclerosis: Roles of lipid transporters. *World J. Cardiol.* 6, 1049-1059, 2014.
44. Tardy C., Goffinet M., Boubekeur N., Ackermann R., Sy G., Bluteau A., Cholez G., Keyserling C., Lalwani N., Paolini J.F., Dasseux J.-L., Barbaras R., Baron R. CER-001, a HDL-mimetic, stimulates the reverse lipid transport and atherosclerosis regression in high cholesterol diet-fed LDL-receptor deficient mice. *Atherosclerosis* 232, 110-118, 2014.
45. Cerenis Reports Positive Results for Phase 1 Study of CER-001, an HDL mimetic, for the Treatment of Cardiovascular Disease http://www.cerenis.com/pipeline_cer001.asp

Boraginaceae: Διατροφική έκθεση σε τοξικά αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης

Χαρίλαος Δαμιανάκος¹, Ιωάννα Χήνου¹, Γεώργιος-Αλβέρτος Καρίκας²

¹Τομέας Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιόπολη Ζωγράφου, 15771 Ζωγράφου, Αθήνα

²Τμήμα Τεχνολογίας Ιατρικών Εργαστηρίων, Σχολή Επ. Υγείας και Πρόνοιας, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Αθηνών, Αθήνα 12243

Περίληψη

Τα αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης αποτελούν δευτερογενείς μεταβολίτες, οι οποίοι απαντούν κύρια στις φυτικές οικογένειες Boraginaceae, Asteraceae και Fabaceae. Πολλά από τα γένη της οικογένειας Boraginaceae, χρησιμοποιούνται στην ιατρική, ως βαφικά στη κοσμητολογία, αλλά και στη βιομηχανία τροφίμων και τη κλωστοϋφαντουργία.

Το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των φυτών της οικογένειας Boraginaceae είναι ότι δεν περιέχουν αιθέρια έλαια, ενώ όλα τα γένη της μπορούν να παράγουν αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης (PAs), γεγονός που τα ενοχοποιεί για την εκδήλωση διαφόρων περιπτώσεων ηπατοτοξικότητας, με το γενικό όρο πυρρολιζιδινική αλκαλοείδωση. Επιπλέον, αλκαλοειδή που προέρχονται από 1-υδροξυμεθυλ-1,2-δεϋδροπυρρολιζιδίνη επέδειξαν πιθανή

καρκινογόνο, μεταλλαξιογόνο και τερατογόνο δράση. Πολλά προϊόντα διατροφής (π.χ. κρέας, αυγά, γάλα, μέλι, λαχανικά κλπ), προερχόμενα από ζώα, που προσέλαβαν τροφή επιμολυσμένη με σπόρους φυτών που περιέχουν PAs, μπορούν πολύ εύκολα να μεταφέρουν ίχνη αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης στο καθημερινό διαιτολόγιο του ανθρώπου.

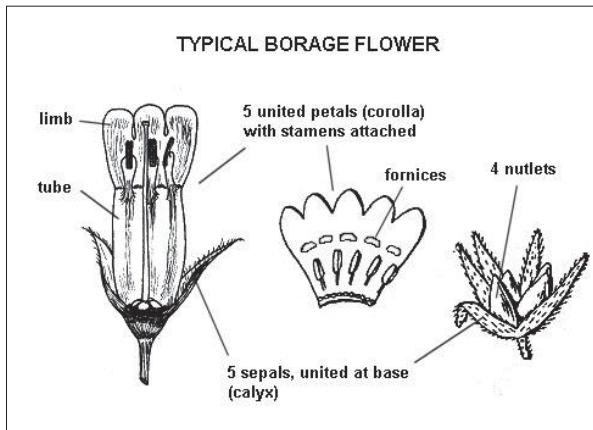
Στην παρούσα σύντομη ανασκόπηση, περιγράφονται τα βοτανικά και χημειοταξονομικά χαρακτηριστικά της οικογένειας Boraginaceae, η χημεία, η φαρμακοκινητική, ο μεταβολισμός, καθώς οι συνέπειες σοβαρής τοξικότητας, όπως η οξεία φλεβοαποφρακτική νόσος (VOD), από την ανεπιθύμητη διατροφική έκθεση του ανθρώπου και των ζώων στα PAs.

Εισαγωγή

Μέχρι τα τέλη του 18^{ου} αιώνα τα φυτά ταξινομούνταν με βάση τον αριθμό των στημόνων και των υπέρων τους, σύμφωνα με το σύστημα ταξινόμησης του Linnaeus (Genera plantarum). Το 1798, δημοσιεύεται ένα νέο σύστημα ταξινόμησης των φυτών από τον Antoine Laurent de Jussieu, το οποίο βασίζεται στην χρήση πολλαπλών χαρακτηριστικών για το καθορισμό των οικογενειών τους. Η καινοτόμα αυτή ιδέα προσέφερε σημαντική βελτίωση σε σχέση με το αρχικό σύστημα ταξινόμησης^{1,2}.

Πολλές από τις σημερινές οικογένειες φυτών έχουν αποδοθεί στον Jussieu. Ο Jussieu απέδωσε τον όρο «Boraginaceae» σε μια από τις 100 οικογένειες που υπήρχαν στο σύστημα κατάταξης Genera plantarum, βασιζόμενος στο γένος *Borago* L., ενώ η μέχρι τότε κατάταξη του γένους *Borago* στηριζόταν με βάση τον Linnaeus, στο λατινικό όνομα «bugra», που σημαίνει τριχωτό ένδυμα (λόγω των τριχωτών τους φύλλων)^{1,2}.

Τα μέλη της οικογένειας Boraginaceae παρουσιάζουν μεταξύ τους σημαντικές διαφορές, τόσο στο φύλλωμα, όσο και στις ταξιανθίες και τη μορφολογία



Σχήμα 1. Τυπικά μορφολογικά χαρακτηριστικά των φυτών *Boraginaceae*

των καρπών και των ανθέων τους. Η οικογένεια αποτελείται από 156 γένη και περισσότερα από 2.500 είδη. Περιλαμβάνει μια ποικιλία δένδρων, θάμνων και ποών που απαντώνται σε όλο το κόσμο. Τα πιο γνωστά εξ αυτών είναι το «Μη με λησμόνεις» (*Forget me not Myosotis* sp.), ο βόραγος (*Borage Borago* sp.), το Σύμφυτο (*Comfrees, Symphytum* sp.), και το Ηλιοτρόπιο (*Heliotropium* sp.). Πολλά από τα γένη της οικογένειας χρησιμοποιούνται στον ιατρικό τομέα, όπως και ως βαφικά στη κοσμητολογία, αλλά και στη βιομηχανία τροφίμων και τη κλωστοϋφαντουργία^{1,2}.

Η φαρμακευτική, οικονομική και οικολογική σημασία της οικογένειας *Boraginaceae*, οδήγησε στην ανάπτυξη βιοτεχνολογικών μεθόδων όπως η ιστοκαλλιέργεια, η μεταβολική μηχανική και ο *in vitro* μικρο-πολλαπλασιασμός, που έχουν εφαρμοστεί για την παραγωγή βιολογικά δραστικών ενώσεων, χρωστικών ουσιών και για την αύξηση του πληθυσμού των απειλούμενων με εξαφάνιση ειδών².

Χαρακτηριστικό γνώρισμα της οικογένειας *Boraginaceae* είναι ότι τα φυτά που ανήκουν σε αυτήν, δεν περιέχουν αιθέρια έλαια, ενώ όλα τα γένη της μπορούν να παράγουν αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνη, γεγονός που τα ενοχοποιεί για την εκδήλωση διαφόρων περιπτώσεων ηπατοτοξικότητας, με το γενικό όρο πυρρολιζιδινική αλκαλοείδωση^{1,2}.

Βοτανικά δεδομένα οικογένειας *Boraginaceae*

Γεωγραφική κατανομή

Τα φυτά της οικογένειας *Boraginaceae* απαντώνται

σε τροπικές, υποτροπικές και εύκρατες περιοχές του κόσμου. Μέλη της ευρίσκονται σε όλες τις ηπείρους, καθώς και σε πολλά νησιά. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι στη χλωρίδα της Ν. Αφρικής απαντώνται 21 γένη και 110 είδη διασκορπισμένα σε ποικίλους βιότοπους, στην Κίνα εμφανίζονται 47 γένη και 294 είδη, ενώ στην Ελλάδα εμφανίζονται 12 γένη και 42 είδη της οικογένειας^{1,2}.

Μορφολογικά χαρακτηριστικά *Boraginaceae*

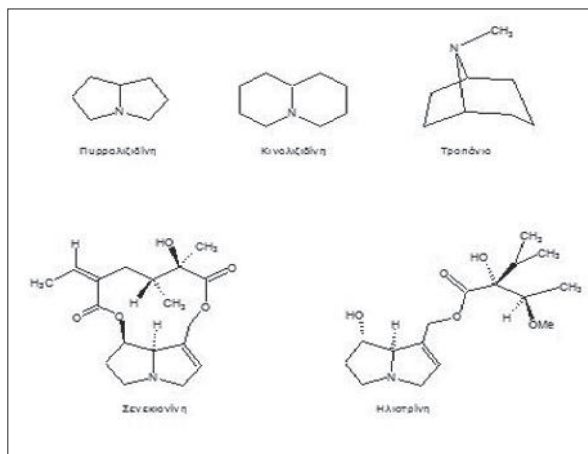
Τα μέλη της οικογένειας *Boraginaceae* είναι κυρίως ποώδη φυτά, με σαρκώδεις ρίζες ή ριζώματα, πολυετούς, διετούς ή μονοετούς διάρκειας ζωής, που πολύ συχνά καλύπτονται με αγκαθωτές τρίχες. Τα άνθη τους, είναι συνήθως ακτινόμορφα, υπόγυνα και πενταμερή, σε σχήμα διπλού σκορπιού, συχνά κατά μήκος μια πλευράς των κλάδων ή στην άκρη του μίσχου, σε μια σπειροειδώς κουλουριασμένη επάνθιση που ξετυλίγεται, καθώς αυτό ωριμάζει. Το χρώμα του άνθους μπορεί να είναι ροζ, μωβ, κίτρινο ή άσπρο, αν και συνήθως είναι μπλε. Ο καρπός είναι μια ξερή κάψουλα που αποτελείται συνήθως από τέσσερα αχάινια ή μια δρύπη. Τα φύλλα είναι απλά, συνήθως φύονται κατ'εναλλαγή στο κλάδο και είναι τριχωτά^{1,2}.

Φυτοχημικά δεδομένα

Οι ναφθοκινόνες, παράγωγα σικονίνης-αλκαννίνης και τα αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης είναι οι πλέον χαρακτηριστικοί δευτερογενείς μεταβολίτες, που χαρακτηρίζουν την οικογένεια *Boraginaceae*. Η παρούσα ανασκόπηση θα εστιαστεί στα αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης^{2,3,4,5,6}.

Τα **αλκαλοειδή** είναι *αζωτούχες κυκλικές οργανικές ενώσεις, που βρίσκονται σε αρνητική οξειδωτική βαθμίδα, και κατανέμονται σε περιορισμένα όρια στους ζώντες οργανισμούς*.

Τα αλκαλοειδή είναι οι δευτερογενείς εκείνοι μεταβολίτες των φυτών, τα οποία περιέχουν ένα βασικό ετεροάτομο αζώτου. Θεωρείται γενικά ότι πιθανά λειτουργούν σαν αποθέματα αζώτου σε κάποια είδη φυτών. Απαντώνται περίπου στο 5% του συνόλου των φυτικών ειδών και παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλία στη χημική τους δομή. Από όλα τα αλκαλοειδή μόνον οι εκπρόσωποι της χημικής ομάδας της πυρρολιζιδίνης, είναι γνωστά ηπατοτοξικά μόρια².



Σχήμα 2. Δομικές σχέσεις αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης - τροπανίου

Τα **αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης** (PAs) είναι ετεροκυκλικές οργανικές ενώσεις που ανήκουν στα αλκαλοειδή, εμφανίζονται στη φύση σε περισσότερα από 6000 φυτά, σε περίπου 300 είδη φυτών, σε 13 διαφορετικές φυτικές οικογένειες, με πλέον χαρακτηριστικές τις οικογένειες Boraginaceae (όλα τα γένη), Asteraceae (γένη Senecioneae, Eupatorieae) και Fabaceae (γένος *Crotalaria*)^{7,8}.

Περισσότερα από 350 διαφορετικά PAs (χωρίς τον αριθμό των N οξειδίων) έχουν περιγραφεί μέχρι τώρα και είναι δεδομένο ότι περίπου τα μισά από αυτά είναι ηπατοτοξικά⁹. Επιπλέον η σύνθεση και η συγκέντρωση των PAs μπορεί να κυμαίνεται σε σχέση με τις κλιματικές και περιβαλλοντικές συνθήκες, την ηλικία, το μέρος του φυτού και την ποικιλία (γονότυπος/χημειότυπος)¹⁰, ενώ τα ίδια φυτικά είδη που αναπτύσσονται σε διαφορετικές τοποθεσίες ή σε διαφορετικές εποχές, μπορεί να περιέχουν διαφορετικά αλκαλοειδή¹¹.

Η χημική εξέταση των ηπατοτοξικών ειδών *Senecio*, *Heliotropium* και *Crotalaria* αποκάλυψε αλκαλοειδή μιας άγνωστης ως τότε ομάδας, που περιείχαν ένα δακτύλιο πυρρολιζιδίνης. Στα αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης ο δακτύλιος συνήθως φέρει έναν υδροξυμεθυλ- υποκαταστάτη και έτσι δημιουργείται μια αμινο-αλκοόλη. Αυτή η αμινο-αλκοόλη συχνά εστεροποιείται αλλά αρκετές φορές μπορεί να είναι ελεύθερη ή τροποποιημένη. Ο εστερικός χαρακτήρας πολλών πυρρολιζιδινικών

αλκαλοειδών είναι ένα κοινό σημείο με τα αλκαλοειδή του τροπανίου (Σχήμα 2) και υποστηρίζει τις παρόμοιες με εκείνες της ατροπίνης φαρμακολογικές ιδιότητες, που επιδεικνύουν κάποια από αυτά³.

Οι απομονώσεις και οι μελέτες προσδιορισμού δομής PAs είχε ως αποτέλεσμα να ταυτοποιηθούν μέχρι σήμερα εκατοντάδες αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης^{12,13,14,15,16,17,18,19}. Γενικά τα ηπατοτοξικά μέλη είναι μια σχετικά ομοιόμορφη ομάδα αλκαλοειδών που έχουν δομή αλλυλικών εστέρων, η οποία τους προσδίδει την ικανότητα βιολογικής αλκυλίωσης, γεγονός, που υποδεικνύει ότι η ηπατοτοξικότητα που εμφανίζουν εξαρτάται από την ικανότητα για την συγκεκριμένη αντίδραση. Πυρρολιζιδινικά αλκαλοειδή άλλων δομικών τύπων δεν είναι ηπατοτοξικά.

Η υδρόλυση και η υδρογονόλυση των εστερικών ομάδων είναι οι κύριες χημικές αντιδράσεις των ηπατοτοξικών αλκαλοειδών. Επίσης σημαντική είναι η ταχεία αλληλομετατροπή μεταξύ των τριτοταγών βάσεων και των ιδιαιτέρως υδατοδιαλυτών N-οξειδίων τους, που μπορεί να επιτευχθεί μεταβολικά σε φυτά και ζώα, όπως επίσης και με *in vitro* οξείδωση και αναγωγή. Τα N-οξείδια μπορεί να αποτελούν μέχρι το 90% του αλκαλοειδικού φορτίου σε κάποια φυτά, και σε αυτήν την περίπτωση είναι η κυρίαρχη μορφή με την οποία εισέρχονται στους οργανισμούς μέσω της τροφής^{20,21,22,23,24}.

Βοτανική κατανομή PAs

Στον πίνακα 1 αναφέρονται οι βοτανικές οικογένειες και τα κυριότερα φυτικά γένη, όπου εμφανίζονται πυρρολιζιδινικά αλκαλοειδή.

Η χημεία των αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης (PAs)

A. Νεκίνες

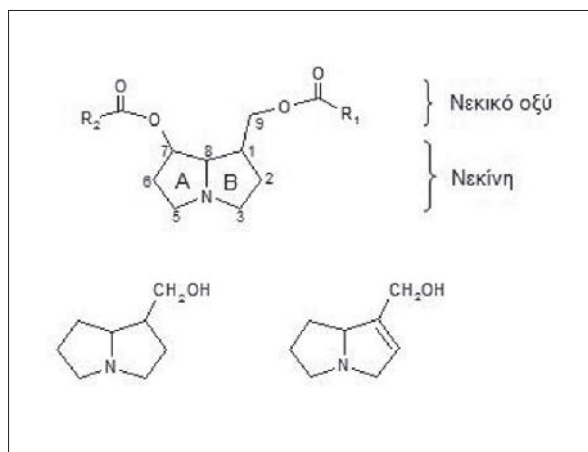
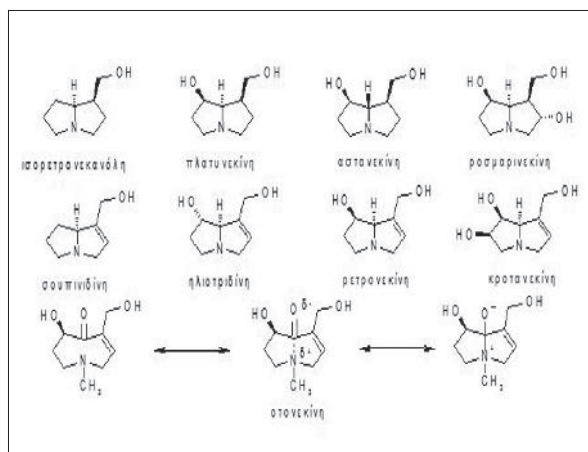
Τα φυτά που περιέχουν πυρρολιζιδινικά αλκαλοειδή εστερικού τύπου, των οποίων οι βάσεις ονομάζονται νεκίνες, είναι παράγωγα δικυκλικών αμινοαλκοολών οι οποίες με τη σειρά τους είναι παράγωγα της 1-υδροξυ-μεθυλο-πυρρολιζιδίνης. Η νεκίνη μπορεί να είναι είτε κορεσμένη είτε να κατέχει ένα διπλό δεσμό στη θέση 1,2. (Σχήμα 3)

Επιπλέον, μπορεί να φέρει μια ή δυο ομάδες -OH

Πίνακας 1. Βοτανική κατανομή αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης 25,26,27,28

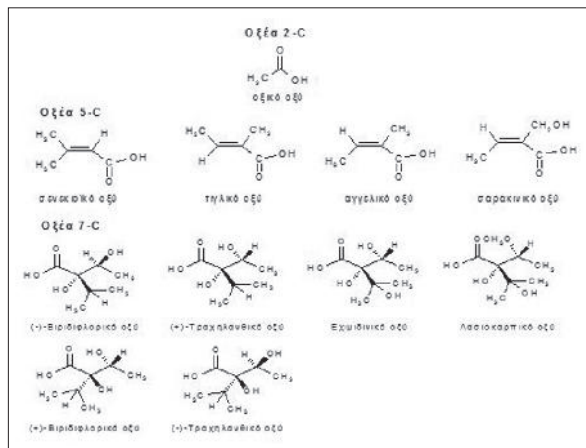
Οικογένεια	Γένος
Apocynaceae	Alafia ^a , Anodendron ^a , Parsonsia ^b , Urechites ^b
Boraginaceae	Amsinckia ^b , Anchusa ^b , Asperugo ^b , Caccinea ^a , Cynoglossum ^b , Echium ^b , Ehretia, Heliotropium ^c , Lappula ^b , Lindelofia ^c , Lithospermum, Macrotomia ^a , Messerschmidia, Myosotis ^b , Paracaryum ^a , Paracynoglossum ^b , Rindera ^b , Solenanthus ^b , Symphytum ^b , Tournefortia ^c , Trachelanthus ^a , Trichodesma ^b , Ulugbekia ^b
Celastraceae	Bhesa ^a
Asteraceae	Ageratum, Adenostyles ^c , Brachyglottis ^b , Cacalia ^c , Chersodoma, Chromolaena, Cineraria, Crassocephalum, Doronicum ^b , Emilia ^b , Erechites ^b , Eupatorium ^b , Farfugium ^b , Gynura, Homogyne, Jacmaia, Kleinia ^a , Ligularia ^b , Nardosmia ^b , Notonia ^a , Odontocline, Packera, Petasites ^b , Senecio ^c , Syneilesis ^b , Tussilago ^b , Werneria
Euphorbiaceae	Phyllanthus, Securinega
Gramineae	Festuca, Lolium, Thelepogon
Leguminosae	Adenocarpus, Crotalaria ^c , Cytisus ^a , Lotononis
Orchidaceae	Chysis, Doritis, Hammarbya, Kingiella, Liparis, Malaxis, Phalaenopsis, Vanda, Vandopsis
Ranunculaceae	Caltha ^b
Rhizophoraceae	Cassipourea
Santalaceae	Thesium
Sapotaceae	Mimusops, Planchonella
Scrophulariaceae	Castilleja ^b

a = Γένη από όπου έχουν απομονωθεί μη-ηπατοτοξικές αμινο-αλκοόλες και εστέρες.
b = Γένη από όπου έχουν απομονωθεί ηπατοτοξικά αλκαλοειδή
c = Γένη από όπου έχουν απομονωθεί και οι δυο κατηγορίες
d = Οικογένειες όπου δεν έχουν βρεθεί ηπατοτοξικά αλκαλοειδή.

**Σχήμα 3.** Δομή αλκαλοειδούς πυρρολιζιδίνης**Σχήμα 4.** Νεκίνες

στα C-2, C-6 ή C-7 σε διαμόρφωση αήβ με αποτέλεσμα την ύπαρξη στερεοϊσομερών. Με εξαίρεση λίγα αλκαλοειδή, οι βάσεις των περισσότερων ανήκουν

στην σειρά C-8α. Οι συνηθέστερα απαντώμενες νεκίνες στα αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης φαίνονται στο Σχήμα 4^{3,4,5,6}.



Σχήμα 5. Μονοκαρβοξυλικά οξέα που απαντούν στα αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης

B. Νεκικά οξέα

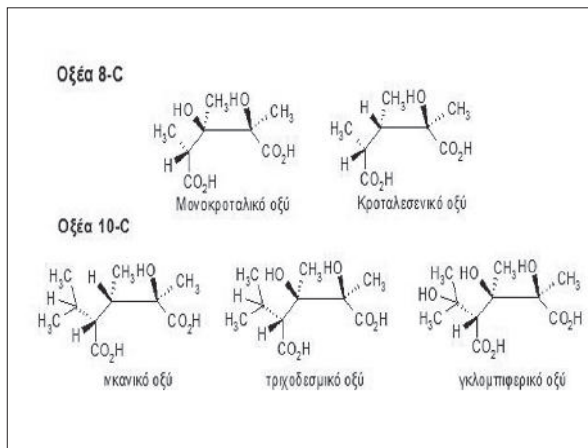
Τα οξέα με τα οποία είναι εστεροποιημένες οι νεκίνες λέγονται νεκικά οξέα. Όλα εκτός από το οξικό οξύ περιέχουν 5-10 άτομα C και διαφέρουν μεταξύ τους ως προς τη δομή. Περιλαμβάνουν μονο- και δικαρβοξυλικά οξέα με διακλαδισμένες αλυσίδες, που βασίζονται σε απλά δομικά συστατικά. Φέρουν ως υποκατάστατες υδροξυ-, μεθοξυ- ή άλλες αλκοξυ-, εποξυ-, καρβοξυ- και ακετοξυ- ομάδες. Άρα δομικά μπορούν να υπάρξουν πολυάριθμα, στερεο- και διαστερεοϊσομερή παράγωγα. Στα παρακάτω σχήματα φαίνονται τα πιο σημαντικά μονο- και δικαρβοξυλικά οξέα τα οποία έχουν ανιχνευθεί μέχρι τώρα στα αλκαλοειδή.

Τα πιο σημαντικά μονοκαρβοξυλικά οξέα που συναντώνται στα αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης, απεικονίζονται στο Σχήμα 5.

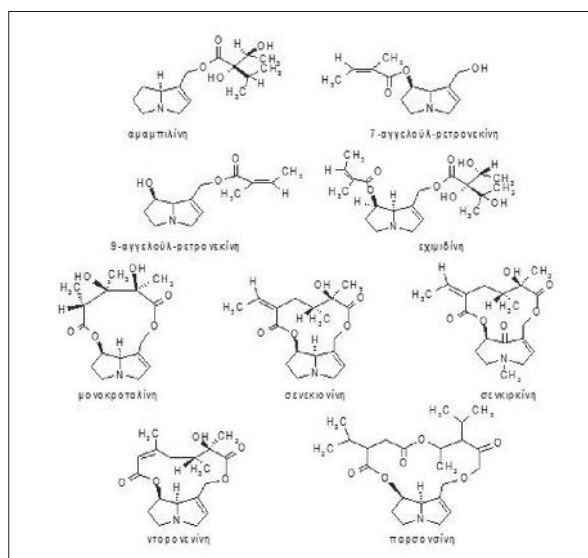
Στο Σχήμα 6, απεικονίζονται τα πιο σημαντικά δικαρβοξυλικά οξέα για τον σχηματισμό 11-μελών μακροκυκλικών αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης (**Οξέα 8-C**) και τα πιο σημαντικά δικαρβοξυλικά οξέα για σχηματισμό 12-μελών μακροκυκλικών αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης (**Οξέα 10-C**).

Γ. Ν οξείδια

Τα Ν οξείδια είναι πολύ πολικές ενώσεις, οι οποίες είναι υδατοδιαλυτές και αδιάλυτες στους περισσότερους οργανικούς διαλύτες ενώ έχουν περιγραφεί στη διεθνή βιβλιογραφία περισσότερα από 660²⁸ (Σχήμα 7). Η τοξικότητα των Ν οξειδίων είναι χαμηλή ή αμε-



Σχήμα 6. Δικαρβοξυλικά οξέα αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης



Σχήμα 7. Παραδείγματα αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης

λητέα. Η βιοσύνθεση των PAs λαμβάνει χώρα στις ρίζες, όπου τα αλκαλοειδή εμφανίζονται ως Ν οξείδια. Λόγω των ιδιοτήτων των Ν οξειδωμένων PAs μπορούν εύκολα να μετατοπίζονται σε όργανα στόχους μέσα στα φυτά²⁹.

Με συνδυασμό των νεκινών με νεκικά οξέα μπορεί θεωρητικά να σχηματιστεί ένας αφάνταστα μεγάλος αριθμός αλκαλοειδών. Στη φύση είχαν βρεθεί μέχρι το 1995 περίπου 400 πυρρολιζιδινικά αλκαλοειδή των οποίων οι δομές έχουν πλήρως περιγραφεί φασματοσκοπικά. Με την εξαίρεση των 30 περίπου

γνωστών αλκαλοειδών οτονεκίνης, που δε μπορούν να σχηματίσουν N-οξειδία, ο ολικός αριθμός των αλκαλοειδών που έχουν ταυτοποιηθεί, συμπεριλαμβανομένων των N-οξειδίων, είναι μεγαλύτερος από 700^{3,4,5,6,28}.

Τοξικότητα PAs

Αλκαλοειδή που προέρχονται από 1-υδροξυμεθυλ-1,2-δεϋδροπυρρολιζιδίνη και είναι εστεροποιημένα με ένα τουλάχιστον διακλαδισμένο C-5 καρβοξυλικό οξύ επιδεικνύουν μια τοξική, καρκινογόνο και μεταλλαξιογόνο δράση. Περίπου 100 από τα μέχρι τώρα γνωστά αλκαλοειδή παρουσιάζουν τέτοια δράση. Ενίσχυση αυτού του φαινομένου παρουσιάζεται όταν μια ακόμα -OH ομάδα εισάγεται στην θέση 7 και επιπλέον είναι εστεροποιημένη, ιδιαίτερα δε αν η νεκινодиόλη εστεροποιείται με ένα δικαρβοξυλικό οξύ για να παράγει μια μακροκυκλική ένωση. Τα N-οξειδία των αλκαλοειδών, κατά βάση, παρουσιάζουν την ίδια τοξικότητα. Εφ' όσον είναι, σε αντίθεση με τις βάσεις, εξαιρετικά υδατοδιαλυτά, υπόκεινται σε διαφορετική φαρμακοκινητική. Μετά από στόματος χορήγηση τα αλκαλοειδή ή τα N-οξειδία τους επαναφομοιώνονται στο έντερο, τα N-οξειδία έχοντας προηγουμένως υποστεί αναγωγή από τις αναγωγάσες της βακτηριακής χλωρίδας.

Ένα τμήμα των αλκαλοειδών διασπάται σε νεκίνες και νεκικά οξέα από τις μη εξειδικευμένες εστεράσες του αίματος. Οι νεκίνες είναι μη τοξικές και εκκρίνονται συζευγμένες από τα νεφρά και τα ούρα. Το κύριο ποσοστό των αλκαλοειδών, μεταφέρεται στο ήπαρ, όπου οι επιτελούμενες μεταβολικές μετατροπές επιφέρουν αντιδράσεις γνωστές ως “αντιδράσεις δηλητηρίασης”^{3,4,5,6}.

Μηχανισμός τοξικής δράσης των PAs

Τα PAs δεν αντιδρούν χημικά ως καθαρές χημικές ουσίες. Σαν εστέρες αλκαλοειδών μπορεί να είναι εν μέρει σαπωνοποιημένοι με μη ειδικές υδρολάσες με τις αντίστοιχες νεκίνες και νεκικά οξέα, τόσο στον εντερικό σωλήνα όσο και κατά τη μεταφορά τους στο ήπαρ. Τα προϊόντα σχάσης είναι μη τοξικά, όπως τα αλκαλοειδή «γονέα»²⁸.

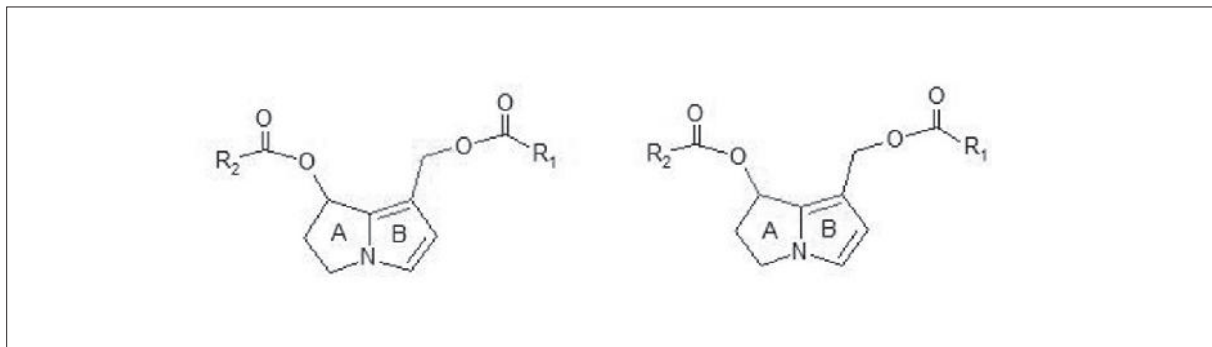
Απαραίτητη για την τοξική δράση των PAs είναι η βιοενεργοποίηση τους (παρόμοια με τις αφλατοξίνες). Οι κυκλικοί διεστέρες πιστεύεται ότι είναι τα

πιο τοξικά αλκαλοειδή, οι μη κυκλικοί διεστέρες ενδιέμεσης τοξικότητας, ενώ οι μονοεστέρες είναι οι λιγότερο τοξικοί. Κορεσμένα PAs είναι μη τοξικά, σύμφωνα με την βιβλιογραφία. Η έκταση της τοξικότητας εξαρτάται από δομή, τις συνακόλουθες μεταβολικές οδούς και τα ποσοστά αποτοξίνωσης. Επιπλέον, πολλοί άλλοι παράγοντες, όπως το είδος, η ηλικία, το φύλο, η διατροφή καθώς και βιοχημικές και φυσικές διεργασίες των έμβιων όντων, θα μπορούσαν δυνητικά να επηρεάσουν τη βιοενεργοποίησή τους.

Οι έντονα δραστικές ηλεκτρονιόφιλες πυρρόλες έχουν μικρό χρόνο ζωής. Αυτές γρήγορα κάνουν δεσμούς και καταστρέφουν τα ηπατικά κύτταρα. Μερικά PAs ή οι μεταβολίτες τους είναι πιο σταθεροί, έτσι μπορούν να κυκλοφορούν και να καταστρέφουν εξωηπατικούς ιστούς. Κυτταρικοί μηχανισμοί οδηγούν σε παράγωγα πυρρολών, τα οποία αποβάλλονται ταχύτατα. Ωστόσο ορισμένα μόρια παραγώνων πυρρολών μπορεί να παραμείνουν για μήνες έως και χρόνια στον οργανισμό. Θεωρείται ότι τα πυρρολικά παράγωγα μπορούν να ανακυκλωθούν, αντιδρώντας με νέα νουκλεόφιλα και τονώνοντας τη κυτταρική βλάβη περαιτέρω. Η έκθεση σε PAs για μεγαλύτερες χρονικές περιόδους είναι κυρίως γνωστή για την ηπατική βλάβη που μπορούν να προκαλέσουν (λόγω του ήπατος ως κύρια περιοχή παραγωγής), βλάβη σε πνεύμονα και αιμοφόρα αγγεία. Σε μικρότερα βαθμό τα νεφρά, η γαστρεντερική οδός, το πάγκρεας και ο μυελός των οστών είναι καταστρεμμένα. Η φλεβική απόφραξη στο ήπαρ και τους πνεύμονες, η μεγαλοκύκτωση, η αναστολή της κυτταρικής διαίρεσης (μίτωση) και η κίρρωση του ήπατος είναι σημάδια της τοξικότητας των PAs. Επίσης παρατηρήθηκαν γονιδιοτοξικές επιδράσεις^{9,11}. Αναλυτικότερα, οι βλάβες που προκαλούνται από τη χρήση τους αναφέρονται παρακάτω.

Φαρμακοκινητική PAs

Η βιοενεργοποίηση συμβαίνει κατά κύριο λόγο στο ήπαρ από την δράση πολλών διαφορετικών μικτών λειτουργιών των οξειδασών. Τα βήματα του μεταβολισμού είτε οδηγούν σε ενεργοποίηση είτε σε αποτοξίνωση. Οι μη τοξικοί μεταβολίτες αποβάλλονται γρήγορα. Η δράση της τοξικότητας γίνεται μέσω της οξείδωσης των παραγώνων 1,2-δεϋδροπυρρολιζιδίνης (DHP, πυρρόλες). Αυτά τα πυρρο-



Σχήμα 8. Αλληλική δομή των δεϋδροπυρρολιζιδινικών αλκαλοειδών

λικά αλκαλοειδή κατέχουν αλληλική δομή που ευνοεί την αύξηση της δραστηριότητάς τους. Μόλις διαμορφωθούν οι πυρρόλες, μπορούν να κάνουν δεσμούς με το DNA, τις πρωτεΐνες, τα αμινοξέα και την γλουταθειόνη^{30,31}. Η δέσμευση των πρωτεϊνών μπορεί να αλλάξει τις λειτουργίες των κυττάρων και να προκαλέσει κυτταρική βλάβη και θάνατο, ενώ η διασταυρούμενη σύνδεση με το DNA μπορεί να δημιουργήσει καρκινογένεση. Τα Ν οξείδια δεν μπορούν να μετατραπούν κατευθείαν σε πυρρόλες. Ωστόσο, κατά την κατάποση μετατρέπονται από ένζυμα του εντέρου ή ηπατικά μικροσώματα σε ελεύθερες βάσεις, οι οποίες είναι πολύ τοξικές³².

Μεταβολισμός PAs

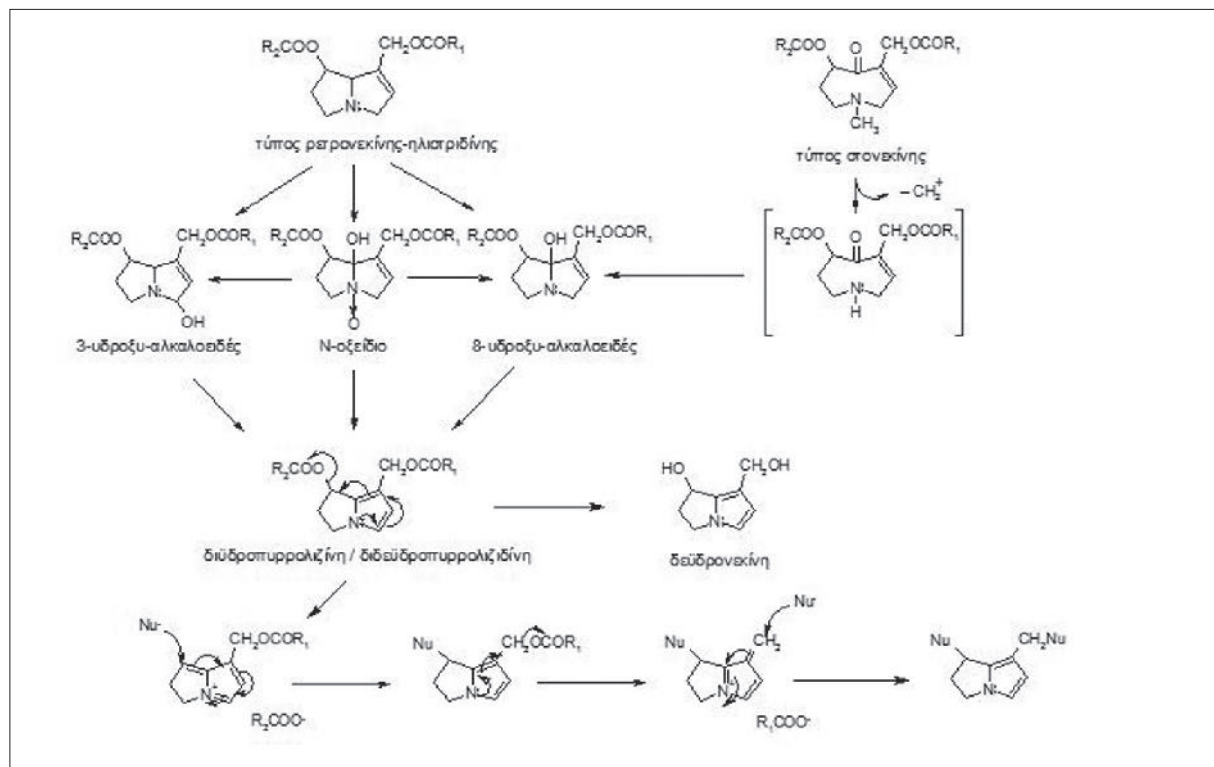
Οι μεταβολικές αντιδράσεις λαμβάνουν χώρα στο ήπαρ. Ένα ποσοστό των αλκαλοειδών, το οποίο είναι σε μορφή εστέρων, υδrolύεται από μη εξειδικευμένες εστεράσες. Οι παραγόμενες νεκίνες έχει υποθεθεί ότι εκκρίνονται από τα νεφρά. Αλκαλοειδή αυτού του τύπου είναι σχετικά μη τοξικά, αφού οι νεκίνες δεν παράγουν τοξικούς μεταβολίτες²⁸. Παρ' όλ' αυτά, αν τα καρβοξυλικά οξέα περιέχουν διακλαδισμένες αλυσίδες, τότε η υδρόλυση αναστέλλεται δραστηκά λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης. Αν αυτά τα δύσκολα υδrolύμενα αλκαλοειδή περιέχουν ως βασικό συστατικό νεκίνη τύπου σουπινιδίνης, ηλιοτριδίνης, ρετρονεκίνης ή κροτανεκίνης, τότε μετατρέπονται στα αντίστοιχα Ν-οξείδια από οξυγενάσες των μικροσωμάτων. Αυτά τα Ν-οξείδια υφίστανται μετάθεση και απόσπαση νερού για να δώσουν τα αντίστοιχα δεϋδροπυρρολιζιδινικά αλκαλοειδή. Επιπλέον, υποτίθεται επίσης ότι

συμβαίνει υδροξυλίωση των ατόμων άνθρακα γειτονικών στο άτομο του αζώτου (C-3 και C-8), που οδηγεί στα πολύ ασταθή 3- και 8-υδροξυ-πυρρολιζιδινικά αλκαλοειδή. Απόσπαση νερού από αυτά τα αλκαλοειδή, ακολουθούμενη από μετάθεση, παρέχει τα αντίστοιχα δεϋδροπυρρολιζιδινικά αλκαλοειδή³. Αυτά τα αλκαλοειδή, όπως φαίνεται στο Σχήμα 8, με κόκκινο χρώμα, περιέχουν μια αλληλική δομή που επιφέρει αύξηση στην δραστηριότητα.

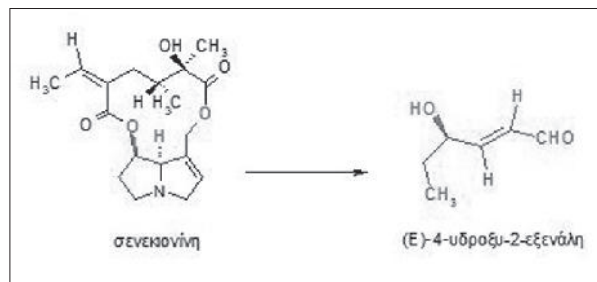
Επιπλέον, αλκαλοειδή τύπου οτονεκίνης, που διαφέρουν από τα άλλα πυρρολιζιδινικά αλκαλοειδή σε ένα μεθύλιο στο άτομο Ν και μια ημικετονική ομάδα στον C-8, αποικοδομήθηκαν παρόμοια. Έπειτα από κατιονική απόσπαση της μεθυλ- ομάδας, το αλκαλοειδές της νορ-Ν-οτονεκίνης που προκύπτει ανακατατάσσεται στο 8-υδρόξυ-παράγωγο και αυτό στο αντίστοιχο δεϋδροπυρρολιζιδινικό αλκαλοειδές³.

Οι δεϋδροπυρρολιζιδίνες που αποτελούν παράγωγα της πυρρολιδίνης (δακτύλιος Α) και του πυρρολίου (δακτύλιος Β) είναι έντονα δραστηκές και είναι οι κατ' ουσία δραστηκές μορφές των αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης. Παρουσία πυρηνόφιλων ειδών (Nu), οι διεστέρες υφίστανται είτε απλή είτε διπλή διμοριακή πυρηνόφιλη υποκατάσταση (αντίδραση S_N2). Σε αντιδράσεις που συμβαίνουν παράλληλα μπορεί επίσης να λάβει χώρα μια υδρόλυση που οδηγεί σε σχηματισμό δεϋδρονεκινών (δεϋδρορετρονεκίνη, δεϋδροηλιοτριδίνη). Αυτές οι ουσίες έχουν παρόμοια δραστητικότητα, συγκεκριμένα η τοξικότητά και η καρκινογόνος δράση τους μοιάζουν με εκείνες των δεϋδραλκαλοειδών²⁸. Όλα τα παραπάνω απεικονίζονται στο Σχήμα 9.

Σύμφωνα με τους Mattocks & Jukes³³, η αντίδραση των μακροκυκλικών αλκαλοειδών ξεκινά από την



Σχήμα 9. Μεταβολισμός των 1,2-ακόρεστων αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης



Σχήμα 10. Αποικοδόμηση της σενεκιονίνης προς 4-υδροξυ-2-εξενάλη

θέση 7. Υπολογισμοί με MNDO (Modified Neglect of Differential Orbitals), μια τυπική μέθοδο για τον υπολογισμό φορτίων και ενεργειακών συνεισφορών στις επιφάνειες Van der Waals, ιδιαίτερα για την περίπτωση οργανικών μορίων με ετεροάτομα, αποκαλύπτουν ότι οι περιοχές διάσχισης περιέχουν υψηλότερα μερικά φορτία από ότι οι άλλες περιοχές του μορίου. Στην περίπτωση της δεϋδροσενεκιονίνης, αυτές οι περιοχές είναι στα -0.341 για την $9\text{-CH}_2\text{O}$ και -0.328 για την 7-CHO ομάδα.

Υδροξυ-, μερκαπτο- ή αμινομάδες ενζύμων, σφαιρινών αλλά και βάσεων πουρίνης και πυριμιδίνης ή νουκλεοσιδών τους μπορούν να λειτουργήσουν ως πυρηνόφιλα. Έτσι το DNA και / ή το RNA μπορούν να υποστούν αλκυλιώσεις. Ήδη, απλή αλκυλίωση παρέχει ένα προϊόν το οποίο προκαλεί αλλοίωση διαρκείας στον κλώνο του DNA και / ή του RNA. Μια διπλή αλκυλίωση θα είχε ως αποτέλεσμα έναν μη αντιστρέψιμο σταυροδεσμό ανάμεσα στους δυο κλώνους του DNA, όπως φαίνεται παρακάτω. Αν δε γίνει κάποια διαδικασία διόρθωσης, μπορεί να προβλεφθεί με βεβαιότητα αντίδραση καρκινογένεσης²⁸.

Έχει προταθεί από τους Segal et al.³⁴, μια περαιτέρω μεταβολική αντίδραση. Έτσι, το αλκαλοειδές σενεκιονίνη για παράδειγμα, αποικοδομείται σε *E*-4-υδροξυ-2-εξενάλη, όπως φαίνεται στο Σχήμα 10. Οι αλδεϋδες με διπλό δεσμό στη θέση 2,3 επιδεικνύουν τοξικές ιδιότητες.

Από την άλλη πλευρά, τα κορεσμένα πυρρολιζιδινικά αλκαλοειδή και οι νεκίνες τους είναι μη τοξικά. Σε αντίθεση με τα δεϋδρο(Α)πυρρόλια όπου το άτομο N

βρίσκεται σε μια πολύ ασταθή συζυγιακή κατάσταση και άρα μπορεί να αντιδράσει αμέσως με πυρηνόφιλα, τα 1,2-κορεσμένα αλκαλοειδή είναι κατά πολύ σταθερότερα και δεν υπόκεινται σε αντιδράσεις με πυρηνόφιλα^{35,36}.

Οξεία και χρόνια δηλητηρίαση PAs

Στα κύτταρα του ήπατος τα αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης επιφέρουν τις παρακάτω αλλαγές:

- 10- ως 30-πλάσια μεγέθυνση των κυττάρων του ήπατος (μεγαλοκύττωση)
- μεγέθυνση των πυρήνων των ηπατικών κυττάρων με αύξηση της πυρηνικής χρωματίνης
- διατάραξη του μεταβολισμού των ηπατικών κυττάρων με υπολογίσιμες λειτουργικές απώλειες
- εμφάνιση ακανόνιστης μίτωσης με ταυτόχρονη αναστολή της μίτωσης λόγω παρεμπόδισης του DNA
- κυτταροδιαίρεση
- αποικοδόμηση λιπαρών

Αυτές οι αντιδράσεις προκαλούνται από μια και μόνη πρόσληψη 10 ως 20 mg ενός καθαρού αλκαλοειδούς ή αλκαλοειδικού μείγματος.

- Μικρά ποσά αλκαλοειδών (λιγότερο από 10 μg) και μεγαλύτερη περίοδος διάθεσης τους προκαλούν περαιτέρω καταστροφές:
- πολλαπλασιασμός του επιθηλίου της χοληφόρου οδού
- φλεγμονώδη διηθήματα
- κίρρωση
- γένεση καρκινωμάτων
- επισωρευτική και κεντρολοβική νέκρωση των ηπατικών φλεβών

Αυτή η νέκρωση έχει καθιερωθεί στην ιατρική βιβλιογραφία ως Venooclusive Disease (VOD- φλεβο-αποφρακτική ασθένεια) και θεωρείται ως ειδική περίπτωση δηλητηρίασης από αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης (σενεκίωση). Είναι πρακτικά όμοια με την κλινική εικόνα του συνδρόμου Budd-Chiari. Τα κλινικά συμπτώματα συνήθως εκδηλώνονται ξαφνικά και περιλαμβάνουν:

- πόνους κωλικού στο επιγάστριο
- εμετό και διάρροια
- δημιουργία ασκίτη εντός μερικών ημερών
- διόγκωση και σκλήρυνση του ήπατος μέσα σε λίγες βδομάδες

Σε σοβαρότερες περιπτώσεις παρατηρούνται επίσης τα παρακάτω συμπτώματα:

- αγγειοκινητική κατάρριψη
- αιματέμεση
- αιμορραγική διάρροια

Εκτός από τις επιδράσεις στο ήπαρ, έχουν παρατηρηθεί σοβαρές τοξικές πνευμονικές αλλοιώσεις με υπέρταση πνευμονικής αρτηρίας και επακόλουθη ανεπάρκεια δεξιάς κοιλίας. Όταν τα προϊόντα μεταβολισμού δεν μπορούν πλέον να παγιδευτούν στα ηπατικά κύτταρα, μεταφέρονται μέσω του αίματος στα πνευμονικά αρτηρίδια, όπου προκαλούν βλάβη στα ενδοθηλιακά αγγεία. Στα τριχοειδή, τα ενδοθηλιακά αγγεία διεγείρονται προς πολλαπλασιασμό προκαλώντας μεσο-υπερτροφία στα αρτηρίδια και, ως εκ τούτου, μια αύξηση της πίεσης στην πνευμονική κυκλοφορία και οξεία ανεπάρκεια της δεξιάς κοιλίας, παρόμοια με την κλασσική ασθένεια λόγω υπερτροφίας καρδιάς³.

Καρκινογόνος δράση PAs

Μια υποτοξική (χαμηλότερη του 1 mg) πρόσληψη των αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης για μεγαλύτερες περιόδους είχε σαν αποτέλεσμα τις παρακάτω βαθμιαίες αλλαγές στα όργανα:

- μεγαλοκύττωση
- φλεβο-αποφρακτική ασθένεια
- αποικοδόμηση λιπαρών
- πολλαπλασιασμός του επιθηλίου της χοληφόρου οδού.
- κίρρωση
- οζώδης υπερπλασία
- αδενώματα ή καρκινώματα

Η συχνή εμφάνιση πρωτογενών ηπατικών όγκων στους κατοίκους της Κ. και Ν. Αφρικής αποδίδεται στην κατανάλωση των παραδοσιακών φαρμακευτικών φυτών των γενών *Crotalaria*, *Cynoglossum*, *Heliotropium* και *Senecio*. Σε ποικίλα πειράματα σε ζώα με φυτά, με εκχυλίσματά τους ή με τα καθαρά αλκαλοειδή που απαντώνται στα προαναφερθέντα αυτά φυτά, έχει επιβεβαιωθεί η κλινική εικόνα³.

Μεταλλαξιογόνος και γενοτοξική δράση PAs

Η μεταλλαξιογόνος δράση των αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης έχει ήδη μελετηθεί επαρκώς. Τα φυτικά εκχυλίσματα ή τα αλκαλοειδικά μείγματα

Πίνακας 2. Προτεινόμενα ανεκτά επίπεδα έκθεσης για ακόρεστα PAs και N-Οξειδία τους

Διεθνείς Αρχές	Μέση ημερήσια επιτρεπόμενη δόση (TDI) σε PAs και τα N-Οξειδιά τους
Bundesanzeiger (1992)	1μg/day (max. 6 εβδομάδες κατ' έτος) 0,1 μg/day (for medicinal product only)
Food Standards Australia New Zealand (FSANZ) (2001)	1 μg/kg bw/day
Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM) (2007) [KEMPF et al. 2010]	0,1 μg/kg bw/day (based on virtual safe dose of 0.43 ng/kg bw/day)
Committee on Toxicity (COT) (2008)	0,1 μg/kg bw/day

των φυτών *Symphytum officinale* που εξετάστηκαν σε διαφορετικά συστήματα δοκιμασιών, εμφάνισαν όλα μεταλλαξιογόνο δράση³⁷.

Τερατογόνος δράση PAs

Η τερατογόνος δράση των αλκαλοειδών πυρρολιζιδίνης καταδείχθηκε με μια ενδοπεριτοναϊκή ένεση ηλιοτρίνης σε κυοφορούντες αρουραίους. Σε συγκεντρώσεις 50-200 mg αλκαλοειδούς/kg βάρους σώματος παρατηρήθηκε τερατογόνος δράση. Δόσεις πάνω από 200 mg/kg οδήγησαν στο μητρικό θάνατο και στον εκφυλισμό των εμβρύων. Παρόμοια αποτελέσματα αποκτήθηκαν με την ηλιοτρίνη και το μεταβολίτη της δεϋδροηλιοτρίνη, ο οποίος παρουσιάζει τερατογόνο δράση 2.5 φορές ψηλότερη αυτής της αρχικής ουσίας. Οι τερατογόνες ιδιότητες της ηλιοτρίνης αποδείχθηκαν επίσης με πειράματα σε νύμφες *Drosophila melanogaster*³.

Οξεία φλεβοαποφρακτική νόσος (VOD)

Τα PAs προκαλούν στον άνθρωπο με συνέπεια το θάνατο λόγω ηπατικής ανεπάρκειας στην οξεία φάση ή λόγω κίρρωσης εξ αιτίας της αιματέμεσης που προκύπτει από ρήξη κιρσών του οισοφάγου. Η θνησιμότητα από την ανωτέρω νόσο δίνεται περίπου 50%³⁸.

Τέτοια παραδείγματα έχουμε μετά από μία οξεία δηλητηρίαση, όπου 20% των ασθενών θα πεθάνουν γρήγορα και το 50% θα ανακάμψουν πλήρως. Από τους επιζώντες, περίπου το 20% φαίνεται να αναρρώνουν κλινικά, ενώ αρκετοί θα αναπτύξουν κίρρωση και χρόνια ηπατική ανεπάρκεια αργότερα. Μερικοί θα

αναπτύξουν υποξείες ηπατικές παθολογικές αλλαγές, οι οποίες τελικά είτε θα επιλυθούν είτε θα καταλήξουν σε κίρρωση και ηπατική ανεπάρκεια. Συνεπώς η θνησιμότητα από τα PAs μπορεί να είναι υψηλή

Επίσης τα PAs που περιείχαν κάποια φαρμακευτικά προϊόντα στη δεκαετία του '70 και του '80 του περασμένου αιώνα, ενέχονται σε ασθένειες (σύμφωνα με μελέτες από το Χονγκ Κονγκ, το Ηνωμένο Βασίλειο και τις ΗΠΑ) που προκάλεσαν το θάνατο ή την εξέλιξη της κίρρωσης, ακόμη και σε χώρες με ανεπτυγμένες υπηρεσίες υγείας και μεταξύ των υψηλότερων οικονομικών και μορφωμένων στρωμάτων της κοινωνίας.

Τέλος τα PAs μπορούν να δράσουν σε συνεργασία με επιβλαβείς για το ήπαρ παράγοντες όπως: ιοί, βακτηριακές ενδοτοξίνες, αλφατοξίνες και περιβαλλοντικός χαλκός με συνέπεια να αυξήσουν την βλάβη στο ήπαρ καθώς και τον καρκίνο. Σημειώνουμε ότι τα παιδιά είναι ιδιαίτερα ευάλωτα στις επιπτώσεις από δηλητηρίαση PAs. Αυτό πιθανώς να οφείλεται στο γεγονός ότι στα νεογνά και στα έμβρυα τα επίπεδα χαλκού του ήπατος είναι φυσικά υψηλά, κάτι που θα μπορούσε να ενισχύσει τις επιδράσεις των PAs³⁸.

Η έκθεση του ανθρώπου στα PAs από τα τρόφιμα

Στις αναπτυσσόμενες χώρες έχουν αναφερθεί καταστροφικές, οξείες αλλά και χρόνιες δηλητηριάσεις. Χιλιάδες άνθρωποι επηρεάστηκαν, όπως φαίνεται στην Ινδία το 1972, το Τατζικιστάν το 1992, είτε για Αφγανιστάν στη δεκαετία του 1970 και του 1990, το 2000, 2007 και 2008. Αυτά τα προβλήματα συνήθως προκαλούνται από περιβαλλοντικούς παράγοντες³⁸. (Πίνακας 2)

Στις αναπτυγμένες χώρες εμφανίζονται ως επί το πλείστον χαμηλά επίπεδα πρόσληψης PAs που οφείλονται στην κατανάλωση φυτικών φαρμακευτικών προϊόντων και μολυσμένων τροφίμων φυτικής και ζωικής προέλευσης. Κύρια αιτία είναι η παγκοσμιοποίηση των αγορών, μέσω των οποίων μολυσμένα προϊόντα μεταφέρουν εντοπισμένες τοξίνες σε όλο τον κόσμο. Έτσι, ανάλογα με την προτίμηση σε συγκεκριμένα τρόφιμα, παρουσιάζεται μεγάλη μεταβλητότητα της έκθεσης των ανθρώπων σε PAs και συγκεκριμένα ^{38,39}.

Μέλι, Γύρη

Σε ορισμένα μέλια, τα επίπεδα των PAs ανέρχονται μέχρι 3.900 μg/kg μελιού. Ένας άνθρωπος που καταναλώνει 2 μερίδες 40 g μελιού περιεκτικότητας περίπου 2.500 μg/kg των PAs, θα εκτεθεί σε 100 μg PAs/ημέρα, γεγονός που υπερβαίνει τις συνιστώμενες δόσεις. Έχει αναφερθεί ότι μία έγκυος γυναίκα που καταναλώνει 20 με 30 μg του PAs/ημέρα, γέννησε ένα παιδί που πάσχει από μοιραία βλάβη του ήπατος. Τώρα όσον αφορά την γύρη, σύμφωνα με πρόσφατη μελέτη από τους Kempf et al. ³¹, από τα 55 εμπορικά προϊόντα γύρης που αγοράστηκαν στην Ευρώπη, τα 17 (ήτοι 31%) περιείχαν 1080-16350 PAs μg/kg. Τέλος η κατανάλωση της συνιστώμενης ημερήσιας ποσότητας 10 g γύρης θα εξέθετε τον μέσω άνθρωπο (που έχει 30% πιθανότητα εμφάνισης PAs) σε 15 mg των PAs.

Καρποί, αυγά, γάλα, κρέας

Ο λόγος που δεν παρατηρούμε σε μεγάλη κλίμακα οξεία περιστατικά δηλητηρίασης PAs στις ανεπτυγμένες χώρες συγκριτικά με τις αναπτυσσόμενες, είναι η αφαίρεση πριν την άλεση όλων των ξένων σπόρων σε κόκκους (συμπεριλαμβανομένων αυτών που περιέχουν PAs) στα δημητριακά. Παρ' όλα ακόμα και μετά την πλήρη απομάκρυνση των «μολυσμένων» σπόρων, τα επίπεδα των PAs που παρατηρούνται στα «καθαρά» σιτηρά παραμένουν σημαντικά και υπολογίσιμα. Σε αυγά (από όρνιθες που είχαν μολυνθεί τρεφόμενες με σπόρους που περιείχαν και κόκκους από σπέρματα *Heliotropium europaeum* και *Echium plantagineum*) τα επίπεδα των PAs ήταν

5-168 PAs μg/kg, ενώ βρέθηκαν αυγά (από κόττες που είχαν τραφεί με *Senecio vernalis*) που δεν ανιχνεύθηκαν καθόλου PAs.

Η περιεκτικότητα του γάλατος σε PAs από αγελάδες που διατρέφονται ημερησίως με 200 g *Senecio* έφτασε έως και 10 μg/L. Η πρόληψη των 10 mL και 35 mL από το γάλα αυτό, θα οδηγούσε στις επιτρεπόμενες 0,1 μg και 0,007 μg/kg PA/ημέρα (για έναν άνθρωπο με βάρος 50 kg) αντίστοιχα. Αυτά και άλλα αποτελέσματα από αρουραίους και ποντίκια δείχνουν ότι μόνο χαμηλά επίπεδα των PAs φαίνεται να μεταφέρονται στο γάλα.

Πρέπει να σημειωθεί ότι τα PAs που περιέχονται στο κρέας και στο γάλα δεν καταστρέφονται με το μαγείρεμα.

Σαλάτες, αφεψήματα, μπαχαρικά

Φυλλώδη φυτά που παράγουν PAs όπως τα είδη των *Borago* και *Symphytum* συνίστανται ως σαλάτες ή τα φύλλα ζιζανίων (όπως *Senecio vulgaris*) συνυπάρχουν με φύλλα σαλάτας. Φυτά που παράγουν επίσης PAs συντήνονται για παρασκευή αφεψημάτων π.χ. *Symphytum* spp., όπως και σε τυποποιημένες σάλτσες. Επίσης βρέθηκαν PAs σε μπαχαρικό, που εμπλέκεται σε θάνατο εμβρύου από ηπατική ανεπάρκεια.

Εν κατακλείδι ενώ για το μέλι και τη γύρη είμαστε σίγουροι για το περιεχόμενό τους σε PAs, για τα άλλα προϊόντα διατροφής μπορούμε μόνο να υποθέσουμε, ότι η μόλυνση με PAs είναι δυνατή. Βέβαια πρέπει να σημειωθεί ότι σχετικά χαμηλά και ενίοτε σποραδικά ποσά των PAs μπορούν να ληφθούν από την τροφή, όμως και αυτά τα ποσά μπορεί να είναι πιθανή αιτία που σιγά-σιγά εξελίσσεται σε χρόνιες παθήσεις των καταναλωτών.

Πυρρολιζιδινική αλκαλοείδωση στα ζώα

Η *πυρρολιζιδινική αλκαλοείδωση* πλήττει επίσης τα περισσότερα είδη κατοικίδιων αγροτικών ζώων και είναι γνωστή με πολλά διαφορετικά ονόματα, ανάλογα με την περιοχή όπου εκδηλώθηκε ή το είδος του φυτού που την προκάλεσε. Η ασθένεια αυτή σε ορισμένες χώρες για πολλά χρόνια χαρακτηριζόταν ως κίρρωση του ήπατος, μέχρι να διαπιστωθεί ότι είναι το αποτέλεσμα δηλητηρίασης από φυτό. Πριν προσδιοριστεί το είδος του ηπατοτοξικού φυτού

που την προκαλεί, οι κτηνοτρόφοι διαπίστωσαν την δηλητηριώδη φύση κάποιων από αυτά τα είδη (*Senecio jacobea*, είδη *Crotalaria*)^{2,3}.

Μια άλλη έκφραση της πυρρολιζιδινικής αλκαλοειδωσής είναι η βλάβη των πνευμόνων με καταστροφή του αναπνευστικού επιθηλίου, που παρατηρήθηκε σε ζώα που τρέφονταν με *Crotalaria dura*. Χαρακτηριστικές ασθένειες των αλόγων οφείλονται στην *C. retusa* και στην *C. rispata* και εκδηλώνονται η πρώτη με βλάβη του ήπατος και η δεύτερη με βλάβη του ήπατος και των πνευμόνων². Η *Amniskia intermedia* είναι το πρώτο φυτό από την οικογένεια Boraginaceae που ενέχεται για πυρρολιζιδινική αλκαλοειδωση. Τροφικά πειράματα με σπόρους και περιστατικά κίρρωσης του ήπατος σε πολλά αγροτικά ζώα επιβεβαίωσαν την τοξικότητα της. Το φυτό από μόνο του δεν είναι ελκυστικό προς βρώση λόγω της ερεθιστικής φύσης του, αλλά όταν οι σπόροι περνάνε από τη θεριστική μηχανή αυτή παύει να υφίσταται. Βέβαια όταν αυτό βρίσκεται σε άχυρο και κόκκους δημητριακών είναι η κύρια πηγή τοξικού υλικού³.

Το φυτό *Heliotropium lasiocarpum* μέλος της οικογένειας Boraginaceae, σχετίζεται με την μόλυνση διαφόρων κόκκων δημητριακών που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση και προκαλεί μία μορφή τροφικής δηλητηρίασης με συνέπεια την οξεία δυστροφία του ανθρώπινου ήπατος. Εργαστηριακές έρευνες αφού επιβεβαίωσαν την τοξικότητα σε μικρά πειραματόζωα προχώρησαν στην διερεύνηση της πιθανότητας ύπαρξης της ασθένειας σε αγροτικά ζώα της ίδιας περιοχής. Έτσι βρέθηκε ότι τα ζώα υπέφεραν από μια ασθένεια του ήπατος παρόμοια με αυτή που είχε εκδηλωθεί στον άνθρωπο, όταν τρέφονταν με δημητριακά και υπολείμματα δημητριακών που έχουν μολυνθεί με σπέρματα *H. lasiocarpum*. Γεγονός που καθόρισε την ηπατική δυστροφία λόγω του *Heliotropium*, ως ασθένεια του ανθρώπου και των οικόσιτων ζώων της περιοχής. Στην αρχή ήταν συχνότερος ο πιο οξύς τύπος της ασθένειας, αλλά αργότερα ταυτοποιήθηκε και καταγράφηκε η χρόνια ηπατική κίρρωση. Μάλιστα αναφέρθηκε ότι όταν η συγκέντρωση των σπερμάτων *Heliotropium* στο φαγητό ήταν χαμηλή η καταστροφή των ηπατικών κυττάρων ήταν ευρεία και ακολουθήθηκε από τυπική κίρρωση του ήπατος^{2,3}.

Το *Echium lycopsis* (συν.: *E. plantagineum*) επίσης μέλος της οικογένειας Boraginaceae, είναι υπεύθυνο για το θάνατο πολλών προβάτων από ασθένεια, με κλινική και παθολογική εικόνα της δηλητηρίασης από *Heliotropium europaeum*.

Τέλος η κατανάλωση του φυτού *Trichodesma incanum*, (Boraginaceae) από άλογα και βοοειδή προκαλεί μια ασθένεια στα ζώα αυτά που επηρεάζει τόσο το ήπαρ όσο και τους πνεύμονες, όπως απεδείχθη με διατροφικά πειράματα που έγιναν στην Κ.Ασία².

Συμπεράσματα

Η ηπατοτοξικότητα ύστερα από πρόσληψη PAs, είναι δεδομένη. Ωστόσο, η σχέση δόσης-αποτελέσματος παραμένει ασαφής και οι διαφορές στην ευαισθησία των ατόμων ξεχωριστά μεγάλες. Οι δηλητηριάσεις με PAs είχαν περιγραφεί ως «νόσος παγόβουνου». Αυτό σημαίνει ότι μόνο πολύ λίγες εμφανείς περιπτώσεις (εκτός από τις σποραδικές περιπτώσεις επιδημίας) καθώς και πολλές υποκλινικές εκδηλώσεις είναι γνωστές, ωστόσο οι περισσότερες των περιπτώσεων θα παραμείνουν μη αναγνωρισμένες. Δεδομένου ότι τα αλκαλοειδή εξαλείφονται μέσα σε 24 ώρες, η υποψία δεν θα μπορούσε να επιβεβαιωθεί, καθώς τα συμπτώματα μπορεί να χρειαστούν αρκετές ημέρες ή μήνες για να εμφανιστούν. Επιπλέον, ηπατοτοξικότητα που προκαλείται από τα PAs μπορεί εύκολα να παρερμηνευθεί ως αποτέλεσμα άλλων αιτιολογικών παραγόντων, π.χ. κατάχρηση αλκοόλ³⁸.

Ωστόσο, δεν υπάρχει ουσιαστικά, μακροπρόθεσμη παρακολούθηση των δεδομένων για να εκτιμηθεί κατά πόσον η έκθεση σε PAs οδηγεί σε αυξημένη συχνότητα εμφάνισης χρόνιας ηπατικής νόσου ή καρκίνου στον άνθρωπο. Διαθέσιμα κλινικά και πειραματικά δεδομένα δείχνουν ότι μόνο ένα επεισόδιο τοξικότητας PAs ή και ενδεχομένως μια μακροχρόνια έκθεση σε χαμηλά επίπεδα μπορεί να οδηγήσει σε κίρρωση του ήπατος. Τα PAs θα μπορούσαν επίσης να είναι καρκινογόνες ουσίες για τον άνθρωπο, δεδομένου ότι ορισμένα από αυτά έχει αποδειχθεί ότι προκαλούν καρκίνο σε πειραματόζωα. Επίσης σε αρκετές περιπτώσεις τοξικότητας στον άνθρωπο, τα αναφερόμενα ποσοστά της καθημερινής πρόσληψης των PAs

Πίνακας 3. Αποδεκτή ημερήσια πρόσληψη των PAs, όσον αφορά την καρκινογόνο δράση σε έναν ενήλικα με μέσο σωματικό βάρος 60 kg.

ΓΕΡΜΑΝΙΑ	ΑΥΣΤΡΑΛΙΑ	ΟΛΛΑΝΔΙΑ	ΑΓΓΛΙΑ	ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟ TTC
0.1 μg (απεριόριστα)	(δεν έχει αποδειχθεί κίνδυνος καρκίνου)	12 μg	0.42 μg	0.15 μg

βρίσκονται σε κοντινά με αυτά που είναι γνωστό ότι προκαλούσαν όγκους σε αρουραίους. Οι εκτιμήσεις των προσλήψεων που προκαλούν τοξικές επιδράσεις στον άνθρωπο δείχνουν ότι είναι πιο ευαίσθητοι οι ανθώπινοι ιστοί, από τους αρουραίους και τα κατοικίδια ζώα. Το χαμηλό ποσοστό προσληφθείσας δόσης, που προκαλεί VOD στον άνθρωπο εκτιμάται σε 0,015 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα και ήταν αποτέλεσμα αυτοθεραπείας με ένα παρασκεύασμα που περιείχε σύμφυτο (*Symphytum, comfrey*)³⁸.

Το Διεθνές Κέντρο Έρευνας για τον Καρκίνο (IARC) αξιολόγησε διάφορα PAs για πιθανή πρόκληση καρκινογένεσης το 1976 και το 1983. Το συμπέρασμα ήταν ότι υπήρχαν «επαρκείς ή περιορισμένες ενδείξεις» για την καρκινογένεση σε πειραματόζωα (IARC, 1976) των PAs, που περιέχουν τα φυτά *Petasites japonicum*, *Tussilago farfara*, *Symphytum officinale*, *Senecio longilobus*, *Senecio numorensis*, *Farfugium japonicum* και *Senecio cannabifolius*. Το κύριο όργανο-στόχος είναι το ήπαρ, όπου παρατηρήθηκαν οι όγκοι των ηπατικών κυττάρων και αιμοταγγειο-ενδοθηλικά σαρκώματα. Σε ορισμένες περιπτώσεις, οι όγκοι σε εξω-ηπατικούς ιστούς (πνεύμονα, του παγκρέατος, του εντέρου) επίσης παρατηρήθηκαν. Μερικά PAs, έχει αποδειχθεί ότι είναι καρκινογόνος μετά από μια μόνο δόση. Οι πυρρολικοί μεταβολίτες, έχει επίσης αποδειχθεί ότι είναι καρκινογόνοι για τους αρουραίους. Ωστόσο το IARC κατέληξε στο συμπέρασμα ότι οι ενώσεις, δεν μπορούν να καταταγούν ως καρκινογόνες για τον άνθρωπο, αλλά ως «πιθανώς καρκινογόνο για τον άνθρωπο».

Σε ορισμένες χώρες και ορισμένες περιοχές τέθηκαν όρια χρήσης για την πρόσληψη PAs τα οποία οδηγούν σε μια αποδεκτή ημερήσια δόση 0,1 έως 12 μg PAs. Μια άλλη προσέγγιση αποτελεί την «κατευθυντήρια γραμμή σχετικά με τα όρια των γονο-

τοξικών προσμίξεων». Για γονοτοξικές ενώσεις χωρίς επαρκή αποδεικτικά στοιχεία για ένα κατώτατο ποσό, προτείνεται από το TTC η πρόσληψη των 0,15 μg/ ημέρα. (Πίνακας 3)

Χαμηλά επίπεδα διαλείπουσας διατροφικής έκθεσης σε PAs μπορεί να αναμένονται, έτσι ώστε σιγά-σιγά εξελισσόμενες χρόνιες ασθένειες όπως ο καρκίνος, η κίρρωση και η πνευμονική υπέρταση να είναι πιθανά αποτελέσματα από την κατανάλωση τροφών που περιέχουν χαμηλά επίπεδα PAs. Ένζυμα του κυτοχρώματος P450 υπόκεινται επίσης σε επαγωγή από πολλά (φυτικά) φαρμακευτικά προϊόντα και τη χρήση τους θα μπορούσε να ενισχύσει σημαντικά η τοξικότητα των PAs στη διατροφή. Η παρατεταμένη χρονική περίοδος της προοδευτικής ανάπτυξης χρόνιων ασθενειών, προσθέτει στη δυσκολία εντοπισμού των διατροφικών πηγών PAs. Πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι προϊόντα μελιού π.χ. υδρόμελι, καραμέλες κ.λ.π. μπορεί να περιέχουν επίσης PAs, όπως φαίνεται σε πρόσφατη βιβλιογραφική αναφορά³⁹.

Μπορεί επίσης, να υπάρξει οικογενής ευαισθησία στη τοξικότητα των PAs. Λόγω των γνωστών δράσεών του, για τη συμμετοχή τους σε δηλητηρίαση και πιθανή καρκινογόνο δράση τους, η έκθεση σε PAs θα πρέπει να είναι όσο το δυνατόν χαμηλότερη, όπως απαιτείται από το IPCS⁴¹ 1988, την EFSA 2007 και το BfR 2007. Σύμφωνα με τη δημοσιευμένη βιβλιογραφία είναι δυνατό η μέση διαιτητική ημερήσια πρόσληψη να είναι ήδη περισσότερη από τα ποσά των PAs που θεωρούνται ασφαλή^{42,43}. Σύμφωνα με τους Kempf³¹ και Edgar³⁹, η ημερήσια πρόσληψη σε PAs μέσω μελιού, μπορεί να φτάσει εύκολα τα 10-100 μg/ημέρα. Άλλες πηγές τροφίμων που περιέχουν PAs. (π.χ. γάλα, συμβατικά προϊόντα που μπορεί να περιέχουν ίχνη PAs, το κρέας), είναι μεν γνωστές, αλλά η πραγματική έκθεση δεν μπορεί να αξιολογηθεί. □

Nutritional exposure to toxic pyrrolizidine alkaloids

Charilaos Damianakos¹, Ioanna Chinou¹,
George-Albert Karikas²

¹Division of Pharmacognosy and Chemistry
of Natural products, Dept. of Pharmacy,
University of Athens, University Campus of
Zografou, 15771 Zografou, Athens, Greece

²Dept. of Medical Laboratory Technology, Technological
Educational Institute of Athens, Athens 12243, Greece

Abstract

Pyrrolizidine alkaloids (PAs) are secondary metabolites, mainly found within Boraginaceae, Asteraceae and Fabaceae plant families. Many Boraginaceae species are used in medicine, cosmetology, food and cotton industry. Boraginaceae plants do not contain essential oils,

whereas all of its members can produce PAs with toxic effects to human, known as pyrrolizidine alkaloidosis. Furthermore, PAs coming from 1-hydroxy-1,2-dehydropyrrolizidine have additionally demonstrated potential carcinogenic, mutagenic and teratogenic actions. Many nutritional products (e.g. meat, eggs, milk, honey, vegetables etc.), coming from animals fed by Boraginaceae corps, thus, they could be easily transferred PAs traces to humans daily diet.

In the present review article, are described the Boraginaceae botanical-chemotaxonomic data, PAs characteristics such as phytochemistry, mode of action, metabolism, pharmacokinetics, toxicity, (eg. VOD), as well as, the PAs human and animal nutritional exposure.

*Corresponding author:

George Albert Karikas, karikasg@teiath.gr

Βιβλιογραφία

1. Καλλέργης Α. και Πακίτσα Β., «Αλκαλοειδή πυρρολιζιδίνης επιλεγμένων φυτών της οικογένειας Boraginaceae - βιολογικές δράσεις», Πτυχιακή εργασία, 2012, Αθήνα.
2. Bull L. B., Culvenor C. C. J., Dick A.T. (1968) The pyrrolizidine alkaloids, their chemistry, pathogenity and other biological properties, North-Holland publishing company, Amsterdam, 1-24.
3. Damianakos H. Phytochemical study (isolation and identification of chemical structure) of secondary metabolites and their analogues from selected Greek plants (among Boraginaceae, Myrtaceae, Punicaceae and Lamiaceae plant families) and Biological activities. PhD Thesis, Athens 2010 (plus included ref).
4. Damianakos H., Kretschmer N., Sykłowska-Baranek K., Pietrosiuk A., Bauer R., Chinou I. Antimicrobial and cytotoxic isohexenylnaphthazarins from *Arnebia euchroma* (Royle) Jonst. (Boraginaceae) callus and cell suspension culture, *Molecules*, 17, 14310-14322, 2012.
5. Damianakos H., Sotiroudis G., Chinou I., Pyrrolizidine Alkaloids from *Onosma erecta*, *J. Nat. Prod.*, 76, 1829-1835, 2013.
6. Damianakos H., Jeziorek M., Pietrosiuk A., Chinou I. The chemical profile on pyrrolizidine alkaloid of selected Greek endemic Boraginaceae plants, through GC-MS, *J. AOAC Int.*, 2014.
7. Samuelsson G. (1996) Φαρμακευτικά Προϊόντα Φυσικής Προέλευσης, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης.
8. Prakash A. S., Pereira T. N., Reilly P. E., Seawright A. A. Pyrrolizidine alkaloids in human diet, *Mutation Research*, 443, 53-67, 1999.
9. Fu S., Shang T. Xiao P. Analysis of naphthoquinone pigments in some Chinese medicinal Zi Cao, *Yao-xue Xuebao*, 19, 921- 925, 1984.
10. Soler CM, Bado VB, Traore K, Bostick WM, Jones JW, Hoogenboom G. Soil organic carbon dynamics and crop yield for different crop rotations in a degraded

- ferruginous tropical soil in a semi-arid region: a simulation approach. *J Agric Sci.* 149, 579-593, 2011.
11. Mattocks A. R. Toxicity of pyrrolizidine alkaloids, *Nature*, 217, 723-728, 1968.
 12. Kretsi O., Aligiannis N., Skaltsounis A.L., Chinou I. B. Pyrrolizidine alkaloids from *Onosma leptantha*, *Helv. Chim.Acta*, 86, 3136-3140, 2003.
 13. El-Shazly A., Sarg T., Ateya A., Abdel Aziz E., El-Dahmy S., Witte L., Wink M. Pyrrolizidine and tetrahydroisoquinoline alkaloids from *Echium humile*, *Phytochemistry*, 42, 225-230, 1996.
 14. El-Shazly A., Sarg T., Witte L., Wink M. Pyrrolizidine alkaloids from *Cynoglossum creticum*, *Phytochemistry*, 42, 1217-1221, 1996.
 15. El-Shazly A., Sarg T., Ateya A., Abdel Aziz A., El-Dahmy S., Witte L., Wink M., Pyrrolizidine alkaloids from *Echium setosum* and *Echium vulgare*. *J. Nat. Prod.* 59, 310-313, 1996.
 16. El-Shazly A., Sarg T., Ateya A., Abdel Aziz E., Witte L., Wink M. Pyrrolizidine alkaloids of *Cynoglossum officinale* and *Cynoglossum amabile*, *Biochem. Sytem. Ecol.* 24, 415-421, 1996.
 17. Frölich C., Ober D., Hartmann T. Tissue distribution, core biosynthesis and diversification of pyrrolizidine alkaloids of the lycopsamine type in three Boraginaceae species, *Phytochemistry*, 68, 1026-1037, 2007.
 18. El-Shazly A., Abdel-Ghani A., Wink M. Pyrrolizidine alkaloids from *Onosma arenaria* (Boraginaceae). *Biochem. Sytem. Ecol.* 31, 477-485, 2003.
 19. Braca A., Bader A., Siciliano T., Morelli I., De Tommas, N. New pyrrolizidine alkaloids and glycosides from *Anchusa strigosa*. *Planta Medica*, 69, 835-841, 2003.
 20. Mroczek T., Ndjoko K., Głowniak K., Hostettmann K. On-line structure characterization of pyrrolizidine alkaloids in *Onosma stellulatum* and *Emilia coccinea* by liquid chromatography-ion-trap mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1056, 91-97, 2004.
 21. Mroczek T., Baj S., Chrobok A., Głowniak K., Screening for pyrrolizidine alkaloids in plant materials by electron ionization RP-HPLC-MS with thermabeam interface. *Biomed. Chromatogr.* 18, 745-751, 2004.
 22. Colegate S. M., Edgar J. A., Knill A. M., Lee S. T. Solid-phase extraction and HPLC-MS profiling of pyrrolizidine alkaloids and their N-oxides: a case study of *Echium plantagineum*. *Phytochem. Anal.* 16, 108-119, 2005.
 23. Alali F. Q., Tahboub Y. R., Ibrahim E. S., Qandil A. M., Tawaha K., Burgess J. P.; Sy A., Nakanishi Y., Kroll D. J., Oberlies N. H. Pyrrolizidine alkaloids from *Echium glomeratum* (Boraginaceae). *Phytochemistry*, 69, 2341-2346, 2008.
 24. Cao Y., Colegate S. M., Edgar J. A. Safety assessment of food and herbal products containing hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids, *Phytochem. Anal.* 19, 526-533, 2008.
 25. Hirono I. (ed.) (1887) Naturally occurring carcinogens of plant origin. Toxicology, pathology and biochemistry. Pyrrolizidine alkaloids. *Elsevier*, 25-51.
 26. Smith L. W., Culvenor C. C. J. Plant sources of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids. *J. Nat. Prod.*, 44, 129-152, 1981.
 27. Roeder E. Medicinal plants in Europe containing pyrrolizidine alkaloids. *Pharmazie*, 50, 83-98, 1995.
 28. Roeder E. Medicinal plants in China containing pyrrolizidine alkaloids. *Pharmazie*, 55, 711-726, 2000.
 29. Hartmann T., Toppel G. Senecionine N-oxide, the primary product of pyrrolizidine alkaloid biosynthesis in root cultures of *Senecio vulgaris*. *Phytochemistry*, 26, 1639-1643, 1987.
 30. Stegelmeier B.L., Edgar J.A., Colegate S.M., Gardner D.R., Schoch T.K., Coulombe R.A., Molyneux R.J. Pyrrolizidine alkaloids plants, metabolism and toxicity. *J. Nat. Toxins*, 8, 95-116, 1999.
 31. Kempf M., Reinhard A., Beuerle T. Pyrrolizidine alkaloids (PAs) in honey and pollen – legal regulation of PA levels in food and animal feed required. *Mol.Nutr. Food Res.* 54, 158-168, 2010.
 32. Wiedenfeld H. Plants containing pyrrolizidine alkaloids: toxicity and problems, *Food additives and Contaminants*, 28, 282-292, 2011.
 33. Mattocks A. R., Jukes R., (1992) The simple detection of potentially toxic pyrrolizidine alkaloids under “field” conditions. In: *Poisonous plants, proceedings of the third international symposium*. Ed. James L.F. et al., 553-555.

34. Segall H. J., Wilson D. W., Dallas J. L. Haddon W. F. *trans*-4-hydroxy-2-hexanal: a reactive metabolite from the macrocyclic pyrrolizidine alkaloid sene-ionine, *Science*, 229, 472-475, 1985.
35. Mattocks A. R., White I. N. H. Pyrrolic metabolites from non-toxic pyrrolizidine alkaloids, *Nature, New Biol.*, 231, 114-115, 1971.
36. Styles J., Ashby J., Mattocks A. R. Evaluation in vitro of several pyrrolizidine alkaloid carcinogens: observations on the essential pyrrolic nucleus. *Carcinogenesis* 1, 161-164, 1980.
37. Chen T., Mei N., Fu P.P. Genotoxicity of pyrrolizidine alkaloids. *J. Appl. Toxicol.* 30, 183-196, 2010.
38. EMA/HMPC/893108/2011, Public statement on the use of herbal medicinal products, containing toxic, unsaturated pyrrolizidine alkaloids (Pas), 06 November 2013.
39. Edgar J.A., Colegate S.M., Boppré M. Molyneux R.J. Pyrrolizidine alkaloids in food: a spectrum of potential health consequences. *Food Addit. Contam Part A* 28, 308-324, 2011.
40. Kempf M, Wittig, Schönfeld K, Cramer L, Schreier P. Beuerle T. Pyrrolizidine alkaloids in food: downstream contamination in the food chain caused by honey and pollen. *Food Addit. Contam.* 28, 325-331, 2011.
41. IPCS (1998) International Programme on Chemical Safety (WHO). Pyrrolizidine Alkaloids. Environmental Health Criteria 80. Geneva; <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc080.htm> [assessed 01.08.2011].
42. COT (2008) COT Statement on Pyrrolizidine Alkaloids in Food. Committee on toxicity of chemicals in food, consumer products and the environment. cot.food.gov.uk/pdfs/cotstatementpa200806.pdf [assessed 01.08.2011].
43. IARC (International Agency for Research on Cancer), IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 2002, vol. 82: Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. Lyon, France, IARC press.

The Controversy for the Validity of the Free Radical or Oxidative Stress Theory of Ageing

Recent Scientific Evidence for Oxidative Damage at Molecular Level, Animals and Ageing Population - based Studies

Athanasios Valavanidis¹, Thomais Vlachogianni¹, Michael Rallis²

¹Department of Chemistry, University of Athens, Panepistimioupolis Zografou, 15784 Athens, Greece

²Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology, University of Athens, Panepistimioupolis Zografou, 15784 Athens, Greece

Summary

The biological processes of aging, the longevity of multicellular organisms, and the role of genome have been the focus of scientific research for many decades. Various theories of aging have been suggested and supported by scientific evidence which can be basically subdivided into two directions: damage-based theories and programmed theories of aging. Despite recent advances in molecular biology and genetics, the mysteries that control human lifespan are yet to be unravelled. Currently, the Free Radical/Oxidative Stress Theory of Aging is the most popular explanation of how aging occurs at a molecular level in aerobic biological organisms. Past studies in invertebrates and rodents showed a correlation between increased lifespan and resistance to oxidative stress. Extensive scientific evidence support the free radical theory of aging (FRTA) or oxidative stress theory of aging (OSTA), which is manifested in levels of oxidative damage to membrane lipids, proteins and nuclear and mitochondrial DNA. But recent results of other studies using transgenic/

knockout mice that overexpress or down-regulate antioxidant enzymes challenge the veracity of this theory since animals show no increase in their lifespan. These results and other data seriously call into question the role of oxidative damage/stress in aging process in animals and support the idea that the theory requires significant modifications. Epidemiological evidence in support of free radical/oxidative stress theory of aging in humans was very difficult to measure and there were very limited studies until now. This review covers the basic aspects of various theories of aging and their major problems in developing a coherent aging theory that separates causes from effects. Also, it is obvious that it is extraordinarily difficult to predict which mechanistic theories of aging are correct. The review focus on the controversy of the FRTA/OSTA theory and the most recent papers which support or questioned the validity of the role of oxygen free radicals and the accumulation of oxidative damage in mitochondrial and cellular DNA in aging organisms and humans.

1. Introduction : Theories of Aging for Biological Organisms

Aging is a universal feature of multicellular biological organisms and is marked by a progressive decline in the function or degeneration of multiple cells and tissues. The biological processes of aging (or senescence) and the relationship of senescence, longevity and the genome can be found in some very important scientific publications.¹⁻⁵

There are many types of theories of aging which basically can be subdivided into two directions: a) damage-based and b) programmed theories of aging. Damage-based theories, as the name implies, support that aging results from a continuous process of damage accumulation (in basic biomolecules as proteins, enzymes, membrane lipids and cellular and mitochondrial DNA) originating in by-products of metabolism. These damages accumulate throughout the entire lifespan as by-product of normal cellular processes, or as a consequence of inefficient repair systems.⁵⁻⁷ For programmed theories, aging it is argued is not a result of random or stochastic process but rather driven by genetically regulated processes.⁸⁻¹⁰

Scientists agree that aging has a strong genetic component. Even damage-based theories of aging recognize that certain genetic factors, such as defensive or protective genes, play a role in aging. Likewise, programmed theories of aging recognize that some forms of damage contribute to aging and that environmental factors influence the outcome of aging to some degree. So the difference between these two camps lies in the underlying mechanism: damage-based theories argue that aging is predominantly a result of interactions with the environment and/or from endogenous chemical reactions and metabolic process.^{11,12} In the programmed theories scientists argued that aging is predetermined and occurs on a fixed schedule triggered by genetic programmes. It has been proposed that aging is a result of changes in gene expression that are either programmed or derived from DNA structural changes.^{13,14}

One of the major problems in developing a coherent aging theory is separating causes from effects. It is extraordinarily difficult to predict which

mechanistic theory of aging is correct. Evolutionary considerations suggest aging is caused not by active gene programming but by evolved limitations in somatic maintenance, resulting in a build-up of tissue and cellular damage. Ecological factors such as hazard rates and food availability influence the trade-offs between investing in growth, reproduction, and somatic survival, explaining why species evolved different life spans and why aging rate can sometimes be altered, for example, by dietary restriction. To understand the cell and molecular basis of aging is to unravel the multiplicity of mechanisms causing damage to accumulate and the complex array of systems working to keep damage at bay.^{15,16}

2. Programmed Theories of Aging

The programmed theory of aging has three sub-categories: a) *Programmed Longevity theory (or gene regulation theory of aging)* that argues aging is the result of a sequential switching on and off of certain genes, with senescence being defined as the time when age-associated deficits are manifested, b) *Endocrine Theory of aging (or neuroendocrine theory)* in which biological clocks act through hormones to control the pace of aging, c) *Immunological Theory of aging* where the immune system is programmed to decline over time, leading to an increased vulnerability to infectious disease and thus aging and death. It is well documented that the effectiveness of the immune system peaks at puberty and gradually declines thereafter with advance in age. For example, as one grows older, antibodies lose their effectiveness, and fewer new diseases can be combated effectively by the body, which causes cellular stress and eventual death.¹⁷⁻¹⁹

2.1 Longevity theory or gene regulation theory.

The theory that aging is the result of changes in gene expression has been proposed many decades ago. August Weismann (1834-1914, German theorist and experimental biologist) was one of the first biologists to use evolutionary arguments to explain aging. His initial idea was that there exists a specific death-mechanism designed by natural selection to eliminate the old members of a population. Proponents of this theory are interested

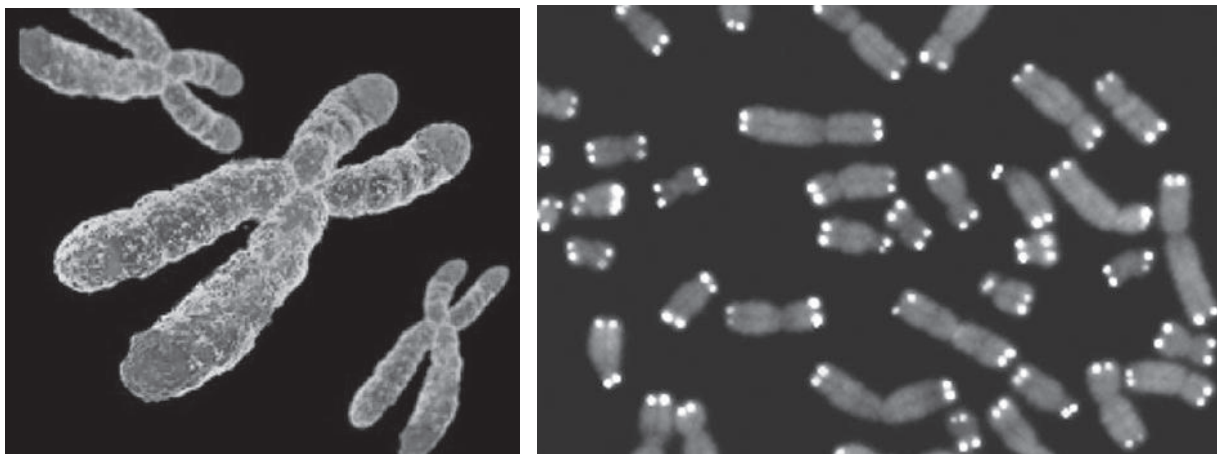


Figure 1. Telomeres play a significant role in cell fate and aging. EH Blackburn, CW Greider and JW Szostak won the Nobel Prize of Physiology or Medicine, 2009, for the discovery of telomeres and telomerase “How chromosomes are protected by telomere and the enzyme telomerase” (www.chem.uoa.gr, Επιστημονικά Θέματα, Βραβεία Νόμπελ)

in studying the human genome to see if there is an “aging code”.²⁰ A major milestone in aging research was the discovery of a fixed lifespan for cells in laboratory culture. In 1961, Leonard Hayflick found that normal human cells in tissue culture go through a finite number of cell divisions and then cease. This maximum number of divisions is called the “*Hayflick Limit*.” Hayflick found that fetal cells replicate around 100 times. But cells taken from a 70-yr old reach their limit after only 20 to 30 divisions.^{21,22}

In the last decades a large number of scientists experimented with aging mechanisms and metabolic processes, but discovering the biological basis of aging remained until now one of the greatest challenges for science. Research on the biology of aging has discovered a range of interventions and pathways that control aging rate, especially a signaling network that is sensitive to nutritional status and controls growth, stress resistance, and aging. This network includes the insulin/IGF-1 [insulin-like growth factor 1 (IGF-1), a protein that in humans is encoded by the *IGF1* gene]. A recent review collected the scientific evidence on the insulin/IGF-1 pathway that has been shown to affect lifespan and rate of aging in a variety of animals including worms, flies and mice. Genetic variation in this pathway may also affect human longevity. One gene, FOXO3A, a transcriptional factor homologous to daf-16, has been repeatedly

associated with increased lifespan in several studies in different ethnic populations.²³

Also, the network includes target of rapamycin (TOR) pathways [the mechanistic target of rapamycin (TOR), is a protein that in humans is encoded by the *MTOR* gene]. MTOR is a serine/threonine protein kinase that regulates cell growth, proliferation, motility, survival, protein synthesis, and transcription. Yet the biological processes upon which these pathways act to control life span remain unclear. A long-standing guiding assumption about aging is that it is caused by wear and tear, particularly damage at the molecular level by reactive oxygen species (ROS), including free radicals, generated as by-products of cellular metabolism. Yet many recent tests of the oxidative damage theory have come up negative. Recent scientific projects have opened a new phase in biogerontology in which fundamental assumptions about aging are being re-examined and revolutionary concepts are emerging.²⁴

The discovery of telomeres and the enzyme telomerase and their role in the protection of chromosomes added another interesting dimension to the theories of aging. Telomere is a region of repetitive nucleotide sequences at each end of a chromatid, which protects the end of the chromosome from deterioration or from fusion with neighbouring chromosomes. During chromosome replication, the enzymes

that duplicate DNA cannot continue their duplication all the way to the end of a chromosome, so in each duplication the end of the chromosome is shortened.²⁵⁻²⁷

Telomeres play a central role in cell fate and aging by adjusting the cellular response to stress (especially oxidative stress) and growth stimulation on the basis of previous cell divisions and DNA damage. The average telomere length is set and maintained in cells of the germline which typically express high levels of telomerase. In somatic cells, telomere length is very heterogeneous but typically declines with age, posing a barrier to tumour growth but also contributing to loss of cells with age.²⁸ Located at the ends of eukaryotic chromosomes and synthesized by telomerase, telomeres maintain the stabilization of chromosomes. Thus, the loss of telomeres' length may lead to DNA damage. The relationship between cellular senescence and telomere shortening is well established. Furthermore, telomere attrition occurs with age, and is proposed to play a fundamental role in the aging process and in the degeneration of humans by age-related diseases.^{29,30}

The discovery that longer telomeres in humans are statistically associated with longer life expectancies is not a surprise. Since then, it has been firmly established that telomere shortening imposes an individual fitness cost in a number of mammalian species, including humans. But telomere shortening is easily avoided by application of telomerase, an enzyme which is coded into nearly every eukaryotic genome, but whose expression is suppressed most of the time. The predominant assumption is that in higher organisms, shortening telomeres provide a firewall against tumour growth. A more straightforward interpretation is that telomere attrition provides an aging clock, reliably programming lifespans. The latter hypothesis is routinely rejected by most biologists because the benefit of programmed lifespan applies only to the community, and in fact the individual pays a substantial fitness cost. There is a long-standing scepticism that the concept of fitness can be applied on a communal level, and of group selection in general. But the cancer hypothesis is problematic as well. Animal studies indicate that there is a net fitness cost in sequestration of telomerase, even when cancer risk is lowered. The hypothesis of protection against

cancer has never been tested in animals that actually limit telomerase expression, but only in mice, whose lifespans are not telomerase-limited. Human medical evidence suggests a net aggravation of cancer risk from the sequestration of telomerase, because cells with short telomeres are at high risk of neoplastic transformation, and they also secrete cytokines that exacerbate inflammation. If telomeres are an aging clock, then telomerase makes an attractive target for medical technologies that seek to expand the human lifespans.³¹

2.2. *Neuroendocrine and neurochemical theories of aging*

Research showed that changes in hormone secretions, through the hypothalamic-pituitary feedback system, controls the pace of aging. Changes in the endocrine glands, such as the adrenal and thyroid glands, ovaries, and testes, are accompanied by corresponding declines in functional capacity. An example of this is the thinning of bones in women after menopause. Proponents of this theory use various natural and synthetic hormones, such as human growth hormone, DHEA, or estrogen replacement, to slow or reverse the aging process. Some theorists believe certain hormones, such as insulin or cortisol, actually accelerate aging and the development of degenerative diseases. An imbalance of neurochemicals in the brain hinders healthy cell division throughout the body. The theory states that aging occurs because of the decline in neurons and associated hormones during the lifespan, as one of the cyclic body functions regulated by "biological clocks," and then would undergo a continuum of sequential stages driven by nervous and endocrine signals.³²⁻³⁴

2.3 *Programmed decline in the immune system and aging*

The decline of the immune system in humans leads to increased vulnerability to infectious disease, senescence and eventual death. Some scientists suggested that the decreased immune function, especially in the thymus and bone marrow, is the basis for the lack of general well-being that leads to aging. Declines in immune system function can negatively affect the outcomes of many illnesses

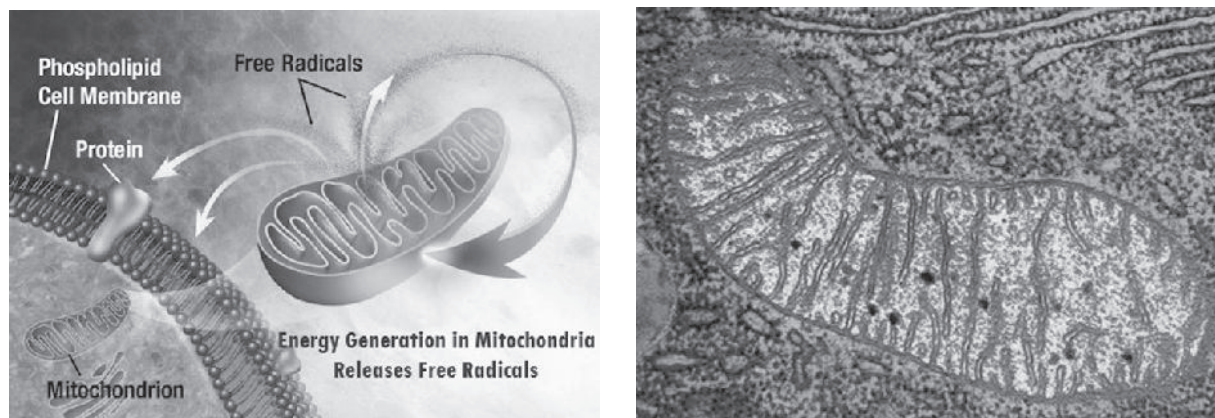


Figure 2. Mitochondria are important cellular organelles within eukaryotic cells that convert chemical energy from food into energy that cells can use in the form of adenosine triphosphate (ATP)

such as pneumonia, urinary tract infections, postoperative infections in the elderly adult. There is an age-associated decline in T-cell functioning, which is accompanied by a decrease in resistance. The reduction in immunologic activities also leads to an increase in autoimmune dysfunction with age. Examples of autoimmune diseases are rheumatoid arthritis, lupus, and multiple sclerosis. A breakdown in the body's immunological memory system causes it to mistake normal cells as foreign and these are attacked by the person's own immune system. Many biological data in humans support the notion that age-associated immune dysfunction may at least in part explain the aging process. Explanatory power may be enhanced by combination with other theories such as the free radical theory. Proponents of the immunological theory of aging believe that a healthy diet and lifestyle coupled with preventive health measures, such as influenza and pneumonia vaccinations and limiting exposure to pathogens, can support immune function and help prevent aging and untimely death.³⁵⁻³⁸

3. Damaged-based theories of aging

The general idea behind damage-based theories of aging is that all biological organisms slowly build-up various types of damages in fundamental macromolecules (e.g. oxidations in proteins, enzymes, membrane lipids, DNA) and their accumulation with age eventually leads to failure of critical organs like

the heart, lungs, or the whole body. Some scientists suggested that very important oxidative damages can take place in nucleotides affecting their critical functions propagating senescence processes. Transcription from damaged DNA can lead to errors in the synthesis of proteins which build-up over time and cause more errors in transcription, creating an amplifying loop that eventually kills the cell and leads to aging. Errors in DNA repair would also affect the accuracy of the flow of information in cells. Experiments showed that damaged proteins accumulate with age and enzymes lose catalytic activity. Membrane lipid peroxidation in cells is the cause of degenerative diseases and aging. This can lead to cellular dysfunction and accumulation of various forms of biochemical damage. Even though the initial hypothesis failed the test of time, some age-related diseases could be due to protein defects and accumulating of protein errors.^{39,40}

The Free Radical Theory of Aging (FRTA) was formulated and proposed by Denham Harman in the 1950s. The theory postulated that oxygen free radicals formed endoneously from normal biochemical metabolism processes play an important role in the aging process because increase oxidative damage to biological molecules in cells (proteins, enzymes, membrane lipids, cellular and mitochondrial DNA).⁴¹ The Free Radical Theory of Aging has been modified to the Oxidative Stress Theory of Aging (OSTA) because except of oxygen free radicals other

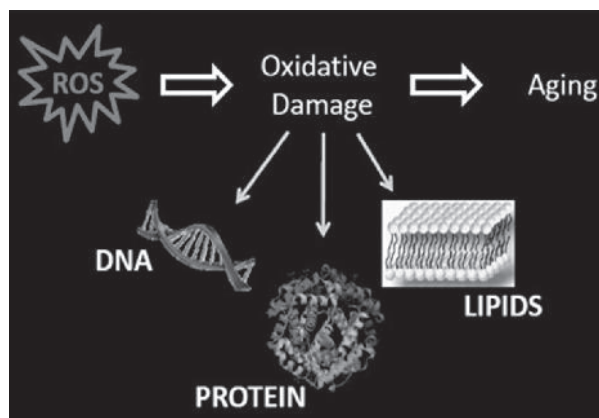


Figure 3. Free radicals and ROS in general are produced on a daily basis as part of normal metabolism in aerobic organisms and increase substantially from external factors (smoking, excessive food, exposure to radiation, UV sunlight, carcinogenic substances, etc). Antioxidant enzymes and low molecular weight antioxidants regulate the redox homeostasis in cells

chemical species such as peroxides, aldehydes and reactive oxidants (reactive oxygen species, ROS) also play a role in oxidative damage to cells.⁴² The FRTA theory gained credibility with the identification in 1969 of the enzyme superoxide dismutase (SOD), which provided the first compelling evidence of in vivo generation of superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$), and from the subsequent elucidation of elaborate antioxidant defenses.⁴³⁻⁴⁵ Gerontologists had long observed that biological species with higher metabolic rates have shorter maximum life span potential they age faster. In fact, it had been proposed at the turn of the century that energy consumption per se was responsible for senescence, a concept referred to as the “rate of living” hypothesis. The realization that energy consumption by mitochondria may result in $O_2^{\cdot-}$ production linked the free radical theory and the rate of living theory irrevocably: a faster rate of respiration, associated with a greater generation of oxygen radicals, hastens aging. By now, the two concepts have essentially merged.⁴⁶

A refinement of free radical theory of aging focused on mitochondrial oxidative damage. The mitochondrial respiratory chain is a major site of production of ROS in the cell and it has therefore been suggested that mitochondria are the prime targets

for oxidative damage. In recent years a refinement of the FRTA into the mitochondrial free radical theory of aging (MFRTA), considers mtDNA (mitochondrial DNA) mutations to be the initiating, primary event in the aging process. Although widely accepted, this theory remains unproven, because the evidence supporting it is largely correlative. For example, long-lived animals produce fewer free radicals and have lower oxidative damage levels in their tissues. However, this does not prove that free radical generation determines lifespan. At its most orthodox MFRTA proposes that these free radicals damage mitochondrial DNA (mtDNA) and in turn provoke mutations that alter mitochondrial function.^{47,48}

Over the past decade, it has been progressively appreciated that oxygen free radicals and reactive oxygen and nitrogen species (ROS and NOS) can function as important signalling molecules in various metabolic mechanisms of biological species, facilitating adaptation to stress in a wide variety of physiological situations. So, the hypothesis that ROS generation and oxidative damage is the main cause of aging has been challenged.

Recent studies to examine the role of mitochondrial oxidative stress in aging used transgenic and knockout mouse models with altered expression of mitochondrial antioxidant enzymes and mutant mice models that have been genetically manipulated to increase mitochondrial deletions or mutations. The majority of these studies do not support a clear role for mitochondrial oxidative stress or a vicious cycle of oxidative damage in the determination of lifespan in mice. However, as the reviewers emphasised, several key questions remain to be addressed and clearly more studies are required to fully understand the role of mitochondria in age-related disease and aging.⁴⁹ These studies also indicate another important aspect. The incidence of many age-related diseases and pathologies is altered in these mouse models, suggesting that oxidative stress does significantly influence some aspects of the aging process. It is suggested that oxidative stress may affect aging in disparate patterns among biological tissues or under various environmental conditions. A recent review summarized the current literature regarding aging in antioxidant mutant mice and offer several

interpretations of their support of the Oxidative Stress Theory of Aging.⁵⁰

4. The controversy: studies supporting and questioning the validity of free radical/oxidative stress theory of aging

In the last decade the validity of the free radical or oxidative stress theory of aging and the role of ROS in biological multicellular organisms has been questioned. But despite these claims by various scientists and their experimental evidence, other scientists favour the oxidative stress role and project positive results from various experiments that provide distinct support for the FRTA or OSTA theory. The story of the controversy and a balanced position of the latest papers on the subject has been presented in a 2013 review.⁵¹

The controversy for the validity of FRTA or OSTA started by a group of scientists in 2009. They argued that while data from studies in invertebrates (*Caenorhabditis elegans* and *Drosophila melanogaster*) and rodents show correlation between increased lifespan and resistance to oxidative stress, direct evidence showing alterations of oxidative damage or oxidative stress play a role in aging are limited to a few studies with transgenic *Drosophila* that overexpress antioxidant enzymes. They contacted laboratory studies with mice on the effect of under- or overexpressing a large number and wide variety of genes coding for antioxidant enzymes. The data called into question the hypothesis that alterations in oxidative damage/stress play a role in the longevity of mice.⁵²

In contrast, in 2008, Moosmann and Behl (*Dpt Pathobiochemistry, J. Gutenberg University, Medical School, Mainz, Germany*). reported that a meta-examination of genome sequences from 248 animal species (mammals, birds, fish, insects, etc) with known maximum lifespan revealed that the frequency with which cysteine amino acid is encoded by mitochondrial DNA (mtDNA) is a specific and phylogenetically ubiquitous molecular indicator of aerobic longevity. Long-lived species synthesize respiratory chain complexes which are depleted of cysteine. Cysteine depletion was found on a proteome-wide scale in aerobic vs anaerobic bacteria, archaea, etc.

The scientists concluded that protein-coding genes on mtDNA constitute a quantitative trait locus for aerobic longevity, wherein the oxidation of mitochondrially translated cysteine mediates the coupling of trait and locus. These results provide distinct support for the FRTA.⁵³ Also, the well known scientists Nemoto and Finkel (Cardiovascular Branch, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA) stated in two reviews (2004-2005) that numerous cell cultures, invertebrate, and mammalian models lend support to the FRTA. They reviewed the evidence that both supports and conflicts with the free radical theory and examined the growing link between mitochondrial metabolism, oxidant formation, and the biology of aging. In the second paper they analysed the pro and against arguments on the FRTA, and in their final suggestion they concluded that “the cellular effects of free radicals represent the most likely contender to explain the aging process across a wide range of species”.^{54,55}

In 2005 the well known scientific group in the department of Genetics and Medical Genetics, (University of Wisconsin, USA) under Leeuwenburgh and Prolla, published their experimental results with mice expressing a proofreading-deficient version of the mitochondrial DNA polymerase γ (POLG) which accumulate mtDNA mutations and display features of accelerated aging. The results suggested that accumulation of mtDNA mutations that promote apoptosis may be a central mechanism driving mammalian aging.⁵⁷ In a joint paper by the teams of Prolla, Barja, and Leeuwenburgh (2007) the group studied the differences in longevity between mice (B6 mouse strain) of different sexes. They tested the assumption that female estrogen levels protect from oxidative stress and thus increase longevity. Experiments measured key parameters of mitochondrial bioenergetics, oxidative stress and apoptosis. The results showed no differences in longevity between males and females in this mouse strain, although estrogen levels are higher in females. They did not find any differences in heart, skeletal muscle and liver mitochondrial oxygen consumption and ATP content between male and female mice. Moreover, mitochondrial H_2O_2 generation and oxidative stress levels and concentration of 8-hydroxy-2'-

deoxyguanosine (a special mutation caused by hydroxyl free radical, HO[•]) in mitochondrial DNA were similar in both sexes. In addition, markers of apoptosis were not different between male and female mice. These data showed that there are no differences in mitochondrial bioenergetics, oxidative stress and apoptosis due to gender, supporting the MFRTA and indicating that oxidative stress generation independent of estrogen levels determined aging rate.⁵⁷

In a review of 2010 Ristow and Zarse (University of Jena, Germany) disputed the FTRA theory. They suggested that calorie restriction and specifically reduced glucose metabolism induces mitochondrial metabolism to extend lifespan in various model organisms. In conflict with Harman's FTRA theory, according to these scientists, these effects may be due to increased formation of ROS within the mitochondria causing an adaptive response that culminates in subsequently increased stress resistance assumed to ultimately cause a long-term reduction of oxidative stress. This type of retrograde response has been named mitochondrial hormesis or mitohormesis (hormesis is a controversial concept in which it has been demonstrated that the induction of a stress can lengthen lifespan in some species). Abrogation of this mitochondrial ROS signal by antioxidants impairs the lifespan-extending and health-promoting capabilities of glucose restriction and physical exercise. These findings indicate that ROS are essential signaling molecules which are required to promote health and longevity.⁵⁸

The theory of FTRA was tested by Yank and Hekimi (Department of Biology, McGill University of Montréal, Canada) in *Caenorhabditis elegans* with mutations in genes that decrease electron transport and greatly increase the longevity of *C. elegans* by a mechanism that is distinct from that induced by reducing their level of expression by RNAi. Electron transport is a major source of the superoxide anion (O₂^{•-}), which in turn generates several types of toxic ROS, causing oxidative stress and aging. These observations have suggested that the longevity of such mitochondrial mutants might result from a reduction in ROS generation, which would be consistent with the mitochondrial OSTA. In the past it was difficult to measure ROS directly in living animals, and this has

held back progress in determining their function in aging. Yank and Hekimi have adapted a technique of flow cytometry to directly measure ROS levels in isolated mitochondria. Their findings were not consistent with the mitochondrial oxidative stress theory of aging. Instead they showed that increased superoxide generation acts as a signal in young mutant animals to trigger changes of gene expression that prevent or attenuate the effects of subsequent aging. They proposed that superoxide is generated as a protective signal in response to molecular damage sustained during wild-type aging as well. Their model provided, according to the scientists, a new explanation for the well-documented correlation between ROS and the aged phenotype as a gradual increase of molecular damage during aging would trigger a gradually stronger ROS response.⁵⁹

Sahin and colleagues from the Belfer Institute for Applied Cancer Science, Dana-Farber Cancer Institute (Boston, MA, USA) proposed in *Nature* a unified theory of aging involving telomere dysfunction, p53, impaired mitochondrial biogenesis and increased production of ROS. According to their studies telomere dysfunction activates p53-mediated cellular growth arrest, senescence and apoptosis to drive progressive atrophy and functional decline in high-turnover tissues. The broader adverse impact of telomere dysfunction across many tissues including more quiescent systems prompted transcriptomic network analyses to identify common mechanisms operative in haematopoietic stem cells, heart and liver. Their studies in mice revealed profound repression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma, co-activator 1 alpha and beta (*PGC-1α* and *PGC-1β*) and the downstream network in mice null for either telomerase reverse transcriptase (*Tert*) or telomerase RNA component (*Terc*) genes. Consistent with PGCs as master regulators of mitochondrial physiology and metabolism, telomere dysfunction is associated with impaired mitochondrial biogenesis and function, decreased gluconeogenesis, cardiomyopathy, and increased ROS. The research group demonstrated that telomere dysfunction activates p53 which in turn binds and represses *PGC-1α* and *PGC-1β* promoters, thereby forging a direct link between telomere and mitochondrial biology. They propose that the unified

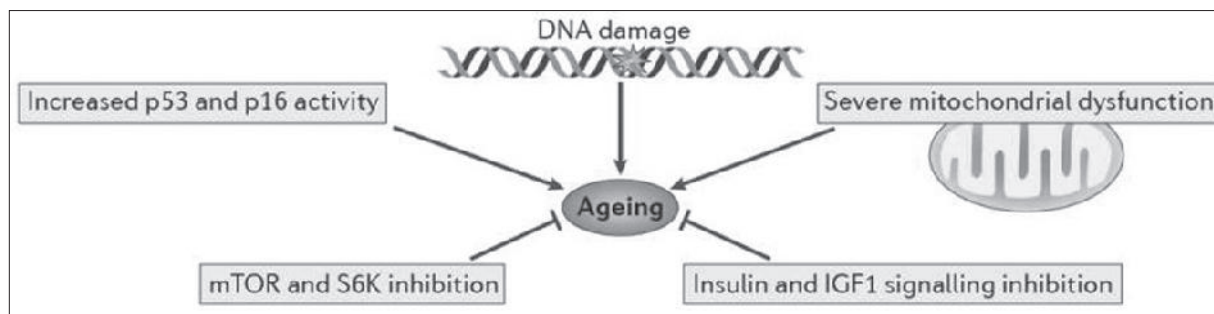


Figure 4. According to Sahin and DePinto major cellular pathways are implicated in the ageing process. Increased DNA damage, p53 and p16 activity and mitochondrial dysfunction have been shown to promote functional decline and aging. By contrast, decreased activity in the mammalian target of rapamycin (mTOR), S6 kinase (S6K) and the insulin and insulin-like growth factor 1 (IGF1) pathways increase lifespan in different organisms

theory is the telomere–p53–PGC axis that contributes to organ and metabolic failure and to diminishing organismal fitness in the setting of telomere dysfunction.⁶⁰ Commenting on the validity of the suggestions, Kelly in the same issue of *Nature*, stated “that the paper describe a very important role of ROS in a unified theory of aging”.⁶¹

Extending further to their initial suggestion in 2012 Sahin and DePinto proposed an axis of aging involving DNA and telomere damage, p53 and mitochondria dysfunction. In their model, increased DNA oxidative damage (telomere attrition, impaired DNA repair and increased ROS levels) activates p53, and increasing levels of p53 ultimately lead to compromised mitochondrial function through the repression of PPARγ co-activator 1α (PGC1α) and PGC1β (which promote mitochondrial biogenesis). This p53-mediated mitochondrial dysfunction triggers a cycle of DNA damage (by affecting the production of ROS, iron–sulphur (Fe–S) clusters and NADH/NAD), which in turn leads to further p53 activation and mitochondrial compromise. They thought that oxidative damage to DNA and mitochondrial degeneration are prime instigators of aging in biological organisms but not in isolation. A molecular circuit directly links DNA damage and decline of mitochondrial biogenesis and function via p53 (p53 gene is a tumour suppressor gene, tumour protein p53 has been described as “the guardian of the genome” because of its role in conserving stability by preventing genome mutation and is encoded by homologous genes in various organisms such as *TP53* in humans). This axis of aging may account for both or-

gan decline and disease development associated with advanced age and could illuminate a path for the development of relevant therapeutics.⁶²

Also, other scientists suggested that the oxidative stress theory of aging has provided the best possible explanation for the processes which accompany aging despite the questions raised for its validity lately. They have conducted experiments to determine an array of oxidative stress parameters in blood of male rats at various intervals (1, 4, 8, 12, 18 and 24 months) during their entire lifespan. Established protocols were used to measure plasma antioxidant capacity, erythrocyte plasma membrane redox system, lipid and protein oxidation in erythrocytes and plasma, and erythrocyte glutathione. The results provided direct evidence that oxidative stress is minimal till approximately 1/3 of the total lifespan (8 months) and there is a spurt in oxidative stress between 8 and 12 months. The identification of a critical period in the lifespan of rats coinciding with a spurt in oxidative stress is an interesting finding. No such report is available in humans or in any other model systems during aging.⁶³

Cunningham et al. (2015, Barshop Institute for Longevity and Aging Studies, The University of Texas, San Antonio) argued in a recent paper that in spite of intensive study, there is still controversy about the FRTA/OSTA theory of aging, particularly in mammals. The scientific team conducted the first detailed studies on the role of thioredoxin (Trx) in the cytosol (Trx1) and in mitochondria (Trx2) on oxidative stress and aging using unique mouse models either overexpressing or down-regulating Trx1 or Trx2. The

results indicate that: a) oxidative stress and subsequent changes in signaling pathways could have different pathophysiological impacts at different stages of mice's life; b) changes in redox-sensitive signalling controlled by levels of oxidative stress and redox state could play more important roles in pathophysiology than accumulation of oxidative damage; c) changes in oxidative stress and redox state in different cellular compartments (cytosol, mitochondria, or nucleus) could play different roles in pathophysiology during aging, and d) the roles of oxidative stress and redox state could have different pathophysiological consequences in different organs/tissues/cells or pathophysiological conditions. According to Cunningham et al more studies are needed to critically test the role of oxidative stress on aging and investigate changes in redox-sensitive signalling pathways.⁶⁴

In 2014 Stuart and colleagues reviewed the evidence for the MFRTA theory that has served as a touchstone for research into the biology of aging. The MFRTA suggests that oxidative damage to cellular macromolecules caused by ROS originating from mitochondria, accumulates in cells over an animal's lifespan and eventually leads to the dysfunction and failure that characterizes aging. A central prediction of the theory is that the ability to ameliorate or slow this process should be associated with a slowed rate of aging and thus increased lifespan. A vast pool of data bearing on this idea have been published. ROS production, neutralization and macromolecule repair have all been extensively studied in the context of longevity. They reviewed experimental evidence from comparisons between naturally long- or short-lived animal species, from calorie restricted animals, and from genetically modified animals and weigh the strength of results supporting the MFRTA. Viewed as a whole, the data accumulated from these studies have too often failed to support the theory. Well controlled studies from the past decade in particular have isolated ROS as an experimental variable and have shown no relationship between its production or neutralization and aging or longevity. Instead, a role for mitochondrial ROS as intracellular messengers involved in the regulation of some basic cellular processes, such as proliferation, differentiation and death, has emerged. If mitochondrial ROS are involved in the aging process, it

seems very likely it will be via highly specific and regulated cellular processes and not through indiscriminate oxidative damage to macromolecules.⁶⁵

Biologists Lagouge and Larsson (Dpt. Mitochondrial Biology, Max Planck Institute for Biology of Aging, Cologne, Germany) questioned the MFRTA theory of aging. According to their arguments evidence from an increasing number of experimental studies has suggested that mtDNA mutations may be generated by replication errors rather than by accumulated oxidative damage. Furthermore, interventions to modulate ROS levels in humans and animal models have not produced consistent results in terms of delaying disease progression and extending lifespan. They stated a number of recent experimental findings that strongly question the MFRTA leading to the emergence of new theories of how age-associated mitochondrial dysfunction may lead to aging. These new hypotheses are mainly based on the underlying notion that, despite their deleterious role, ROS are essential signalling molecules that mediate stress responses in general and the stress response to age-dependent damage in particular. They suggest that this novel view of ROS roles has a clear impact on the interpretation of studies in which antioxidants have been used to treat human age-related diseases commonly linked to oxidative stress.⁶⁶

According to gerontologists Freitas and de Magalhães (Integrative Genomics of Aging Group, Institute of Integrative Biology, University of Liverpool), the idea that damage to the DNA is the crucial cause of aging remains a powerful one. DNA damage and mutations of different types clearly accumulate with age in mammalian tissues. Human progeroid syndromes resulting in what appears to be accelerated aging have been linked to defects in DNA repair or processing, suggesting that elevated levels of DNA damage can accelerate physiological decline and the development of age-related diseases. Genetic manipulations of DNA repair pathways in mice further strengthen this view and also indicate that disruption of specific pathways, such as nucleotide excision repair and non-homologous end joining, is more strongly associated with premature aging phenotypes. Delaying aging in mice by decreasing levels of DNA damage, however, has not been achieved yet, perhaps due to the complexity in-

herent to DNA repair and DNA damage response pathways. Another open question is whether DNA repair optimization is involved in the evolution of species longevity, and they suggested that the way cells from different organisms respond to DNA damage may be crucial in species differences in aging. Taken together, the data suggest a major role of DNA damage in the modulation of longevity, possibly through effects on cell dysfunction and loss, although understanding how to modify DNA damage repair and response systems to delay aging remains a crucial challenge.⁶⁷

Support for the MFRTA provided in 2014 by another well known scientist Gustavo Barja (Dpt Animal Physiology II, Faculty of Biological Sciences, Complutense University, Madrid, Spain). In two extensive reviews he suggested that two parameters correlated with species longevity in the right sense: the mitochondrial rate of reactive oxygen species (mitROS) production and the degree of fatty acid unsaturation of tissue membranes which are both are low in long-lived animals. In addition, the best-known manipulation that extends longevity, dietary restriction, also decreases the rate of mitROS production and oxidative damage to mtDNA. The scientific information available until now supports a MFRTA focused on low generation of endogenous damage and low sensitivity of cellular membranes to oxidation in long-lived animals.^{68,69} Other scientists, in a review of 2015, argued that cellular senescence is a process that results from a variety of stresses (oxidative damage, DNA mutations, etc), leading to a state of irreversible growth arrest. Among all these stress effects the mitochondrial is an effective inducer of cellular senescence, but the mechanisms by which mitochondria regulate permanent cell growth arrest are largely unexplored. They noted that mitochondrial signaling pathways that participate in establishing cellular senescence are very important. They discussed the role of mitochondrial ROS in aerobic organisms, mitochondrial dynamics (fission and fusion), the electron transport chain (ETC), bioenergetic balance, redox state, metabolic signature, and calcium homeostasis in controlling cellular growth arrest and induce cellular senescence. Together, these pathways provide a broader perspective for studying the contribution of mitochondrial stress to aging, linking mi-

tochondrial dysfunction and aging through the process of cellular senescence.⁷⁰

Also, Japanese scientists published in 2015 a paper supporting the FRTA theory based on a modified superoxide theory [it was a very important discovery by Fridovich who in 1969 identified CuZnSOD and in 1973 manganese superoxide dismutase (Mn-SOD) and proposed “the Superoxide Theory” though the production of $O_2^{\cdot-}$ and ROS in aerobic organisms]. Superoxide anion is considered to be a major factor in oxidant toxicity in biological organisms, and mitochondrial MnSOD enzymes (which are a major source of $O_2^{\cdot-}$) constitute an essential defense against superoxide anion oxidative damage. The reaction of superoxide generated from mitochondria with nitric oxide (NO) is faster than SOD catalyzed reaction, and produces the highly oxidant peroxynitrite (ONOOH). Based on research conducted after Fridovich’s seminal studies, the Japanese scientists proposed a modified superoxide theory on aging, i.e., superoxide anion is the origin of reactive oxygen and nitrogen species (ROS & NOS) and, as such, causes various redox related diseases and promotes mechanisms of aging.⁷¹

5. Epidemiological and nutritional intervention evidence

Epidemiological evidence in support of free radical/oxidative stress theory of aging in humans was very difficult to measure and there were very limited studies in the last decade. But recently (2015) a group of scientists (including Prof. Antonia Trichopoulou from Greece) measured derivatives of reactive oxygen metabolites (d-ROM) as a proxy for the ROS concentration and total thiol levels (TTL) as a proxy for the redox control status in 2,932 participants of a population-based cohort study from Germany. The median age of the population was 70 years of whom 120 participants died (mean follow-up of 3.3 years). The epidemiological study found that oxidative stress biomarkers were associated with all-cause mortality in models adjusted for age, sex, education, smoking, physical activity, and alcohol consumption. Adding diseases, the inflammatory marker C-reactive protein or a cumulative somatic morbidity index did not alter the results for TTL. However, the association of d-ROM and mortality was attenuated and no longer

statistically significant after adding C-reactive protein and the somatic morbidity index to the model. So, the results of this particular epidemiological cohort study added supportive evidence of a different kind to the FRTA or OSTA theories of aging.⁷²

Another epidemiological study in 2004 aimed at the correlation between the free radical levels and the psychophysical health state of 125 ultraoctagenarian (80-89 years of age) in an East-Sicilian population (Italy). The free radical effects were measured by using the free radical analytical system (FRAS) assessing the derivatives of ROS metabolites (D-ROMs). The psycho-physical state of the subjects was estimated by means of the mini mental state examination (MMSE), geriatric depression scale (GDS), activities of daily living (ADL) and instrumental activities of daily living (IADL). The nutritional state and the physical activity were evaluated through the mini nutritional assessment (MNA) and the physical performance test (PPT). The results showed statistically significant negative correlation between the free radical levels and the cognitive performance and the levels of autonomy and autosufficiency, and free radical levels and the nutritional status. It was concluded that it is difficult to define the exact role of free radicals in the determination of aging pattern, but they may be considered without any doubt as true “markers” of an enhanced oxidative stress, accompanying a non-successful aging process.⁷³

A similar Italian study in 2013 evaluated the correlation between the oxidative balance and nutritional profile and/or psychopathological status, the oxidative balance and nutritional profile and/or psychopathological status in an ultraoctagenarian population (24 subjects, 16 were over ninety-year-old, 9 of them were females) living in a small country town, Orria (Salerno, South Italy). Effects were measured by routine specific serum tests, such as d-ROMs (reactive oxygen metabolites) test and BAP (biological antioxidant potential) test. The psycho-physical state of the subjects was estimated by means of the mini mental state examination (MMSE), activities of daily living (ADL) and instrumental activities of daily living (IADL). The nutritional state and the physical activity of the subjects were evaluated through the mini nutritional assessment (MNA). The study found that an ex-

cessive oxidative stress influenced the psychophysical state of the elderly, which subsequently exerted negative effects on the quality of life as well as the lifespan of the subjects.^{74,75}

In the last decade caloric (or calorie) restriction (consumption of restricted diet based on low calorie intake) has been advanced as a scientific nutritional intervention that has consistently been shown to extend lifespan and ameliorate aging-related degenerative diseases.^{76,77} The basic argument for these studies is that low caloric intake and restricted diet reduces ROS generation and helps in upregulation of Sirtuins and related protective pathways against aging. Sirtuin 1, also known as NAD-dependent deacetylase sirtuin-1, is a protein that in humans is encoded by the SIRT1 gene. SIRT1 stands for sirtuin (silent mating type information regulation 2 homolog). SIRT1 is an enzyme that deacetylates proteins that contribute to cellular regulation, reaction to stressors and longevity.⁷⁸ Scientists investigated an alternative dietary approach (since long term caloric restriction in humans is not easy to apply) which is called intermittent fasting diet (acting in similar biological pathways). The study used 24 healthy individuals (in a double crossover, double blinded randomized clinical trial) who maintained overall energy balance by alternating between days of fasting (25% of normal caloric intake) and feasting (175% of normal). Participants underwent 2-3 week treatment periods: intermittent fasting and intermittent fasting with antioxidant (Vitamins C and E) supplementation and found the diet tolerable. The results detected a marginal increase (2.7%) in SIRT3 expression due to the intermittent fasting diet, but no change in expression of other genes or oxidative stress markers. Also, it was observed that intermittent fasting decreased plasma insulin levels (1.01 uU/mL).⁷⁹

Another study analysed the relationship of antioxidant and pro-oxidant factors of the diet and biomarkers of lipoprotein oxidation in a typical Mediterranean population. The cross-sectional prospective study, involved 815 randomly selected subjects (425 women and 390 men, for 3 years 2005-2007, NE Spain). Dietary assessment (3-day food records), iron biomarkers (serum ferritin, serum iron and transferrin saturation), biochemical markers of lipoperoxida-

tion (TBARS), antioxidant capacity (ORAC) and CRP (C-Reactive Protein) were determined. The food pattern was characterized by high consumption of vegetables, fruit, fish, olive oil and red wine, all have been associated with improvements in the total antioxidant capacity. Also, high body iron levels are known to contribute to increases of oxidative stress by the generation of ROS. The results showed that lipoperoxidation increased by age but no differences were observed by sex. Antioxidant capacity is independent of age and sex. In general, increasing age, tobacco, heme iron intake from meat and fish and transferrin saturation were independently and positively associated with TBARS, while non-heme iron was negatively associated. Vegetables, vitamin C intake and serum ferritin were positively associated with ORAC, whereas saturated fatty acids and meat intake were negatively associated. The highest intake of dietary non-heme iron, vegetables and vitamin C intake exerts a protective effect against oxidation while the highest intake of dietary heme iron from meat and fish and saturated fatty acids are associated with increased oxidative stress.⁸⁰

Japan ranks internationally at the top in average life expectancies: with 86.61 years for women and 80.21 years for men. Japan in 2014 had 46.21 centenarians for every 100,000 people. Japanese scientists investigated the FRTA theory with Okinawa centenarians (population 1,3 million, also known as one of the longest-lived people in the world). Japanese scientists investigated cell membrane LPO (lipid peroxidation), SOD (superoxide dismutase, enzyme quenching superoxide anions), and vitamin E as potential factors in human aging and longevity. Antioxidants and vitamins play an important role in quenching ROS and reduce oxidative damage. Scientists compared plasma lipid peroxide and vitamin E-plasma and intracellular tocopherol levels (total α , β , and γ), in centenarians and compared with younger controls. Results showed that both LPO and vitamin E tocopherols were lower in centenarians, with the exception of intracellular β -tocopherol, which was significantly higher in centenarians versus younger controls. There were no significant differences between age groups for tocopherol: cholesterol and tocopherol: LPO ratios. They concluded that the low plasma level of LPO in Okinawan centenarians, compared to younger controls, argues for

protection against oxidative stress in the centenarian population and is consistent with the predictions of the FRTA theory, although the results do not strongly support a role for vitamin E in this phenomenon.⁸¹

6. Other modern theories of aging

Despite recent advances in molecular biology and genetics, the mysteries that control human lifespan are yet to be unravelled. The most widely accepted overall theory of aging is the evolutionary senescence theory of aging. Unlike the earlier programmed theory of evolution and aging, which tried to find reasons why evolution might favour aging, evolutionary senescence theory focuses on the failure of natural selection to affect late life traits. Evolutionary theories of aging and longevity are those theories that try to explain the remarkable differences in observed aging rates and longevity records across different biological species (compare, for example, mice and humans) through interplay between the processes of mutation and selection.^{82,83}

6.1. Evolutionary senescence - Mutation accumulation theory

The first modern, successful theory of mammal aging was formulated by Peter Medawar in 1952 (British biologist, 1915-1987, he was awarded the 1960 Nobel Prize in Physiology or Medicine). His idea was that aging was a matter of neglect. Nature is a highly competitive place, and almost all animals in nature die before they attain old age. Therefore, there is not much reason why the body should remain fit for the long haul – not much selection pressure for traits that would maintain viability past the time when most animals would be dead anyway, killed by predators, disease, or accident. Unlike the earlier programmed theory of evolution and aging, which tried to find reasons why evolution might favour aging, the evolutionary senescence theory focuses on the failure of natural selection to affect late life traits. Natural selection, because it operates via reproduction, can have little effect on later life. In the wild, predation and accidents guarantee that there are always more younger individuals reproducing than older ones. Genes and mutations that have harmful effects but appear only after reproduction is over do not affect reproductive success and

therefore can be passed on to future generations. Peter Medawar proposed that the inability of natural selection to influence late-life traits could mean that genes with detrimental late life effects could continue to be passed from generation to generation. This theory of aging is called the mutation accumulation theory.^{84,85}

6.2. *Theory of antagonistic pleiotropy*

In 1957 George Williams (1926-2010, American evolutionary biologist, Dpt of Natural Sciences, Michigan State University, USA) formulated the theory of “antagonistic pleiotropy”, meaning that some genes that increase the odds of successful reproduction early in life may have deleterious effects later in life. Because the gene’s harmful effects do not appear until after reproduction is over, they cannot be eliminated through natural selection. An example of antagonistic pleiotropy in humans is p53, a gene that directs damaged cells to stop reproducing or die. The gene helps prevent cancer in younger people, but may be partly responsible for aging by impairing the body’s ability to renew deteriorating tissues. Because of antagonistic pleiotropy, it is likely that tinkering with genes to improve late-life fitness could have a detrimental effect on health at younger ages. Much experimental evidence exists to support the basic premises of the evolutionary senescence theory of aging.⁸⁶⁻⁸⁸

Antagonistic pleiotropy theory of aging has not been verified. Experimental biologists have looked for the genes that cause aging, and since about 1990 the technology has been available to find them efficiently. Of the many aging genes that have been reported, some seem to enhance fertility early in life, or to carry other benefits. But there are other aging genes for which no such corresponding benefit has been identified. Current evidence does not seem to fully support the common view according to which cellular senescence is a case of antagonistic pleiotropy in humans. This is mainly because clear evidence is lacking of alleged detriments of cellular senescence specifically at old ages and because its beneficial consequences may play a role throughout life. Evolutionary hypotheses on the origin and the adaptive value of cellular senescence may be better understood and put to the test only if, in addition to studying the mechanistic as-

pects of cellular senescence, a larger-scale perspective is taken on the impact of cellular senescence-influencing genotypes on human survival at different ages.⁸⁹

6.3. *The “disposable soma” theory of aging*

In the 1970s, Thomas Kirkwood (biologist and professor of medicine, Institute for Aging, University of Newcastle) added to the evolutionary biology theory of aging with his “disposable soma” theory. The theory suggests that biological organisms have to balance the demands of maintaining their body cells, or soma, and reproducing.^{20,90-92} Because an organism invests resources into reproduction, over time mutations and other cellular damage accumulate in the soma because the body cannot repair all of it. The idea explained some of the disparity in lifespan between different types of organisms. Humans that have few predators can allocate more resources to repairing physical cellular damage since they will be able to reproduce over a longer period of time. A caveat to the “disposable soma” theory suggests that time, rather than energy, is a limiting resource that may be critical to an organism. The concept is that each organism must reproduce in an optimal period in order to ensure the greatest chance of success for the offspring. The “disposable soma” theory seems to make sense on a philosophical level but has many problems if one looks at it in any detail. One obvious issue is that it has not been demonstrated that “maintenance and repair” actually takes a significant amount of effort or resources when compared to the energy and resources required by the day-to-day existence of an organism much less the initial growth of the organism. Despite the multiple difficulties, the “disposable soma” theory is among the most respected theories that are compatible with traditional evolutionary theories. The “disposable soma” theory proposes a trade-off between fertility and longevity but existing findings on this association have been mixed.⁹³⁻⁹⁵

6.4. *The DNA damage theory of aging*

Nuclear and mitochondrial DNA damage can contribute to aging either indirectly (by increasing apoptosis or cellular senescence) or directly (by increasing cell dysfunction). This theory proposes that aging is a consequence of unrepaired accumulation of natu-

rally occurring damages (abnormal alterations) in nuclear and mitochondrial DNA. Nuclear DNA damage can contribute to aging either indirectly (by increasing apoptosis or cellular senescence) or directly (by increasing cell dysfunction). In humans and other mammals, cellular DNA damage (including oxidative damage by ROS) occurs frequently on a daily basis as part of physiological metabolism. Fortunately, living cells through evolutionary process have evolved with intelligent repair enzymes that continuously protect DNA from such damages. A number of mechanisms to detect and repair the various types of damage occur to DNA, no matter whether this damage is caused by the environment or by errors in replication. Because DNA is a molecule that plays a critical role in cell division, control of DNA repair is closely tied to regulation of the cell cycle. In eukaryotic cells one of the repair process is known as nucleotide excision repair (NER), a complex process that relies on the products of approximately 30 genes. DNA N-glycosylases are base excision-repair proteins that locate and cleave damaged bases from DNA as the first step in restoring the genetic blueprint. Another mechanism which is called mismatch repair deals with correcting mismatches of the normal bases; that is, failures to maintain normal Watson-Crick base pairing (A•T, C•G). It can enlist the aid of enzymes involved in both base-excision repair (BER) and nucleotide-excision repair (NER) as well as using enzymes specialized for this function.⁹⁶⁻⁹⁹

It is estimated that several thousand lesions or mutations, through physiological metabolism (free radicals, reactive biochemicals) and external exposures occur every day in the DNA of each cell in mammals depending on the rate of metabolism, diet and energy consumption. But some DNA damage may remain despite the action of repair processes. The accumulation of unrepaired DNA damage is more prevalent in certain types of cells, particularly in non-replicating or slowly replicating cells, such as cells in the brain, skeletal and cardiac muscle. These repair mechanisms become less efficient with age and the accumulation of damaged DNA, eventually causing the cells to malfunction and die. This theory also encompasses a role for mitochondria, the cellular powerhouses, as important factors in aging. Many scientists believe that with age

mitochondrial damage is an important contributor to aging in general. Why does the rate of mutations increase with age and genomic rearrangements appear? Multiple studies have shown a higher load of DNA damage in old organisms. It is tempting to suggest these changes are caused by DNA repair machinery becoming less efficient and more error-prone with age.¹⁰⁰⁻¹⁰²

Many studies observed that accumulation of DNA damage has been linked to the process of aging and to the onset of degenerative and age-related diseases. Studies on progeroid syndromes have suggested that the DNA damage response is involved in regulation of metabolic homeostasis. Other studies showed that DNA damage could impair metabolic organ functions (by cell death), senescence, induce tissue inflammation that disturbs the homeostasis of systemic metabolism.¹⁰³⁻¹⁰⁶

Conclusions

The study of aging has expanded rapidly both in depth and in breadth in the last decades. Biological, genetic, biochemical, epidemiologic, and demographic data have generated a number of theories that attempted to identify causes and degenerative processes. Scientists agree that aging is an extremely complex, multifactorial process in which many factors may interact simultaneously or operate at many levels of functional organization. Similarly, different theories of aging are not mutually exclusive and may adequately describe some or all features of the normal aging process. More than 300 theories of aging were proposed in the last decades but the majority have been abandoned as they could not be ratified when submitted to the appropriate experimental tests. Others, like the free radical theory of aging have found stronger experimental support but still there are many questions as to its validity. Dietary antioxidants can reduce the accumulation of oxidized molecules in mice, yet they fail to extend lifespan. Calorie restriction is an intervention that prolongs the lifespan (reduces ROS generation) of nearly every organism to which it has been applied but still lots of questions remained. Calorie restriction alters the function of many other molecular, cellular, and organ systems and remains difficult to distinguish the ultimate cause of lifespan extension by this technique.¹⁰⁷ On the other hand, many of the more recent

hypotheses proposed a relationship between aging, accumulation of mtDNA and cDNA damages, loss of telomeres, but their role on normal aging has still not been fully clarified. □

Η διαμάχη για την εγκυρότητα της θεωρίας των ελευθέρων ριζών ή οξειδωτικού stress για την γήρανση

Πρόσφατες επιστημονικές αποδείξεις για τις οξειδωτικές βλάβες σε μοριακό επίπεδο, τα πειραματόζωα και μελέτες σε ανθρώπινους πληθυσμούς

Αθανάσιος Βαλαβανίδης¹, Θωμάς Βλαχογιάννη¹, Μιχαήλ Ράλλης²

¹Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου, 15784 Αθήνα

²Τμήμα Φαρμακευτικής, Τομέας Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου, 15784 Αθήνα

Περίληψη

Οι βιολογικές διεργασίες γήρανσης, της μακροβιότητας των πολυκύτταρων οργανισμών και ο ρόλος του γονιδιώματος αποτέλεσαν το επίκεντρο επιστημονικής έρευνας για πολλές δεκαετίες. Στην διάρκεια αυτή προτάθηκαν διάφορες θεωρίες της γήρανσης και υποστηρίχθηκαν με επιστημονικές αποδείξεις. Οι θεωρίες της γήρανσης διαχωρίζονται ουσιαστικά σε δύο ομάδες: οι «θεωρίες προγραμματισμού των κυττάρων» και οι «θεωρίες βασισμένες στην φθορά κυττάρων και γενετικού υλικού» (και συσσώρευση μοριακών βλαβών). Αν και έχουν επιτευχθεί σημαντικές πρόοδοι στη μοριακή βιολογία, γενετική και ιατρική, το μυστήριο ελέγχου της μακροβιότητας της ζωής των αερόβιων οργανισμών και του ανθρώπου δεν έχει ακόμη αποκαλυφθεί πλήρως. Τα τελευταία χρόνια, η θεωρία των ελευθέρων ριζών/οξειδωτικού stress είναι η πλέον δημοφιλής επιστημονική εξήγηση της πορείας της

γήρανσης σε μοριακό επίπεδο σε αερόβιους οργανισμούς. Παλαιότερες έρευνες σε ασπόνδυλα πειραματόζωα και μύες/επίμυες έδειξαν συσχέτιση μεταξύ μακροβιότητας και αντίστασης στο οξειδωτικό stress. Μεγάλος αριθμός επιστημονικών μελετών έχουν υποστηρίξει τη θεωρία της γήρανσης των Ελευθέρων Ριζών ή Οξειδωτικού Stress που εκδηλώνεται με υψηλά επίπεδα οξειδωτικών βλαβών στα λιπίδια των μεμβρανών των κυττάρων, τις πρωτεΐνες και το πυρηνικό και μιτοχονδριακό DNA. Αλλά σύγχρονες έρευνες και ορισμένες μελέτες που χρησιμοποιούν διαγονιδιακούς μύες ή μύες με απενεργοποιημένα συγκεκριμένα γονίδια (knockout mice, ώστε να οδηγήσει σε υπερ- ή υπο- έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων) που υπερεκφράζουν ή υποεκφράζουν αντιοξειδωτικά ένζυμα, προκάλεσαν αμφισβητήσεις για την εγκυρότητα της θεωρίας λόγω της έλλειψης αποδείξεων για αύξηση της μακροβιότητας. Αυτά τα αποτελέσματα και άλλα δεδομένα θέτουν ερωτηματικά για το ρόλο των οξειδωτικών βλαβών στη διεργασία γήρανσης και απαιτούν τροποποιήσεις της θεωρίας. Επιδημιολογικές μελέτες που υποστηρίζουν τη θεωρία ελευθέρων ριζών/οξειδωτικού stress είναι περιορισμένες. Η επισκόπηση αυτή καλύπτει τις βασικές πλευρές των διαφόρων θεωριών γήρανσης και τα σημαντικότερα προβλήματά τους για να αναπτύξουν ένα συνεκτικό πλαίσιο της θεωρίας της γήρανσης που διαχωρίζει αιτίες και επιπτώσεις. Από την ανάπτυξη των θεωριών φαίνονται οι βασικές δυσκολίες για να προσδιορισθούν οι μηχανισμοί γήρανσης που είναι βιοχημικά λειτουργικοί. Η επισκόπηση επικεντρώνεται στη διαμάχη για την θεωρία ελευθέρων ριζών/οξειδωτικού stress και τις πρόσφατες εργασίες που επικροτούν ή θέτουν ερωτηματικά για την εγκυρότητα του ρόλου των ελευθέρων ριζών και της συσσώρευσης οξειδωτικών βλαβών στο πυρηνικό και μιτοχονδριακό DNA των οργανισμών κατά τη γήρανση.

Αλληλογραφία: Καθ. Α. Βαλαβανίδης, E-mail : valavanidis@chem.uoa.gr

References

1. Finch C.E. (1990) *Senescence, Longevity, and the Genome*. The University of Chicago Press, Chicago and London.
2. Hayflick L. (1994) *How and Why We Age*. Ballantine Books, New York.
3. Austad S. (1997) *Why We Age: What Science is Discovering about the Body's Journey Through Life*. John Wiley and Sons Inc, New York.
4. Arking R. (2006) *The Biology of Aging. Observations and Principles*. Oxford University Press, Oxford, UK.
5. Kirkwood T.B. Understanding the odd science of aging. Review. *Cell* 120, 437-447, 2005.
6. Olson C. B. A review of why and how we age: a defense of multifactorial aging. *Mech.Ageing Dev.* 41, 1-28, 1987.
7. Kirkwood T. B., Austad, S. N. Why do we age? *Nature* 408(6809), 233-238, 2000.
8. Longo V.D., Mitteldorf J., Skulachev, V.P. Programmed and altruistic
9. Austad S. N. Is aging programmed? *Aging Cell* 3, 249-251, 2004.
10. Prinzinger R. Programmed ageing: the theory of maximal metabolic scope. *EMBO* 6(Suppl 1), S14-S19, 2005.
11. Holliday R. The close relationship between biological aging and age-associated pathologies in humans. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 59(6), B543-B546, 2004.
12. Baynes J.W. The role of AGEs in aging: causation or correlation. *Exp. Gerontol.* 36, 1527-1537, 2001.
13. Campisi J. Aging, chromatin, and food restriction--connecting the dots. *Science* 289(5487), 2062-2063, 2000.
14. Campisi J., Kim S. H., Lim C. S., Rubio M. Cellular senescence, cancer and aging: the telomere connection. *Exp. Gerontol.* 36, 1619-1637, 2001.
15. de Magalhaes J. P. Is mammalian aging genetically controlled? *Biogerontology* 4, 119-120, 2003.
16. de Magalhaes J. P. From cells to ageing: a review of models and mechanisms of cellular senescence and their impact on human ageing. *Exp. Cell Res.* 300, 1-10, 2004.
17. Jin K. Modern biological theories of aging. *Aging Dis.* 1, 72-74, 2010.
18. Goldsmith T.C. On the programmed/non-programmed aging controversy. *Biochemistry (Moscow)* 77, 729-732, 2012.
19. Kirkwood B.T., Melov S. On the programmed/non-programmed natural aging within the life history. *Curr. Biol.* 21, R701-R707, 2011.
20. Weinert B.T., Timiras P.S. Theories of aging. Review. *J. Appl. Physiol.* 95, 1706-1716, 2003.
21. Haylick L. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.* 37, 614-636, 1965.
22. Toussaint O., Remacle J., Dierick J.F., Pascal T., Fripiat C., Zdanov S., Magalhaes J.P., Royer V., Chainiaux F. From the Hayflick mosaic to the mosaics of ageing. Role of stress-induced premature senescence in human ageing. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 34, 1415-1429, 2002.
23. Ziv E., Hu D. Genetic variation in insulin/IGF-1 signaling pathways and longevity. *Ageing Res. Rev.* 10, 201-204, 2011.
24. Gems D., Partridge, L. Genetics of longevity in model organisms: debates and paradigm shifts. *Ann. Rev. Physiol.* 75, 621-644, 2013.
25. Reaper P.M., di Fagagna, F.D., Jackson, S.P. Activation of the DNA damage response by telomere attrition-a passage to cellular senescence. *Cell Cycle* 3, 543-546, 2004.
26. Shamas M.A. Telomeres, lifestyle, cancer, and aging. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 14:28-34, 2011.
27. Takubo K., Aida J., Izumiyama-Shimomura N., Ishikawa N., Sawabe M., Kurabayashi R., Shiraishi H., Arai T., Nakamura K. Changes of telomere length with aging. *Geriatr. Gerontol. Int.* 10, S197-S206, 2010.
28. Aubert, G, Lansdorp, P.M. Telomeres and aging. *Physiol. Rev.* 88:557- 579, 2008.
29. Xi H., Li, C., Ren F., Zhang H., Zhang L. Telomere, aging and age-related diseases. *Aging Clin. Exp. Res.* 25, 139-146, 2013.
30. Goyus, M.H., Lavery, W.L. Telomerase and mammalian ageing: a critical appraisal. Review. *Mech. Ageing Dev.* 114, 69-77, 2000.
31. Mitteldorf J.J. Telomere biology: cancer firewall or

- aging clock? *Biochemistry* (Mosc). 78,1054-1060, 2013.
32. McClearn G.E. Biogerontologic theories. *Exp. Gerontol.* 32, 3-10, 1997.
 33. Atwood C.S., Bowen R.L. The reproductive-cell cycle theory of aging: an update. *Exp. Gerontol.* 46, 100-107, 2011.
 34. Fabris N. Biomarkers of aging in the neuroendocrine-immune domain. Time for a new theory of aging? *Ann.N.Y.Acad. Sci.* 663, 335-348, 1992.
 35. Fulop T., Witkowski J.M., Pawelec G., Alan C., Larbi A. On the immunological theory of aging. *Interdiscip. Top Gerontol.* 39, 163-176, 2014.
 36. Castelo-Branco C., Soveral I. The immune system and aging: a review. *Gynecol. Endocrinol.* 30, 16-22, 2014.
 37. Pizzi V., Agresta A., D'Acunto C.W., Festa M., Cappasso A. Neuroinflammation and ageing: current theories and an overview of the data. Review. *Rev. Recent Clin. Trials* 6,189-203, 2011.
 38. DeVeale B., Brummel T., Seroude L. Immunity and aging: the enemy within? Review. *Aging Cell* 3, 195-208, 2004.
 39. Orgel L. E. Ageing of clones of mammalian cells. *Nature* 243, 441-445, 1973.
 40. Gershon H., Gershon D. Detection of inactive enzyme molecules in ageing organisms. *Nature* 227, 1214-1217, 1970.
 41. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.* 11, 298-300, 1956.
 42. Pacifici R.E., Davies K.J. Protein, lipid and DNA repair systems in oxidative stress. The free radical theory of aging revisited. *Gerontology* 37,166-180, 1991.
 43. Beckman K.B., Ames B.N. The Free radical theory of aging matures. *Physiol. Rev.* 78, 543-581, 1998.
 44. McCord J.M., Fridovitch I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocytin). *J. Biol. Chem.* 244, 6049-6055, 1969.
 45. Yu B.P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol. Rev.* 74,139-162, 1994.
 46. Sohal R.S. (1976) Metabolic rate and life span. In: Witler, R (Ed). *Cellular Aging: Concepts and Mechanisms*. Basel, Karger Publisher, pp. 25-40,
 47. Sanz A., Stefanatos R.K. The mitochondrial free radical theory of aging: a critical view. *Curr. Aging Sci.* 1, 10-21, 2008.
 48. Loeb L.A., Wallace D.C., Martin G.M. The mitochondrial theory of aging and its relationship to reactive oxygen species damage and somatic mtDNA mutations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 18769-18770, 2005.
 49. Jang Y.C., Van Remmen H. The mitochondrial theory of aging: Insight from transgenic and knockout mouse models. *Exp. Gerontol.* 44, 256-269, 2009.
 50. Edrey Y.H., Salmon A.B. Revisiting an age-old question regarding oxidative stress. *Free Rad. Biol. Med.* 71, 368-378, 2014.
 51. Viña J., Borras C., Abdelaziz K.M., Garcia-Valles R., Gomez-Cabrera M.C. The free radical theory of aging revisited: the cell signaling disruption theory of aging. *Antioxid. Redox Signal* 19, 779-787, 2013.
 52. Perez V.I., Bokov A., Van Remmen H., Mele J., Ran Q., Ikeno Y., Richardson A. Is the oxidative stress theory of aging dead? *Biochim. Biophys. Acta* 1790, 1005-1014, 2009.
 53. Moosmann B., Behl C. Mitochondrially encoded cysteine predicts animal lifespan. *Aging Cell* 7, 32-46, 2008.
 54. Balaban R.S., Nemoto S., Finkel T. Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell* 120, 483-495, 2005.
 55. Nemoto S., Finkel T. Ageing and the mystery at Arles. *Nature* 429,149-152, 2004.
 56. Kujoth G.C., Hiona A., Pugh T.D., Someya S., Panzer K., Wohlgemuth S.E., Hofer T., Seo A.Y., Sullivan R., Jobling W.A., Morrow J.D., van Remmen H., Sedivy J.M., Yamasoba T., Tanokura M., Weindruch R., Leeuwenburgh C., Prolla T.A. Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. *Science* 309, 481-484, 2005.
 57. Sanz A., Hiona A., Kujoth G.C., Seo A.Y., Hofer T., Kouwenhoven E., Kalani R., Prolla T.A., Barja G., Leeuwenburgh C. Evaluation of sex differences on mitochondrial bioenergetics and apoptosis in mice. *Exp. Gerontol.* 42, 173-182, 2007.
 58. Ristow M., Zarse K. How increased oxidative stress promotes longevity and metabolic health: The concept of mitochondrial hormesis (mitohormesis). *Exp. Gerontol.* 45,410-418, 2010.

59. Yang W, Hekimi S. A mitochondrial superoxide signal triggers increased longevity in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Biology* 2010; 8:e1000556, 2010.
60. Sahin E., Colla S., Marc Liesa M., Moslehi J., Müller F.L. Telomere dysfunction induces metabolic and mitochondrial compromise. *Nature* 470, 359-365, 2011.
61. Kelly D.P. Cell biology: ageing theories unified. *Nature* 470,342–343, 2011.
62. Sahin E., DePinho R.A. Axis of ageing: telomeres, p53 and mitochondria. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*13, 397-404, 2012.
63. Kumar D., Rizvi S.I. A critical period in lifespan of male rats coincides with increased oxidative stress. *Arch. Gerontol. Geriatr.* 58, 427-433, 2014.
64. Cunningham G.M., Roman M.G., Flores L.C., Hubbard G.B., Salmon A.B., Zhang Y., Gelfond J., Ikeno Y. The paradoxical role of thioredoxin on oxidative stress and aging. *Arch. Biochem Biophys* (Feb 26), published on line 2015. doi: 10.1016/j.abb.2015.02.025.
65. Stuart J.A., Maddalena L.A., Merilovich M., Robb E.L. A midlife crisis for the mitochondrial free radical theory of aging. *Longev. Healthspan* 3, 4, 2014.
66. Lagouge M., Larsson N.G. The role of mitochondrial DNA mutations and free radicals in disease and ageing. *J. Intern. Med.* 273, 529-543, 2013.
67. Freitas A. A., de Magalhaes J. P. A review and appraisal of the DNA damage theory of ageing. *Mutat. Res.* 728, 12-22, 2011.
68. Barja G. The mitochondrial free radical theory of aging. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 127, 1-27, 2014.
69. Barja G. (2014) The mitochondrial free radical theory of aging. In: Osiewacz, H.D.(Ed). *The Mitochondrion in Aging and Disease*. Vol, 27. Progress in Molecular Biology Translational Science. Academic Press (Elsevier), Waltham, MA, and Oxford, UK, pp. 2-28.
70. Ziegler D.V., Wiley C.D., Velarde M.C. Mitochondrial effectors of cellular senescence: beyond the free radical theory of aging. *Aging Cell* 14, 1-7, 2015.
71. Indo H.P., Yen H.C., Nakanishi I., Matsumoto K.I., Tamura, M., Nagano Y., Matsui H., Gusev O., Cornette R., Okuda T., Minamiyama Y., Ichikawa H., Suenaga S., Oki M., Sato T., Ozawa T., Clair D.K., Majima H.J. A mitochondrial superoxide theory for oxidative stress diseases and aging. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 56, 1-7, 2015.
72. Schöttker B., Saum K.U., Jansen E.H., Boffetta P., Trichopoulou A., Holleczeck B., Dieffenbach A.K., Brenner H. Oxidative stress markers and all-cause mortality at older age: a population-based cohort study. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 70, 518-524, 2015.
73. Maugeri D., Santangelo A., Bonanno M.R., Testai M., Abbate S., Lo Giudice F., Mamazza C., Puglisi N., Panebianco P. Oxidative stress and aging: studies on an East-Sicilian, ultraoctagenarian population living in institutes or at home. *Arch. Gerontol. Geriatr. Suppl.* 9, 271-277, 2004.
74. Pizza V., Agresta A., Iorio E.L., Capasso A. Oxidative stress and aging: a clinical and biochemical study. *PharmacologyOnLine* 2, 28-37, 2013.
75. Pizza, V., Agresta A., Iorio E.L., Capasso A. Oxidative stress and aging. *Curr. Neurobiol.* 4, 93-98, 2013.
76. Anderson R. M., Shanmuganayagam D., Weindruch R. Caloric restriction and aging: studies in mice and monkeys. *Toxicol. Pathol.* 37, 47–51, 2009.
77. Morley J.E., Chahla E., Alkaade S. Antiaging, longevity and calorie restriction. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 13,40–45, 2010.
78. Ledford H. Sirtuin protein linked to longevity in mammals. Male mice overproducing the protein sirtuin 6 have an extended lifespan. *Nature (News)* 483, 218, 2012.
79. Wegman M.P., Guo M., Bennion D.M., Shankar M.N., Chrzanowski S.M., Goldberg L.A., Xu J., Williams T.A., Lu X., Hsu S.I., Anton S.D., Leeuwenburgh C., Brantly M.L. Practicality of intermittent fasting in humans and its effect on oxidative stress and genes related to aging and metabolism. *Rejuvenation Res.* 29.12.2014 (Epub ahead of print).
80. Romeu M., Aranda N., Giralte M., Ribot B., Nogues M.R., Arija V. Diet, iron biomarkers and oxidative stress in a representative sample of Mediterranean population. *Nutr. J.* 12,102,1-9, 2013.
81. Suzuki M., Willcox D.C., Rosenbaum M.W., Willcox B.J. Oxidative stress and longevity in Okinawa: an investigation of blood lipid peroxidation and tocopherol in okinawan centenarians. *Curr. Gerontol. Geriatr. Res.* 2010:380460, published on line in 2010.

82. Gavrilov I.A., Gavrilova N.S. Evolutionary theories of aging and longevity. *Scientific World J*, 2, 339-356, 2002.
83. Robert L., Fulop T (Eds) (2014) *Aging Facts and Theories. Evolution, Genetics, Environment, Cell Aging, Longevity, Free Radicals*. Vol. 39. Interdisciplinary Topics in Gerontology. Karger publishers, Basel,.
84. Medawar P.B. (1952) *An Unsolved Problem of Biology*. HK Lewis and Co, London.
85. Ljubuncic P., Reznick A.Z. The evolutionary theories of aging revisited – A Mini-Review. *Gerontology* 55, 205–216, 2009.
86. Williams G.C. Pleiotropy, natural selection, and the evolution of senescence. *Evolution* 11, 398-411, 1957.
87. Promislow D.E.L. Protein networks, pleiotropy and the evolution of senescence. *Proc. Biol. Sci* 271, 1225–1234, 2004.
88. Ungewitter E., Scrable H. Antagonistic pleiotropy and p53. *Mech Ageing Dev*. 130(1-2), 10-17, 2009.
89. Giaimo S., d'Adda di Fagagna F. Is cellular senescence an example of antagonistic pleiotropy? Review. *Aging Cell* 11, 378-383, 2012.
90. Kirkwood T.B. *Evolution of ageing*. *Nature* 170(5635) 201-204, 1977
91. Kirkwood, T.B., Holliday, F.R.S. (1979) *The evolution of ageing and longevity*. *Proc Royal Soc London B* 205, 531-546.
92. Drenos, F., Kirkwood, T.B. Modelling the disposable soma theory of ageing. *Mech. Ageing Dev*. 126, 99-103, 2005.
93. Saul N., Pietsch K., Menzel R., Stürzenbaum S.R., Steinberg C.E. Catechin induced longevity in *C. elegans*: from key regulator genes to disposable soma. *Mech. Ageing Dev*. 130, 477-486, 2009.
94. Lorenzini A., Stamato T., Sell C. The disposable soma theory revisited: time as a resource in the theories of aging. *Cell Cycle* 10, 3853-3856, 2011.
95. Chereji E., Gatz M., Pedersen N.L., Prescott C.A. Re-examining the association between fertility and longevity: testing the disposable soma theory in a modern human sample of twins. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci*. 68, 499-509, 2013.
96. Dizdaroglu M. Oxidatively induced DNA damage: Mechanisms, repair and disease. *Cancer Lett*. 327, 26-47, 2012.
97. Jena N.R. DNA damage by reactive species: Mechanisms, mutation and repair. *J. Biosci*. 37, 503-517, 2012.
98. Lyama T., Wilson III D.M. DNA repair mechanisms in dividing and non-dividing cells. *DNA Repair* 12, 620-636, 2013.
99. Valavanidis A., Vlachogianni Th., Fiotakis C. 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *J. Environ Sci. Health Part C* 27, 120-139, 2009.
100. Hamilton M.L., Van Remmen H., Drake J.A., Yang H., Guo Z.M., Kewitt K., Walter C.A., Richardson A. Does oxidative damage to DNA increase with age? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 98, 10469–10474, 2001.
101. Chevanne M., Caldiñi R., Tombaccini D., Mocali A., Gori G., Paoletti F. Comparative levels of DNA breaks and sensitivity to oxidative stress in aged and senescent human fibroblasts: a distinctive pattern for centenarians. *Biogerontology* 4, 97-104, 2003.
102. Sedelnikova O.A., Horikawa I., Zimonjic D.B., Popescu N.C., Bonner W.M., Barrett J.C. Senescing human cells and ageing mice accumulate DNA lesions with unrepairable double-strand breaks. *Nat. Cell Biol*. 6, 168-170, 2004.
103. Hanawalt P.C. (1987) On the Role of DNA Damage and Repair Processing in Aging: Evidence For and Against. In: Warner, H/.R. et al (Eds). *Modern Biological Theories of Aging*, New York, Raven Press, pp.183-198,.
104. Richter C., Park J.W., Ames B.N. Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 6465-6467, 1988.
105. American Federation for Aging Research. Theories of Aging. New York, 2011. [available at: http://www.afar.org/docs/migrated/111121_INFOAGING_GUIDE_THEORIES_OF_AGING_FR.pdf, accessed 10.4.2015]
106. Shimizu I., Yoshida Y., Suda M., Minamino T. DNA damage response and metabolic disease. *Cell Metabol*. 20, 967-977, 2014.
107. Valavanidis A., Vlachogianni Th., Fiotakis K. Recent advances on free radical and oxidative stress theory of ageing in humans. Dietary supplements of antioxidants or caloric restriction for reversing ageing? *Pharmakeftiki* 24(I-II), 2-12, 2012.



IXth Joint Meeting in Medicinal Chemistry

7-10 June 2015

Athens, Greece

Venue: Aigli Zappiou, Olympia Hall

Austria-Croatia-Czech Republic-Greece
Hungary-Italy-Poland-Slovakia-Slovenia

www.jmmc2015.gr

Organized by



Hellenic Society
of Medicinal Chemistry



National and Kapodistrian
University of Athens

Auspices



European Federation
for Medicinal Chemistry

Organizational
Support



**Inaugural lecture**

- Bernard Testa, Department of Pharmacy, Lausanne University Hospital, Lausanne, Switzerland

Closing lecture

- Stephen Hanessian, Department of Chemistry, University of Montreal . Canada

Plenary lectures

- Gabriele Costantino, University of Parma, Italy
- Marcin Drag, Department of Bioorganic Chemistry, Faculty of Chemistry, Wroclaw, University of Technology, Poland
- Stefan Knapp, Structural Genomics Consortium, University of Oxford, UK
- George Kokotos, University of Athens, Greece (only registration)
- Thierry Langer, University of Vienna, Austria
- Péter Mátyus, Semmelweis University, Budapest, Hungary
- Janez Plavec, National Institute of Chemistry, Ljubljana, Slovenia
- Milan Remko, Comenius University Bratislava, Slovakia
- Marcel Špulák, Czech Republic

Keynote Lectures

- Cosimo Altomare, University of Bari, Italy
- Dimitrios Tzalis, Taros Chemicals GmbH & Co / European Lead Factory, Germany
- Nikola Basarić, Rudjer Boskovic Institute , Croatia
- Dušan Berkeš, Slovak University of Technology, Bratislava, Slovakia
- Andrej Boháč, Comenius University, Bratislava, Slovakia
- Boris Brus , University of Ljubljana, Faculty of Pharmacy, Slovenia
- Éva Frank, University of Szeged, Szeged , Hungary
- Josef Jampilek, Brno University, Czech Republic
- Tomasz Goslinski, Department of Technology of Drugs, Faculty of Pharmacy, Poland
- Michael Gütschow, University of Bonn, Germany
- Jadwiga Handzlik, Department of Technology and Biotechnology of Drugs, Faculty of Pharmacy, Collegium Medicum, Jagiellonian University, Krakow, Poland
- Elisabetta Teodori ,University of Firenze, Italy
- Tihomir Tomašič Slovenia, University of Ljubljana, Faculty of Pharmacy, Slovenia
- Tobias Wunberg, Boehringer Ingelheim Austria
- Marko D. Mihovilovic, Vienna University of Technology, Austria
- Marina Sagnou, Institute of Biosciences & Applications, National Centre for Scientific Research 'Demokritos'
- Branka Zorc, University of Zagreb, Croatia

Ημερίδες Επιμόρφωσης & Εκπαίδευσης Φαρμακοποιών Φαρμακείου από την Ελληνική Φαρμακευτική Εταιρεία



1. Φ.Σ. Ηρακλείου 1/3/2015, 2. Φ.Σ. Μαγνησίας & Αλμυρού, 14/3/2015, 3,4 Φ.Σ. Πέλλας, Κυριακή

Οι Επιμορφωτικές Ημερίδες που διοργάνωσε η ΕΦΕ συνεχίστηκαν με επιτυχία και ο Β' Κύκλος εγκαινιάστηκε στα Χανιά, με τη συνδιοργάνωση των Φαρμακευτικών Συλλόγων Χανίων & Ρεθύμνης. Ο Β' κύκλος των σεμιναρίων ολοκληρώθηκε με μεγάλη συμμετοχή και επιτυχία και οι ημερίδες που περιλάμβανε διοργανώθηκαν σε συνεργασία με τον εκάστοτε τοπικό Φαρμακευτικό Σύλλογο. Επιμορφωτικές Ημερίδες, με τη συμμετοχή φαρμακοποιών και ευρύτερου κοινού έγιναν στις εξής πόλεις:

- Κυριακή 5/10/2014, Φ.Σ. Ιωαννίνων
- Κυριακή 12/10/2014, Φ.Σ. Πατρών
- Κυριακή 19/10/2014, Φ.Σ. Λάρισας
- Σάββατο 1/11/2014, Φ.Σ. Αιτωλοακαρνανίας
- Κυριακή 23/11/2014, Φ.Σ. Σερρών
- Σάββατο 29/11/2014, Φ.Σ. Κέρκυρας
- Κυριακή 30/11/2014, Φ.Σ. Θεσσαλονίκης

Με τη βεβαιότητα ότι οι φαρμακοποιοί έχουν ανάγκη περισσότερο από ποτέ την επιστημονική τεκμηρίωση, την συναδελφική ενθάρρυνση, μέσα στους δύσκολους καιρούς που διανύει η επιστήμη και το λειτούργημά τους: ένα βήμα ακόμη πιο κοντά στον άνθρωπο - ασθενή, μια συμβουλή και παρακολούθηση που σε ορισμένες περιπτώσεις, μπορεί να βελτιώσει την ποιότητα ζωής του.

Μετά την ολοκλήρωση του Β' Κύκλου Ημερίδων η ΕΦΕ προχώρησε στον Γ' Κύκλο Ημερίδων του οποίου το πρόγραμμα παρατίθεται στην επόμενη σελίδα.

Για περαιτέρω ενημέρωση, για τη θεματολογία και τον τρόπο διεξαγωγής της κάθε Ημερίδας ανά νομό, επικοινωνήστε μαζί μας στο 211 100 1762 ή στο e.aggelopoulos@zita-management.com.

Πρόγραμμα Γ' Κύκλου Ημερίδων

1/3/2015

Φ. Σ. Ηρακλείου - Ηράκλειο

- Φαρμακευτική Φροντίδα - Ορθή Πρακτική, από την Άννα Τσαντίλη - Κακουλίδου, Α' Αντιπρόεδρο της ΕΦΕ και Καθηγήτρια Τμήματος Φαρμακευτικής ΕΚΠΑ.
- Φαρμακοεπαγρύπνηση σε σχέση με την ασφαλή χρήση των φυτικών προϊόντων στο Φαρμακείο, από την Ιωάννα Χήνου Καθηγήτρια στον Τομέα Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων, Τμήματος Φαρμακευτικής ΕΚΠΑ.
- Δορυφορική Ομιλία από την AstraZeneca, για το Άσθμα: Βασικές αρχές στην διάγνωση και θεραπεία, από τον Γεώργιο Μελέτη, Διευθυντή ΕΣΥ, Γ.Ν. Βενιζέλειο Ηρακλείου.

14/3/2015

Φ. Σ. Μαγνησίας & Αλμυρού - Βόλος

- Μη Υποχρεωτικός Συνταγογραφούμενα Φάρμακα, από την Ελένη Σκαλτσά, Ταμία της ΕΦΕ και Καθηγήτρια Τμήματος Φαρμακευτικής ΕΚΠΑ.
- Φαρμακευτική Φροντίδα - Ορθή Φαρμακευτική Πρακτική: Ο ρόλος του Φαρμακοποιού, από την Άννα Τσαντίλη - Κακουλίδου, Α' Αντιπρόεδρο της ΕΦΕ και Καθηγήτρια Τμήματος Φαρμακευτικής στο ΕΚΠΑ.
- Δορυφορική Ομιλία από την AstraZeneca, για το Άσθμα: Βασικές αρχές στην διάγνωση και θεραπεία, από τον Ανδρέα Δημουλή, Πνευμονολόγο.

29/3/2015

Φ. Σ. Πέλλας - Έδεσσα

- Φαρμακευτική Φροντίδα - Ορθή Φαρμακευτική Πρακτική, από τον Άλκη Παπαχρήστο, Κλινικό Φαρμακοποιό.
- Δορυφορική Ομιλία PFIZER, «Σεξουαλική Υγεία: Δικαίωμα όλων», από τον Παύλο Γκρίτσιο, Χειρουργό - Ουρολόγο - Ανδρολόγο, Διδάκτορα Πανεπιστημίου Θεσ/νικης, F.E.B.U.
- Δορυφορική Ομιλία AstraZeneca, «Άσθμα: Βασικές αρχές στην διάγνωση και θεραπεία» από τον Δημήτριο Λαγονίδη, Διευθυντή ΜΕΘ του Νοσοκομείου Γιαννιτσών.
- Σχέση Φαρμακοποιού - Πελάτη: δυνατό όπλο στην αντιμετώπιση εναλλακτικών καναλιών διάθεσης, από τον Πέτρο Κασαρτζιάν, Φαρμακοποιό - Χημικό Φαρμάκων, Αντιπρόεδρο ΑΚΜΕΥ (Ακαδημία Marketing Επαγγελματιών Υγείας).

25/4/2015

Φ.Σ. Δωδεκανήσου - Ρόδος (πόλη)

- Φυτοθεραπεία - Βοτανοθεραπεία, από την Ιωάννα Χήνου, Γενική Γραμματέα της ΕΦΕ και Καθηγήτρια Τμήματος Φαρμακογνωσίας & Χημείας Φυσικών Προϊόντων, ΕΚΠΑ.
- Φαρμακευτική Φροντίδα - Ορθή Φαρμακευτική Πρακτική: Ο ρόλος του φαρμακοποιού στην παρακολούθηση των θεραπευτικών συγκεντρώσεων των φαρμάκων στο αίμα, από την Τζούλια Αττά - Πολίτου, Φαρμακοποιό - Τοξικολόγο, Β' Αντιπρόεδρο ΕΦΕ και Αν. Καθηγήτρια Τμήματος Χημείας, ΕΚΠΑ.
- Δορυφορική Ομιλία PFIZER «Σεξουαλική Υγεία: Δικαίωμα όλων», από τον Βασίλειο Γραμμέλη, Παθολόγο - Ιατρικό Διευθυντή GEP Pfizer Hellas.
- Δορυφορική Ομιλία AstraZeneca «Άσθμα: Βασικές αρχές στην διάγνωση και θεραπεία», από τον Κρητικό Δημήτριο, Πνευμονολόγο.

10/5/2015

Φ.Σ. Μεσσηνίας - Καλαμάτα

24/5/2015

Φ. Σ. Εύβοιας - Χαλκίδα

7/6/2015

Φ. Σ. Δράμας και Ξάνθης - Δράμα

21/6/2015

Φ. Σ. Κοζάνης - Κοζάνη

Χορηγοί ομιλιών:

AstraZeneca

Pfizer

ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ | MEETINGS

14-16 MAY 2015

ATHENS, GREECE

**21st EAFP Annual Conference (European Association of Faculty of Pharmacy)
Quality Assurance in Pharmacy Education**

<http://eafponline.eu/conferences/athens2015/>

27-18 MAY 2015

ATHENS, GREECE

1st International Congress of Controlled Release Society - Greek Local Chapter

<http://www.afea.gr/event.asp?pid=146&lng=1>

JUNE 7-10, 2015

ATHENS, GREECE

IXth Joint Meeting in Medicinal Chemistry

<http://jmmc2015.gr/>

JUNE 28 – JULY 1, 2015

PERUGIA, ITALY

Recent Developments in Pharmaceutical Analysis

<http://rdpa2015.chimfarm.unipg.it/>

JULY 1-3, 2015

AVIGNON, FRANCE

51st International Conference on Medicinal Chemistry (RICT 2015)

<http://www.rict2015.org>

SEPTEMBER 14-16, 2015

ANTWERP, BELGIUM

Frontiers in Medicinal Chemistry Symposium

<http://www.frontiers2015.org>

SEPTEMBER 17, 2015

ANTWERP, BELGIUM

2nd EFMC Young Medicinal Chemist Symposium (EFMC-YMCS 2015)

http://www.ldorganisation.com/v2/produits.php?langue=english&cle_menus=1238915995&cle_data=1360153425

SEPTEMBER 27-30, 2015

OEGSTGEEST (NEAR LEIDEN), THE NETHERLANDS

11th EFMC Short Course on Medicinal Chemistry - Engineering of Biopharmaceuticals

http://www.ldorganisation.com/v2/produits.php?langue=english&cle_menus=1238915978

ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ | MEETINGS

JUNE 28 – JULY 3, 2015**URBINO, ITALY**

European School of Medicinal Chemistry (ESMEC)

<http://www.esmec.eu/>**JULY 3-5, 2015****KRAKOW, POLAND**

5th Meeting of the Paul Ehrlich MedChem Euro-PhD Network

<http://pehrlichmedchem.eu/>**SEPTEMBER 20-25, 2015****VIENNA, AUSTRIA**

8th Summer School on Drug Design

<http://www.univie.ac.at/europin/summerschool/europin-summerschool.html>**NOVEMBER 15-18, 2015****REHOVOT, ISRAEL**

6th EFMC International Symposium on Advances in Synthetic and Medicinal Chemistry (EFMC-ASMC'15)

<http://www.efmc-asmc2015.org>**MAY 15-19, 2016****CAMERINO, ITALY**

33rd Camerino-Cyprus Symposium : "Receptor Chemistry: Reality and Vision"

<http://www.unicam.it/farmacia/symposium/welcome.htm>**AUGUST 28 - SEPTEMBER 1, 2016****MANCHESTER, UK**

XXIV EFMC International Symposium on Medicinal Chemistry (EFMC-ISMC 2016)

http://www.ldorganisation.com/v2/produits.php?langue=english&cle_menus=1238915829

Η Ελληνική Φαρμακευτική Εταιρεία ευχαριστεί θερμά τις εταιρείες, οι οποίες μέσω της ενεργούς παρουσίας και συμμετοχής τους στις Επιμορφωτικές Ημερίδες της ΕΦΕ συμβάλλουν στην προώθηση της Επιστημονικής Γνώσης

ΧΡΥΣΟΙ ΧΟΡΗΓΟΙ



ΑΡΓΥΡΟΙ ΧΟΡΗΓΟΙ



ΧΟΡΗΓΟΙ



ΧΟΡΗΓΟΙ



Pharmaceutical Laboratories S.A.



ΒΟΤΑΝΑ / ΣΥΝΕΡΓΑΣΙΕΣ / ΕΚΧΥΛΙΣΕΙΣ / ΕΡΕΥΝΑ

KORRES



Ο ειδικός στη φυτοθεραπεία

l'Entreprise de l'Année 2013



ΥΠΟΣΤΗΡΙΚΤΗΣ



ΧΟΡΗΓΟΣ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ



ΣΥΝΤΕΤΜΗΜΕΝΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΤΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ. VIAGRA (sildenafil). ΔΙΣΚΙΑ ΔΙΑΣΠΕΙΡΟΜΕΝΑ ΣΤΟ ΣΤΟΜΑ 50 MG

ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ: Το VIAGRA ενδείκνυται για ενήλικες άνδρες με στυτική δυσλειτουργία, η οποία είναι η ανικανότητα επίτευξης ή διατήρησης μίας επαρκούς στύσης για ικανοποιητική σεξουαλική δραστηριότητα. Για να είναι αποτελεσματικό το VIAGRA πρέπει να υπάρχει σεξουαλική διέγερση. **ΑΝΤΕΝΔΕΙΞΕΙΣ:** Υπερευαίσθησία στη δραστική ουσία ή σε οποιοδήποτε από τα έκδοχα. Σύμφωνα με τις γνωστές επιπλοκές της επί της μεταβολικής οδού του μονοξειδίου του αζώτου/κυκλικής μονοφωσφορικής γουανουίνης (cGMP), έχει δείχθει ότι η σιλντεναφίλη ενισχύει τις υποτασικές δράσεις των νιτρικών, και επομένως αντενδείκνυται η συγχρόνηση της με δότες μονοξειδίου του αζώτου (όπως το νιτρώδες αμιλλίο) ή τα νιτρώδη σε οποιαδήποτε μορφή. Τα φάρμακα για τη θεραπεία της στυτικής δυσλειτουργίας, συμπεριλαμβανομένης της σιλντεναφίλης, δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται σε άνδρες στους οποίους δεν συνιστάται η σεξουαλική δραστηριότητα (π.χ. ασθενείς με σοβαρές καρδιαγγειακές διαταραχές, όπως ασταθής στηθάγχη ή σοβαρή καρδιακή ανεπάρκεια). Το VIAGRA αντενδείκνυται σε ασθενείς με απώλεια της όρασης στον ένα οφθαλμό λόγω μη-αρτηριδιακής πρόσθιας ισχαιμικής οπτικής νευροπάθειας (NAION), ανεξάρτητα από το αν το συμβάν αυτό έχει συσχετισθεί ή όχι με προηγούμενη χορήγηση ενός αναστολέα της PDE5 (βλ. παράγραφο Ειδικές προειδοποιήσεις και προφυλάξεις κατά τη χρήση). Η ασφάλεια της σιλντεναφίλης δεν έχει μελετηθεί στις ακόλουθες υποκατηγορίες ασθενών και επομένως αντενδείκνυται η χρήση της σε: σοβαρή ηπατική δυσλειτουργία, υπόταση (αρτηριακή πίεση < 90/50 mmHg), πρόσφατο ιστορικό εκτεταμένου ή εμφράγματος του μυοκαρδίου και γνωστές κληρονομικές, εκφυλιστικές αμφιβληστροειδοπαθείες, όπως η μελαγχρωστική αμφιβληστροειδοπάθεια (μία μειονότητα των ασθενών αυτών παρουσιάζουν γενετικές διαταραχές των αμφιβληστροειδικών φωσφοδιεστερασών). **ΕΙΔΙΚΕΣ ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΧΡΗΣΗ:** Πρέπει να προηγείται λήψη ιατρικού ιστορικού και φυσική εξέταση του ασθενή, ούτως ώστε να διαγνωσθεί η στυτική δυσλειτουργία και να καθοριστούν τα πιθανά υποκείμενα αίτια, πριν εξεταστεί το ενδεχόμενο χορήγησης φαρμακευτικής αγωγής. **Καρδιαγγειακοί παράγοντες κινδύνου:** Πριν την έναρξη οποιασδήποτε θεραπείας για τη στυτική δυσλειτουργία, ο γιατρός πρέπει να κάνει εκτίμηση της καρδιαγγειακής κατάστασης του ασθενούς, ενδεχόμενου ότι η σεξουαλική δραστηριότητα συσχετίζεται με ένα βαθμό καρδιαγγειακού κινδύνου. Η σιλντεναφίλη παρουσιάζει αγγειοδιασταλτικές ιδιότητες, που προκαλούν ήπια και παροδική μείωση της αρτηριακής πίεσης. Πριν τη συνταγογράφηση της σιλντεναφίλης, ο γιατρός πρέπει να εξετάζει με προσοχή εάν οι ασθενείς του με ορισμένες υποκείμενες νόσους θα μπορούσαν να επηρεασθούν δυσμενώς από τις αγγειοδιασταλτικές επιδράσεις του φαρμάκου, και ιδιαίτερα σε συσχέτισμό με τη σεξουαλική δραστηριότητα. Στους ασθενείς με αυξημένη ευαισθησία στα αγγειοδιασταλτικά συμπεριλαμβανόμενα και αυτοί με αποφρακτικές παθήσεις του χώρου εξόδου της αριστεράς κοιλίας (π.χ. στένωση της αορτής ή υπερτροφική αποφρακτική μυοκαρδιοπάθεια) ή εκείνοι με το σπάνιο σύνδρομο ατροφίας πολλαπλών οργάνων συστημάτων, που παρουσιάζουν σοβαρή δυσλειτουργία αυτονομίας λόγω της αρτηριακής πίεσης, το VIAGRA ενισχύει το υποτασικό αποτέλεσμα των νιτρικών (βλ. παράγραφο Αντενδείξεις). Μετά την κυκλοφορία του προϊόντος στην αγορά αναφέρθηκαν σοβαρά καρδιαγγειακά συμβάντα συσχετιζόμενα με ταυτόχρονη χρήση του VIAGRA, συμπεριλαμβανομένων εμφράγματος του μυοκαρδίου, ασταθούς στηθάγχης, αιφνιδιασικού καρδιακού θανάτου, κοιλιακής αρρυθμίας, αγγειακής εγκεφαλικής αιμορραγίας, παροδικού ισχαιμικού επεισοδίου, υπέρτασης και υπότασης. Οι περισσότεροι, αλλά όχι όλοι, από τους ασθενείς αυτούς είχαν προϋπάρχοντες καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου. Πολλά από τα συμβάντα αναφέρθηκε ότι συνέβησαν κατά τη διάρκεια της σεξουαλικής επαφής ή λίγο μετά από αυτή και μερικά αναφέρθηκε ότι συνέβησαν λίγο μετά τη χρήση του VIAGRA, χωρίς σεξουαλική δραστηριότητα. Δεν είναι δυνατόν να προσδιορισθεί εάν τα συμβάντα αυτά συσχετίζονται άμεσα με τους παράγοντες αυτούς ή με άλλους παράγοντες. **Πριαπισμός:** Τα φάρμακα για την θεραπεία της στυτικής δυσλειτουργίας, συμπεριλαμβανομένης της σιλντεναφίλης, πρέπει να χρησιμοποιούνται με προσοχή σε ασθενείς με ανατομικές δυσμορφίες του πέους (όπως γυνώση, ίνωση των σπραγγαδίων σώματος ή νόσο του Peyronie) ή σε ασθενείς που η κατάσταση τους μπορεί να προδιαθέτει για πριαπισμό (όπως η δρεπανοκυτταρική αναιμία, το πολλαπλούν μυέλωμα ή η λευχαιμία). Έχουν αναφερθεί παραισθημένες στύσεις και πριαπισμός με τη χρήση της σιλντεναφίλης κατά την εμπειρία μετά την κυκλοφορία του προϊόντος στην αγορά. Σε περίπτωση που μια στύση διαρκεί για διάστημα μεγαλύτερο των 4 ωρών, ο ασθενής θα πρέπει να αναζητήσει άμεση ιατρική βοήθεια. Εάν ο πριαπισμός δεν θεραπευτεί άμεσα, ενδέχεται να προκληθεί βλάβη των ιστών του πέους και μόνιμη απώλεια της σεξουαλικής ικανότητας. **Ταυτόχρονη χρήση με άλλους αναστολείς PDE5 ή άλλες θεραπείες της δυσλειτουργίας στύσης:** Η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα της σιλντεναφίλης, σε συνδυασμό με άλλους Αναστολείς PDE5 ή άλλες θεραπείες για την πνευμονική αρτηριακή υπέρταση (ΠΑΥ) που περιέχουν σιλντεναφίλη (REVATIO) ή άλλες μεθοδους θεραπείας της στυτικής δυσλειτουργίας, δεν έχουν μελετηθεί. Κατά συνέπεια η χρήση τέτοιων συνδυασμών δεν συνιστάται. **Επιδράσεις στην όραση:** Έχουν αναφερθεί, αυθόρμητα, περιπτώσεις διαταραχών της όρασης με τη χορήγηση της σιλντεναφίλης και άλλων αναστολέων της PDE5 (βλ. παράγραφο Ανεπιθύμητες ενέργειες). Έχουν αναφερθεί, αυθόρμητα και σε μια μελέτη παρατήρησης, περιπτώσεις μη αρτηριδιακής πρόσθιας ισχαιμικής οπτικής νευροπάθειας, μιας σπάνιας κατάστασης, με τη χορήγηση της σιλντεναφίλης και άλλων αναστολέων της PDE5 (βλ. παράγραφο Ανεπιθύμητες ενέργειες). Οι ασθενείς πρέπει να ενημερώνονται ότι σε περίπτωση αιφνίδιας διαταραχής της όρασης, πρέπει να σταματήσουν τη λήψη του VIAGRA και να συμβουλευτούν άμεσα γιατρό (βλ. παράγραφο Αντενδείξεις). **Ταυτόχρονη χρήση με ριτοναβίρη:** Δεν συνιστάται η συγχρόνηση σιλντεναφίλης με ριτοναβίρη. **Ταυτόχρονη χρήση με α-αδρενεργικούς αποκλειστές:** Συνιστάται προσοχή, όταν η σιλντεναφίλη χορηγείται σε ασθενείς που λαμβάνουν έναν α-αδρενεργικό αποκλειστή, αφού η συγχρόνηση μπορεί να οδηγήσει σε συμπτωματική υπόταση σε ορισμένα ευπαθή άτομα. Αυτό είναι πιθανότερο να συμβεί μέσα σε διάστημα 4 ωρών μετά από τη χορήγηση της σιλντεναφίλης. Προκειμένου να μειωθεί το ενδεχόμενο εμφάνισης ορθοστατικής υπότασης, οι ασθενείς πρέπει να είναι αιμοδυναμικά σταθεροποιημένοι στη θεραπεία με α-αδρενεργικό αποκλειστή πριν από την έναρξη θεραπείας με σιλντεναφίλη. Θα πρέπει να εξετάζεται το ενδεχόμενο έναρξης χορήγησης της σιλντεναφίλης στη δόση των 25 mg. Επιπλέον, οι γιατροί θα πρέπει να συμβουλευθούν τους ασθενείς για το τι πρέπει να κάνουν σε περίπτωση που εμφανιστούν συμπτώματα ορθοστατικής υπότασης. **Επίδραση στην αιμορραγία:** Μελέτες με ανθρώπινα αιμοπετάλια υποδεικνύουν ότι η σιλντεναφίλη ενισχύει την αντισυγκολλητική επίδραση του νιτροπρωσσικού νατρίου in vitro. Δεν υπάρχουν στοιχεία για την ασφάλεια χορήγησης της σιλντεναφίλης σε ασθενείς με αιμορραγικές παθήσεις ή με ενεργό πεπτικό έλκος. Επομένως, η σιλντεναφίλη πρέπει να χορηγείται σε αυτούς τους ασθενείς μόνο μετά από προσεκτική αξιολόγηση των αναμενόμενων ωφελιών σε σχέση προς τους πιθανούς κινδύνους. Το λεπτό υμένιο που επικαλύπτει το δισκίο περιέχει λακτόζη. Το VIAGRA δεν θα πρέπει να χορηγείται σε άνδρες με σπάνιες κληρονομικές δυσανεξίες στη γαλακτόζη, ανεπάρκεια της Lapp λακτάσης ή δυσαπορρόφηση γλυκόζης-γαλακτόζης. **Γυναίκες:** Δεν ενδείκνυται η χρήση του VIAGRA από γυναίκες. **ΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ ΚΥΗΣΗ ΚΑΙ ΓΑΛΟΥΧΙΑ:** Το VIAGRA δεν ενδείκνυται για χρήση στις γυναίκες. Δεν υπάρχουν επαρκείς και καλά ελεγχόμενες μελέτες σε εγκύους ή σε γυναίκες που θηλάζουν. Σε μελέτες αναπαραγωγής σε αρουραίους και κουνέλια, μετά από χορήγηση σιλντεναφίλης από το στόμα, δεν παρουσιάστηκαν σχετιζόμενες με το φάρμακο ανεπιθύμητες ενέργειες. Δεν διαπιστώθηκαν επιδράσεις στην κινητικότητα ή τη μορφολογία του σπέρματος μετά από χορήγηση, από το στόμα, απλών δόσεων 100 mg σιλντεναφίλης σε υγιείς εθελοντές. **ΑΝΕΠΙΘΥΜΗΤΕΣ ΕΝΕΡΓΕΙΕΣ:** **Σύννοψη του προφίλ ασφαλείας:** Το προφίλ ασφαλείας του VIAGRA βασίζεται σε 9570 ασθενείς σε 74 διπλά τυφλές, ελεγχόμενες με εικονικό φάρμακο κλινικές μελέτες. Οι πιο συχνά αναφερόμενες ανεπιθύμητες ενέργειες σε κλινικές μελέτες σε ασθενείς υπό θεραπεία με σιλντεναφίλη, ήταν κεφαλαλγία, εξάψη, δυσπεψία, ρινική συμφόρηση, ζάλη, ναυτία, εξάψεις, οπτική διαταραχή, κυανούσια και όραση θάμνη. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες που παρατηρήθηκαν μετά την κυκλοφορία του φαρμάκου στην αγορά έχουν συγκεντρωθεί, καλύπτοντας μία περίοδο > 10 χρόνια, κατ' εκτίμηση. Επειδή δεν αναφέρονται όλες οι ανεπιθύμητες ενέργειες στον Κάτοχο Άδειας Κυκλοφορίας και δε συμπεριλαμβάνονται όλες στη βάση δεδομένων ασφαλείας, οι συχνότητες αυτών των συμβαμάτων δεν μπορούν να καθοριστούν με αξιοπιστία. Παρακάτω παρατίθενται ανά συχνότητα (πολύ συχνές (≥ 1/10), συχνές (≥ 1/100 έως < 1/10), όχι συχνές (≥ 1/1.000 έως < 1/100), σπάνιες (≥ 1/10.000 έως < 1/1.000), όλες οι κλινικές σημαντικές ανεπιθύμητες ενέργειες, οι οποίες παρατηρήθηκαν σε κλινικές μελέτες, με επίπτωση μεγαλύτερη από αυτή του εικονικού φαρμάκου. Επιπρόσθετα, καταγράφονται ως μη γνωστές, οι συχνότητες των κλινικών σημαντικών ανεπιθύμητων ενεργειών που αναφέρθηκαν από την εμπειρία μετά την κυκλοφορία του προϊόντος στην αγορά. **Κλινικές σημαντικές ανεπιθύμητες ενέργειες που αναφέρθηκαν με επίπτωση μεγαλύτερη απ' ότι το εικονικό φάρμακο σε ελεγχόμενες κλινικές μελέτες καθώς και κλινικές σημαντικές ανεπιθύμητες ενέργειες που αναφέρθηκαν μετά την κυκλοφορία του προϊόντος στην αγορά. Πολύ συχνές:** Κεφαλαλγία. **Συχνές:** Ζάλη, οπτικές χρωματικές παραμορφώσεις**, οπτική διαταραχή, όραση θάμνη, παροδικό ερυθρόμα (flushing), εξάψεις, ρινική συμφόρηση, ναυτία, δυσπεψία. **Όχι συχνές:** Ρινίτιδα, υπερευαίσθησία, υπνηλία, υπαισθησία, διαταραχές δακρύρροιας***, πόνος του οφθαλμού, φωτοφοβία, φωτοψία, υπεραίμια του οφθαλμού, λήμπον βλέμμα, επιπεφυκίτιδα, ίλιγγος, εμβοές, ταχυκαρδία, αίσθημα παλμών, υπέρταση, υπόταση, επίταση, συμφόρηση κόλπων του προσώπου, νόσος γαστροοισοφαγικής παλινδρόμησης, έμετος, άλογος άνω κοιλιακής χώρας, ξηροστομία, εξάνθημα, μυαλγία, άλγος στα άκρα, αιματοουρία, θωρακικό άλγος, κόπωση, αίσθηση θερμότητας, ισχαιμικός ρυθμός αυξημένος. **Σπάνιες:** Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, παροδικό ισχαιμικό επεισόδιο, επιληπτική κρίση*, υποτροπή επιληπτικής κρίσης*, συγκοπή, μη αρτηριδιακή πρόσθια ισχαιμική οπτική νευροπάθεια (NAION)*, απόφραξη των αμφιβληστροειδικών αγγείων*, αιμορραγία του αμφιβληστροειδούς, αρτηριοσκληρωτική αμφιβληστροπάθεια, διαταραχή του αμφιβληστροειδούς, γλαύκωμα, έλλειμμα στα οπτικά πεδία, διπλωπία, οπτική οξύτητα μειωμένη, μυωπία, ασθενωπία, εξιδρώματα του υαλοειδούς σώματος, διαταραχή της όρασης, μυδρίαση, όραση διπλή φωτισσώδους, οίδημα του οφθαλμού, διάγκωση του οφθαλμού, οφθαλμική διαταραχή, υπεραίμια του επιπεφυκότα, ερεθισμός του οφθαλμού, μη φυσιολογικό αίσθημα στον οφθαλμό, οίδημα βλεφάρου, δυσχρωματισμός του σκληρού, κώφωση*, αιφνίδιος καρδιακός θάνατος*, έμφραγμα του μυοκαρδίου, κοιλιακή αρρυθμία*, κοιλιακή μαρμαρυγή, ασταθής στηθάγχη, συσπαικτικό αίσθημα λαϊμού, ρινικό οίδημα, ξηρότητα ρινικού βλεννογόνου, υπαισθησία στόματος, σύνδρομο Stevens-Johnson (SJS)*, τοξική επιδερμική νεκρόλυση (TEN)*, αιμορραγία πέους, πριαπισμός*, αιματοσπερμία, στύση αυξημένη, ευερεθιστότητα. *Έχει αναφερθεί μόνο κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης μετά την κυκλοφορία στην αγορά. **Οπτικές χρωματικές παραμορφώσεις: Πρασινούσια, Χρωματοψία, Κυανούσια, Ερυθρούσια και Ξανθούσια. ***Διαταραχές δακρύρροιας: Ξηροφθαλμία. Δακρυϊκή διαταραχή και Δακρύρροια αυξημένη. **Αναφορά πιθανολογούμενων ανεπιθύμητων ενεργειών:** Η αναφορά πιθανολογούμενων ανεπιθύμητων ενεργειών μετά από τη χορήγηση άδειας κυκλοφορίας του φαρμακευτικού προϊόντος είναι σημαντική. Επιτρέπει τη συνεχή παρακολούθηση της σχέσης οφέλους/κινδύνου του φαρμακευτικού προϊόντος. Ζητείται από τους επαγγελματίες του τομέα της υγειονομικής περίθαλψης να αναφέρουν οποιοδήποτε πιθανολογούμενες ανεπιθύμητες ενέργειες: **Ελλάδα:** Εθνικός Οργανισμός Φαρμάκων. Μεσογείων 284, GR-15562 Χολαργός, Αθήνα, Τηλ: + 30 21 32040380/337. Φαξ: + 30 21 06549585. Ιστότοπος: http://www.eof.gr. **Κύπρος:** Φαρμακευτικές Υπηρεσίες. Υπουργείο Υγείας. CY-1475 Λευκωσία, Φαξ: + 357 22608649. Ιστότοπος: www.moh.gov.cy/phs. **ΚΑΤΟΧΟΣ ΑΔΕΙΑΣ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑΣ/ ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΔΕΙΑΣ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑΣ:** Pfizer Limited, Sandwich, Kent CT13 9NJ, Ηνωμένο Βασίλειο. EU/1/98/077/021. **ΤΟΠΙΚΟΣ ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΟΣ:** Pfizer Ελλάς Α.Ε., Α. Μεσογείων 243, 154 51 Νέο Ψυχικό, Τηλ: + 30 210 6765800. **ΛΙΑΝΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ:** 50MG/TAB, BT x 4 δισκία : 24,77 €. **ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΟ ΠΡΟΪΟΝ ΓΙΑ ΤΟ ΟΠΟΙΟ ΑΠΑΙΤΕΙΤΑΙ ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΥΝΤΑΓΗ. ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΑΝΑΘΕΩΡΗΣΗΣ (ΜΕΡΙΚΗΣ) ΤΟΥ ΚΕΙΜΕΝΟΥ:**08/2014. **ΓΙΑ ΠΛΗΡΕΙΣ ΣΥΝΤΑΓΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΠΑΡΑΚΑΛΕΙΣΘΕ ΝΑ ΑΠΕΥΘΥΝΕΣΤΕ ΣΤΗΝ ΕΤΑΙΡΙΑ.**

Βοηθήστε να γίνουν τα φάρμακα πιο ασφαλή και Αναφέρετε
ΟΛΕΣ τις ανεπιθύμητες ενέργειες για
ΟΛΑ τα φάρμακα
Συμπληρώνοντας την «ΚΙΤΡΙΝΗ ΚΑΡΤΑ»

ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΓΙΑ ΤΟ ARCOXIA®

Τα κάτωθι αποτελούν αποσπασματικές πληροφορίες εκ της περιλήψης χαρακτηριστικών του προϊόντος(ΠΧΠ). Πριν τη συνταγογράφηση του ARCOXIA®, συμβουλευθείτε την πλήρη περιλήψη χαρακτηριστικών του προϊόντος . Η απόφαση για να συνταγογραφηθεί ένας εκλεκτικός COX-2 αναστολέας θα πρέπει να βασίζεται στην εκτίμηση των συνολικών/ατομικών κινδύνων του ασθενούς. Επειδή οι κίνδυνοι για το καρδιαγγειακό σύστημα με την ετορικοξίμπη μπορεί να αυξηθούν με τη δόση και τη διάρκεια της έκθεσης, πρέπει να χορηγείται η χαμηλότερη αποτελεσματική ημερήσια δόση για τη μικρότερη δυνατή διάρκεια θεραπείας. Το ARCOXIA® διατίθεται σε 4 διαφορετικές περιεκτικότητες. NEA ENΔΕΙΞΗ: 90 mg, Για τη μικρή διάρκεια θεραπεία μέτριου πόνου που σχετίζεται με οδοντιατρική χειρουργική επέμβαση (μέγιστη διάρκεια χορήγησης 3 ημέρες).

Αντενδείξεις:

- Ιστορικό υπερευαισθησίας στη δραστική ουσία ή σε οποιοδήποτε έκδοχο.
- Ενεργό πεπτικό έλκος ή ενεργή αιμορραγία από το γαστρεντερικό
- Ασθενείς που έχουν παρουσιάσει βρογχόσπασμο, οξεία ρινίτιδα, ρινικούς πολύποδες, αγγειονευρωτικό οίδημα, κνίδωση,αντιδράσεις αλλεργικού τύπου μετά τη χορήγηση ακετυλοσαλικυλικού οξέος ή ΜΣΑΦ, συμπεριλαμβανομένων των αναστολέων COX-2 (της κυκλοοξυγενάσης-2).
- Κύηση και γαλουχία.
- Σοβαρή ηπατική δυσλειτουργία (αλβουμίνη του ορού < 25 g/l ή βαθμολογία Child-Pugh ≥ 10)
- Προσδιορισθείσα τιμή κθάαρσης κρεατινίνης <30 ml/min.
- Παιδιά και έφηβοι ηλικίας μικρότερης των 16 ετών
- Φλεγμονώδης νόσος του εντέρου
- Συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια (NYHA II-IV)
- Ασθενείς με υπέρταση, οι οποίοι έχουν εμμένουσες αυξημένες τιμές αρτηριακής πίεσης πάνω από 140/90 mmHg και οι οποίες δεν έχουν ελεγχθεί επαρκώς.
- Διαγνωσμένη ισχαιμική καρδιοπάθεια, περιφερική αρτηριοπάθεια και/ ή αγγειακή εγκεφαλική νόσος.

Ειδικές προειδοποιήσεις και ιδιαίτερες προφυλάξεις κατά τη χρήση:

Επίδραση στο γαστρεντερικό

Έχουν παρουσιασθεί σε ασθενείς που έλαβαν ετορικοξίμπη επιπλοκές του ανώτερου γαστρεντερικού συστήματος (διατρήσεις, έλκη ή αιμορραγίες (ΔΕΑ), μερικές από τις οποίες οδήγησαν σε θανατηφόρο αποτέλεσμα. Συνιστάται προσοχή κατά τη θεραπεία ασθενών που είναι σε μεγαλύτερο κίνδυνο να παρουσιάσουν γαστρεντερικές επιπλοκές με ΜΣΑΦ: ηλικιωμένοι, ασθενείς που λαμβάνουν κάποιο άλλο ΜΣΑΦ ή ακετυλοσαλικυλικό οξύ ταυτόχρονα ή ασθενείς με προηγούμενο ιστορικό γαστρεντερικής νόσου, όπως εξέλκωση και γαστρεντερική αιμορραγία. Υπάρχει περαιτέρω αύξηση του κινδύνου εμφάνισης ανεπιθύμητων ενεργειών του γαστρεντερικού (γαστρεντερική εξέλκωση ή άλλες επιπλοκές από το γαστρεντερικό) όταν η ετορικοξίμπη λαμβάνεται ταυτόχρονα με ακετυλοσαλικυλικό οξύ (ακόμη και σε χαμηλές δόσεις).

Καρδιαγγειακές επιδράσεις

Οι κλινικές μελέτες υποδεικνύουν ότι οι εκλεκτικοί αναστολείς της COX-2 ως κατηγορία φαρμάκων μπορεί να σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο θρομβωτικών επεισοδίων (ιδιαίτερως έμφραγμα του μυοκαρδίου και αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο) σε σχέση με το εικονικό φάρμακο και μερικά ΜΣΑΦ. Επειδή οι κίνδυνοι για το καρδιαγγειακό σύστημα με την ετορικοξίμπη μπορεί να αυξηθούν με τη δόση και τη διάρκεια της έκθεσης, πρέπει να χορηγείται η χαμηλότερη αποτελεσματική ημερήσια δόση για τη μικρότερη δυνατή διάρκεια θεραπείας. Η ανάγκη του ασθενούς για συμπτωματική ανακούφιση και η απόκριση στη θεραπεία πρέπει να επανεκτιμάται περιοδικά, ιδιαίτερα σεασθενείς με οστεοαρθρίτιδα. Οι ασθενείς με σημαντικούς παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβαμάτων (π.χ. υπέρταση, υπερίπιδαιμία, σακχαρώδης διαβήτης, κάπνισμα) πρέπει να αντιμετωπίζονται θεραπευτικά με ετορικοξίμπη μόνο μετά από προσεκτική εκτίμηση. Οι εκλεκτικοί αναστολείς της COX-2 δεν μπορούν να υποκαταστήσουν το ακετυλοσαλικυλικό οξύ για προφύλαξη καρδιαγγειακών θρομβοεμβολικών παθήσεων λόγω έλλειψης αντιαιμοπεταλιακής δράσης. Επομένως, η αντιαιμοπεταλιακή αγωγή δεν πρέπει να διακόπτεται.

Επίδραση στη νεφρική λειτουργία. Οι νεφρικές προσταγλανδίνες είναι δυνατόν να παίζουν αντιρροπιστικό ρόλο στη διατήρηση της νεφρικής διήθησης. Για αυτόν το λόγο σε καταστάσεις επιβαρυνμένες νεφρικής διήθησης, η χορήγηση της ετορικοξίμπης μπορεί να προκαλέσει μείωση στο σχηματισμό των προσταγλανδινών και δευτερογενώς μείωση της νεφρικής αιμάτωσης και ως εκ τούτου να οδηγήσει σε περαιτέρω επιβάρυνση της νεφρικής λειτουργίας. Οι ασθενείς που είναι σε μεγαλύτερο κίνδυνο εν προκειμένω, είναι εκείνοι με προϋπάρχουσα σημαντική επιβάρυνση της νεφρικής λειτουργίας, μη αντιρροπούμενη καρδιακή ανεπάρκεια ή κίρρωση. Σε αυτούς τους ασθενείς πρέπει να παρακολουθείται η νεφρική λειτουργία.

Κατακράτηση υγρών, οίδημα και υπέρταση. Όπως και με άλλα φάρμακα που αναστέλλουν τη σύνθεση των προσταγλανδινών έχει παρατηρηθεί κατακράτηση υγρών, οίδημα και υπέρταση σε ασθενείς που ελάμβαναν ετορικοξίμπη. Πρέπει να γίνεται προσοχή στους ασθενείς με προηγούμενο ιστορικό καρδιακής ανεπάρκειας, δυσλειτουργία της αριστεράς κοιλίας ή υπέρταση και σε ασθενείς με προϋπάρχον οίδημα οποιασδήποτε άλλης αιτιολογίας. Εάν παρατηρηθεί επιδείνωση της κλινικής κατάστασης αυτών των ασθενών θα πρέπει να γίνονται απαραίτητοι έλεγχοι και εάν χρειασθεί μπορεί να διακοπεί η ετορικοξίμπη. Η ετορικοξίμπη μπορεί να σχετίζεται με πιο συχνά μφανιζόμενη και σοβαρή υπέρταση έναντι άλλων ΜΣΑΦ και εκλεκτικών COX-2 αναστολέων, ιδιαίτερα σε μεγάλες δόσεις. Για αυτό το λόγο, θα πρέπει να δίνεται

ιδιαίτερη προσοχή στην παρακολούθηση της αρτηριακής πίεσης κατά τη διάρκεια της θεραπείας με ετορικοξίμπη. Εάν η αρτηριακή πίεση αυξηθεί σημαντικά, τότε θα πρέπει να ληφθεί υπόψη άλλη εναλλακτική θεραπεία .

Επιδράσεις στο ήπαρ.

Αυξήσεις επιπέδων της αμινοτρανσφεράσης της αλανίνης (ALT) και /ή της ασπαρτάμης (AST) (περίπου τρεις ή περισσότερες φορές από το ανώτερο φυσιολογικό όριο) έχουν αναφερθεί σε περίπου 1% των ασθενών που συμμετείχαν σε κλινικές μελέτες και στους οποίους χορηγήθηκε για διάστημα μέχρι ένα έτος ετορικοξίμπη 30mg ,/60 και 90 mg ημερησίως.Εάν κάποιος ασθενής εμφανίσει συμπτώματα και/ή σημεία που δείχνουν ηπατική δυσλειτουργία, ή καταγραφεί κάποια μη φυσιολογική εργαστηριακή δοκιμασία της ηπατικής λειτουργίας, τότε ο ασθενής πρέπει να παρακολουθείται στενά. Εάν εμφανισθούν σημεία ηπατικής ανεπάρκειας, ή εάν εξακολουθούν να καταγράφονται μη φυσιολογικές τιμές των εργαστηριακών δοκιμασιών (τρεις φορές πάνω από το ανώτερο φυσιολογικό όριο), η ετορικοξίμπη θα πρέπει να διακοπεί.

Γενικές

Εάν κατά τη διάρκεια της θεραπείας οι ασθενείς παρουσιάσουν επιδείνωση της λειτουργίας οποιοδήποτε οργανικού συστήματος που αναφέρθηκε παραπάνω, πρέπει να ληφθούν κατάλληλα μέτρα και να εξετασθεί η διακοπή της θεραπείας με ετορικοξίμπη. Πρέπει να υφίσταται κατάλληλη ιατρική παρακολούθηση όταν η ετορικοξίμπη δίδεται σε ηλικιωμένους και σε ασθενείς με νεφρική, ηπατική, ή καρδιακή δυσλειτουργία. Πρέπει να γίνεται ιδιαίτερη προσοχή όταν γίνεται έναρξη της θεραπείας με ετορικοξίμπη σε ασθενείς με αφυδάτωση. Συνιστάται η ενυδάτωση των ασθενών πριν την έναρξη της θεραπείας με ετορικοξίμπη. Έχουν αναφερθεί πολύ σπάνια σοβαρές δερματικές αντιδράσεις, ορισμένες από τις οποίες θανατηφόρες, που περιλαμβάνουν αποφολιδωτική δερματίτιδα, σύνδρομο Stevens-Johnson, και τοξική επιδερμική νεκρόλυση σε σχέση με την χρήση των ΜΣΑΦ και ορισμένων εκλεκτικών αναστολέων COX-2 κατά τη διάρκεια παρακολούθησης μετά την κυκλοφορία. Φαίνεται ότι οι ασθενείς διατρέχουν υψηλότερο κίνδυνο για εμφάνιση τέτοιων αντιδράσεων στην αρχή της θεραπείας όπου η έναρξη της αντίδρασης λαμβάνει χώρα, στην πλειονότητα των περιπτώσεων, μέσα στον πρώτο μήνα θεραπείας. Έχουν αναφερθεί σοβαρές αντιδράσεις υπερευαισθησίας (όπως αναφυλαξία, και αγγειοοίδημα) σε ασθενείς που λαμβάνουν ετορικοξίμπη. Μερικοί εκλεκτικοί αναστολείς της COX-2 έχουν σχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο δερματικών αντιδράσεων σε ασθενείς με ιστορικό φαρμακευτικής αλλεργίας κάθε τύπου. Η χορήγηση της ετορικοξίμπης θα πρέπει να διακοπεί με την πρώτη εμφάνιση δερματικού εξανθήματος, βλάβης του βλεννογόνου, ή οποιοδήποτε άλλου σημείου υπερευαισθησίας. Η ετορικοξίμπη μπορεί να καλύψει τον πυρετό και άλλα συμπτώματα της φλεγμονής. Θα πρέπει να γίνεται προσοχή όταν συγχρηγείται ετορικοξίμπη με βαρφαρίνη ή άλλα από του στόματος χορηγούμενα αντιπηκτικά Η χρήση της ετορικοξίμπης, όπως και κάθε φαρμακευτικού προϊόντος που είναι γνωστό ότι αναστέλλει την σύνθεση κυκλοοξυγενάσης / προσταγλανδίνης δεν συνιστάται σε γυναίκες που προσπαθούν να συλλάβουν.

Τα δισκία ARCOXIA περιέχουν λακτόζη. Ασθενείς με σπάνια κληρονομικά προβλήματα δυσανεξίας στη γαλακτόζη, με έλλειψη της Lapp λακτάσης ή δυσαπορρόφηση της γλυκόζης-γαλακτόζης δεν θα πρέπει να λαμβάνουν αυτό το φάρμακο.

Ανεπιθύμητες ενέργειες

Οι ακόλουθες ανεπιθύμητες ενέργειες αναφέρθηκαν σε κλινικές μελέτες σε ποσοστό μεγαλύτερο από το placebo, σε ασθενείς με OA ή PA, χρόνια χαμηλή οσφυαλγία, ή αγκυλοποιητική σπονδυλίτιδα, που ελάμβαναν αγωγή με ετορικοξίμπη 30mg, 60 mg ή 90 mg για διάστημα έως 12 εβδομάδες ή κατά το πρόγραμμα των μελετών MEDAL ή από την εμπειρία μετά την κυκλοφορία του φαρμάκου: οίδημα/κατακράτηση υγρών,ζάλη, κεφαλαλγία, αίσθημα παλμών, υπέρταση/υπέρτασος, γαστρεντερικές διαταραχές (π.χ. κοιλιακό άλγος, μετεωρισμός, οπισθοστερνικός καύσος) διάρροια, δυσπεψία, δυσφορία από το επιγάστριο, ναυτία, εκχύμωση, εξασθένιση/κόπωση, αυξημένη ALT, αυξημένη AST.

Αλληλεπιδράσεις με άλλα φαρμακευτικά προϊόντα

Αντιπηκτικά από του στόματος: Σε άτομα σταθεροποιημένα, σε χρόνια θεραπεία με βαρφαρίνη, η χορήγηση ετορικοξίμπη 120 mg ημερησίως συνδέθηκε με περίπου 13% αύξηση στο χρόνο προθρομβίνης (International Normalised Ratio,INR). Διουρητικά, αναστολείς MEA και Ανταγωνιστές της Αγγειοτασίνης II: Τα ΜΣΑΦ ενδέχεται να μειώσουν την επίδραση των διουρητικών και άλλων αντιυπερτασικών φαρμάκων. Σε ορισμένους ασθενείς με επιβαρυνμένη νεφρική ανεπάρκεια (όπως π.χ ασθενείς με αφυδάτωση ή ηλικιωμένοι ασθενείς με επιβαρυνμένη νεφρική λειτουργία) η συγχορήγηση αναστολέα MEA ή ανταγωνιστή της Αγγειοτασίνης II: με παράγοντες που αναστέλλουν την κυκλοοξυγενάση μπορεί να οδηγήσει σε περαιτέρω επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας, συμπεριλαμβανομένης πιθανής οξείας νεφρικής ανεπάρκειας, η οποία συνήθως είναι αντιστρεπτή Ακετυλοσαλικυλικό οξύ: Η ετορικοξίμπη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ταυτόχρονα με το ακετυλοσαλικυλικό οξύ σε δόσεις που χορηγούνται για την καρδιαγγειακή προφύλαξη (χαμηλή δόση ακετυλοσαλικυλικού οξέος). Πάντως, η ταυτόχρονη χορήγηση χαμηλής δόσης ακετυλοσαλικυλικού οξέος με ετορικοξίμπη μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση του ρυθμού εμφάνισης των ελκών του γαστρεντερικού ή άλλων επιπλοκών σε σχέση με την χρήση μόνο ετορικοξίμπης

Άλλες:

Σε μελέτες αλληλεπίδρασης με άλλα φάρμακα, το ARCOXIA® δεν φάνηκε να έχει σημαντικά αποτελέσματα στη φαρμακοκινητική της Πρεδνιζόνης/πρεδνιζολόνης, Διογίνης. Η κετοκοναζόλη, ένας ισχυρός αναστολέας του CYP3A4, δεν είχε σημαντική κλινικά επίδραση στην εφάπαξ δόση φαρμακοκινητική της ετορικοξίμπης.

Πριν την συνταγογράφηση του ARCOXIA, συμβουλευθείτε την περιλήψη χαρακτηριστικών του προϊόντος__

Ένα μυαλό... χειμώννα καλοκαίρι;



flyingcolours

Το NeuroAge είναι μία σειρά συμπληρωμάτων διατροφής που υποστηρίζει την γνωστική λειτουργία, την πνευματική εγρήγορση και τη διευκόλυνση του ύπνου.

NeuroAge 

- Βοηθά στη διατήρηση της λειτουργίας του εγκεφάλου και την ενίσχυση της μνήμης. Περιέχει έναν αποτελεσματικό συνδυασμό βασικών συστατικών που έχει αποδειχθεί ότι βοηθά στην υποστήριξη ενός υγιούς εγκεφάλου.

• Σίδηρος¹:

- ▶ Συμβάλλει στη φυσιολογική γνωστική λειτουργία.

• Παντοθενικό Οξύ¹:

- ▶ Συμβάλλει στη φυσιολογική διανοητική απόδοση.

• Ουριδίνη², Κυτιδίνη², (L)-Γλουταμίνη²

NeuroAge 
NRG

- Έχει ειδικά σχεδιαστεί για να συμβάλει στην ενίσχυση της εγρήγορσης όταν χρειαστεί. Επιπλέον βοηθά στη διατήρηση της λειτουργίας του εγκεφάλου, της συγκέντρωσης και της μνήμης.

• Σίδηρος¹, Παντοθενικό Οξύ¹, Ουριδίνη², Κυτιδίνη², (L)-Γλουταμίνη²

+ Καφεΐνη¹:

- ▶ Συμβάλλει στην ενίσχυση της εγρήγορσης και στη βελτίωση της συγκέντρωσης.

+ (L)-Θειανίνη:

- ▶ Συμβάλλει στη βελτίωση της γνωστικής λειτουργίας.

NeuroAge 
Sleep

- Έχει ειδικά σχεδιαστεί για να συμβάλει στη διευκόλυνση του ύπνου και στη μείωση του χρόνου μετάβασης στον ύπνο. Επιπλέον βοηθά στη διατήρηση της λειτουργίας του εγκεφάλου και της μνήμης.

• Σίδηρος¹, Παντοθενικό Οξύ¹, Ουριδίνη², Κυτιδίνη², (L)-Γλουταμίνη²

+ Μελατονίνη¹:

- ▶ Συμβάλλει στη μείωση του χρόνου μετάβασης στον ύπνο.

+ Βαλεριάνα:

- ▶ Συμβάλλει στη διευκόλυνση του ύπνου.



1. Εγκεκριμένο Συστατικό

Συμπληρώματα Διατροφής με σίδηρο και παντοθενικό οξύ. Διαβάστε τις "Οδηγίες Χρήσης" για τη συνιστώμενη δόσολογία. Μην υπερβαίνετε τη συνιστώμενη ημερήσια δόση. Τα συμπληρώματα διατροφής δεν υποκαθιστούν την ισορροπημένη διατροφή και τον υγιεινό τρόπο ζωής. Φυλάσσεται μακριά από τα παιδιά.

Αριθμοί Γνωστοποίησης ΕΟΦ: NeuroAge 70674 / 4-10-2012, NeuroAge NRG 96836/7-11-2014, NeuroAge Sleep 96837/7-11-2014

2. Κλινικά Ελεγμένο Συστατικό

NeuroAge

Κρατά τη μνήμη σε εγρήγορση.

Αποκλειστικός Διανομέας για την Ελλάδα:

ELPEN Α.Ε. Φαρμακευτική Βιομηχανία

Τμήμα Consumer Health Care

Λεωφ. Μαραθώνος 95, 190 09 Πικέρμι Αττικής, Τηλ.: 211 1865 347,

Εθνικής Αντιστάσεως 114, 551 34 Θεσσαλονίκη, Τηλ.: 2310 459 920-1

www.elpen.gr, farmakeia@elpen.gr



Φροντίδα για τον άνθρωπο



ΑΠΟΚΛΕΙΣΤΙΚΑ
ΣΤΑ ΦΑΡΜΑΚΕΙΑ

ΜΕ ΕΝΔΕΙΞΗ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΟΔΟΝΤΙΚΟ ΠΟΝΟ¹

Το ARCOXIA[®] τώρα ενδείκνυται και για τη μικρής διάρκειας θεραπεία του μετεγχειρητικού μέτριου οδοντικού πόνου¹



**Για τη μικρής διάρκειας
θεραπεία του¹**

**Μετεγχειρητικού
Μέτριου Οδοντικού Πόνου**

**90mg μια φορά την ημέρα
μέγιστη διάρκεια 3 ημέρες.**

Η απόφαση για να συνταγογραφηθεί ένας εκλεκτικός COX-2 αναστολέας θα πρέπει να βασίζεται στην εκτίμηση των συνολικών ατομικών κινδύνων του ασθενούς.¹

Δόσεις υψηλότερες από αυτές που συνιστώνται για κάθε ένδειξη είτε δεν έχουν εμφανίσει επιπρόσθετη αποτελεσματικότητα ή δεν έχουν ακόμα μελετηθεί. Λόγω των καρδιαγγειακών κινδύνων, πρέπει να χορηγείται η χαμηλότερη αποτελεσματική ημερήσια δόση του ARCOXIA για τη μικρότερη δυνατή διάρκεια θεραπείας.¹

Πριν τη συνταγογράφηση του ARCOXIA[®], συμβουλευθείτε την περίληψη χαρακτηριστικών του προϊόντος για αντενδείξεις, προειδοποιήσεις, προφυλάξεις και ανεπιθύμητες ενέργειες.

Βιβλιογραφία: 1. Arcoxia GRSPC



BIANEE A.E. ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ ΦΑΡΜΑΚΩΝ
ΕΤΑΙΡΕΙΑ ΤΟΥ ΟΜΙΛΟΥ ΓΙΑΝΝΑΚΟΠΟΥΛΟΥ

LICENSEE/DISTRIBUTOR OF **MERCK SHARP & DOHME**, Division of MERCK & Co., Inc., Whitehouse Station, N.J., U.S.A.

Γραφεία Επιστημονικής Ενημέρωσης

ΑΘΗΝΑ: Οδός Τατοίου 146 71 Ν. Ερυθραία, Τηλ.: 210 8009111 • **E-Mail:** mailbox@vianex.gr • **INTERNET:** <http://www.vianex.gr> • **ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ:** Ακάδημου 113, Κόμβος Μακρυγιάννη, Εύοσμος Θεσσαλονίκης, ΤΚ 56224, Τηλ: 2310 861683 • **ΠΑΤΡΑ:** Μαιζώνος 131, Τηλ.: 2610 221397

† Registered Trademark of Merck & Co., Inc., of Whitehouse Station New Jersey, U.S.A. & used under licence from MERCK & Co., INC.