

Η ΠΙΘΑΝΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΑΤΕΧΙΝΗΣ EGCG ΣΤΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΩΝ ΜΥΙΚΩΝ ΙΝΩΝ.

της Ιωάννας Μπεριάτου

Πτυχιακή Διατριβή που υποβάλλεται στο καθηγητικό σώμα για τη μερική
εκπλήρωση των υποχρεώσεων απόκτησης του Τίτλου Πτυχίου του Προγράμματος
του Τμήματος Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού του Πανεπιστημίου
Θεσσαλίας.

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ:

ΔΡ. ΚΑΡΑΤΖΑΦΕΡΗ ΧΡΙΣΤΙΝΑ

ΙΟΥΝΙΟΣ 2023

© 2023 ΜΠΕΡΙΑΤΟΥ ΙΩΑΝΝΑ

ALL RIGHTS RESERVED

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

.....	1
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ	2
ΛΙΣΤΑ ΜΕ ΠΙΝΑΚΕΣ	3
ΛΙΣΤΑ ΣΥΝΤΜΗΣΕΩΝ	4
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	5
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
ABSTRACT	8
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ	10
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ	13
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	27
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	31
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	36
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	39
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	40
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ	45

ΛΙΣΤΑ ΜΕ ΠΙΝΑΚΕΣ

Πίνακας 1: Δομικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά των διαφορετικών τύπων μυϊκών ινών.

Πίνακας 1: Περιεκτικότητα EGCG σε διάφορες τροφές.

Πίνακας 2: Μοριακή δομή κατεχινών.

ΛΙΣΤΑ ΣΥΝΤΜΗΣΕΩΝ

ATP: adenosine triphosphate

EGCG: epigallocatechin-3-gallate

ROS: Reactive Oxygen Species

TnC: troponin C

TnI: troponin I

TnT: troponin T

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω βαθύτατα την επιβλέπουσά μου Δρ. Καρατζαφέρη Χριστίνα Καθηγήτρια στη Φυσιολογία της Άσκησης- Μυολογία, για τον πολύτιμο χρόνο που διέθεσε, την εμπιστοσύνη στο να μοιραστεί μαζί μου την ερευνητική της δραστηριότητα, την υποστήριξη και την καθοδήγηση της καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της εργασίας. Χωρίς την πολύτιμη βοήθειά της η ολοκλήρωση αυτής της διπλωματικής θα ήταν ανέφικτη. Επίσης, ένα μεγάλο ευχαριστώ στην καθηγήτρια μου Μήτρου Γεωργία για την άριστη συνεργασία που είχαμε, τον πολύτιμο χρόνο που διέθεσε για την εκπαίδευσή μου και για να μου παρέχει σημαντικά στοιχεία και εξηγήσεις στο θέμα, αλλά και για την προθυμία και τη βοήθεια, που ποτέ δε δίστασε να μου δώσει. Ένα μεγάλο ευχαριστώ και σε όλους τους συνεργάτες του εργαστηρίου για τη συνεργασία, τη βοήθεια και την υποστήριξη που παρείχαν. Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω την οικογένεια και τους φίλους μου για την ηθική υποστήριξη σε όλο το διάστημα των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ: Οι σκελετικοί μύες είναι υπεύθυνοι για την παραγωγή δύναμης, την κίνηση, τη διάπλαση του σώματος αλλά και ρυθμίζουν τον μεταβολισμό και συμβάλλουν στο ανοσοποιητικό σύστημα. Πολλές ανθυγιεινές συνήθειες διαβίωσης καθώς και διάφορες ασθένειες έχουν ως αποτέλεσμα τη μυϊκή ατροφία, αλλά και την δυσλειτουργία του εναπομείναντος ιστού. Γίνεται λοιπόν εύκολα αντιληπτή η ανάγκη διατήρησης ενός υγιούς μυϊκού συστήματος και η εύρεση μέσων που θα βοηθήσουν στην επαύξηση της δύναμης (κατά αντιστοιχία των ινότροπων ουσιών που διατίθενται για την υποστήριξη του αδύναμου καρδιακού μυός). Πολυφαινολικές ενώσεις του τσαγιού και φρούτων, οι κατεχίνες, με κύρια μεταξύ αυτών την EGCG είναι ευρέως γνωστές για την αντιοξειδωτική τους δράση με θετική επίδραση στο λιπιδαιμικό προφίλ και την σωματική σύσταση. Πληθώρα συμπληρωμάτων κυκλοφορούν στο εμπόριο προάγοντας αυτές ακριβώς τις ιδιότητες. Παρατηρήσεις δομικής βιολογίας της επιβλέπουσας και συνεργατών της υποδεικνύουν ότι η EGCG και ανάλογες αυτής ουσίες μπορεί να έχουν επίδραση στα λειτουργικά χαρακτηριστικά μυϊκών ινών. Δεν είναι γνωστή όμως η πιθανή λειτουργική επίδραση των κατεχινών σε επίπεδο μυϊκής ίνας του σκελετικού μυός.

ΣΚΟΠΟΣ: Σκοπός της παρούσας έρευνας ήταν να εξετάσει *in vitro* την πιθανή επίδραση της EGCG στα λειτουργικά χαρακτηριστικά, ιδιαίτερα στην ανάπτυξη δύναμης σε μεμονωμένες μυϊκές ίνες σκελετικού μυός.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ: Για τα πειράματα χρησιμοποιήθηκε δείγμα ψοΐτη μυός κονίκλου N. Ζηλανδίας. Αντί για EGCG χρησιμοποιήθηκε μια «δομικά ανάλογη» ουσία (ANAROE) σύμφωνα με προηγούμενα ευρήματα. Για να αναλυθεί η επίδραση του αναλόγου απομονώθηκαν μυϊκές ίνες οι οποίες στη συνέχεια εμβαπτίσθηκαν σε μία σειρά διαλυμάτων και μετρήθηκε η τιμή παραχθείσας δύναμης χωρίς και με τη χρήση αναλόγου της EGCG. Τα πειραματικά διαλύματα αποτελούνταν από διάλυμα ακαμψίας (120mM KAc, 5mM MgAc₂, 1mM EGTA, and 50mM, pH 7,0), διάλυμα χάλασης (προσθήκη στο διάλυμα ακαμψίας 4mM ATP, 20mM CP, 1mg/ml CK. Η ιοντική ισχύς του διαλύματος ηρεμίας ήταν 0.19M και pH 7,0). Τα διαλύματα ενεργοποίησης παρασκευάστηκαν με 4mM ATP, 20mM CP, 1mg/ml CK και διάφορες συγκεντρώσεις ασβεστίου [0,4 mM (pCa 6,4), 0,6 mM (pCa 6,1), 0,75 mM (pCa 5,8) , 0,8 mM (pCa 5,6), 1,1 mM (pCa 4.3)] παρουσία ή όχι 1mM της ανάλογης ουσίας, pH 7,0 και 10°C.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Τα αποτελέσματα των μετρήσεων έδειξαν ότι η χρήση δομικού αναλόγου EGCG έχει επίδραση στην ανάπτυξη δύναμης απομονωμένων μυϊκών ινών. Η στατιστική

ανάλυση έδειξε σημαντική αύξηση ($p < 0,05$) στην ανάπτυξη δύναμης απομονωμένων μυϊκών ινών τόσο σε συνθήκες υπομέγιστης όσο και μέγιστης ισομετρικής σύσπασης. Μάλιστα σε συγκέντρωση ασβεστίου 0,6 mM (pCa 6,1) παρουσία της ανάλογης ουσίας ANAΡΟΕ (1mM) παρατηρήθηκε η μεγαλύτερη αριθμητικά, επαύξηση της ισομετρικής τάσης σε σύγκριση με τις τιμές ελέγχου της τάξης του 816%

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ: Η χορήγηση δομικά ανάλογης ουσίας της EGCG σε απομονωμένες μυϊκές ίνες προκάλεσε σημαντική αύξηση της δύναμης σε υπομέγιστες ενεργοποιήσεις αλλά και στη μέγιστη ισομετρική ενεργοποίηση. Απαιτείται περαιτέρω μελλοντική έρευνα που θα επιβεβαιώσει την αποτελεσματικότητα της προσθήκης της καθεαυτής EGCG στην επαύξηση της μυϊκής λειτουργίας.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: ψοίτης μυς, παραγωγή δύναμης, μυϊκές ίνες, σκελετικός μυς , πράσινο τσάι, κατεχίνες, EGCG, ANAΡΟΕ.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Skeletal muscles are responsible for force production, movement, body composition, but also regulate metabolism and contribute to the immune system. Many unhealthy lifestyle habits as well as various diseases result in muscle atrophy, but also in the dysfunction of the remaining tissue. It is therefore easy to see the need to maintain a healthy musculature and find means to help increase strength (corresponding to the inotropic substances available to support weak heart muscle). Polyphenolic compounds of tea and fruit, catechins, with EGCG being the main one, are widely known for their antioxidant activity with a positive effect on the lipid profile and body composition. Many supplements are marketed promoting these very properties. Structural biology observations by our group indicate that EGCG and related substances may have an effect on functional characteristics of muscle fibers. However, any functional effect of catechins at the muscle fiber level of the skeletal muscle yet unknown.

OBJECTIVE: The purpose of the present study was to examine in vitro the potential effect of EGCG on force development in single muscle fibers of skeletal muscle.

MATERIALS AND METHODS: For the experiments, a sample of rabbit psoas muscle from New Zealand was used. Instead of EGCG, a substance that binds to areas of interest (ANAPOE) was used as a 'structural analog'. To analyze the effect of the analog, muscle fibers were isolated which were then immersed in a series of solutions and the value of force produced without and with the use of the analog was measured. The experimental solutions consisted of the basic rigor solution (120mM KAc, 5mM MgAc₂, 1mM EGTA, and 50mM, pH 7.0), the relaxing solution (adding to the rigor solution 4mM ATP, 20mM CP, 1mg/ml CK. The ionic strength of the relaxing solution was 0.19M and pH 7.0). The activating solutions were prepared with 4mM ATP, 20mM CP, 1mg/ml CK and various concentrations of calcium [0.4 mM (pCa 6.4), 0.6 mM (pCa 6.1), 0.75 mM (pCa 5.8), 0.8 mM (pCa 5.6), 1.1 mM (pCa 4.3)], in the presence or absence of 1mM of the 'structural analog' of EGCG (ANAPOE), pH 7.0 and 10°C.

RESULTS: The results of the measurements showed that the use of a "structural analogue" of EGCG had a potentiating effect on the strength development of isolated muscle fibers. Statistical analysis showed a significant increase ($p < 0.05$) in isolated muscle fiber force development in both submaximal and maximal isometric contraction conditions, with the potentiating effect being the greatest at a calcium concentration of 0.6 mM (pCa 6.1) in

the presence of the analog the greatest numerical increase in isometric tension was observed compared to control values (approx. 800%).

CONCLUSIONS: The addition of a structural analogue of EGCG to activated isolated permeabilised muscle fibers caused a significant increase in strength, whether in submaximal calcium activations as well as in maximal isometric activation. Further future research is needed to confirm if these observations hold true with the addition of the specific or other catechins in our efforts to design, skeletal muscle-specific, muscle force potentiators.

KEY WORDS: psoas muscle, force development, muscle fibers, skeletal muscle, green tea, catechins, EGCG, ANAPOE.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ο σκελετικός μυς

Ο μυς είναι η ανατομική δομή που παράγει κίνηση ή δύναμη ως απάντηση σε ένα φυσιολογικό ερέθισμα. Οι μύες είναι ομάδες κυττάρων οι οποίες εξειδικεύονται στην σύσπαση και με αυτό τον τρόπο παράγουν δύναμη. Χωρίζονται στους σκελετικούς, τους λείους και τον καρδιακό μυ. Στο ανθρώπινο σώμα απαντώνται τουλάχιστον 600 σκελετικοί μύες (Frontera, Ochala, 2015).

Οι σκελετικοί μύες προσφύονται στα οστά μέσω των τενόντων και με τη συστολή τους παράγουν κίνηση. Τα κύτταρα των μυών ονομάζονται μυϊκές ίνες και εξειδικεύονται στην σύσπαση. Χάρη στους μύες επιτρέπεται στο σώμα η πληθώρα των κινήσεων που εκτελεί (Mukund, Subramaniam, 2020). Συνεπώς, γίνεται εύκολα αντιληπτή η ανάγκη για ανάπτυξη και διατήρηση ενός υγιούς μυϊκού συστήματος.

Πολλές ασθένειες έχουν ως έμμεσο αποτέλεσμα τον εκφυλισμό των μυών ως απόρροια της υποκινητικότητας των ασθενών αλλά και του καταβολικού σταδίου που προκαλείται από το οξειδωτικό στρες, την φλεγμονή ή και την ίδια την φαρμακευτική ή άλλη ιατρική αγωγή. (Sakkas et al., 2006). Το μυϊκό σύστημα ατροφεί δημιουργώντας έναν φαύλο κύκλο κόπωσης- αποφυγής άσκησης- εντονότερης ατροφίας κ.ο.κ. έως ότου επέρχεται μέχρι και θάνατος εάν ο κύκλος αυτός δεν ανατραπεί. Είναι γνωστό, ότι η άσκηση είναι η κύρια μέθοδος ενδυνάμωσης και ανάπτυξης του μυϊκού συστήματος και όντως τα προγράμματα άσκησης διορθώνουν σε μεγάλο βαθμό την ατροφία σε εύρος νοσημάτων (Rosa et al., 20202; Kaltsatou, Karatzaferi, Mitrou, Poulaniti, Sakkas, 2016; Sakkas et al., 2003; Johansen, Shubert, Doyle, Soher, Sakkas, Kent-Braun, 2003). Όμως, κάποιες χρόνιες καταστάσεις προκαλούν μετα-μεταφραστικές αλλαγές των σαρκομερικών πρωτεϊνών συμβάλλοντας στο φαινόμενο της μυϊκής αδυναμίας που δεν εξηγείται μόνο από την ατροφία (Mitrou et al., 2019).

Κρίνεται, λοιπόν, σημαντικό, να βρεθούν φυσικοί μηχανισμοί υποβοήθησης της μυϊκής λειτουργίας ώστε να διατηρείται η ικανότητα ανάπτυξης δύναμης τόσο στον υγιή γηράσκοντα πληθυσμό όσο και στους πάσχοντες με ασθένειες.

1.2 Αντιοξειδωτικές ουσίες και συμπληρώματα

Τα χρόνια νοσήματα αλλά και κακές συμπεριφορές υγείας (πχ. κάπνισμα) σχετίζονται με την διαταραχή της οξειδοαναγωγικής ισορροπίας. (Golbidi, Li, Laher, 2018; Mitrou et al., 2017 Για αυτόν τον λόγο είτε φυσικά προϊόντα (πχ. πράσινο τσάι) είτε συμπληρώματα με αντιοξειδωτικές ουσίες (πχ. εκχύλισμα πράσινου τσαγιού, εκχύλισμα σπιρουλίνας κ.α.)

προωθούνται ως ένας τρόπος αντιμετώπισης του οξειδωτικού στρες. (Musial, Kuban, Gorska, 2020; Wu et al., 2016).

Το τσάι αποτελεί ένα από τα παλαιότερα και πιο διαδεδομένα ροφήματα παγκοσμίως. Προέρχεται από την αποξήρανση των φύλλων του φυτού, *Camellia sinensis* και είναι ένα. Η βασική διάκριση είναι μεταξύ πράσινου και μαύρου τσαγιού. Η διάκριση μεταξύ των ειδών του εξαρτάται από την κατεργασία που θα υποστούν τα φύλλα, την τοποθεσία προέλευσης και τον τύπο εδάφους στο οποίο μεγαλώνει το φυτό. Πράσινο ονομάζεται αν δεν οξειδωθεί και περάσει από την διαδικασία ατμού και της ξήρανσης διατηρώντας όλες τις πολύτιμες ιδιότητές του. Ενώ, ονομάζεται μαύρο εάν οξειδωθεί τελείως. (Farhan, 2022). Σε όλα τα είδη τσαγιού αλλά σε μεγαλύτερο ποσοστό στο πράσινο τσάι περιέχονται πολυφαινολικές ενώσεις γνωστές ως κατεχίνες.

Οι κατεχίνες ανήκουν στην ομάδα των φλαβονοειδών και στο πράσινο τσάι περιέχονται οι εξής: (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG), (-)-epicatechin-3-gallate (ECG), (-)-epigallocatechin (EGC) and (-)-epicatechin (EC). Τα φλαβονοειδή είναι γνωστά για την αντιοξειδωτική τους δράση. Η καλύτερη πηγή κατεχινών είναι το πράσινο τσάι ωστόσο, συναντώνται φυσικά και στο μαύρο τσάι, τον καφέ, τα μούρα, τα σταφύλια και το κρασί. (Musial, Kuban, Gorska, 2020). Τα τελευταία χρόνια διατίθενται στο εμπόριο σε μορφή κάψουλας, σκόνης ή άλλη, πλήθος συμπληρωμάτων που περιέχουν κατεχίνες και διατείνονται ότι υποβοηθούν την φυσιολογική λειτουργία. (da Silva, Machado, Souza, Mello-Carpes, Carpes, 2018; Westerterp-Plantenga, Lejeune, Kovacs, 2005)

Στο εργαστήριο μας έχει φανεί σε προηγούμενες μελέτες ότι χρόνιες καταστάσεις όπως η νεφρική ανεπάρκεια οδηγούν σε χρόνια διαταραχή της οξειδοαναγωγικής ισορροπίας (Mitrou et al., 2017). Επιπλέον, δημοσίευτη ως τώρα μελέτη σε ασκούμενους, με χορήγηση εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού, έδειξε βελτίωση της μυϊκής λειτουργίας σε μακροσκοπικό επίπεδο, ενώ υπό εξέλιξη *in silico* μελέτη συναρτά τέτοια ευρήματα με επίδραση σε σαρκομερικές πρωτεΐνες (Καρατζαφέρη, προσωπική επικοινωνία) η οποία πιθανώς σχετίζεται με λειτουργική βελτίωση και σε επίπεδο μυϊκής ίνας, μηχανισμός όμως που πρέπει να διερευνηθεί.

Έχουν προηγηθεί τόσο *in vivo* όσο και *in silico* έρευνες σχετικά με το αν η κατεχίνη του πράσινου τσαγιού EGCG ή δομικά ανάλογες με αυτήν ουσίες (δηλ. ουσίες που προσδένονται στα ανάλογα σημεία ενδιαφέροντος των σαρκομερικών πρωτεϊνών) έχουν επίδραση στα λειτουργικά χαρακτηριστικά των μυών ή την συνολική μεταβολική υγεία. (Καρατζαφέρη, δημοσίευτα δεδομένα, προσωπική επικοινωνία).

Ωστόσο, τα δεδομένα είναι ελλιπή για τη διαπίστωση εάν τελικά η επιγαλλοκατεχίνη ή δομικά ανάλογες ουσίες τυχόν επηρεάζουν τον μηχανισμό παραγωγής μυϊκής δύναμης.

1.3 Σκοπός

Σκοπός της έρευνας είναι να εξετάσει *in vitro* την πιθανή επίδραση της EGCG στα λειτουργικά χαρακτηριστικά, ιδιαίτερα στην ανάπτυξη δύναμης σε μεμονωμένες μυϊκές ίνες σκελετικού μυός.

1.4 Σημαντικότητα της ερευνητικής μελέτης

Η κατεχίνη EGCG αποτελεί βασική πολυφαινόλη του πράσινου τσαγιού, αλλά συναντάται, επίσης, σε φρούτα και αποτελεί συστατικό σε δημοφιλή συμπληρώματα. Η παρούσα έρευνα εξετάζει εάν μια ουσία ανάλογη της κατεχίνης EGCG επηρεάζει την παραγωγή δύναμης σε μεμονωμένες μυϊκές ίνες. Επειδή, εκατομμύρια πολίτες χρησιμοποιούν συμπληρώματα πολυφαινολών και εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού, είναι σημαντικό να αποσαφηνιστεί εάν η όποια επίδραση των κατεχινών στον μηχανισμό της μυϊκής συστολής επηρεάζει την ικανότητα του μυοκυττάρου να αναπτύσσει δύναμη.

1.5 Ερευνητικές υποθέσεις

Η ερευνητική υπόθεση (H_1) της παρούσας μελέτης είναι ότι η προσθήκη δομικά ανάλογης ουσίας με την EGCG σε μεμονωμένες μυϊκές ίνες:

Θα έχει επίδραση στην ανάπτυξη δύναμης.

Η μηδενική υπόθεση (H_0) είναι ότι η προσθήκη δομικά ανάλογης με την EGCG ουσίας σε μεμονωμένες μυϊκές ίνες:

Δεν έχει επίδραση στην ανάπτυξη δύναμης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

2.1 Ο σκελετικός μυς

2.1.1 Η σημασία του σκελετικού μυός

Ο μυς είναι ιστός που παράγει δύναμη ως απάντηση σε ένα φυσιολογικό ερέθισμα. Οι μύες χωρίζονται στους σκελετικούς, τους λείους και τον καρδιακό μυ. Αποτελούν τη μεγαλύτερη ομάδα ιστών στο ανθρώπινο σώμα καταλαμβάνοντας περίπου το 50% του σωματικού βάρους (σκελετικοί μύες περί το 40% στους άνδρες και 32% στις γυναίκες και λείοι και καρδιακός μυς 10%). Ο μυϊκός ιστός μαζί με τον σκελετό και το υποδόριο λίπος διαμορφώνουν το σχήμα του σώματος. Ο μυς είναι ο μόνος βιολογικός ιστός, ικανός να παράγει τάση. Αποτέλεσμα της δραστηριότητάς του, είναι η ισχύς, η αντοχή και η δύναμη. Το σώμα αποτελείται από περισσότερους από 600 σκελετικούς μύες (Sherwood, 2016; Frontera & Ochala, 2015).

Οι σκελετικοί μύες προσφύονται στα οστά του σκελετού μέσω των τενόντων. Η σύσπαση τους κινεί τα οστά, επιτρέποντας στο σώμα να εκτελεί μεγάλη ποικιλία κινήσεων. Στους σκελετικούς μύες περιλαμβάνονται και οι μύες που είναι σημαντικοί για την μάσηση και την κατάποση της τροφής, καθώς και εκείνοι που είναι σημαντικοί για την αναπνοή (διάφραγμα, μεσοπλεύριοι). Οι σκελετικοί μύες παράγουν εκούσια κίνηση η οποία επιτρέπει: Α) την κίνηση ολόκληρου ή τμημάτων του σώματος. Β) τον χειρισμό αντικειμένων, Γ) την προώθηση του περιεχομένου των κοίλων οργάνων (πχ. Κατά την κυκλοφορία του αίματος), Δ) την κένωση του περιεχομένου συγκεκριμένων οργάνων (πχ. κατά την ούρηση) (Sherwood, 2016). Βέβαια, είναι δυνατό να παράγουν και ακούσια κίνηση σε καταστάσεις όπως ο μυϊκός τρόμος όταν διαταράσσεται το θερμικό ισοζύγιο.

Τα κύτταρα του σκελετικού μυός ονομάζονται μυϊκές ίνες και είναι μεγάλα επιμήκη κύτταρα (μήκους πολλών εκατοστών και με διάμετρο 10-100μm) τα οποία διαθέτουν πολλούς πυρήνες και μεγάλο αριθμό μιτοχονδρίων. Οι μυϊκές ίνες είναι οργανωμένες σε δεσμίδες (Frontera & Ochala, 2015). Κάθε μυϊκό κύτταρο περιβάλλεται από κυτταρική μεμβράνη, το σαρκείλημμα. Αυτό είναι υπεύθυνο για τη σύνδεση κάθε κυττάρου με τον τένοντα του μυός και για τη μετάδοση του δυναμικού ενέργειας.

Βασική λειτουργική μονάδα της μυϊκής ίνας αποτελεί το σαρκομέριο. Πρωτεϊνικές δομές, τα μυϊκά νημάτια, βρίσκονται στο σαρκομέριο και εξειδικεύονται στη συστολή. Τα παχιά νημάτια αποτελούνται από την κινητική πρωτεΐνη μυοσίνη. Τα λεπτά νημάτια αποτελούνται από την ακτίνη και τις συνοδές της πρωτεΐνες τροπομυοσίνη και τροπονίνη (Καρατζαφέρη, 2021). Με τον συντονισμό και τη συνεργασία παχίων και λεπτών νηματίων επιτυγχάνεται η

κίνηση του σαρκομερίου και εν συνεχεία όλου του μυός (Mukund & Subramaniam, 2020). Η θεωρία διολίσθησης των εγκάρσιων γεφυρών είναι γνωστή τα τελευταία 70 χρόνια. Κατά τη μυϊκή σύσπαση τα παχιά νημάτια που αποτελούνται από μόρια μυοσίνης, ολισθαίνουν επάνω στα λεπτά νημάτια προκαλώντας τη μείωση του μήκους του σαρκομερίου. Τα λεπτά νημάτια αποτελούνται από τις πρωτεΐνες τροπονίνη, τροπομυοσίνη και ακτίνη. Η ακτίνη παρέχει θέσεις πρόσδεσης της μυοσίνης, η τροπομυοσίνη επηρεάζει την προσβασιμότητα στις θέσεις αυτές και η τροπονίνη ρυθμίζει την παροχή ασβεστίου (Ca^{++}). Η τροπονίνη αποτελείται από 3 διαφορετικές υπομονάδες: την TnT, την TnI και την TnC. Η TnT προσδένεται στην τροπομυοσίνη και σταθεροποιεί το σύμπλοκο της τροπονίνης στο λεπτό νημάτιο. Παρουσία ακτίνης, η TnI καταστέλλει τον κύκλο της ATPάσης της μυοσίνης σε χαμηλά επίπεδα ασβεστίου. Η TnC απαντά στην αύξηση συγκέντρωσης ασβεστίου (Ca^{++}) αναστέλλοντας την καταστολή της TnI (Vinogradova et al., 2005). Η μυϊκή συστολή απαιτεί βράχυνση της σκελετικής ίνας η οποία επιτυγχάνεται μέσω του μηχανισμού διολίσθησης των λεπτών νηματίων επάνω στα παχιά νημάτια. Παρουσία ασβεστίου (Ca^{++}) δημιουργούνται οι κατάλληλες συνθήκες για την αλληλεπίδραση ακτίνης και μυοσίνης οδηγώντας, έτσι, σε κίνηση των εγκάρσιων γεφυρών και, κατά συνέπεια, μυϊκή συστολή. Για την παραγωγή τάσης στον μυ είναι απαραίτητη η εξής διαδικασία: στο τελικό κομβίο του κινητικού νευρώνα δημιουργείται ένα δυναμικό ενέργειας το οποίο διεγείρει την απελευθέρωση του νευροδιαβιβαστή ακετυλοχολίνη. Η ακετυλοχολίνη δημιουργεί ένα δυναμικό ενέργειας στη μυϊκή ίνα που με τη σειρά του πυροδοτεί την απελευθέρωση ασβεστίου (Ca^{++}) απαραίτητου για την έναρξη της διαδικασίας της μυϊκής συστολής (Mukund & Subramaniam, 2020).

Η βράχυνση των σαρκομερίων παράγει μυϊκή τάση η οποία μεταδίδεται στα οστά (μέσω των τενόντων) και δημιουργεί κίνηση. Ο χρόνος που απαιτείται για την ανάπτυξη τάσης στη μυϊκή ίνα ποικίλλει μεταξύ διαφορετικών τύπων μυών, από 10 msec έως 100 msec και χωρίζεται στη: λανθάνουσα φάση (από τη στιγμή που το δυναμικό ενέργειας φτάσει στην ίνα μέχρι την παραγωγή τάσης), φάση συστολής (περίοδος παραγωγής τάσης), φάση χαλάρωσης (επιστροφή ίνας στο φυσιολογικό μέγεθος). Η ταχύτητα βράχυνσης του μυός μειώνεται όσο το φορτίο αυξάνεται (Sherwood, 2016). Μια μυϊκή ίνα αναπτύσσει μέγιστη τάση όταν έχει το βέλτιστο μήκος κατά την έναρξη της συστολής. Όταν κατά τη μυϊκή συστολή το μήκος του μυοτενόντιου συνόλου παραμένει αμετάβλητο τότε γίνεται λόγος για ισομετρική συστολή. Φυσικά, κατά την ισομετρική συστολή παράγεται δύναμη, δηλαδή ο κύκλος των εγκάρσιων γεφυρών δραστηριοποιείται. Για το λόγο αυτό, κατά την ισομετρική συστολή δεν παράγεται εξωτερική κίνηση.

Τύποι μυϊκών ινών:

Οι μυϊκές ίνες οργανώνονται σε κινητικές μονάδες, δηλαδή ελέγχονται από κινητικούς νευρώνες. Οι μυϊκές ίνες χωρίζονται σε 3 κατηγορίες με βάση τις συστατικές και μεταβολικές τους ιδιότητες.

Αυτές είναι:

1. Βραδείες οξειδωτικές (τύπου I) ίνες
2. Ταχείες οξειδωτικές (τύπου IIa) ίνες
3. Ταχείες γλυκολυτικές (τύπου IIx) ίνες

Οι κύριες διαφορές τους αφορούν την ταχύτητα συστολής (βραδεία ή ταχεία) και το είδος των μεταβολικών αντιδράσεων στις οποίες εξειδικεύονται για την παραγωγή ATP (κυρίως οξειδωτική φωσφορυλίωση ή κυρίως γλυκόλυση ή συνδυασμός) (Frontera & Ochala, 2015). Οι ταχείες μυϊκές ίνες εμφανίζουν υψηλότερη δραστικότητα ATPάσης της μυοσίνης σε σύγκριση με τις βραδείες μυϊκές ίνες. Αυτό σημαίνει πως όσο υψηλότερη είναι η δραστικότητα αυτή, τόσο ταχύτερα διασπάται η ATP με αποτέλεσμα την ταχύτερη διάθεση ενέργειας για την πραγματοποίηση των επαναλαμβανόμενων κύκλων ακτίνης- μυοσίνης και άρα ταχύτερο ρυθμό μυϊκής σύσπασης. Ο χρόνος για να αναπτυχθεί μέγιστη δύναμη συστολής στις ταχείες μυϊκές ίνες είναι 15-40 msec, ενώ σε βραδείες μυϊκές ίνες 50-100 msec (Frontera & Ochala, 2015; Bottinelli & Reggiani, 2000).

Το επόμενο χαρακτηριστικό στο οποίο διαφέρουν οι μυϊκές ίνες είναι η ικανότητα του να ανασυνθέτουν ATP. Κάποιες μυϊκές ίνες βασίζονται για παραγωγή ενέργειας κυρίως στην πραγματοποίηση οξειδωτικής φωσφορυλίωσης ενώ άλλες στη γλυκόλυση. Η οξειδωτική φωσφορυλίωση είναι γνωστό ότι παράγει σημαντικά περισσότερα μόρια ATP και επιπλέον δεν οδηγεί σε συσσώρευση γαλακτικού οξέως. Κατά συνέπεια, οι μυϊκές ίνες αυτές είναι περισσότερο ανθεκτικές στην κόπωση από τις γλυκολυτικές ίνες των οποίων τα ενεργειακά αποθέματα μειώνονται γρήγορα κατά την διάρκεια υψηλής έντασης άσκησης (Mukund & Subramaniam, 2020).

Κάποια από τα χαρακτηριστικά των μυϊκών ινών συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 1: Δομικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά των διαφορετικών τύπων μυϊκών ινών (βασισμένο κατά Sherwood, 2016).

Χαρακτηριστικό	Βραδείες οξειδωτικές ίνες (τύπου I)	Ταχείες οξειδωτικές ίνες (τύπου IIa)	Ταχείες γλυκολυτικές ίνες (τύπου IIx)
Δραστηριότητα ΑΤΡάσης μυοσίνης	Χαμηλή	Υψηλή	Υψηλή
Ταχύτητα συστολής	Αργή	Γρήγορη	Γρήγορη
Ανθεκτικότητα στην κόπωση	Υψηλή	Μέση	Χαμηλή
Ικανότητα οξειδωτικής φωσφορυλίωσης	Υψηλή	Υψηλή	Χαμηλή
Περιεκτικότητα σε γλυκολυτικά ένζυμα	Χαμηλή	Μέση	Υψηλή
Μιτοχόνδρια	Πολλά	Πολλά	Λίγα
Τριχοειδή	Πολλά	Πολλά	Λίγα
Περιεκτικότητα σε μυοσφαιρίνη	Υψηλή	Υψηλή	Χαμηλή
Χρώμα μυϊκής ίνας	Ερυθρό	Ερυθρό	Λευκό
Περιεκτικότητα σε γλυκογόνο	Χαμηλή	Μέση	Υψηλή

2.1.2. Σκελετικός μυς και υγεία

Η διατήρηση ενός υγιούς μυϊκού συστήματος επιτρέπει στον άνθρωπο την διατήρηση μίας λειτουργικής ζωής τόσο σε σύνθετες κινήσεις και απαιτήσεις όσο και στις πιο απλές ανάγκες αυτοεξυπηρέτησης. Πολλές χρόνιες ασθένειες έχουν ως απόρροια την ατροφία των σκελετικών μυών ως αποτέλεσμα χρόνιας ακινησίας ή προσβολής του μυϊκού και νευρικού συστήματος από την νόσο, ή λόγω της φαρμακευτικής ή άλλης αγωγής. Ο ασθενής έτσι οδηγείται σε απώλεια μυϊκής μάζας. Στην υποκινητικότητα παρουσιάζεται η ατροφία λόγω υποκινητικότητας (disuse atrophy). (Malavaki, et al., 2015) Λόγω γήρατος εμφανίζεται η γνωστή ως σαρκοπενία (sarcopenia) η οποία εμπεριέχει και απώλεια κινητικών μονάδων ταχείας συστολής (Papadopoulou, 2020). Λόγω φαρμακευτικής αγωγής ή άλλης θεραπείας ή υποθρεψίας η απώλεια μυϊκής μάζας (disease-induced atrophy) μπορεί να καταλήξει σε δραματικά επίπεδα (πχ. καχεξία λόγω καρκίνου/ cancer cachexia) (Rosa et al., 2021; Malavaki, et al., 2015; Schiaffino et al., 2013).

Η μυϊκή ατροφία ευθύνεται κατά μεγάλο βαθμό για την αδυναμία που παρατηρείται σε ηλικιωμένους ή αρρώστους αλλά δεν εξηγεί πλήρως την μυϊκή δυσλειτουργία (Mitrou, 2022). Αυτό συμβαίνει διότι πολλές νόσοι ή χρόνιες καταστάσεις προκαλούν μετα –

μεταφραστικές αλλαγές (PTMs) σε κρίσιμες κινητικές πρωτεΐνες (πχ. καρβονυλίωση μυοσίνης κατά την γήρανση (Russel and Solis 2021; Li et al., 2015) που μειώνουν την παραγωγή δύναμης παρόλη την διαθεσιμότητα μυϊκού ιστού.

Είναι σημαντικό να διατηρείται η σχέση μυϊκής μάζας- μυϊκής δύναμης (μυϊκή ποιότητα/ muscle quality). Η διαταραχή της μυϊκής ποιότητας καθιστά την κίνηση πιο δύσκολη βάζοντας το άτομο σε έναν φαύλο κύκλο εξάντλησης- αποφυγής άσκησης- σαρκοπενίας/πτώσης μ. ποιότητας- περισσότερη εξάντληση- αποφυγή άσκησης- καχεξία-- θάνατος.

Συνεπώς, γίνεται εύκολα αντιληπτή η ανάγκη για διατήρηση της υγείας του μυϊκού ιστού και αύξηση της δυνατότητας παραγωγής δύναμης προς όφελος του ανθρώπου τόσο για την διατήρηση της ζωής και των απλών καθημερινών δραστηριοτήτων όσο και για την επίτευξη των πιο δύσκολων στόχων όπως η εργασία. Η εύρεση, λοιπόν, μηχανισμών ενίσχυσης της δυνατότητας παραγωγής δύναμης από του σκελετικούς μύες κρίνεται ότι θα μπορούσε να έχει ιδιαίτερα ευεργετικά αποτελέσματα για τον άνθρωπο.

2.2 Οξειδωτικό στρες & προσεγγίσεις αντιμετώπισής του

2.2.1 Ελεύθερες ρίζες και νοσηρότητα

Ελεύθερες ρίζες (free radicals) ονομάζονται τα άτομα ή μόρια με ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική τους στιβάδα. Είναι τα φυσιολογικά προϊόντα του μεταβολισμού του οξυγόνου και είναι απαραίτητες για την άμυνα του οργανισμού. Οι σχηματιζόμενες ελεύθερες ρίζες είναι κατά κανόνα εξαιρετικά δραστικές, λόγω της τάσης των ασύζευκτων ηλεκτρονίων τους να αποσπούν ένα επιπλέον ηλεκτρόνιο από άλλα μόρια (πρωτεΐνες, λιπίδια κλπ.) και, με αυτόν τον τρόπο, να συμπληρώνουν την ηλεκτρονιακή τους στιβάδα. Η δράση τους είναι απαραίτητη σε βιολογικές διαδικασίες , όπως, η καταστροφή παθογόνων μικροοργανισμών από το ανοσοποιητικό σύστημα. Παρόλα αυτά, ανεξέλεγκτη δημιουργία ελευθέρων ριζών στα κύτταρα έχει καταστροφικές συνέπειες λόγω της ανεξέλεγκτης οξειδωτικής δράσης αυτών των ενώσεων. Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να αντιδράσουν και να οξειδώσουν όλα τα βασικά συστατικά του κυττάρου. Γίνεται, λοιπόν, λόγος για οξειδωτικό στρες (Γαλάρης, 2015).

Το οξειδωτικό στρες θεωρείται μία από τις κύριες αιτίες για διάφορα χρόνια νοσήματα όπως καρδιαγγειακά νοσήματα, διαβήτη, νευροεκφυλιστικά νοσήματα (Parkinson, Alzheimer), καθώς και σε πολλές μορφές καρκίνου. (Bernatoniene, Kopustinskiene , 2018)

2.2.2 Επίδραση του οξειδωτικού στρες στην μυϊκή λειτουργία

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως τα υψηλά επίπεδα ελεύθερων ριζών (ROS) έχουν ως συνέπεια την καταστροφή μορίων DNA, πρωτεϊνών κ.α. Οι σκελετικοί μύες καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες οξυγόνου και μπορούν να παράγουν σημαντικό ποσοστό ελεύθερων ριζών οι οποίες, παράγονται κυρίως στα μιτοχόνδρια κατά τη φυσιολογική αναπνοή ως υποπροϊόντα της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. (Gomes et al., 2017)

Υπό φυσιολογικές συνθήκες το οξειδωτικό στρες ισορροπείται από το αντιοξειδωτικό σύστημα, το οποίο περιλαμβάνει διάφορα ενδογενή και εξωγενή μόρια. Οι κύριες άμυνες εξαρτώνται από ένζυμα τα οποία, βέβαια, τροποποιούνται κατά την άσκηση, τις διατροφικές συνήθειες και το γήρας.

Λόγω των αυξημένων επιπέδων οξειδωτικού στρες στον «ηλικιωμένο» μυ η συγκέντρωση ελεύθερων δείχνει να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αλλαγή χαρακτηριστικών του μυός και στην σαρκοπενία. (Gomes et al., 2017)

2.2.3 Αντιμετώπιση οξειδωτικού στρες

Έχει αποδειχθεί ότι είναι αδύνατον να αποφύγουμε την έκθεση στις ελεύθερες ρίζες και το οξειδωτικό στρες. Αυτό που μπορούμε να κάνουμε είναι να ελαχιστοποιήσουμε τις επιπτώσεις του οξειδωτικού στρες στο σώμα. Το κυριότερο από όλα είναι να αυξηθούν τα επίπεδα των αντιοξειδωτικών και να μειωθεί ο σχηματισμός των ελευθέρων ριζών. Είναι γνωστό ότι η άσκηση αυξάνει τον ρυθμό παραγωγής ελεύθερων ριζών. Παρόλο που μία περίοδος έντονης άσκησης μπορεί να αυξήσει την καταστροφή των μυϊκών ινών από το οξειδωτικό στρες, έχει αποδειχθεί ότι η συστηματική μέτριας έντασης άσκηση αυξάνει την ικανότητα των κυττάρων να διαχειριστούν την παραγωγή ελεύθερων ριζών, αυξάνοντας έτσι την αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού (Arazi, Eghbali & Suzuki, 2021).

Τα ενδογενώς παραγόμενα αντιοξειδωτικά καθώς και εκείνα που λαμβάνονται από την τροφή συμβάλουν επίσης στην αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες. Θεωρητικά κάθε ουσία με την ικανότητα να οξειδωθεί μπορεί να λειτουργήσει ως μηχανισμός μείωσης των ελεύθερων ριζών (Bucher, 2019).

Ένζυμα όπως η καταλάση, η υπεροξειδική δισμουτάση, η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και αρκετά μη ενζυματικά αντιοξειδωτικά όπως οι βιταμίνες A, E και C, η γλουταθειόνη, η ουβικινόνη και τα φλαβονοειδή είναι μερικές από τις ουσίες που συνεισφέρουν στην αδρανοποίηση των ελεύθερων ριζών (Arazi, Eghbali & Suzuki, 2021; Urso & Clarkson, 2003).

Χάρη στην αντιοξειδωτική τους δράση οι κατεχίνες μπορούν να συμβάλλουν στην πρόληψη και προστασία από τις παθολογικές καταστάσεις που δημιουργούνται από το οξειδωτικό στρες. Έχουν την ικανότητα να δημιουργήσουν αλλά και να απομακρύνουν τις ελεύθερες ρίζες. Τα ευεργετικά τους αποτελέσματα που προσφέρουν φαίνεται να είναι ένας συνδυασμός των δύο μηχανισμών (Bernatoniene & Korustinskiene, 2018).

2.3 Το πράσινο τσάι και ο ρόλος των κατεχινών

2.3.1 Το πράσινο τσάι

Το τσάι είναι ένα από τα αρχαιότερα και πιο δημοφιλή αφεψήματα παγκοσμίως. Τουλάχιστον, 3 δις. άνθρωποι παγκοσμίως καταναλώνουν ρόφημα τσαγιού κατατάσσοντάς το έτσι στη δεύτερη θέση σε κατανάλωση ποτών, αμέσως μετά το νερό (Zhao et al., 2022). Με ιστορία 60-70 εκατομμυρίων ετών το φυτό του τσαγιού, *Camelia sinensis*, προέρχεται από την νοτιοδυτική Κίνα και γραπτές αναφορές καταδεικνύουν ότι οι άνθρωποι ξεκίνησαν να πίνουν το αφέψημά του άνω από 3000 χρόνια πριν (Pan et al., 2022). Η διάκριση μεταξύ των ειδών του εξαρτάται από την κατεργασία που θα υποστούν τα φύλλα, την τοποθεσία προέλευσης και τον τύπο εδάφους στο οποίο μεγαλώνει το φυτό (Farhan, 2022). Στην Κίνα, σύμφωνα με τον βαθμό οξείδωσης που θα υποστεί χωρίζεται σε έξι βασικές κατηγορίες: πράσινο, μαύρο, λευκό, κίτρινο, Oolong και σκούρο (dark) τσάι (Zhao et al., 2022). Πράσινο ονομάζεται εάν δεν οξειδωθεί και περάσει από την διαδικασία ατμού και της ξήρανσης διατηρώντας όλες τις πολύτιμες ιδιότητές του. Ενώ, ονομάζεται μαύρο εάν οξειδωθεί τελείως (Pan et al., 2022). Είναι σημαντικό να καταλάβουμε ότι τα διαφορετικά είδη τσαγιού δε διαφέρουν μόνο στη γεύση αλλά και στην περιεκτικότητά τους σε πολυφαινόλες. Συνεπώς, στην αντιοξειδωτική τους ιδιότητα. Το πράσινο τσάι έχει τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε σχέση με τα υπόλοιπα είδη (Musial et al., 2020). Η περιεκτικότητα του τσαγιού σε πολυφαινόλες σχετίζεται άμεσα με τις περιβαλλοντικές και γεωργικές συνθήκες στις οποίες καλλιεργείται. Το έδαφος, το κλίμα, το φως, η γεωγραφία και οι μικροοργανισμοί είναι μόνο κάποιοι από τους παράγοντες που την επηρεάζουν. Ενδιαφέρον είναι, επίσης, ότι η αύξηση της θερμοκρασίας δείχνει να αυξάνει την αντιοξειδωτική του ιδιότητα (Pan et al., 2022).

Πέρα από τη μακρά ιστορία του ως αφέψημα το τσάι αποτελεί ένα από τα αρχαιότερα φάρμακα της κινέζικης ιατρικής (CAM). Στη σύγχρονη εποχή είναι γνωστό ότι η κατανάλωση πράσινου τσαγιού έχει πολλαπλά οφέλη στη σωματική υγεία μέσω της αντιοξειδωτικής, αντιφλεγμονώδους δράσης του. Έχει αποδειχθεί, επιπλέον, ότι μπορεί να

δράσει ευεργετικά στη ρύθμιση του ανοσοποιητικού, κατά του καρκίνου, των καρδιαγγειακών ασθενειών, του διαβήτη, της παχυσαρκίας (Zhao et al., 2022). Χάρη στην ενίσχυση της εγγενούς ανοσολογικής απόκρισης και την αναστολή της ανάπτυξης του ιού έχει φανεί ότι λειτουργεί επίσης κατά του COVID-19. Οι πολυφαινόλες του τσαγιού, καφεΐνη, θειανίνη, πολυσακχαρίτες και άλλα συστατικά τα οποία έχουν διαχωριστεί από το τσάι έχουν φαρμακολογικές ιδιότητες όσον αφορά τα παραπάνω και επιπλέον την προστασία του νευρικού συστήματος και τη μείωση γλυκόζης στο αίμα. Η κατανάλωση πράσινου τσαγιού θεωρείται επίσης κατάλληλη για ασθενείς με υπέρταση, υπερλιπιδαιμία, στεφανιαία νόσο, αθηροσκλήρωση, και διαβήτη (Chakrawarti et al., 2016).

Η σημαντικότητα κατανόησης των προ- και αντιοξειδωτικών ικανοτήτων επάγεται από την κατανόηση του ρόλου των ελεύθερων ριζών στην κυτταρική μεταγωγή. Είναι ανάγκη να θυμόμαστε ότι «φυσικό» δε σημαίνει πάντα και «απόλυτα ασφαλές». Οι τοξικές παρενέργειες από την κατανάλωση του πράσινου τσαγιού είναι σχετικά μικρές. Βέβαια, οι υψηλές συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικών παρουσία μεταβατικών μετάλλων μπορεί να οδηγήσουν στον σχηματισμό ελεύθερων ριζών (Urso & Clarkson, 2003). Πρέπει να χρησιμοποιείται με προσοχή από εγκύους, παιδιά και ηλικιωμένους (Zhao et al., 2022).

2.3.2 Κατεχίνες

Το τσάι περιέχει μεγάλη ποικιλία πολυφαινολών. Υπάρχουν, περίπου, 30 είδη ενώσεων που συνιστώνται κυρίως από τα φλαβονοειδή, ανθοκυανίνες και φαινολικά οξέα (Zhao et al., 2022). Τα φλαβονοειδή αποτελούν μία από τις πιο κοινές και ποικιλόμορφες ομάδες πολυφαινολών. Η μοριακή δομή τους (παρουσία αρκετών υδροξυλομάδων) τους προσδίδει σημαντικές αντιοξειδωτικές ιδιότητες (Musial et al., 2020). Οι κατεχίνες αποτελούν τον πιο κοινό τύπο φλαβονοειδών (Farhan, 2022). Πέρα από το πράσινο τσάι, απαντώνται φυσικά σε ποικιλία τροφών και ποτών όπως το μαύρο τσάι, ο καφές, τα μούρα και το κρασί (Farhan, 2022). Η μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες του τσαγιού απαντάται στο πράσινο τσάι και ανέρχεται γύρω στο 30%. Κάτι που το καθιστά εξαιρετικό φυσικό αντιοξειδωτικό (Farhan 2022; Musial, Kuban-Jankowska, Gorska-Ponikowska, 2020). Συγκριτικά με το μαύρο ή το Oolong τσάι, η περιεκτικότητα κατεχινών στο πράσινο τσάι είναι σημαντικά υψηλότερη (Farhan 2022).

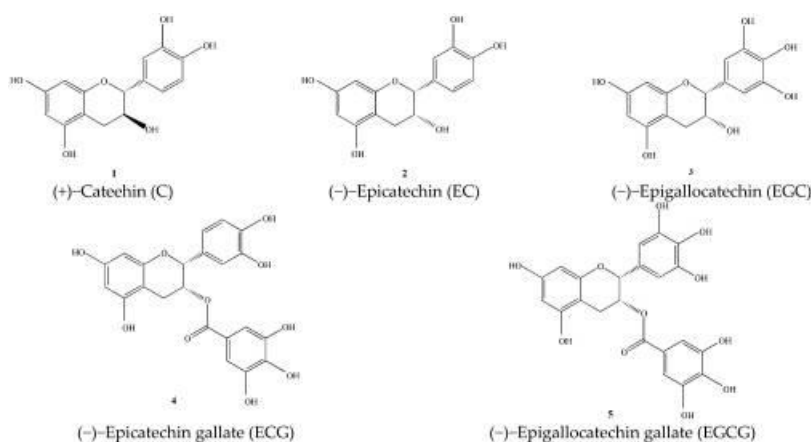
Πίνακας 2: Περιεκτικότητα EGCG σε διάφορες τροφές (βασισμένο σε Farhan, 2022, Table 1).

Τρόφιμα	Περιεκτικότητα σε EGCG
Πράσινο τσάι	4.62 mg/100 mL

Πράσινο τσάι (αποξηραμένα φύλλα σε χύμα μορφή)	56.5–205.0 mg/g αποξηραμένων φύλλων
Πράσινο τσάι (συσκευασμένα αποξηραμένα φύλλα)	54.3–153.0 mg/g αποξηραμένων φύλλων
Βατόμουρα	0.68 mg/100 g βρώσιμης μερίδας
Κράνμπερι	0.97 mg/100 g βρώσιμης μερίδας
Πεκάν	2.30 mg/100 g βρώσιμης μερίδας
Μαύρο τσάι, brewed	9.36 mg/100 g βρώσιμης μερίδας

Η EGCG είναι η κυριότερη και πιο μελετημένη κατεχίνη του πράσινου τσαγιού. Πλήθος ερευνών τόσο *in vivo* όσο και *in vitro* έχουν δείξει την αντικαρκινική της δράση καθώς και τις αντιδιαβητικές, αντιβακτηριακές, αντικές της ιδιότητες. Καθώς επίσης, η χρήση της έχει προστατευτικά αποτελέσματα σε διάφορες νευροεκφυλιστικές νόσους καθώς και στην ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος (Zhao et al., 2022). Επιπλέον, έχει θεραπευτική χρήση όσον αφορά διάφορα καρδιαγγειακά νοσήματα χάρη στις ιδιότητές της να μειώνει την LDL- χοληστερόλη, παράγοντες υπερτροφίας της καρδιάς, τη γλυκόζη του πλάσματος, τη φλεγμονή και τις αντιοξειδωτικές της ιδιότητες. (Eng, Thanikachalam & Ramamurthy, 2018). Η ομάδα του εργαστηρίου μας ήταν από τις πρώτες που μελέτησε την επίδραση του εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού σε δείκτες απόδοσης (Karatzafieri et al., 2009) και σε δείκτες υγείας (Μπουρλιός, 2008) αναδεικνύοντας θετικά του αποτελέσματα σε άτομα διαφόρων ηλικιών (που δεν κατανάλωναν ως τότε πράσινο τσάι).

Πίνακας 3: Μοριακή δομή κατεχινών (Zhao, Li, Wang, Song, 2022).



2.4 Ινότροπες ουσίες

Ινότροπες ονομάζονται οι ουσίες οι οποίες έχουν την ικανότητα να μεταβάλουν τη συσταλτικότητα μιας μυϊκής ίνας. Κάποιες από αυτές έχουν τη δυνατότητα να αυξάνουν την δύναμη της μυϊκής συσπάσεως και ονομάζονται θετικά ινότροπες και άλλες οι οποίες τη μειώνουν και ονομάζονται αρνητικά ινότροπες. Ως φάρμακα, τα ινότροπα χρησιμοποιούνται ως θετικά ή αρνητικά κυρίως για την αντιμετώπιση καρδιακών παθήσεων.

Τα θετικά ινότροπα φάρμακα χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία ασθενών με καρδιακή ανεπάρκεια ήδη από το 1775 (Francis, Bartos & Adatya, 2014). Ωστόσο, παρά την επιτυχή αύξηση της καρδιακής παροχής, πολλές ινότροπες ουσίες έχουν κατηγορηθεί για εκτεταμένο ποσοστό θνησιμότητας εξαιτίας της αυξημένης ταχυκαρδίας και μυοκαρδικής κατανάλωσης οξυγόνου που προκαλούν οδηγώντας σε αρρυθμία και ισχαιμία του μυοκαρδίου (Francis, Bartos, Adatya, 2014). Κρίνεται, λοιπόν, αναγκαία η εύρεση νέων ινότροπων παραγόντων που να μην επηρεάζουν τη θνησιμότητα.

Μερικές ουσίες με ινότροπο δράση είναι το bepridil, το levocimendan, το dextrosimendan, το EMD 57033 και το ANAPOE. Αυτές έχουν την ικανότητα να αυξάνουν την δυνατότητα πρόσδεσης του ασβεστίου στην τροπονίνη (Ca^{++} -sensitizers).

Χάρη σε αυτή τους την ιδιότητα τα φάρμακα με ινότροπο δράση ενισχύουν την παραγωγή δύναμης, μιμούμενα τη δράση του ασβεστίου.

Για παράδειγμα το bepridil είναι αναστολέας διαύλων ασβεστίου με ινότροπο δράση που μειώνει την κατανάλωση οξυγόνου από το μυοκάρδιο και αυξάνει τη στεφανιαία αιματική ροή δημιουργώντας σημαντικές αντί-ισχαιμικές και αντί-στηθαγχικές επιδράσεις απουσία της αντανεκλαστικής ταχυκαρδίας (Hollingshead, Faulds & Fitton, 1992). Το levocimendan αποτελεί μία από τις ουσίες με ουδέτερη επίπτωση στη θνησιμότητα (Conti et al., 2021). Σε προηγούμενη *in vitro* έρευνα (Vinogradova et al. 2005) βρέθηκε ότι η ουσία ANAPOE έχει δυνατότητα πρόσδεσης στην τελευταία θέση του συμπλόκου της σκελετικής τροπονίνης C (TnC). Το σημείο όπου προσδένεται το ANAPOE σύμφωνα με την πρωτεϊνική δομή των Vinogradova και συνεργατών βρέθηκε ότι είναι το ίδιο με το σημείο στο οποίο προσδένεται το φάρμακο Bepridil στην καρδιακή TnC. Όσον αφορά τον έλεγχο επιλεκτικότητας μέσα από πειραματισμό σε μυϊκά παρασκευάσματα, στην ίδια μελέτη βρέθηκε ότι το ANAPOE επιδεικνύει επιλεκτική θετική ινότροπο δράση στις σκελετικές μυϊκές ίνες ταχείας συστολής και όχι στα καρδιακά παρασκευάσματα ή σε μυϊκές ίνες βραδείας συστολής (Vinogradova et al. 2005).

Σε *in silico* έρευνα που διεξήχθη από την επιβλέπουσα (Καρατζαφέρη και συνεργάτες, άρθρο υπό προετοιμασία) βρέθηκε ότι και η κατεχίνη EGCG έχει δυνητικά ινότροπο δράση

μέσω πρόσδεσής της στην TnC σκελετικού μυός καθώς επίσης ότι το ANAPOE συμπεριφέρεται ως δομικά ανάλογη ουσία της κατεχίνης EGCG (όσον αφορά τη θέση πρόσδεσης στην τροπονίνη). Επειδή, η χρήση κατεχίνης EGCG σε *in vitro* πειράματα απαιτεί ιδιαίτερες συνθήκες για την αποφυγή της οξείδωσης της, για τους σκοπούς της συγκεκριμένης μελέτης υιοθετήθηκε η χρήση της ANAPOE αντί της καθεαυτής κατεχίνης.

Επειδή το ANAPOE έχει δυνατότητα πρόσδεσης στην TnC των ινών του ψοϊτη μυός αλλά όχι του υποκνημίδιου ή του καρδιακού μυός προσφέρεται η δυνατότητα να διερευνηθεί ο πιθανός ρόλος της κατεχίνης EGCG και των αναλόγων της ουσιών στην επαύξηση της μυϊκής λειτουργίας αποκλειστικά σε μυϊκές ίνες ταχείας συστολής. Πιθανή θετική επίδραση μπορεί να προσφέρει έναν μηχανισμό που να εξηγεί ανέκδοτες πληροφορίες από χρήστες συμπληρωμάτων κατεχινών αλλά και μέρος δημοσιευμένων ευρημάτων που σχετίζουν τέτοια χρήση με καλύτερη συνολική λειτουργικότητα (Karatzafiri et al., 2009), πέρα από την καθεαυτή επίδραση των κατεχινών στα επίπεδα οξειδωτικού στρες. Τέτοια δεδομένα θα επιτρέψουν επίσης μελλοντικά τη δημιουργία ενός σκευάσματος που να ευνοεί την επαύξηση δύναμης των σκελετικών μυών (γρήγορες ίνες) χωρίς κάποια αρνητική επίπτωση στην καρδιακή λειτουργία.

2.5 Έρευνες παρόμοιου ενδιαφέροντος

Τα τελευταία χρόνια έχει διεξαχθεί πλήθος μελετών που ερευνά την επίδραση της κατανάλωσης πράσινου τσαγιού και ιδιαίτερα κατεχινών τόσο στον ανθρώπινο όσο και σε ζωικούς οργανισμούς. Στην πλειοψηφία τους οι έρευνες σε πειραματόζωα και πιο συγκεκριμένα, σε ποντίκια καταδεικνύουν μείωση του ρυθμού της μυϊκής ατροφίας και διατήρηση του μυός καθώς και βοηθητικό (ευεργετικό) ρόλο στη μυϊκή αναγέννηση (Zhao et al., 2022). Όσον αφορά τις μελέτες που έχουν διεξαχθεί σε ανθρώπινο δείγμα, έχουν δείξει ότι η χρήση συμπληρώματος EGCG μπορεί να έχει διάφορες ευεργετικές δράσεις στο επίπεδο της μυϊκής λειτουργίας όπως, περιορισμό της ατροφίας των μυών, προσαρμογές που προσομοιώνουν τη μυϊκή αναγέννηση υποβοηθώντας έτσι την αποκατάσταση του μυός μετά από άσκηση και τη μυογένεση.

Οι Wimmer, Russell και Schneider πραγματοποίησαν έρευνα σε μεμονωμένες μυϊκές ίνες ποντικών (FDB), οι οποίες, αφού απομονώθηκαν προσβλήθηκαν τεχνητά με αδενοϊό (adenovirus adFoxo1-GFP) ώστε να γίνει έκφραση του παράγοντα ατροφίας Foxo1- GFP. Στη συνέχεια, έγινε απεικόνιση φθορισμού και σε κάθε ίνα προστέθηκε μία από τις παρακάτω ουσίες: control, IGF-1 (13nM), ινσουλίνη (35μM) και EGCG (10μM). Όσον αφορά

την EGCG τα 10 μ M κρίθηκαν η βέλτιστη συγκέντρωση για δημιουργία απάντησης στον Foxo-1 χωρίς να προκαλέσει βλάβη του κυττάρου. Συνολικά, βρέθηκε ότι η προσθήκη EGCG έχει παρόμοια δράση με αυτή του αυξητικού παράγοντα IGF-1 και της ινσουλίνης στη μεσολάβηση της μείωσης του παράγοντα Foxo-1 (σε πυρηνικό επίπεδο) εμφανίζοντας , επιπλέον, ένα μονοπάτι δράσης ανεξάρτητο από αυτά των άλλων δύο ουσιών (Wimmer, Russell, Schneider, 2015) και συνολικά με ρόλο στη σηματοδότηση διατήρησης του μυϊκού ιστού.

Σε έρευνα που έγινε σε δείγμα κυττάρων ποντικών και ανθρώπων βρέθηκε ότι η προσθήκη EGCG μειώνει την έκκριση ινσουλίνης από τα β παγκρεατικά κύτταρα και αυξάνει την ευαισθησία του μυός στην ινσουλίνη (Pournourmohammadi et al., 2017). Παρατήρηση που επιπλέον υποστηρίζει την ύπαρξη επίδρασης της EGCG στην πρόληψη της εμφάνισης μεταβολικού συνδρόμου αλλά και στην εξέλιξη των αναβολικών μηχανισμών.

Σχετική με τη χορήγηση EGCG ήταν και η έρευνα του Wagner και συνεργατών όπου βρέθηκε ότι η χορήγηση EGCG μπορεί να αυξήσει τον μέσο όρο προσδόκιμου ζωής καθώς και να βελτιώσει τη φυσική κατάσταση σε αρσενικές μύγες *Drosophila melanogaster* . Το πείραμα διεξήχθη με χορήγηση 10ml/mg EGCG στις μύγες και είχε αύξηση του μέσου όρου ζωής τουλάχιστον κατά τρεις μέρες. Επιπλέον, οι μύγες οι οποίες γαλουχήθηκαν για 30 ημέρες με συμπλήρωμα EGCG έδειξαν αισθητά αυξημένη φυσική ικανότητα (Wagner et al., 2015).

Σε έρευνα του Kim και των συνεργατών του βρέθηκε ότι η χρήση EGCG σε μεμονωμένες μυϊκές ίνες προσομοιώνει τη μυογένεση μέσω της ενεργοποίησης του μεταγραφικού παράγοντα TAZ. Η χορήγηση EGCG σε μεμονωμένες μυϊκές ίνες είχε σαν αποτέλεσμα την προσομοίωση της μυϊκής διαφοροποίησης μέσω της ρύθμισης της γονιδιακής μεταγραφής των C2C12 και των δορυφορικών κυττάρων υποβοηθούμενης από τον παράγοντα TAZ. Τα δορυφορικά κύτταρα πολλαπλασιάζονται κατά τη μυϊκή καταστροφή και απώλεια και λειτουργούν σαν πρόδρομοι της εκ νέου μυογένεσης. Συνεπώς, η ανακάλυψη μηχανισμών υποβοήθησης έκφρασης αυτών των κυττάρων μπορεί να αποδειχθεί ιδιαίτερα χρήσιμη στην καταπολέμηση των μυϊκών ατροφιών (Kim et al., 2017).

Την επίδραση του συμπληρώματος πράσινου τσαγιού στον χρόνο εξάντλησης στο κολύμπι εξέτασαν στη μελέτη τους οι Teng και Wu. Το δείγμα χωρίστηκε σε τέσσερις πειραματικές ομάδες (N=12,κάθε ομάδα), μία ομάδα ελέγχου (λάμβανε αποσταγμένο νερό) και άλλες τρεις κάθε μία από τις οποίες λάμβανε συμπλήρωμα διαφορετικής περιεκτικότητας EGCG (50, 100, 200 mg/kg σωματικού βάρους). Γινόταν από στόματος χορήγηση για 28 ημέρες. Στις πειραματικές ομάδες βρέθηκε ότι όσο μεγαλύτερη δοσολογία λάμβαναν τόσο

περισσότερο αυξανόταν ο χρόνος μέχρι να επέλθει εξάντληση στο κολύμπι. Επιπλέον, οι πειραματικές ομάδες έδειξαν σημαντική αύξηση στην περιεκτικότητα γλυκογόνου στο ήπαρ και τους μύες. Συνολικά, οι ερευνητές συμπέραναν ότι η εισαγωγή συμπληρώματος EGCG στη διατροφή μπορεί να επιμηκύνει τον χρόνο που μεσολαβεί μέχρι να επέλθει η κόπωση σε ποντικούς (Teng & Wu, 2017).

Σε έρευνα των Lee και των συνεργατών σε ποντικούς, οι ερευνητές εργάστηκαν για να διασαφηνίσουν τα εργογόνα αποτελέσματα της χρήσης διατροφής εμπλουτισμένης με συμπλήρωμα απομονωμένης πρωτεΐνης σόγιας και πράσινου τσαγιού ISPG (isolated soy protein with green tea). Η ομάδα ποντικών που κατανάλωνε ISPG και υποβλήθηκε σε προπόνηση αντιστάσεων παρουσίασε μείωση αποθήκευσης λίπους και αύξηση μυϊκής μάζας χωρίς αλλαγή στο συνολικό σωματικό βάρος. Επιπλέον, αυξήθηκε η μυϊκή δύναμη, βελτιώθηκε η εκρηκτικότητα και η αντοχή. Ακόμη, αποδείχτηκε ότι στη συγκεκριμένη ομάδα αυξήθηκε η ικανότητα αποθήκευσης γλυκογόνου στους μύες βοηθώντας έτσι την αθλητική απόδοση. Ακόμη μία σημαντική απόρροια της έρευνας ήταν ότι στη πειραματική ομάδα μειώθηκαν σημαντικά οι δείκτες κόπωσης κατά της άσκησης (Lee et al., 2021).

Μία ακόμη έρευνα του Tian και των συνεργατών του που έγινε σε είδος σκώληκα *C.elegans* έδειξε ότι η χορήγηση EGCG μπορεί να αυξήσει το προσδόκιμο ζωής και την αντίσταση στο στρες. Βρέθηκε ότι μόλις σε συγκέντρωση 2.5μM, ποσότητα που απαντάται και στο πλάσμα των ανθρώπινων κυττάρων μετά από χορήγηση στερεού συμπληρώματος 4.5γρ. πράσινου τσαγιού χωρίς καφεΐνη, η EGCG είναι ικανή να έχει τα παραπάνω αποτελέσματα (Tian et al., 2021).

Μέχρι στιγμής οι περισσότερες μελέτες που έχουν διεξαχθεί με ανθρώπινο δείγμα επικεντρώνονται στην αποτελεσματικότητα των κατεχινών όσον αφορά την παχυσαρκία και τις καρδιαγγειακές παθήσεις. Συχνά τα αποτελέσματα δεν είναι σαφή διότι τα συμπληρώματα περιέχουν και ποσότητα καφεΐνης ή το συμπλήρωμα δίνεται συνδυαστικά με φαρμακευτική αγωγή.

Σε έρευνα του εργαστηρίου μας σε κλινικούς πληθυσμούς, σε άτομα με δυσλιπιδαιμία (N=40), έγινε τρίμηνη χορήγηση στατίνης και εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού χωρίς καφεΐνη (20 mg ατορβαστατίνης Lipitor και 600 mg. κατεχίνης σε κάψουλες) με την ομάδα ελέγχου να λαμβάνει την στατίνη και αδρανή ουσία. Οι τιμές των λιπιδίων μειώθηκαν σημαντικά και στις δύο ομάδες αλλά δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων, παρά το γεγονός ότι η ομάδα του πράσινου τσαγιού παρουσίασε μεγαλύτερη βελτίωση στο λιπιδαιμικό προφίλ. Δεν παρατηρήθηκαν επίσης διαφορές στα επίπεδα οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικής προστασίας μεταξύ των δύο ομάδων, ούτε

στην παρουσία τυχόν παρενεργειών από την θεραπεία με στατίνες. Σε ότι αφορά τις παραμέτρους που σχετίζονταν με την ποιότητας ζωής των ασθενών (συμπεριλαμβανομένης της λειτουργικότητας), βρέθηκαν μη στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων, παρότι η ομάδα του πράσινου τσαγιού παρουσίασε αριθμητική υπεροχή σε όλους τους δείκτες (Μπουρλιός, 2008).

Σε μικρής κλίμακας έρευνα του εργαστηρίου βρέθηκε ότι η τρίμηνη χορήγηση εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού (άνευ καφεΐνης) είχε θετική επίδραση στη σωματική σύσταση νέων, γενικά ασκουμένων, υγιών ατόμων (N=10) χωρίς να φανεί ξεκάθαρη μεταβολή της οξειδοαναγωγικής ισορροπίας (Karatzafieri et al., 2009).

Σε δοκιμασία τυχαιοποιημένου ελέγχου (Randomized, controlled prospective trial) που διεξήχθη από την Basu και τους συνεργάτες της σε τυχαιοποιημένο δείγμα ανθρώπων εξετάστηκε η επίδραση του πράσινου τσαγιού σε ασθενείς με παχυσαρκία και μεταβολικό σύνδρομο. Το πείραμα διεξήχθη σε 35 ασθενείς, οι οποίοι χωρίστηκαν σε πειραματικές ομάδες και ομάδα ελέγχου. Οι πειραματικές ομάδες κατανάλωναν 4 κούπες πράσινο τσάι ημερησίως ή κάψουλες με εκχύλισμα πράσινου τσαγιού και νερό για 8 εβδομάδες ενώ η ομάδα έλεγχου κατανάλωνε νερό. Τα αποτελέσματα για τις πειραματικές ομάδες ήταν παρόμοια και κατέδειξαν σημαντική μείωση του βάρους καθώς και του δείκτη μάζας σώματος σε διάστημα 8 εβδομάδων. Επιπλέον, βρέθηκε πτωτική τάση της LDL χοληστερόλης (Basu et al., 2010).

Σε έρευνα του Kerksick και συνεργατών που διεξήχθη σε υγιείς ενήλικες (N=30) βρέθηκε ότι η κατανάλωση 1.800 mg EGCG (κάψουλες) ημερησίως για 14 ημέρες είναι ικανή να μειώσει τη μυϊκή κάκωση μετά από δοκιμασία έκκεντρης κίνησης σε ισοκινητικό μηχάνημα (Kerksick, Kreider & Willoughby, 2010).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Η παρούσα μελέτη εγκρίθηκε από την Εσωτερική Επιτροπή Δεοντολογίας του Τμήματος Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού του Πανεπιστημίου (2086/8-2-2023).

3.1 Δείγματα σκελετικού μυός

[Χρησιμοποιήθηκε αποθηκευμένο δείγμα μυός ψοΐτη μυός κονίκλων N. Ζηλανδίας ελέγχου]. Επιλέχθηκε δείγμα ψοΐτη μυός λόγω της ομοιογένειας της σύστασής του (ίνες τύπου IIX) και της καθαρότητάς του από συνδετικό ιστό. Συγκεκριμένα, απομονώθηκαν δεσμίδες μυϊκών ινών (~2mm διάμετρος) εμβαπτισμένου σε διάλυμα 50% γλυκερόλης που περιείχε 50% γλυκερόλη και 50% διάλυμα ακαμψίας για την χημική απομεμβράνωσή τους και την αποθήκευσή τους στους -80°C. Για την μηχανική αξιολόγηση των μυϊκών ινών απομονώνονταν μυϊκά παρασκευάσματα κατάλληλου μεγέθους (περί τα 1 mm) τα οποία και προσαρμόζονταν κατάλληλα στην συσκευή μικροδυναμομετρίας SI Heidelberg/WPI, σύμφωνα με δημοσιευμένα πρωτόκολλα (Mitrou et al., 2017; Karatzaferi, Franks-Skiba & Cooke, 2008).

3.2 Σύστημα μυϊκής μικροδυναμομετρίας

Η συσκευή είναι συνδεδεμένη με μετατροπέα ισχύος (0.4 μN-4 N) και κινητήρα (χρήση ως σταθερή άκρη για ισομετρικές διαδικασίες), μικροσκόπιο με δυνατότητα τοποθέτησης πάνω από το μικροδυναμόμετρο για οπτική επαφή με τις μυϊκές ίνες που προσαρτώνται στο σύστημα, ψύκτη και κυκλοφορητή νερού για ρύθμιση θερμοκρασίας στα τρυβλία στα οποία εμβαπτίζονται οι ίνες (η θερμοκρασία που επικρατεί στο κάθε τρυβλίο ρυθμίζεται χειροκίνητα από τον πίνακα του συστήματος Heidelberg και είναι ανεξάρτητη για το κάθε ένα). Το σύστημα συνδέεται με ηλεκτρονικό υπολογιστή και ειδικό λογισμικό για την καταγραφή των αποτελεσμάτων. Επίσης το σύστημα έχει την δυνατότητα υπολογισμού του σαρκομερικού μήκους (μέθοδος περίθλασης με χρήση laser).

3.3 Περιγραφή πειράματος

Οι μυϊκές ίνες απομονώθηκαν από τις μυϊκές δεσμίδες σε κρύα επιφάνεια με χρήση στερεοσκοπίου και τοποθετήθηκαν με την κάθε άκρη τους προσαρμοσμένη κατάλληλα σε κάθε μία από τις δύο άρπαγες της συσκευής μικροδυναμομετρίας (SI Heidelberg/WPI, Heidelberg, Germany). Έπειτα, η κάθε ίνα περνούσε από τρυβλία τα οποία περιείχαν το κάθε ένα διαφορετικό πειραματικό διάλυμα (βλέπε 3.4). Έγινε διαρκής καταγραφή δεδομένων και εξαγωγή τους για τη μετέπειτα ανάλυση.

Το μικροδυναμόμετρο αποτελείται από μία οριζόντια πλατφόρμα με τη δυνατότητα εμπρόσθιας και πίσω μετακίνησης με πέντε ανεξάρτητα τρυβλία και ένα He-Ne laser επιτρέποντας μετρήσεις μήκους του σαρκομερίου, βασισμένο σε ένα σχέδιο των Karatzaferi & Cooke. Το κάθε τρυβλίο έχει δυνατότητα χειροκίνητης αυτόνομης ρύθμισης της θερμοκρασίας του. Στο παρόν πείραμα, η θερμοκρασία των τρυβλίων ήταν προσαρμοσμένη στους 10°C με τη χρήση cooling/heating water circulator (Thermo Electron Haake WKL26, Thermo Fisher Scientific, Boston, MA, USA). Η διαδικασία ρύθμισης της θερμοκρασίας γίνεται συγχρόνως με την προετοιμασία των μυϊκών ινών διότι απαιτεί το πέρασμα κάποιου χρονικού διαστήματος.

Έγινε μέτρηση της ικανότητας παραγωγής μέγιστης ισομετρικής δύναμης σε ένα σύνολο $N=7$ μυϊκών ινών σε 10°C, pH 7.

Κάθε ίνα μετά την ασφαλή και σταθερή τοποθέτηση στις άρπαγες μεταφέρεται άμεσα στο πρώτο τρυβλίο όπου εμβαπτίζεται για ένα λεπτό σε διάλυμα ακαμψίας (basic rigor) για να απομακρυνθεί η περίσσεια γλυκερόλης. Έπειτα, μεταφέρεται για δύο λεπτά στο τρυβλίο με διάλυμα χαλάρωσης (relaxing solution) όπου γίνεται βαθμονόμηση της ίνας και μέτρηση των μορφομετρικών χαρακτηριστικών (μήκος, διάμετρος) και σαρκομερικού μήκους ηρεμίας (περί τα 2,4 μm). Το συνολικό μήκος των μυϊκών ινών μετρήθηκε σε μεγέθυνση $\times 10$ με τη βοήθεια ενός χάρακα που είναι ενσωματωμένος στο μικροσκόπιο. Η διάμετρος των μυϊκών ινών μετρήθηκε σε τρεις με πέντε θέσεις κατά μήκος της μυϊκής ίνας σε μεγέθυνση $\times 30$ και υπολογίστηκε ο μέσος όρος.

Διαδικασία: Πριν την μέτρηση και ενεργοποίηση της ίνας τοποθετείται σε μήκος ηρεμίας. Στη συνέχεια, η μυϊκή ίνα μεταφέρεται στο επόμενο τρυβλίο, το οποίο περιέχει το διάλυμα ενεργοποίησης (activating solution) με σκοπό την υπομέγιστη ή μέγιστη ισομετρική της ενεργοποίηση (με την ανάλογη προσθήκη ασβεστίου, με ή χωρίς ανάλογο κατεχίνης).

Εκτός από τα λειτουργικά χαρακτηριστικά καταγράφηκαν μορφομετρικά χαρακτηριστικά (π.χ. διάμετροι των μυϊκών παρασκευασμάτων). Οι τιμές ισομετρικής δύναμης παρουσιάζονται σχετικές (kN/m^2) τιμές καθώς και ως ποσοστό (%) της μέγιστης ισομετρικής κατά την πλήρη ενεργοποίηση με ασβέστιο (δηλ. 1,1 mM Ca^{++} ή pCa 4,3) σε συνθήκες ελέγχου.

3.4 Πειραματικά Διαλύματα

Τα αντιδραστήρια προέρχονται από την Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA).

Τα βασικά διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα ήταν τα εξής:

-Το διάλυμα ακαμψίας ή basic rigor buffer αποτελείται από 120mM Potassium acetate (KAc), 5mM Magnesium acetate (MgAc₂), 1mM EGTA, and 50mM 3-(N-morpholino)propanesulfonic acid (MOPS), pH 7.0.

-Το διάλυμα χάλασης ή relaxing solution προκύπτει προσθέτοντας στο βασικό διάλυμα ακαμψίας 4mM ATP, 20mM CP (creatine phosphate), 1mg/ml CK (creatine kinase). Η ιοντική ισχύς του διαλύματος ηρεμίας ήταν 0.19M και pH=7.

-Το διάλυμα μέγιστης ενεργοποίησης* ή activating solution προκύπτει με προσθήκη 1.1mM Calcium chloride (CaCl₂) (pCa 4.3) και 1mM ANAPOE στα διαλύματα χάλασης (pH=7). (Mitrou et al., 2019; Mitrou et al., 2017)

-Τα διαλύματα υπομέγιστης ενεργοποίησης* προκύπτουν από προσθήκη Calcium chloride (CaCl₂) σε συγκεντρώσεις: 0,4 mM (pCa 6,4), 0,6 mM (pCa 6,1), 0,75 mM (pCa 5,8) , 0,8 mM (pCa 5,6), στα διαλύματα χάλασης (pH=7).

Για την εξέταση της επίδρασης της EGCG, λόγω καθυστέρησης στην προμήθεια κατεχίνης [(–)-Epigallocatechin gallate της Sigma (CAS 989-51-5, MB 458,37 g/mol)] καθώς και λόγω προβλημάτων οξείδωσης κατά τον χειρισμό της ουσίας EGCG χρησιμοποιήθηκε μια ανάλογη ουσία (ANAPOE) που έχει βρεθεί από την ομάδα μας (Χ. Καρατζαφέρη, Α. Καλύβα αδημοσίευτα στοιχεία) ότι προσδένεται στην ίδια υποδοχή στο μόριο της τροπονίνης (βλ ανασκόπηση) σε συγκέντρωση 1.1 mM.

Έγινε προσθήκη 1 mM ANAPOE (στο ανάλογο διάλυμα υπομέγιστης ή μέγιστης ενεργοποίησης).

*Τα διαλύματά ενεργοποίησης (μέγιστης ή υπομέγιστης) ετοιμάστηκαν φρέσκα με βάση την τελική απαιτούμενη συγκέντρωση από διαλύματα stock solutions (2X rigor: 120mM Potassium acetate (KAc), 5mM Magnesium acetate (MgAc₂), 1mM EGTA, and 50mM 3-(N-morpholino)propanesulfonic acid (MOPS), pH 7,0.

3.5 Στατιστική Ανάλυση

Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν οι μαθηματικές φόρμουλες στο λογισμικό Excel (έκδοση Windows 2010). Έγινε κριτήριο t για εξαρτημένα δείγματα (Paired Samples t-test) για τις διαφορές μεταξύ των μετρήσεων «χωρίς τη χρήση αναλόγου επιγαλλοκατεχίνης» (Συνθήκες Ελέγχου) και «με τη χρήση της πειραματικής ουσίας» (Ανάλογο EGCG). Ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε η τιμή $p \leq 0,05$.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η υπόθεση ήταν ότι η προσθήκη δομικά ανάλογης ουσίας με την EGCG θα έχει επίδραση στην ανάπτυξη δύναμης σε δείγμα μεμονωμένων μυϊκών ινών. Σχετικά με τη συγκεκριμένη υπόθεση, παρατηρήθηκαν μεταβολές ανάπτυξης δύναμης των μυϊκών ινών οπότε επιβεβαιώθηκε η αρχική ερευνητική υπόθεση. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι η μεταβολή αυτή είχε θετικό πρόσημο.

Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι η χρήση αναλόγου της επιγαλλοκατεχίνης EGCG προκάλεσε σημαντική αύξηση στην ανάπτυξη δύναμης απομονωμένων μυϊκών ινών τόσο σε συνθήκες υπομέγιστης όσο και μέγιστης ισομετρικής σύσπασης ($p < 0,05$).

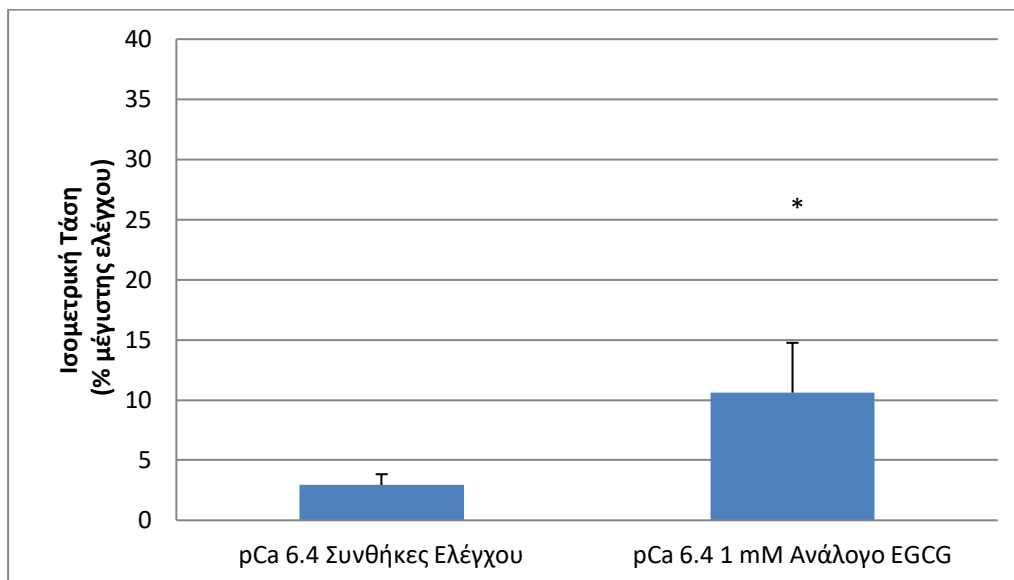
Πιο συγκεκριμένα, η επίδραση του αναλόγου ANAPOE 1 mM μελετήθηκε σε διάφορες συνθήκες υπομέγιστης (0,4 mM, 0,6 mM, 0,75 mM, 0,8mM CaCl₂) και σε συνθήκες μέγιστης ενεργοποίησης με ασβέστιο (1,1 mM CaCl₂). Σε όλες τις περιπτώσεις προσθήκης του αναλόγου η διαφορά μεταξύ μετρήσεων πριν και μετά κρίθηκε στατιστικά σημαντική (* $p < 0,05$) ιδιαίτερα κατά την υπομέγιστη ενεργοποίηση.

Μάλιστα, φαίνεται ότι η προσθήκη αναλόγου κατεχίνης όταν το διάλυμα ενεργοποίησης περιείχε συγκέντρωση 0,6 mM CaCl₂ (pCa 6,1) είχε τη μεγαλύτερη επίδραση (επαυξάνοντας την τάση κατά 816%), ενεργοποιώντας μυϊκές ίνες που ουσιαστικά δεν είχαν ενεργοποιηθεί σε τόσο χαμηλή συγκέντρωση ασβεστίου.

Στα παρακάτω γραφήματα το εύρος τιμών στον άξονα τάσης διαφέρει μεταξύ των πρώτων δύο με τα υπόλοιπα καθώς στις συγκεντρώσεις αυτές οι τιμές υπερβαίνουν αισθητά τη ισομετρική τάση κατά την μέγιστη ενεργοποίηση με ασβέστιο σε συνθήκες ελέγχου (λαμβάνοντας υπόψη την δύναμη κατά την μέγιστη ενεργοποίηση σε συνθήκες ελέγχου ως 100%).

Βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην ανάπτυξη δύναμης στις συνθήκες ελέγχου και με την προσθήκη αναλόγου, $p = 0,016$, ($p < 0,05$), σε διάλυμα υπομέγιστης ενεργοποίησης με 0,4 mM CaCl₂ (βλ. Γράφημα 1).

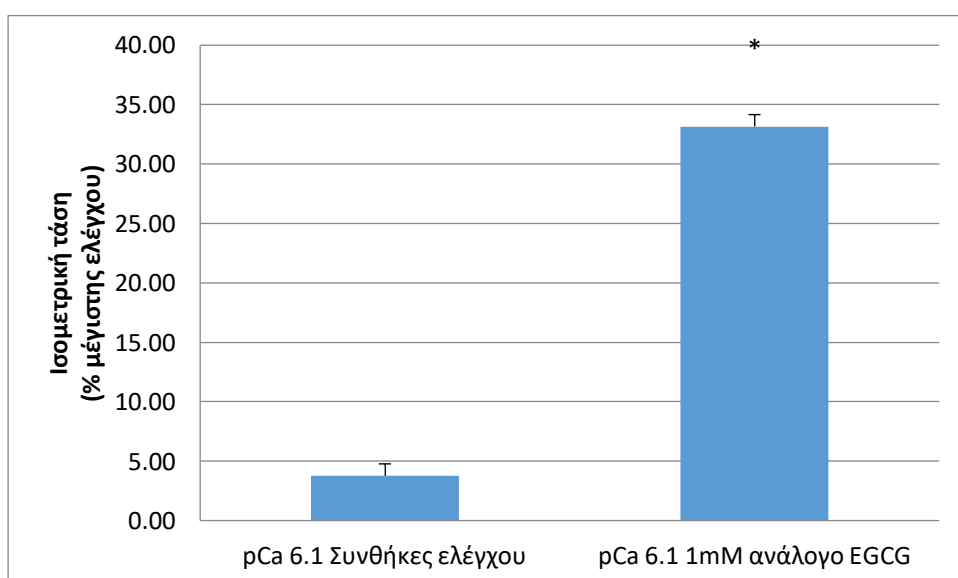
Οι τιμές ελέγχου και οι πειραματικές τιμές σε pCa 6,4 αντιστοιχούν σε $2,94 \pm 0,89\%$ και $10,61 \pm 4,14\%$ αντίστοιχα.



Γράφημα 1: Επίδραση της προσθήκης 1mM αναλόγου της EGCG κατεχίνης στην υπομέγιστη ισομετρική τάση μυϊκών, σε pCa 6,4 (0,4 mM CaCl₂) σε θερμοκρασία 10° C, pH 7,0 , 4mM ATP.

*p<0,05.

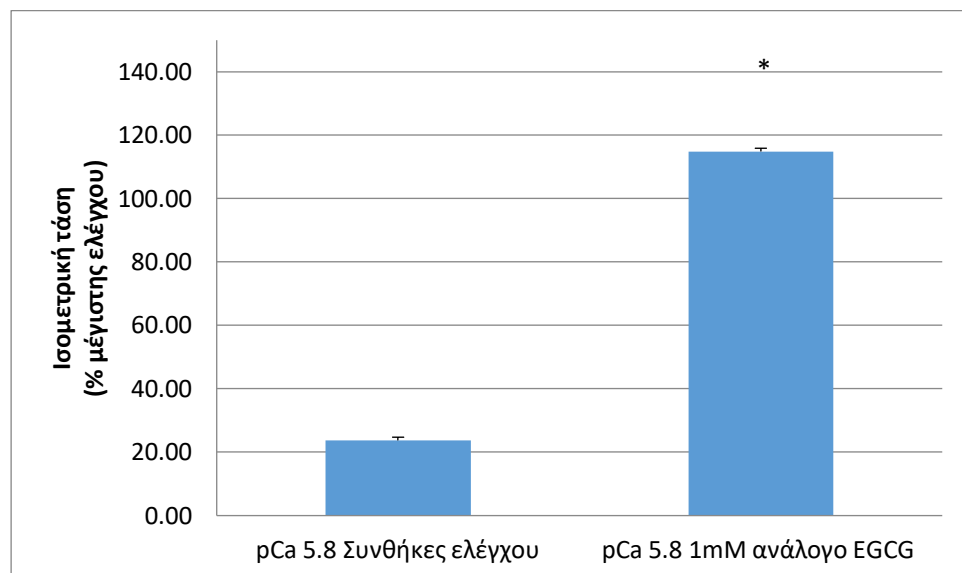
Με τη προσθήκη αναλόγου σε διάλυμα υπομέγιστης ενεργοποίησης με 0,6 mM CaCl₂ (pCa 6,1) η στατιστική διαφορά κρίνεται επίσης σημαντική με $p=0,0007$ ($p<0,05$), με τις τιμές ελέγχου να αντιστοιχούν σε $3,77\pm1,1$ % και τις πειραματικές τιμές σε $33,16\pm0,36$ % (βλ. Γράφημα 2).



Γράφημα 2: Επίδραση της προσθήκης 1mM αναλόγου της EGCG κατεχίνης στην υπομέγιστη ισομετρική τάση μυϊκών, σε pCa 6,1 (0,6 mM CaCl₂) σε θερμοκρασία 10° C, pH 7,0 , 4mM ATP. *p<0,05.

Αντίστοιχα, βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην ανάπτυξη δύναμης στις συνθήκες ελέγχου και με την προσθήκη αναλόγου, $p=0,000019$ ($p<0,05$), (βλ. Γράφημα 3) σε διάλυμα υπομέγιστης ενεργοποίησης με $0,75 \text{ mM CaCl}_2$.

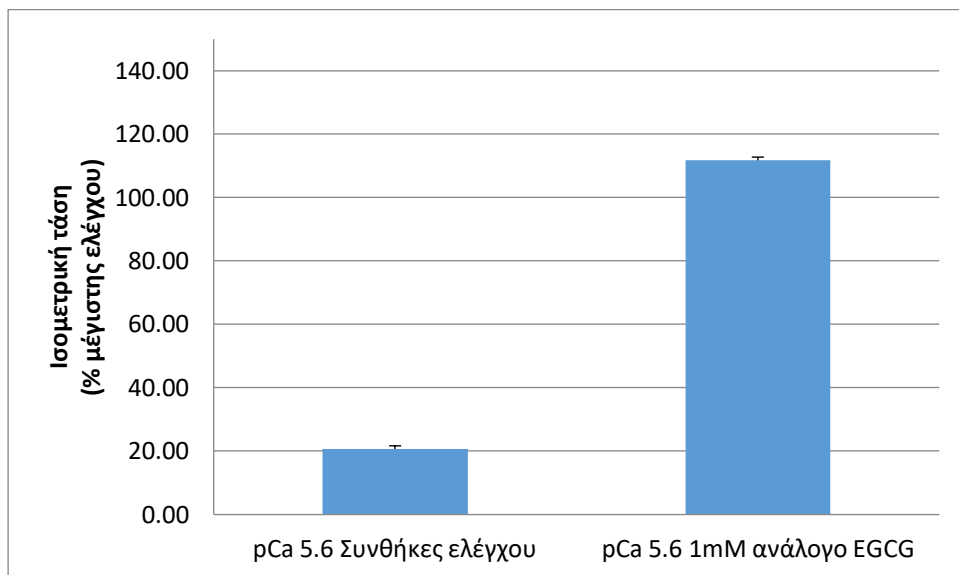
Οι τιμές ελέγχου κυμαίνονταν στο $23,73 \pm 2, \%$ ενώ μετά την προσθήκη 1 mM ANAPOE αντιστοιχούν στο $114,91 \pm 3,06\%$.



Γράφημα 3: Επίδραση της προσθήκης 1 mM αναλόγου της EGCG κατεχίνης στην υπομέγιστη ισομετρική τάση μυϊκών, σε $p\text{Ca } 5,8$ ($0,75 \text{ mM CaCl}_2$) σε θερμοκρασία 10° C , $p\text{H } 7$, 4 mM ATP . * $p<0,05$.

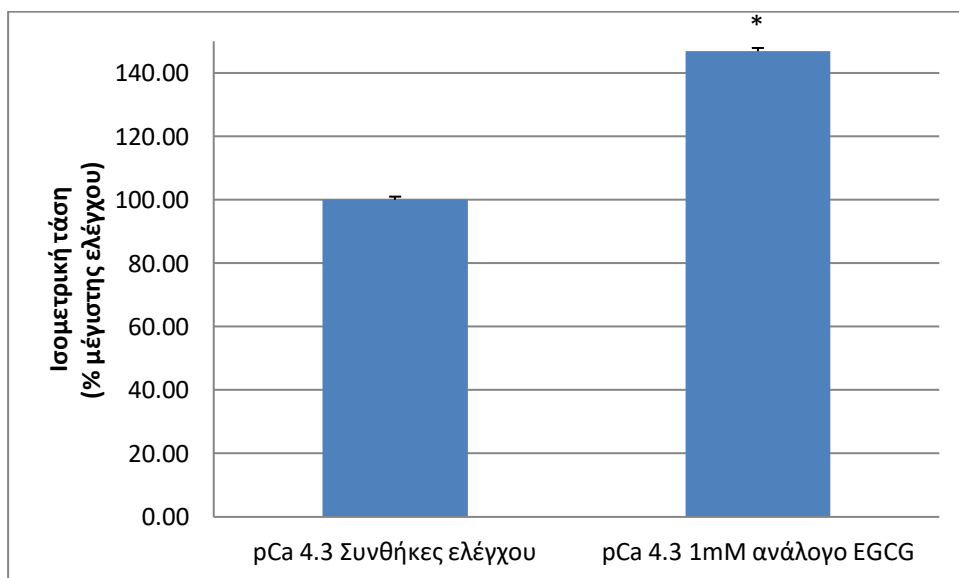
Με τη προσθήκη αναλόγου σε διάλυμα υπομέγιστης ενεργοποίησης με $0,8 \text{ mM CaCl}_2$ ($p\text{Ca } 5,6$) η στατιστική διαφορά κρίνεται επίσης σημαντική με $p=0,001$ ($p<0,05$) με τις τιμές ελέγχου και τις πειραματικές τιμές να αντιστοιχούν σε $20,69 \pm 4,67 \%$ και $111,8 \pm 9,98 \%$ αντίστοιχα (βλ. Γράφημα 4).

*



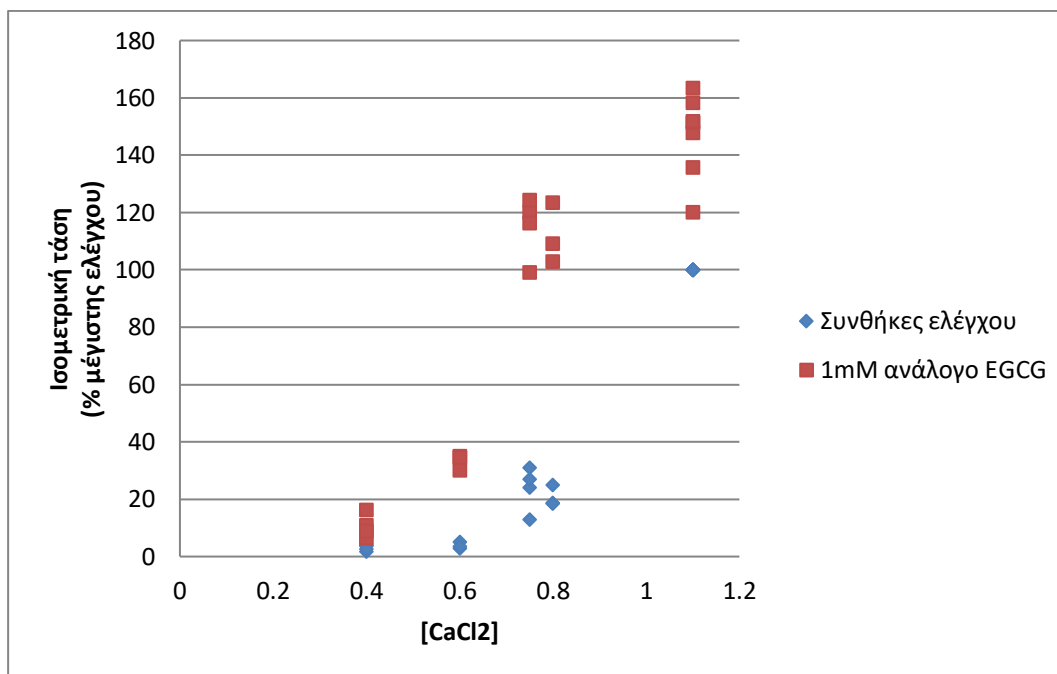
Γράφημα 4: Επίδραση της προσθήκης 1mM αναλόγου της EGCG κατεχίνης στην υπομέγιστη ισομετρική τάση μυϊκών, σε pCa 5,6 (0,8 mM CaCl₂) σε θερμοκρασία 10° C, pH 7,0 , 4mM ATP. *p<0,05.

Τέλος, με τη προσθήκη αναλόγου σε διάλυμα μέγιστης ενεργοποίησης με 1,1 mM CaCl₂ (pCa 4,3) η στατιστική ανάλυση επιδεικνύει, επίσης, στατιστικά σημαντική διαφορά με $p=0,00007$ ($p<0,05$). Οι τιμές ελέγχου αντιστοιχούν στη μέγιστη ισομετρική ενεργοποίηση χωρίς προσθήκη ουσίας (100%) ενώ οι πειραματικές τιμές στην μέγιστη ισομετρική ενεργοποίηση με την προσθήκη 1mM ANAPOE και αντιστοιχούν σε $146,48\pm4,\%$ (βλ. Γράφημα 5).



Γράφημα 5: Επίδραση της προσθήκης 1mM αναλόγου της EGCG κατεχίνης στην μέγιστη ισομετρική τάση μυϊκών, σε pCa 4,3 (1,1 mM CaCl₂) σε θερμοκρασία 10° C, pH 7,0 , 4mM ATP.

Συνολικά, παρατηρήθηκε θετική ινότροπος επίδραση του αναλόγου στο σύνολο των μυϊκών ινών που μελετήθηκαν είτε σε συνθήκες μέγιστης είτε σε συνθήκες υπομέγιστης ενεργοποίησης (βλ Γράφημα 6). Είναι, φανερό ότι με τη χρήση αναλόγου ο βαθμός παραγωγής δύναμης είναι μεγαλύτερος από ότι σε συνθήκες ελέγχου τόσο στη μέγιστη όσο και στις υπομέγιστες ενεργοποιήσεις.



Γράφημα 6: Επίδραση της προσθήκης 1mM αναλόγου EGCG κατεχίνης στην υπομέγιστη και μέγιστη τάση μυϊκών ινών, στο σύνολο των διαφορετικών pCa σε θερμοκρασία 10° C, pH 7,0, 4mM ATP.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα μελέτη είχε στόχο τη διερεύνηση της πιθανής επίδρασης της κατεχίνης EGCG του πράσινου τσαγιού στα λειτουργικά χαρακτηριστικά απομονωμένων μυϊκών ινών. Λόγω τεχνικών δυσκολιών, αντί για την κατεχίνη, χρησιμοποιήθηκε μια δομικά ανάλογη ουσία (ANAOE). Τα ευρήματα έδειξαν τη θετική επίδραση του αναλόγου στην επαύξηση της δύναμης και είναι ιδιαίτερα ενθαρρυντικά για μεταγενέστερες μελέτες με τη χρήση καθαυτής EGCG.

Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι η χρήση 1mM αναλόγου της κατεχίνης EGCG του πράσινου τσαγιού είχε θετική επίδραση στην επαύξηση της δύναμης σε απομονωμένες μυϊκές ίνες ενεργοποιημένες ισομετρικά. Πιο συγκεκριμένα, σε υπομέγιστες τάσεις η ανάλυση T-Test παρουσίασε στατιστικά σημαντική αύξηση των τιμών δύναμης μεταξύ των μετρήσεων πριν και μετά τη χρήση του αναλόγου σε όλες τις διαφορετικές συγκεντρώσεις διαλύματος ασβεστίου που χρησιμοποιήθηκαν. Ιδιαίτερα στην προσθήκη αναλόγου με 0,6 mM συγκέντρωση CaCl_2 (pCa 6,1) παρατηρήθηκε η μεγαλύτερη αναλογικά βελτίωση (της τάξεως του 816%).

Επιπλέον, και σε συνθήκες μέγιστης ισομετρικής τάσης (1.1 mM CaCl_2) η προσθήκη 1 mM αναλόγου EGCG παρουσίασε αύξηση της μέγιστης δύναμης κατά περίπου 47%.

Έρευνες έχουν διεξαχθεί και για τη μελέτη της επίδρασης διαφορετικών ουσιών στην παραγωγή δύναμης μεμονωμένων μυϊκών ινών. Για παράδειγμα, το νιτρικό οξύ (NO), αποτελεί πολύπλοκο ρυθμιστή της σύσπασης των μυϊκών ινών, ικανό να αυξάνει και να μειώνει την παραγωγή δύναμης εξαρτώμενος από διάφορους παράγοντες. Συνήθως, χορηγείται για ανθρώπινη χρήση σε μορφή συμπληρωμάτων L-αργινίνης και ανόργανου νιτρικού άλατος και δείχνει να είναι ικανό να ρυθμίσει τη συστατική λειτουργία του μυός μέσα από μία δόσοεξαρτώμενη σχέση. Παρόλα αυτά, ο ακριβής μηχανισμός λειτουργίας του είναι πολύπλοκος και απαιτεί περεταίρω έρευνα (Kumar, 2022). Ο Minozzo και οι συνεργάτες του εξέτασαν την επίδραση της προσθήκης MgADP [ADENOSINE 5'-(TRIHYDROGEN PYROPHOSPHATE), MAGNESIUM SALT] για ενεργοποίηση των μυϊκών ινών σε σχέση με την ενεργοποίηση σε Ca^{2+} . Τα αποτελέσματα της μελέτης τους αποκάλυψαν αύξησης της δύναμης της τάξεως του 75% (Minozzo et al., 2015). Δεδομένα που υπολείπονται κατά πολύ της αύξησης που παρουσίασαν οι μυϊκές ίνες κατά τη διεξαγωγή της παρούσας μελέτης με τη χρήση ANAOE. Αργότερα, σε έρευνα του Awinda και συνεργατών του οι οποίοι μελέτησαν την επίδραση της ίδιας ουσίας στις ίνες του μυοκαρδίου (παρουσία και απουσία CP/CPK) βρέθηκε επίσης θετική επίδραση στην αύξηση

της δύναμης (Awinda et al., 2022). Και στις δύο έρευνες μαζί με τον βαθμό ανάπτυξης δύναμης αυξήθηκε και η ακαμψία (stiffness) των μυϊκών ινών. Επιπλέον, αποδείχθηκε ότι η συγκεκριμένη ουσία έχει επίδραση στον καρδιακό μυ, γεγονός που θα μπορούσε να προκαλέσει παράγοντα κινδύνου στη χρήση της ως συμπλήρωμα. Οι κατεχίνες από την άλλη μεριά, αποτελούν φυσικό μέσο με ελάχιστες παρενέργειες. Αυτές τους οι ιδιότητες θα μπορούσαν να τις καταστήσουν ιδανικές για τη δημιουργία συμπληρωμάτων με όσο το δυνατόν λιγότερες αρνητικές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία.

Πλήθος δεδομένων δεικνύουν ότι με το γήρας επέρχεται διαταραχή στην ομοιοστάση των ελεύθερων ριζών και ασβεστίου (Madreiter-Sokolowski et al., 2020). Στον γηράσκοντα πληθυσμό παρατηρείται αύξηση στις καρδιαγγειακές ασθένειες, τον διαβήτη τύπου 2, νευροεκφυλιστικές νόσους καθώς και καταστάσεις που προκαλούν φλεγμονή ακόμα και καρκίνο. (Madreiter-Sokolowski et al., 2020; Bravo-Sagua et al., 2017). Η αλληλεπίδραση μεταξύ ομοιοστάσης ασβεστίου και ελεύθερων ριζών παίζει καταλυτικό ρόλο στην ανάπτυξη, την αύξηση και την πρόοδο των διαταραχών αυτών. (Madreiter-Sokolowski et al., 2020). Επιπλέον, οι πρωτεΐνες που εμπλέκονται στην μετάδοση σημάτων Ca^{2+} σε επίπεδο μιτοχονδριακών μεμβρανών σχετίζονται με διάφορες ηπατικές παθήσεις όπως η χρόνια ηπατίτιδα, κύρωση του ήπατος, NAFLD, HCC, χολόσταση, χολαγγειοκαρκίνωμα αλλά και με την ηπατική αναγέννηση (Jin et al., 2021).

Είναι γνωστό, ότι η αναγέννηση σκελετικού μυός είναι αντιστρόφως ανάλογη με την ηλικία και τις παθολογικές καταστάσεις (Rosa et al., 2021; Papadopoulou, 2020; Malavaki, et al., 2015). Η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας έδειξε ότι η ECGC μπορεί να αναστείλει παράγοντες καταβολισμού, να συμβάλλει στην ανοχή στην κόπωση, ακόμα και να αυξήσει το προσδόκιμο ζωής. Επομένως, σε περιπτώσεις απώλειας μυϊκής μάζας η χρήση ενός συμπληρώματος κατεχίνης θα μπορούσε να συμβάλει σε εκ νέου μυογένεση ή έστω διατήρηση του υπάρχοντος μυϊκού ιστού με (βάσει των δικών μας ευρημάτων) πιθανή επαύξηση της λειτουργίας του διαθέσιμου ιστού. Με αποτέλεσμα την καλύτερη υγεία των ασθενών και διατήρηση της λειτουργικότητας του ατόμου για μεγαλύτερο διάστημα. Δεδομένο που θα ήταν ιδιαίτερα χρήσιμο ειδικά στην περίπτωση ασθενών που πάσχουν από διαταραχές που προκαλούν μυϊκή ατροφία. Η υποβοήθηση του οργανισμού για μυογένεση μπορεί να αποδειχθεί σωτήρια για αυτούς τους πληθυσμούς και για την βέλτιστη αντιμετώπιση ή θεραπεία της ασθένειας (είτε αυτό αποτελεί θεραπεία της κατάστασης ή διατήρησης λειτουργικότητας και αυτονομίας του ασθενούς για μεγαλύτερο διάστημα κατά την αντιμετώπιση της ασθένειας και κατά συνέπεια επιμήκυνση της αξιοπρεπούς διαβίωσης).

Μέχρι στιγμής, οι περισσότερες μελέτες με χρήση EGCG σε ανθρώπινο δείγμα επικεντρώνονται στην αντιμετώπιση της παχυσαρκίας και των καρδιαγγειακών παθήσεων (Eng, Thanikachalam & Ramamurthy, 2018; Basu et al., 2010; Westerterp-Plantenga, Lejeune & Kovacs, 2005) και όχι τόσο άμεσα στην επίπτωση του συμπληρώματος στον σκελετικό μυ και την παραγωγή δύναμης.

Τα ινότροπα φάρμακα έχουν τεθεί σε χρήση ήδη από τον 18^ο αιώνα (Francis, Bartos & Adatya, 2014) με κύρια δράση τους την αντιμετώπιση της καρδιακής ανεπάρκειας. Παρόλα αυτά, μέχρι και σήμερα τα δεδομένα για την λειτουργία τους παραμένουν αντιφατικά. Παρά τη θετική τους επίδραση στην συσταλτική ικανότητα του μυοκαρδίου, οι παρενέργειες τις οποίες δημιουργούν (πχ. αρρυθμίες) έχουν συσχετιστεί με αυξημένη θνησιμότητα (Amado et al., 2016).

Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω δεδομένα γίνεται εύκολα αντιληπτή η ανάγκη εύρεσης ενός συμπληρώματος με την ικανότητα επαύξησης της μυϊκής λειτουργίας με τον τρόπο που είδαμε ότι μπορεί να λειτουργήσει το δομικά ανάλογο της κατεχίνης. Καθώς, όπως αποδείχθηκε στην παρούσα μελέτη η προσθήκη ANAPOE ακόμα και σε συγκεντρώσεις υπομέγιστης ενεργοποίησης παρουσίασε ανάπτυξη δύναμης τόσο μεγάλη που υπερβαίνει σε ποσοστό το 100% της πλήρους ενεργοποίησης σε συνθήκες ελέγχου.

Η κύρια αδυναμία της παρούσης μελέτης ήταν η χρήση ενός δομικά αναλόγου της κατεχίνης, αντί της καθεαυτής EGCG. Όμως η χρήση της ανάλογης ουσίας διασφάλισε ότι δεν θα εμφανίζονταν οξειδοαναγωγική μεταβολή των διαλυμάτων κατά την διάρκεια των μετρήσεων και διευκόλυνε την υλοποίηση των μετρήσεων. Μια ακόμη αδυναμία της παρούσης μελέτης ήταν ο περιορισμένος αριθμός μετρήσεων. Τεχνικές δυσκολίες αποτέλεσαν εμπόδιο στη πραγματοποίηση μελέτης μεγαλύτερης έκτασης για τη διεξαγωγή συμπερασμάτων ευρύτερου ενδιαφέροντος όμως είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι όλα τα μυϊκά παρασκευάσματα ανταποκρίθηκαν με παρόμοιο τρόπο (δηλ. δεν υπήρχαν τιμές outlier) γεγονός που αυξάνει την εμπιστοσύνη στα υπάρχοντα δεδομένα.

Τα ευρήματα της παρούσας εργασίας σε συνδυασμό με κάποια πειραματικά δεδομένα *in silico* έρευνας της επιβλέπουσας για τη θέση πρόσδεσης της EGCG (Καρατζαφέρη και συνεργάτες, άρθρο υπό προετοιμασία) είναι ενθαρρυντικά όσον αφορά την πιθανή επίδραση της κατεχίνης στα λειτουργικά χαρακτηριστικά των μυϊκών ινών. Το αντικείμενο απαιτεί περισσότερη έρευνα αλλά δείχνει πολλά υποσχόμενο όσον αφορά τη δημιουργία συμπληρωμάτων πράσινου τσαγιού με σκοπό την επαύξηση της δύναμης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα μελέτη ανέδειξε την θετική επίδραση της ουσίας ΑΝΑΡΟΕ, μιας δομικά ανάλογης με την EGCG ουσίας, στην επαύξηση της μυϊκής λειτουργίας. Μετά τη προσθήκη της ανάλογης ουσίας της EGCG σε απομονωμένες μυϊκές ίνες παρουσιάστηκε σημαντική αύξηση της ισομετρικής τάσης τόσο κατά τις υπομέγιστες ενεργοποιήσεις όσο και κατά την μέγιστη ισομετρική ενεργοποίηση. Μάλιστα, σε συνθήκες υπομέγιστης ενεργοποίησης η αύξηση της δύναμης με την προσθήκη αναλόγου ήταν τόσο σπουδαία που ξεπέρασε ακόμα και τις τιμές σε συνθήκες ελέγχου. Το ποσοστό επαύξησης της ισομετρικής δύναμης στις υπομέγιστες ενεργοποιήσεις με τη χρήση αναλόγου ξεπέρασε το 100% της αύξησης (της αντίστοιχης τιμής πλήρους ενεργοποίησης) σε κάθε συγκέντρωση ασβεστίου που χρησιμοποιήθηκε. Βέβαια, χρειάζεται περισσότερη έρευνα και μεγαλύτερο δείγμα ινών ώστε να δοθούν απαντήσεις όσον αφορά την ακριβή επίδραση και τρόπο λειτουργίας της EGCG στα λειτουργικά χαρακτηριστικά των μυϊκών ινών και τις ευεργετικές ιδιότητες που μπορεί αυτή να έχει στην οξεία φάση λειτουργίας του μυϊκού ιστού.

Προτάσεις για μελλοντικές έρευνες

Στην παρούσα έρευνα μελετήθηκε μικρό δείγμα μυϊκών ινών που είναι πιθανό να μην είναι αντιπροσωπευτικό για τη συνολική επίδραση της ουσίας στον μυ. Επίσης, η δοσοεξαρτώμενη επίδραση του αναλόγου αλλά και η επίδραση της καθεαυτής επιγαλλοκατεχίνης EGCG στη μυϊκή λειτουργία έχει μείνει αδιερεύνητη. Επομένως σε μια επόμενη μελέτη θα πρέπει να διερευνηθεί η επίδραση της ανάλογης ουσίας ή και της επιγαλλοκατεχίνης σε μεγαλύτερο δείγμα και σε δοσοεξαρτώμενο τρόπο. Θα ήταν επίσης πολύ ενδιαφέρον να μελετηθεί η δράση τέτοιων ουσιών αυτής σε δείγμα ανθρώπινου σκελετικού μυός.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Καρατζαφέρη Χριστίνα. 'Σκελετικός μυς: παράμετροι λειτουργίας και αναδυόμενες ερευνητικές κατευθύνσεις.' 19 (2021): 69–79.
- Μπούρλιος Στ. Παναγιώτης. 'Η Επίδραση της συνδυαστικής Αγωγής Κατεχίνης και Στατίνης στο Λιπιδαιμικό Προφίλ Ατόμων με Δυσλιπιδαιμία'. Μεταπτυχιακή Διατριβή, Ττίκαλα,Θεσσαλίας, 2008.
- Amado, José, Paula Gago, Walter Santos, Jorge Mimoso, και Ilídio de Jesus. 'Cardiogenic Shock: Inotropes and Vasopressors'. *Revista Portuguesa De Cardiologia: Orgao Oficial Da Sociedade Portuguesa De Cardiologia = Portuguese Journal of Cardiology: An Official Journal of the Portuguese Society of Cardiology* 35, τχ. 12 (Δεκέμβριος 2016): 681–95. <https://doi.org/10.1016/j.repc.2016.08.004>.
- Arazi, Hamid, Ehsan Eghbali, και Katsuhiko Suzuki. 'Creatine Supplementation, Physical Exercise and Oxidative Stress Markers: A Review of the Mechanisms and Effectiveness'. *Nutrients* 13, τχ. 3 (6 Μάρτιος 2021): 869. <https://doi.org/10.3390/nu13030869>.
- Awinda, Peter O., Weikang Ma, Kyrah L. Turner, Jing Zhao, Henry Gong, Mindy S. Thompson, Kenneth S. Campbell, Thomas C. Irving, και Bertrand C. W. Tanner. 'MgADP Promotes Myosin Head Movement toward Actin at Low [Ca²⁺] to Increase Force Production and Ca²⁺-Sensitivity of Contraction in Permeabilized Porcine Myocardial Strips'. *International Journal of Molecular Sciences* 23, τχ. 23 (1 Δεκέμβριος 2022): 15084. <https://doi.org/10.3390/ijms232315084>.
- Basu, Arpita, Karah Sanchez, Misti J. Leyva, Mingyuan Wu, Nancy M. Betts, Christopher E. Aston, και Timothy J. Lyons. 'Green Tea Supplementation Affects Body Weight, Lipids, and Lipid Peroxidation in Obese Subjects with Metabolic Syndrome'. *Journal of the American College of Nutrition* 29, τχ. 1 (Φεβρουάριος 2010): 31–40. <https://doi.org/10.1080/07315724.2010.10719814>.
- Bernatoniene, Jurga, και Dalia Marija Kopustinskiene. 'The Role of Catechins in Cellular Responses to Oxidative Stress'. *Molecules (Basel, Switzerland)* 23, τχ. 4 (20 Απρίλιος 2018): 965. <https://doi.org/10.3390/molecules23040965>.
- Bottinelli, R., και C. Reggiani. 'Human Skeletal Muscle Fibres: Molecular and Functional Diversity'. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 73, τχ. 2–4 (2000): 195–262. [https://doi.org/10.1016/s0079-6107\(00\)00006-7](https://doi.org/10.1016/s0079-6107(00)00006-7).
- Bravo-Sagua, Roberto, Valentina Parra, Camila López-Crisosto, Paula Díaz, Andrew F. G. Quest, και Sergio Lavandero. 'Calcium Transport and Signaling in Mitochondria'. *Comprehensive Physiology* 7, τχ. 2 (16 Μάρτιος 2017): 623–34. <https://doi.org/10.1002/cphy.c160013>.
- Bucher, John R. 'Oxidative Stress and Radical-Induced Signalling'. Στο *Tumour Site Concordance and Mechanisms of Carcinogenesis*, επιμέλεια Robert A. Baan, Bernard W. Stewart, και Kurt Straif. IARC Scientific Publications. Lyon (FR): International Agency for Research on Cancer, 2019. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK570343/>.
- Chakrawarti, Leewanshi, Rishab Agrawal, Shweta Dang, Sanjay Gupta, και Reema Gabrani. 'Therapeutic Effects of EGCG: A Patent Review'. *Expert Opinion on Therapeutic Patents* 26, τχ. 8 (Αύγουστος 2016): 907–16. <https://doi.org/10.1080/13543776.2016.1203419>.
- Conti, Nicolina, Milo Gatti, Emanuel Raschi, Igor Diemberger, και Luciano Potena. 'Evidence and Current Use of Levosimendan in the Treatment of Heart Failure: Filling the Gap'. *Drug Design, Development and Therapy* 15 (2021): 3391–3409. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S295214>.
- Eng, Qian Yi, Punniyakoti Veeraveedu Thanikachalam, και Srinivasan Ramamurthy. 'Molecular Understanding of Epigallocatechin Gallate (EGCG) in Cardiovascular and

- Metabolic Diseases'. *Journal of Ethnopharmacology* 210 (10 Ιανουάριος 2018): 296–310. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.08.035>.
- Farhan, Mohd. 'Green Tea Catechins: Nature's Way of Preventing and Treating Cancer'. *International Journal of Molecular Sciences* 23, τχ. 18 (14 Σεπτέμβριος 2022): 10713. <https://doi.org/10.3390/ijms231810713>.
- Francis, Gary S., Jason A. Bartos, και Sirtaz Adatya. 'Inotropes'. *Journal of the American College of Cardiology* 63, τχ. 20 (27 Δεκέμβριος 2014): 2069–78. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2014.01.016>.
- Frontera, Walter R., και Julien Ochala. 'Skeletal Muscle: A Brief Review of Structure and Function'. *Calcified Tissue International* 96, τχ. 3 (Μάρτιος 2015): 183–95. <https://doi.org/10.1007/s00223-014-9915-y>.
- Golbidi, Saeid, Huige Li, και Ismail Laher. 'Oxidative Stress: A Unifying Mechanism for Cell Damage Induced by Noise, (Water-Pipe) Smoking, and Emotional Stress-Therapeutic Strategies Targeting Redox Imbalance'. *Antioxidants & Redox Signaling* 28, τχ. 9 (20 Μάρτιος 2018): 741–59. <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7257>.
- Gomes, Mariana Janini, Paula Felipe Martinez, Luana Urbano Pagan, Ricardo Luiz Damatto, Marcelo Diacardia Mariano Cezar, Aline Regina Ruiz Lima, Katashi Okoshi, και Marina Politi Okoshi. 'Skeletal Muscle Aging: Influence of Oxidative Stress and Physical Exercise'. *Oncotarget* 8, τχ. 12 (21 Μάρτιος 2017): 20428–40. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14670>.
- Hollingshead, L. M., D. Faulds, και A. Fitton. 'Bepidil. A Review of Its Pharmacological Properties and Therapeutic Use in Stable Angina Pectoris'. *Drugs* 44, τχ. 5 (Νοέμβριος 1992): 835–57. <https://doi.org/10.2165/00003495-199244050-00009>.
- Jin, Chaonan, Pavitra Kumar, Jordi Gracia-Sancho, και Jean-François Dufour. 'Calcium Transfer between Endoplasmic Reticulum and Mitochondria in Liver Diseases'. *FEBS Letters* 595, τχ. 10 (Δεκέμβριος 2021): 1411–21. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.14078>.
- Johansen, Kirsten L., Tiffany Shubert, Julie Doyle, Brian Soher, Giorgos K. Sakkas, και Jane A. Kent-Braun. 'Muscle Atrophy in Patients Receiving Hemodialysis: Effects on Muscle Strength, Muscle Quality, and Physical Function'. *Kidney International* 63, τχ. 1 (Ιανουάριος 2003): 291–97. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2003.00704.x>.
- Kaltsatou, Antonia, Christina Karatzaferi, Georgia I. Mitrou, Konstantina P. Poulianiti, και Giorgos K. Sakkas. 'Intra-Renal Hemodynamic Changes After Habitual Physical Activity in Patients with Chronic Kidney Disease'. *Current Pharmaceutical Design* 22, τχ. 24 (2016): 3700–3714. <https://doi.org/10.2174/1381612822666160322144936>.
- Karatzaferi, Christina, Kathleen Franks-Skiba, και Roger Cooke. 'Inhibition of Shortening Velocity of Skinned Skeletal Muscle Fibers in Conditions That Mimic Fatigue'. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 294, τχ. 3 (Μάρτιος 2008): R948-955. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00541.2007>.
- Kerksick, Chad M., Richard B. Kreider, και Darryn S. Willoughby. 'Intramuscular Adaptations to Eccentric Exercise and Antioxidant Supplementation'. *Amino Acids* 39, τχ. 1 (Ιούλιος 2010): 219–32. <https://doi.org/10.1007/s00726-009-0432-7>.
- Kim, A. Rum, Kyung Min Kim, Mi Ran Byun, Jun-Ha Hwang, Jung Il Park, Ho Taek Oh, Mi Gyeong Jeong, Eun Sook Hwang, και Jeong-Ho Hong. '(-)-Epigallocatechin-3-Gallate Stimulates Myogenic Differentiation through TAZ Activation'. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 486, τχ. 2 (29 Απρίλιος 2017): 378–84. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.03.049>.
- Kumar, Ravi, Andrew R. Coggan, και Leonardo F. Ferreira. 'Nitric Oxide and Skeletal Muscle Contractile Function'. *Nitric Oxide: Biology and Chemistry* 122–123 (1 Δεκέμβριος 2022): 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2022.04.001>.
- Lee, Mon-Chien, Yi-Ju Hsu, Li-Hsuan Yang, Chi-Chang Huang, και Chun-Sheng Ho. 'Ergogenic Effects of Green Tea Combined with Isolated Soy Protein on Increasing Muscle Mass and Exercise Performance in Resistance-Trained Mice'. *Nutrients* 13, τχ. 12 (18 Δεκέμβριος 2021): 4547. <https://doi.org/10.3390/nu13124547>.

- Li, Meishan, Hannah Ogilvie, Julien Ochala, Konstantin Artemenko, Hiroyuki Iwamoto, Naoto Yagi, Jonas Bergquist, και Lars Larsson. 'Aberrant Post-Translational Modifications Compromise Human Myosin Motor Function in Old Age'. *Aging Cell* 14, τχ. 2 (Απρίλιος 2015): 228–35. <https://doi.org/10.1111/accel.12307>.
- Madreiter-Sokolowski, Corina T., Carolin Thomas, και Michael Ristow. 'Interrelation between ROS and Ca²⁺ in Aging and Age-Related Diseases'. *Redox Biology* 36 (Σεπτέμβριος 2020): 101678. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101678>.
- Malavaki, C. J., G. K. Sakkas, G. I. Mitrou, A. Kalyva, I. Stefanidis, K. H. Myburgh, και C. Karatzaferi. 'Skeletal Muscle Atrophy: Disease-Induced Mechanisms May Mask Disuse Atrophy'. *Journal of Muscle Research and Cell Motility* 36, τχ. 6 (Δεκέμβριος 2015): 405–21. <https://doi.org/10.1007/s10974-015-9439-8>.
- Minozzo, Fábio C., David Altman, και Dilson E. Rassier. 'MgADP Activation Contributes to Force Enhancement during Fast Stretch of Isolated Skeletal Myofibrils'. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 463, τχ. 4 (7 Αύγουστος 2015): 1129–34. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.06.070>.
- Mitrou, G. I., K. P. Poulitaniti, Y. Koutedakis, A. Z. Jamurtas, M. D. Maridaki, I. Stefanidis, G. K. Sakkas, και C. Karatzaferi. 'Functional Responses of Uremic Single Skeletal Muscle Fibers to Redox Imbalances'. *Hippokratia* 21, τχ. 1 (2017): 3.
- Mitrou, Georgia I., Giorgos K. Sakkas, Konstantina P. Poulitaniti, Aggeliki Karioti, Konstantinos Tepetes, Grigorios Christodoulidis, Giannis Giakas, κ.ά. 'Evidence of Functional Deficits at the Single Muscle Fiber Level in Experimentally-Induced Renal Insufficiency'. *Journal of Biomechanics* 82 (3 Ιανουάριος 2019): 259–65. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2018.10.035>.
- Mitrou, G.I. 'Effects of counteracting measures on muscle contraction determinants in CKD: what muscle biopsy studies tell us?' *medRxiv*, 2022. <https://doi.org/10.1101/2022.12.30.22284067>.
- Mukund, Kavitha, και Shankar Subramaniam. 'Skeletal Muscle: A Review of Molecular Structure and Function, in Health and Disease'. *Wiley Interdisciplinary Reviews. Systems Biology and Medicine* 12, τχ. 1 (Ιανουάριος 2020): e1462. <https://doi.org/10.1002/wsbm.1462>.
- Musial, Claudia, Alicja Kuban-Jankowska, και Magdalena Gorska-Ponikowska. 'Beneficial Properties of Green Tea Catechins'. *International Journal of Molecular Sciences* 21, τχ. 5 (4 Μάρτιος 2020): 1744. <https://doi.org/10.3390/ijms21051744>.
- Pan, Si-Yuan, Qu Nie, Hai-Chuan Tai, Xue-Lan Song, Yu-Fan Tong, Long-Jian-Feng Zhang, Xue-Wei Wu, κ.ά. 'Tea and Tea Drinking: China's Outstanding Contributions to the Mankind'. *Chinese Medicine* 17, τχ. 1 (22 Φεβρουάριος 2022): 27. <https://doi.org/10.1186/s13020-022-00571-1>.
- Papadopoulou, Sousana K. 'Sarcopenia: A Contemporary Health Problem among Older Adult Populations'. *Nutrients* 12, τχ. 5 (1 Δεκέμβριος 2020): 1293. <https://doi.org/10.3390/nu12051293>.
- Pournourmohammadi, Shirin, Mariagrazia Grimaldi, Malin H. Stridh, Vanessa Lavallard, Helle S. Waagepetersen, Claes B. Wollheim, και Pierre Maechler. 'Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) Activates AMPK through the Inhibition of Glutamate Dehydrogenase in Muscle and Pancreatic β-Cells: A Potential Beneficial Effect in the Pre-Diabetic State?' *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 88 (Ιούλιος 2017): 220–25. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2017.01.012>.
- Rosa, Clara Suemi Costa, Christoforos D. Giannaki, Argyro Krase, Meropi Mplekou, Stefania S. Grigoriou, Ioannis Stefanidis, Eleftherios Lavdas, κ.ά. 'Effects of 12 Months of Detraining on Health-Related Quality of Life in Patients Receiving Hemodialysis Therapy'. *International Urology and Nephrology* 52, τχ. 9 (Σεπτέμβριος 2020): 1771–78. <https://doi.org/10.1007/s11255-020-02560-5>.
- Rosa, Clara Suemi Costa, Heitor Siqueira Ribeiro, Barbara Perez Vogt, Giorgos K. Sakkas, και Henrique Luiz Monteiro. 'Sarcopenia Diagnosis in Patients Receiving Hemodialysis: Agreement among Different Consensuses'. *Nutrition in Clinical Practice: Official*

- Publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition* 37, τχ. 6 (Δεκέμβριος 2022): 1348–55. <https://doi.org/10.1002/ncp.10813>.
- Russell, Brenda, και Christopher Solís. 'Mechanotransduction Pathways Alter Muscle Structure and Function by Post-Translational Modification of Existing Sarcomeric Proteins to Optimize Energy Usage'. *Journal of Muscle Research and Cell Motility* 42, τχ. 2 (Ιούνιος 2021): 367–80. <https://doi.org/10.1007/s10974-021-09596-9>.
- Sakkas, Giorgos K., Jane A. Kent-Braun, Julie W. Doyle, Tiffany Shubert, Patricia Gordon, και Kirsten L. Johansen. 'Effect of Diabetes Mellitus on Muscle Size and Strength in Patients Receiving Dialysis Therapy'. *American Journal of Kidney Diseases: The Official Journal of the National Kidney Foundation* 47, τχ. 5 (Δεκέμβριος 2006): 862–69. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2006.01.013>.
- Sakkas, Giorgos K., Anthony J. Sargeant, Thomas H. Mercer, Derek Ball, Pelagia Koufaki, Christina Karatzaferi, και Patrick F. Naish. 'Changes in Muscle Morphology in Dialysis Patients after 6 Months of Aerobic Exercise Training'. *Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 18, τχ. 9 (Σεπτέμβριος 2003): 1854–61. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfg237>.
- Schiaffino, Stefano, Kenneth A. Dyar, Stefano Ciciliot, Bert Blaauw, και Marco Sandri. 'Mechanisms Regulating Skeletal Muscle Growth and Atrophy'. *The FEBS Journal* 280, τχ. 17 (Σεπτέμβριος 2013): 4294–4314. <https://doi.org/10.1111/febs.12253>.
- Sherwood Lauralee. 'Δομή των σκελετικών μυών'. Στο *Εισαγωγή στη Φυσιολογία του Ανθρώπου: Από τα κύτταρα στα συστήματα*, 8ο έκδ., 330–32. Αλεξανδρούπολη: Ακαδημαϊκές Εκδόσεις Ι. Μπασάρδα και και ΣΙΑ Ο.Ε., 2016.
- Sherwood Lauralee. 'Μηχανική των σκελετικών μυών'. Στο *Εισαγωγή στη Φυσιολογία του Ανθρώπου: Από τα κύτταρα στα συστήματα*, 8ο έκδ., 343–51. Αλεξανδρούπολη: Ακαδημαϊκές Εκδόσεις Ι. Μπασάρδα και και ΣΙΑ Ο.Ε., 2016.
- Silva, Willian da, Álvaro S. Machado, Mauren A. Souza, Pâmela B. Mello-Carpes, και Felipe P. Carpes. 'Effect of Green Tea Extract Supplementation on Exercise-Induced Delayed Onset Muscle Soreness and Muscular Damage'. *Physiology & Behavior* 194 (1 Οκτώβριος 2018): 77–82. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.05.006>.
- Teng, Yu-Song, και Di Wu. 'Anti-Fatigue Effect of Green Tea Polyphenols (-)-Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG)'. *Pharmacognosy Magazine* 13, τχ. 50 (2017): 326–31. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.204546>.
- Tian, Jing, Caroline Geiss, Kim Zarse, Corina T. Madreiter-Sokolowski, και Michael Ristow. 'Green Tea Catechins EGCG and ECG Enhance the Fitness and Lifespan of *Caenorhabditis Elegans* by Complex I Inhibition'. *Aging* 13, τχ. 19 (4 Οκτώβριος 2021): 22629–48. <https://doi.org/10.18632/aging.203597>.
- Urso, Maria L., και Priscilla M. Clarkson. 'Oxidative Stress, Exercise, and Antioxidant Supplementation'. *Toxicology* 189, τχ. 1–2 (Ιούλιος 2003): 41–54. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(03\)00151-3](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(03)00151-3).
- Vinogradova, Maia V., Deborah B. Stone, Galina G. Malanina, Christina Karatzaferi, Roger Cooke, Robert A. Mendelson, και Robert J. Fletterick. 'Ca(2+)-Regulated Structural Changes in Troponin'. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, τχ. 14 (5 Απρίλιος 2005): 5038–43. <https://doi.org/10.1073/pnas.0408882102>.
- Wagner, Anika E., Stefanie Piegholdt, Doerte Rabe, Nieves Baenas, Anke Schloesser, Manfred Eggersdorfer, Achim Stocker, και Gerald Rimbach. 'Epigallocatechin Gallate Affects Glucose Metabolism and Increases Fitness and Lifespan in *Drosophila Melanogaster*'. *Oncotarget* 6, τχ. 31 (13 Οκτώβριος 2015): 30568–78. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.5215>.
- Westerterp-Plantenga, Margriet S., Manuela P. G. M. Lejeune, και Eva M. R. Kovacs. 'Body Weight Loss and Weight Maintenance in Relation to Habitual Caffeine Intake and Green Tea Supplementation'. *Obesity Research* 13, τχ. 7 (Ιούλιος 2005): 1195–1204. <https://doi.org/10.1038/oby.2005.142>.

- Wimmer, Robert J., Sarah J. Russell, και Martin F. Schneider. 'Green Tea Component EGCG, Insulin and IGF-1 Promote Nuclear Efflux of Atrophy-Associated Transcription Factor Foxo1 in Skeletal Muscle Fibers'. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 26, τχ. 12 (Δεκέμβριος 2015): 1559–67. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.07.023>.
- Wu, Qinghua, Lian Liu, Anca Miron, Blanka Klímová, Dan Wan, και Kamil Kuča. 'The Antioxidant, Immunomodulatory, and Anti-Inflammatory Activities of Spirulina: An Overview'. *Archives of Toxicology* 90, τχ. 8 (Αύγουστος 2016): 1817–40. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1744-5>.
- Zhao, Tiantian, Chao Li, Shuai Wang, και Xinqiang Song. 'Green Tea (Camellia Sinensis): A Review of Its Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology'. *Molecules (Basel, Switzerland)* 27, τχ. 12 (18 Ιούνιος 2022): 3909. <https://doi.org/10.3390/molecules27123909>.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

Παράρτημα 1: Έγκριση από φορείς



Εσωτερική Επιτροπή Δεοντολογίας

Τρίκαλα: 8/2/2023
Αριθμ. Πρωτ.: 2086

Βεβαίωση έγκρισης της πρότασης για διεξαγωγή Έρευνας με τίτλο: Η επίδραση της κατεχίνης EGCG στα λειτουργικά χαρακτηριστικά απομονωμένων μυϊκών ινών

Επιστημονικώς υπεύθυνος-η / επιβλέπων-ουσα: Καρατζαφέρη Χριστίνα
Ιδιότητα: Καθηγήτρια
Ίδρυμα: Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Τμήμα: Τ.Ε.Φ.Α.Α.

Κύριος ερευνητής-τρια / φοιτητής-τρια: Μπεριάτου Ιωάννα Βασιλική
Πρόγραμμα Σπουδών: ΠΣ στην Επιστήμη ΦΑ και Αθλητισμού
Ίδρυμα: Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Τμήμα: Τ.Ε.Φ.Α.Α

Η προτεινόμενη έρευνα θα είναι: Διπλωματική εργασία

Τηλ. επικοινωνίας: 24310-47020
Email επικοινωνίας: iberiatou@uth.gr , ck@uth.gr

Η Εσωτερική Επιτροπή Δεοντολογίας του Τ.Ε.Φ.Α.Α., Πανεπιστημίου Θεσσαλίας μετά την υπ. Αριθμ. 1-5/8-2-2023 συνεδρίασή της εγκρίνει τη διεξαγωγή της προτεινόμενης έρευνας.

Ο Πρόεδρος της
Εσωτερικής Επιτροπής
Δεοντολογίας – ΤΕΦΑΑ

Τσιόκανος Αθανάσιος
Καθηγητής