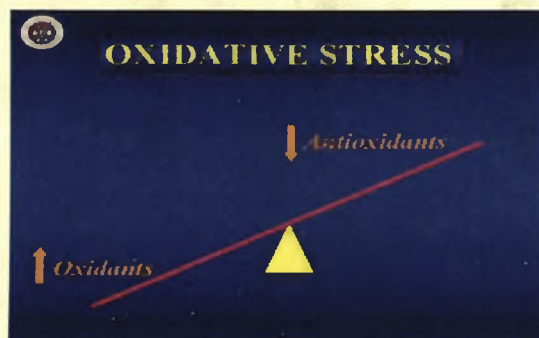


ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ-ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΦΛΩΡΟΥ ΖΩΗ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΠΡΑΣΙΝΟΥ ΤΣΑΓΙΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΣΚΗΣΗΣ
ΣΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΩΝ ΤΒΑΡΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΩΝ
ΚΑΡΒΟΝΥΛΙΩΝ ΣΤΟ ΑΙΜΑ



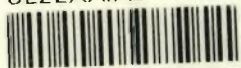
ΛΑΡΙΣΑ 2007



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»**

Αριθ. Εισ.: 6169/1
Ημερ. Εισ.: 17-03-2009
Δωρεά: Π.Θ.
Ταξιδετικός Κωδικός: ΠΤ - ΒΒ
2007
ΦΛΩ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000087342

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω αρχικά τον κ. Δημήτριο Κουρέτα, Καθηγητή του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με το συγκεκριμένο θέμα και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, καθώς και την πολύτιμη βοήθεια του και την καθοδήγησή του καθ' όλη τη διάρκειά της εργασίας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω επίσης τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Νικολαΐδη Μιχάλη για την αμέριστη βοήθειά του τόσο στην διεκπεραίωση των πειραμάτων όσο και στην συγγραφή της διπλωματικής εργασίας καθώς και για την μεγάλη υπομονή του και την προθυμία του να απαντήσει όλες τις απορίες και προβληματισμούς μου.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Κυπάρο Αντώνη για τις συμβουλές του κατά τη διάρκεια του εργαστηριακού πειράματος και την ευχάριστη συνεργασία.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω την φίλη μου και υποψήφια διδάκτορα Σπανού Χρυσούλα για την ευχάριστη συνεργασία και βοήθεια κατά την εκπόνηση του εργαστηριακού πειράματος καθώς και τα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου. Καθώς και την ομάδα του εργαστηρίου, για την πολύ καλή συνεργασία, καθώς και των γύρω εργαστηρίων για την συμβολή τους στην ολοκλήρωση της διπλωματικής εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τις φίλες μου και συμφοιτήτριες μου Φίλιου Ελεάννα και Φιλιππώνη Μαρία για την ευχάριστη συνεργασία.

Αφιερώνω την πρώτη εργασία μου στους γονείς μου, στην αδερφούλα μου, Γεωργία, στην ξαδέρφη μου, Ζωή Φλώρου και στις τέσσερις φίλες – «αδερφές μου», Στέλλα Κραλούσιου, Ατανία Σακκά, Γαγώ Πασαδμή και Ειρήνη Γεωργακού που σε κάθε μου βήμα είναι δίπλα μου, με στηρίζουν και με ευθαρρύνουν.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	9
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	10
1.1. ΠΡΑΣΙΝΟ ΤΣΑΙ	10
<i>Ιστορική Αναδρομή</i>	10
<i>Παραγωγή</i>	11
1.2. ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΠΡΑΣΙΝΟΥ ΤΣΑΓΙΟΥ	11
<i>Γενικά</i>	11
<i>Φαινολικές Ενώσεις</i>	12
1.3. ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ	14
<i>Τί είναι φλαβονοειδή;</i>	14
<i>Χημική δομή τους</i>	14
<i>Κατηγορίες φλαβονοειδών</i>	15
1.3.1. Φλαβονόλες (Κερκετίνη, Καιμπφερόλη) και Φλαβόνες	17
<i>Τι είναι φλαβονοειδή και φλαβόνες;</i>	17
<i>Χημική δομή τους</i>	18
1.3.2. Κατεχίνες (Επιγαλλοκατεχίνη, EGCG)	18
<i>Τι είναι κατεχίνες;</i>	18
<i>Δράση κατεχινών και κυρίως EGCG</i>	20
1.4. ΜΗ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ	20
<i>Οργανικά οξέα: γαλλικό οξύ, κινινικό οξύ</i>	20
<i>Αμινοξέα: Θεανίνη</i>	21
<i>Θεοφλαβίνες</i>	21
<i>Μεθυλοξανθίνες</i>	22
<i>Καφεΐνη</i>	22
1.5. ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ	22
1.6. ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ	24
<i>Αντιοξειδωτική Δράση</i>	24
1.7. ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ	25
ΟΞΥΓΟΝΟ	25
<i>Τι είναι;</i>	25
<i>Ιστορία – Ανακάλυψη</i>	26
<i>Εμφάνιση στην ατμόσφαιρα</i>	26
<i>Ρόλος</i>	27
<i>Φωτοσύνθεση</i>	27
<i>Αναπνοή και χρήση στα βιομόρια</i>	27
ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ	28
<i>Ορισμός</i>	28
<i>Ιστορία – Ανακάλυψη</i>	29
<i>Κατηγορίες</i>	29
<i>Ελεύθερες ρίζες</i>	29
<i>Δραστικά Στοιχεία Οξυγόνου (ROS)</i>	30
<i>Κατηγορίες αντιδράσεως ριζών</i>	31
<i>Τρόποι Παραγωγής</i>	31
<i>Πηγές παραγωγής τους</i>	32
<i>Επιδράσεις στον οργανισμό</i>	35

1.8. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ	43
<i>Ορισμός</i>	43
<i>Ιστορία</i>	44
<i>Ρόλος αντιοξειδωτικών</i>	44
<i>Κατηγορίες</i>	45
1.9. ΑΛΛΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ	47
1.10. ΠΙΘΑΝΕΣ ΑΠΟΡΙΕΣ ΓΙΑ ΤΟ ΠΡΑΣΙΝΟ ΤΣΑΙ	48
<i>Πιθανές παρενέργειες πράσινου τσαγιού</i>	48
<i>Μορφές του στο εμπόριο</i>	48
<i>Σύγκριση των τεσσάρων κύριων τύπων τσαγιού</i>	49
1.11. ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ	50
<i>Τι είναι</i>	50
<i>Πού οφείλεται</i>	50
<i>Παράγοντες δημιουργίας τους</i>	50
<i>Επιπτώσεις του</i>	52
<i>Αντιμετώπιση οξειδωτικού στρες</i>	53
1.12. ΑΣΚΗΣΗ	53
<i>Συσχέτιση άσκησης – οξειδωτικού στρες</i>	54
<i>Πηγές οξειδωτικού στρες στην άσκηση</i>	55
1.13. ΣΚΟΠΟΣ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ	57
2. ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ	58
2.1 ΥΛΙΚΑ	58
2.1.1. <i>Χημικά αντιδραστήρια</i>	58
2.1.2. <i>Σκεύη και συσκευές</i>	58
2.1.3. <i>Ορός αίματος</i>	59
<i>i. Συμμετέχοντες</i>	59
<i>ii. Πρωτόκολλο άσκησης και συλλογή αίματος</i>	59
2.2. ΜΕΘΟΔΟΙ	59
2.2.1. <i>Μαλονδυαλδεύδη - TBARS (ThioBarbituric Acid-Reactive Substances)</i>	59
2.2.2. <i>Πρωτεϊνικά καρβονύλια – Protein Carbonys</i>	60
2.2.3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ	60
<i>i. Μαλονδυαλδεύδη - TBARS (ThioBarbituric Acid-Reactive Substances)</i>	60
<i>ii. Πρωτεϊνικά καρβονύλια – Protein Carbonys</i>	61
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	63
<i>i. Μαλονδυαλδεύδη - TBARS (ThioBarbituric Acid-Reactive Substances)</i>	63
<i>ii. Πρωτεϊνικά καρβονύλια – Protein Carbonys</i>	64
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	65
<i>Σύγκριση των αποτελεσμάτων της διπλωματικής εργασίας με τα αποτελέσματα άλλων μελετών για το πράσινο τσάι</i>	66
<i>Σύγκριση των αποτελεσμάτων της διπλωματικής εργασίας με τα αποτελέσματα άλλων μελετών για την άσκηση</i>	66
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	67
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	68

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Συστατικά πράσινου τσαγιού. Στον πίνακα παρουσιάζονται τα κυριότερα συστατικά του πράσινου τσαγιού και το ποσοστό τους % σε ξηρό βάρος.	12
Πίνακας 2. Οι σημαντικότερες κατηγορίες φλαβονοειδών και η βιολογική σημασία τους.	15
Πίνακας 3. Διάφορα δραστικά στοιχεία οξυγόνου (ROS).	30
Πίνακας 4. Γενική σειρά αντιδράσεων με τις οποίες έστω και μία ελεύθερη ρίζα (R •) μπορεί να οδηγήσει σε υπεροξείδωση των λιπιδίων και στον σχηματισμό νέων ελεύθερων ριζών (C.Mylonas, D. Kouretas 1999).	40
Πίνακας 5. Κατηγορίες Αντιοξειδωτικών	46
Πίνακας 6. Placebo (Μαλονδυαλδεύδη - TBARS).	63
Πίνακας 7. Green Tea (Μαλονδυαλδεύδη - TBARS).	63
Πίνακας 8. Placebo (Πρωτεϊνικά καρβονύλια).	64
Πίνακας 9. Green Tea (Πρωτεϊνικά καρβονύλια).	64

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. Εικόνα 1. Camellia Sinesis.	
Απεικόνιση του ανθισμένου φυτού, Camellia Sinesis. Τα φύλλα υφίσταται ειδική επεξεργασία και παράγουν το πράσινο τσάι.	10
Εικόνα 2. Μαρασμός των φύλλων του Camellia Sinesis.	
Απεικόνιση της πρώτης διαδικασίας επεξεργασίας των φύλλων. Ο μαρασμός πραγματοποιείται για την εξάλειψη των ενζύμων.	11
Εικόνα 3. Οι τέσσερις πιο διαδεδομένες φαινόλες στην φύση.	
Όλες αποτελούνται από έναν αρωματικό δακτύλιο και από μία ή περισσότερες υδροξυλομάδες συνδεδεμένες με άνθρακα.	13
Εικόνα 4. Βασικός σκελετός των φλαβονοειδών.	14
Εικόνα 5. Δομή των βασικότερων φλαβονοειδών.	16
Εικόνα 6. Χημική δομή των φλαβονών και φλαβονοειδών.	17
Εικόνα 7. Κατεχίνη.	
Εικόνα της κατεχίνης από μικροσκόπιο.	18
Εικόνα 8. Δομή της EGCG.	
Διακρίνονται οι τρεις χημικές δομές των ενώσεων από τις οποίες αποτελείται (κατεχίνη, επί – γαλλο, gallate).	19
Εικόνα 9. Οι σημαντικότερες κατεχίνες που περιέχει το πράσινο τσάι.	19
Εικόνα 10. Χημική δομή κάποιων βασικών κατεχινών του πράσινου τσαγιού.	19
Εικόνα 11. Χημική Δομή του γαλλικού οξέος.	20
Εικόνα 12. Χημική δομή της θεανίνης.	21
Εικόνα 13. Παραγωγή των θεοφλαβινών από την επικατεχίνη.	21
Εικόνα 14. Χημική δομή καφεΐνης.	22
Εικόνα 15. Σχηματική παρουσίαση της βιοσύνθεσης των φλαβονοειδών.	23
Εικόνα 16. Μηχανισμός της αντιοξειδωτικής δράσης φλαβονοειδών.	25
Εικόνα 17. Η δομή του οξυγόνου.	26
Εικόνα 18. Σύνδεση φωτοσύνθεσης και αναπνοής.	28
Εικόνα 19. Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και ROS.	29
Εικόνα 20. Δραστικών Στοιχείων Οξυγόνου (ROS).	
Απεικόνιση των δραστικών στοιχείων οξυγόνου (ROS), όπου παρουσιάζεται η κατανομή των ηλεκτρονίων στην εξωτερική τους στιβάδα.	30
Εικόνα 21. Απεικόνιση παραγωγής των ROS.	32
Εικόνα 22. Παραγωγή ROS στο μιτοχόνδριο.	
Στην εικόνα παρατηρούνται τέσσερις πιθανοί τρόποι παραγωγής της σουπεροξειδική ρίζα $O_2^{\cdot-}$ και οι αντιδράσεις που πραγματοποιούνται στο μιτοχόνδριο και οι λοιπές ROS που παράγονται.	33
Εικόνα 23. Απεικόνιση της συνολικής αντίδρασης ενός τυχαίου φαρμάκου(RH).	34
Εικόνα 24. Τα σηματοδοτικά μονοπάτια του NO.	37
Εικόνα 25. Διαγραμματική απεικόνιση του μηχανισμού της υπεροξειδωσής των λιπιδίων (Gutteridge & Halliwell, 1990).	39
Εικόνα 26. Οι τρεις στόχοι των ενεργών ελεύθερων ριζών του οξυγόνου (και ROS): 1) τα λιπίδια (lipids), 2) οι πρωτεΐνες, 3) τα νουκλεϊκά οξέα (DNA).	43
Εικόνα 27. Απεικόνιση του τρόπου δράσης των αντιοξειδωτικών.	43

Εικόνα 28. Σχηματική απεικόνιση της δράσης των αντιοξειδωτικών ενάντια στις ελεύθερες ρίζες και ROS που παράγονται από το οξυγόνο.	
Συγκεκριμένα, φαίνεται ότι αρχικά δρα η δισμουτάση του σουπεροξειδίου (SOD), ακολουθεί η καταλάση και η γλουταθειόνη ανάλογα με τις ελεύθερες ρίζες με τις οποίες αντιδρούν.	46
Εικόνα 29. Φακελάκι πράσινου τσαγιού.	48
Εικόνα 30. Σύγκριση των τεσσάρων τύπων τσαγιού που προέρχονται από το φυτό, <i>Camellia Sinesis</i>. Συγκεκριμένα παρουσιάζονται οι διαφορές του τρόπου παραγωγής της ποσότητας των κατεχινών και των θεοφλαβονοειδών.	49
Εικόνες 31. Απεικόνιση κάποιων σημαντικών παραγόντων δημιουργίας των ROS και συνεπώς δημιουργίας οξειδωτικού στρες.	51
Εικόνα 32. Σχηματική αναπαράσταση της δημιουργίας και των επιπτώσεων του οξειδωτικού στρες.	52
Εικόνα 33. Η διαταραγμένη ισορροπία μεταξύ παραγωγής δραστικών στοιχείων οξυγόνου ROS κι αντιοξειδωτικών που είναι αποτέλεσμα του οξειδωτικού στρες.	53
Εικόνα 34. Απεικονίζεται η μιτοχονδριακή παραγωγή $O_2^{\cdot -}$ και (a) η καταστροφή του μιτοχονδρικού DNA από αυτό, (b) οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί δράσης (SOD, GSH, καταλάση).	55
Εικόνα 35. Η αντίδραση της MDA με το TBA παράγει το σύμπλοκο MDA – TBA, ένα προϊόν ροζ χρώματος.	59

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

- ADP: Διφωσφορική αδενοσίνη
- AMP: Μονοφωσφορική αδενοσίνη
- AP-1: Activator protein
- ATP: Τριφωσφορική αδενοσίνη
- AMP: Μονοφωσφορική αδενοσίνη
- CAT: καταλάση
- CoA: Συνένζυμο A
- CoQ10: Συνένζυμο Q10
- DHA: Δεϋδροασκορβικό οξύ
- DNA: Δεοξυριβονουκλεοτιδικό Οξύ
- DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
- DTNB: 5,5-DiThio-bis(2-NitroBenzoic acid)
- EC: Επικατεχίνη
- ECG: Επιγαλλοκατεχίνη
- EDTA: Αιθυλενοδιάμινο τετραοξικό οξύ
- EGC: Επικατέχνη gallate
- EGCG: Επικατεχίνη gallate
- GSH: Ανηγμένη μορφή γλουταθειόνης
- GSSG: Οξειδωμένη μορφή γλουταθειόνης
- HSP: πρωτεΐνη θερμικού σοκ
- HPLC: Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης
- MAPK: Mitogen activated protein kinase
- MDA: Μαλονδουαλδεΐδη
- NAD: Νικοτιναμιδο-αδενινο δινουκλεοτίδιο (οξειδωμένη μορφή)
- NADH: Νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο(ανηγμένη μορφή)
- NADPH: Φωσφορικό Νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο
- NF-kB: Nuclear factor-Kb
- RNS: Reactive Nitrogen Species – Δραστικά στοιχείο αζώτου
- ROS: Reactive Oxygen Species -Δραστικά στοιχεία οξυγόνου
- SOD: Δισμουτάση του υπεροξειδίου
- TAC: Total Antioxidant Capacity - Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα
- TBA: Θειοβαρβιτουρικό οξύ
- TBARS: ThioBarbituric-Acid Reactive Substances (Ενώσεις που αντιδρούν με θειοβαρβιτουρικό οξύ)
- TCA: Τριχλωροξικό οξύ
- Q : ουβικινόνη

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα τελευταία χρόνια γίνονται διάφορες έρευνες για την επίδραση της άσκησης και της διατροφής στο οξειδωτικό στρες. Η έντονη άσκηση αποτελεί μια πολύ σημαντική πηγή οξειδωτικού στρες μέσω της αυξημένης παραγωγής ελευθέρων ριζών. Η ενδογενής άμυνα του ανθρώπινου οργανισμού, που συμπεριλαμβάνει κυρίως ένζυμα απενεργοποίησης των δραστικών στοιχείων οξυγόνου (ROS), πιθανόν να ενισχύεται από διατροφικούς παράγοντες. Το πράσινο τσάι είναι ένας τέτοιος παράγοντας συμβάλλοντας στην άμυνα του οργανισμού έναντι των οξειδωτικών αντιδράσεων, μέσω δράσης με διάφορους μηχανισμούς. Οι ουσίες στις οποίες έχει αποδοθεί η αντιοξειδωτική δράση του είναι κυρίως οι βιταμίνες A, C, και E, και διάφορες πολυφαινολικές ενώσεις με κύρια την επιγαλλοκατεχίνη. Η συνεισφορά των πολυφαινολικών συστατικών των αρωματικών αυτών φυτών στην καταστολή των ενεργών ειδών οξυγόνου στον οργανισμό, υποδηλώνει την ευεργετική δράση τους στην υγεία. Από τις πιο σημαντικές βιολογικές δράσεις που έχουν αποδοθεί στις πολυφαινόλες των πράσινων τσαγιών είναι η αντικαρκινική, χημειοπροστατευτική τους δράση. Άγνωστος μέχρι στιγμής είναι ο τρόπος με τον οποίο η άσκηση σε συνδυασμό με την χορήγηση πράσινου τσαγιού επιδρά στον οργανισμό.

Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η μελέτη του προκαλούμενου οξειδωτικού στρες αμέσως μετά το τέλος έντονης άσκησης σε μη αθλητές μετά την λήψη πράσινου τσαγιού. Για την επίτευξη του στόχου προσδιορίστηκαν οι δείκτες οξειδωτικού στρες. Συγκεκριμένα, λαμβάνονταν καθημερινά πράσινο τσάι από μη αθλητές και μετά την πάροδο ενός μηνός μετρήθηκαν τα επίπεδα της μαλοναλδεϋδης (MDA) και των πρωτεϊνικών καρβονυλίων πριν και μετά από έντονη αερόβια άσκηση. Οι δείκτες αυτοί επιλέχτηκαν διότι αποτελούν δείκτες υπεροξείδωσης των λιπιδίων και πρωτεϊνικής βλάβης αντίστοιχα, σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία. Όσον αφορά την άσκηση, στα αποτελέσματα των μετρήσεων μας παρατηρήθηκε αύξηση των επίπεδα της MDA (μέθοδο TBARS, ThioBarbituric Acid Reactive Substances) και των πρωτεϊνικών καρβονυλίων και άρα επίδραση της άσκησης στο οξειδωτικό στρες. Όσον αφορά το πράσινο τσάι, παρατηρήθηκε μικρή στατιστικά αύξηση των ιδίων δεικτών οξειδωτικού στρες. Επιπλέον, σε άλλες δυο διπλωματικές με τις οποίες υπήρξε συνεργασία μελετήθηκαν η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του ορού (TAC, Total Antioxidant Capacity), η δραστηριότητα της καταλάσης, τα επίπεδα της ανηγμένης (GSH) και οξειδωμένης (GSSG) γλουταθειόνης και τα επίπεδα του λόγου αυτών (GSH/GSSG). Έτσι, επιτεύχθηκε μία ολοκληρωμένη έρευνα σχετικά με την επίδραση του πράσινου τσαγιού και της άσκησης στο οξειδωτικό στρες. Τελικά η συνισταμένη των αποτελέσματα των τριών εργασιών δίνει επίδραση της άσκησης και ελάχιστη επίδραση του πράσινου τσαγιού στο οξειδωτικό στρες.

**«Το φάρμακο σου
είναι η τροφή σου &
η τροφή σου το
φάρμακο σου»**

ΙΠΠΟΚΡΑΤΗΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. ΠΡΑΣΙΝΟ ΤΣΑΙ

Το πράσινο τσάι είναι ένα προϊόν διατροφής και προέρχεται από τα φρέσκα φύλλα του φυτού *Camellia Sinesis* (Yang C et al. 1993) (**Εικόνα 1**). Το φυτό αυτό είναι θάμνος και ανήκει στα αειθαλή φυτά. Ευδοκίμει σε τροπικά κλίματα και σε υψόμετρο από 300 έως 2500 μέτρα.

Ιστορική Αναδρομή

Οι Κινέζοι θεωρούν το τσάι ελιξίριο μακροζωίας εδώ και 5.000 χρόνια. Η ιστορία του τσαγιού καλύπτεται από μύθους, από τους οποίους ο πιο διαδεδομένος αφορά τον Κινέζο αυτοκράτορα Σεν Νουνγκ, γύρω στο 2737 π.Χ. Σύμφωνα με το μύθο, ο αυτοκράτορας πίστευε ότι το νερό έπρεπε να βράζεται πριν από την πόση, για λόγους υγιεινής. Μία καλοκαιρινή ημέρα, στο βρασμένο νερό που θα έπινε φύσηξε αέρας και έπεσαν μερικά φύλλα στο σκεύος από το θάμνο *Camellia Sinesis* που βρισκόταν εκεί κοντά. Ο αυτοκράτορας μύρισε το γλυκό άρωμα του «μείγματος», και από τη στιγμή που το δοκίμασε, εμφανίστηκε ένα νέο για τον καιρό εκείνο προϊόν διατροφής, το τσάι! Ανακάλυψε ότι αυτό το παρασκεύασμα ήταν εύγευστο και αναζωογονητικό. Έτσι, σύμφωνα με το μύθο, δημιουργήθηκε το τσάι.

Η κατανάλωση τσαγιού είναι κοινή παγκοσμίως, παρά τη διεθνώς ευρεία ποικιλία των συνηθειών κατανάλωσης, π.χ. τύπος, συχνότητα της εισαγωγής, θερμοκρασία, δύναμη. Αυτό το ρόφημα καταναλώνεται ευρέως από τους Κινέζους και τους Ιάπωνες.

Σε μία πορεία χιλιάδων χρόνων, το τσάι έχει φτάσει να είναι σήμερα το ρόφημα με τη μεγαλύτερη κατανάλωση μετά το νερό. Το γεγονός αυτό δεν είναι καθόλου τυχαίο, διότι είναι ένα απολαυστικό και ταυτόχρονα υγιεινό ρόφημα. Επίσης, παρέχει και άλλα οφέλη όπως η χαλάρωση και ξεκούραση του σώματος, ενυδάτωση του οργανισμού και διέγερση του μυαλού.

Παράλληλα περιέχει πολύτιμα αντιοξειδωτικά συστατικά που βοηθούν στην προστασία από πολλές ασθένειες που σχετίζονται με το άγχος, τη μόλυνση και γενικότερα τον σύγχρονο τρόπο ζωής. Επίσης αποτελεί μια πολύτιμη πηγή βιταμινών και μετάλλων. Συγκεκριμένα, περιέχει καροτίνη (προβιταμίνη Α), θειαμίνη (βιταμίνη Β1), ριβοφλαβίνη (βιταμίνη Β2), παντοθενικό οξύ, ασκορβικό οξύ, (βιταμίνη C), βιταμίνη Β6 και φυλλικό οξύ. Σχετικά με τα μέταλλα, διαθέτει από τα σπουδαιότερα για τον ανθρώπινο οργανισμό μεταλλικά άλατα, μαγγάνιο, κάλιο και είναι μία από τις φυσικές πηγές φθορίου. Το μαγγάνιο είναι βασικό συστατικό για την ομαλή λειτουργία της καρδιάς, των νεύρων και των μυών. Επίσης ρυθμίζει τα επίπεδα των υγρών στο εσωτερικό των κυττάρων.

Τα οφέλη υγείας από το πράσινο τσάι έχουν μελετηθεί και σε ανθρώπινες και ζωικές δοκιμές. Όμως η μελέτη των αντιοξειδωτικών, συμπεριλαμβανομένων των



Εικόνα 1. *Camellia Sinesis*.

Απεικόνιση του ανθισμένου φυτού, *Camellia Sinesis*. Τα φύλλα υφίσταται ειδική επεξεργασία και παράγουν το πράσινο τσάι.

πολυφαινολών, των φλαβονοειδών και των κατεχινών στα οφέλη της υγείας είναι σχετικά νέα. Με επιστημονικά παγκόσμια πρώτα επιβεβαιωμένη πράσινου τσαγιού για μια δεκαετία πριν. Πολλοί τύποι αντιοξειδωτικών είναι φυσικά άφθονα στο πράσινο τσάι. Τα ερευνητικά συμπεράσματα το 1999 του πράσινου τσαγιού σχετικά με τα αντιοξειδωτικά εκθέτουν την πιθανή πρόληψη στο καρκίνο του στομαχιού και του προστάτη κατά της προώθησης του όγκου και στη θεραπεία για το ήπαρ. Καθώς επίσης και την ανίχνευση και εύρεση σε μοριακό επίπεδο τον τρόπο αντιοξειδωτικής και αντικαρκινικής δράσης των κατεχινών και επιγαλλοκατεχινών.

Παραγωγή

Ο τρόπος παρασκευής του πράσινου τσαγιού εφαρμόστηκε τον 6^ο αιώνα στην Κίνα. Τον ίδιο αιώνα το πράσινο τσάι εισήχθη και στην Ιαπωνία όπου κατά τον 16^ο αιώνα πρωτοεμφανίζεται η τελετή τσαγιού. Την ίδια εποχή το πράσινο τσάι γίνεται δημοφιλές και στην Ευρώπη.

Η διαλογή των φύλλων στις καλές ποικιλίες γίνεται με το χέρι και σε τακτά χρονικά διαστήματα, ενώ απαιτεί εμπειρία και δεξιότητα. Το πράσινο τσάι συνήθως επεξεργάζεται μέσα σε 2 μέρες από τη στιγμή που θα γίνει η συγκομιδή και παράγεται από ώριμα φύλλα τσαγιού.

Η διαδικασία παραγωγής του είναι τέτοια ώστε να αποφεύγει οποιαδήποτε μορφή ζύμωσης. Έτσι, διακόπτεται η ζύμωση (αερισμός) αμέσως μετά τη συλλογή των φύλλων του φυτού. Τα φύλλα περνούν από τρεις διαδικασίες: ψησίματος και μαρασμού (**Εικόνα 2**), τυλίγματος και φωτιάς. Η πρώτη έχει στόχο να εξαλειφθούν τα ένζυμα που θα προκαλούσαν τη ζύμωση. Αυτό επιτυγχάνεται με απότομο ζέσταμα των φύλλων σε μεγάλα τηγάνια στους 100°C. Τα φύλλα μαλακώνουν και μπορούν εύκολα να τυλιχτούν. Μετά, τα φύλλα τυλίγονται ή διπλώνονται με το χέρι για να πάρουν σχήμα μικρής κυλίνδρου ή κλαδιού και στη συνέχεια ξεραίνονται σε ζεστό αέρα μέχρι να κρατήσουν μόνο 5-6% υγρασία. Ωστε να σπάσουν σε μικρότερα κομμάτια και ταυτόχρονα να απελευθερωθούν τα ένζυμα που ξεκινούν την ζύμωση.



Εικόνα 2. Μαρασμός των φύλλων του *Camellia Sinesis*.

Απεικόνιση της πρώτης διαδικασίας επεξεργασίας των φύλλων. Ο μαρασμός πραγματοποιείται για την εξάλειψη των ενζύμων.

1.2. ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΠΡΑΣΙΝΟΥ ΤΣΑΓΙΟΥ

Γενικά

Το πράσινο τσάι έχει τη δυνατότητα να παράγει κυρίως στα φύλλα του χημικές ουσίες, γνωστές ως πολυφαινόλες. Αυτές είναι μια κατηγορία φυτοχημικών ουσιών που το προφυλάσσουν από το ηλιακό στρες της φωτοσύνθεσης. Η ομάδα αυτή των πολυφαινολών περιλαμβάνει ουσίες όπως τα φλαβονοειδή, τα οποία περιέχονται σε πολλά φρούτα και λαχανικά και είναι υπεύθυνα για την αντιοξειδωτική δράση των προϊόντων αυτών ενάντια στις ελεύθερες ρίζες που αναπτύσσονται στα κύτταρα του σώματος. Ακόμη, αυτές οι χημικές ουσίες έχουν χαρακτηριστεί ως προστατευτικοί παράγοντες που μπορούν να αποκρούσουν ποικίλες εκφυλιστικές ασθένειες. Η μεγάλη περιεκτικότητα του τσαγιού σε

αντιοξειδωτικούς παράγοντες, είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη ενδιαφέροντος για περαιτέρω έρευνα στο φυτό αυτού. Έχει βρεθεί ότι το πράσινο τσάι έχει 100 φορές μεγαλύτερη αντιοξειδωτική δραστηριότητα από ό,τι η βιταμίνη C.

Τα φρέσκα φύλλα τσαγιού περιέχουν 75%-80% νερό και 20%-25% διάφορα στοιχεία, στα οποία είναι ταξινομημένες οι πολυφαινόλες, πρωτεΐνες, αλκαλοειδή, αμινοξέα, μέταλλα, βιταμίνες, χρωστικές ουσίες, λίπη και στοιχεία αρώματος. Οι σημαντικότερες πολυφαινόλες που εμφανίζονται στο πράσινο τσάι και ανήκουν στην ομάδα των φλαβονοειδών είναι οι κατεχίνες EC, ECG, EGC, EGCG με κυριότερη την EGCG.

Επιπλέον, περιέχει και άλλες ουσίες που είναι γνωστές για τις χημειοπροστατευτικές τους ικανότητες. Αυτές είναι η καφεΐνη, φλαβονόλες, φλαβονοειδή, φαινολικά γνωστά ως αλκαλοειδή θεοβρωμίνη και θεοφυλλίνη (*Lu Y-P et. al 2002*). Έναντι άλλων φυτών, τα φυτά τσαγιού περιέχουν τα υψηλότερα ποσά καφεΐνης, βιταμίνης C και E και μετάλλων όπως το κάλιο, το φθορίδιο, το αργίλιο. Στον **πίνακα 1** απεικονίζονται τα κύρια συστατικά του πράσινου τσαγιού και το ποσοστό τους % σε ξηρό βάρος που υπάρχουν στο φυτό.

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΠΡΑΣΙΝΟ ΤΣΑΙ
▪ Κατεχίνες (<i>Επιγαλλοκατεχίνη, EGCG</i>)	30 – 42
▪ Φλαβονόλες (κερκετίνη, καιμπερόλη)	5 - 10
▪ Άλλα φλαβονοειδή	2 -4
▪ Θεογαλίνη	2 -3
▪ Ασκορβικό οξύ	1 - 2
▪ Γαλλικό οξύ	0,5
▪ Κινινικό οξύ	2
▪ Άλλα οργανικά οξέα	4 - 5
▪ Θεανίνη	4 - 6
▪ Άλλα αμινοξέα	4 - 6
▪ Μεθυλοξανθίνες	7 -9
▪ Υδατάνθρακες	10 -15
▪ Πρωτεΐνη	20 – 30
▪ Προϊόντα λιπιδίων	4 - 7
▪ Βιταμίνη A, E, C, B1, B2, P κτλ	0.6 – 1.0

Πηγή: Int J Oncol, 1996;8:221-38

Πίνακας 1. Συστατικά πράσινου τσαγιού.

Στον πίνακα παρουσιάζονται τα κυριότερα συστατικά του πράσινου τσαγιού και το ποσοστό τους % σε ξηρό βάρος.

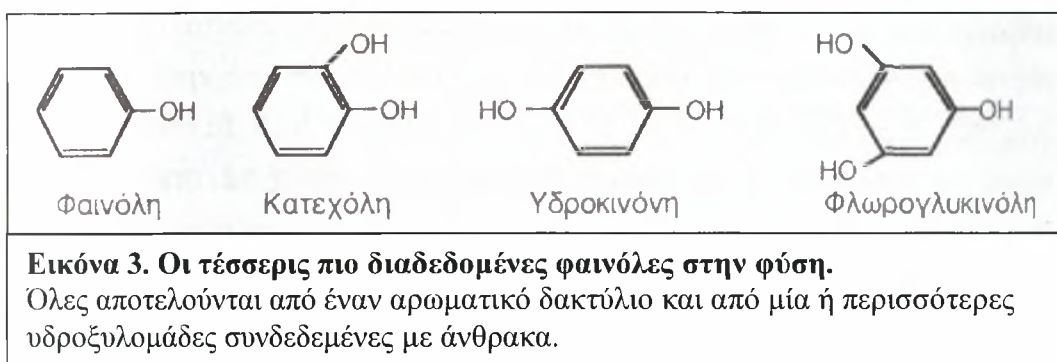
Φαινολικές Ενώσεις

Οι δευτερογενείς μεταβολίτες των ανώτερων φυτών περιλαμβάνουν ένα μεγάλο εύρος χημικών ενώσεων που χρησιμοποιούνται από το φυτό για την ανάπτυξή του, την αναπαραγωγή του, την άμυνα εναντίον άλλων οργανισμών που τα προσβάλλουν και γενικότερα για την επιβίωσή τους. Ανάμεσα στις ενώσεις αυτές απαντώνται οι φαινολικές ενώσεις, οι πιο άφθονες από όλες τις φυτικές χημικές ενώσεις. Σήμερα για τις περισσότερες γνωρίζουμε ότι είναι παραπροϊόντα του

μεταβολισμού με ενεργή δραστηριότητα, όπως φυτικές ορμόνες, οξειδοαναγωγικοί συμπαράγοντες (π.χ. το συνένζυμο Q –ουβικινόνη), χρωστικές των φλαβονοειδών κ.λ.π.

Στη φύση απαντούν πολλές φορές υπό την μορφή γλυκοζιτών, παρά σε ελεύθερη κατάσταση και συνεπώς πολλές φυτικές φαινόλες αποτελούν το άγλυκο τμήμα των γλυκοζιτών. Το σάκχαρο που συμμετέχει μπορεί να είναι γλυκόζη, γαλακτόζη, ξυλόζη κ.α. Όλες οι φαινολικές ενώσεις περιέχουν έναν ή περισσότερους αρωματικούς δακτυλίους υποκατεστημένους με μία ή περισσότερες υδροξυλομάδες συνδεδεμένη με άνθρακα του πυρήνα ή δραστικά παράγωγα, όπως καρβοξυλικές ή μεθοξυλικές ηομάδες (-O-CH₃), καθώς επίσης και άλλες δομές μη αρωματικού δακτυλίου.

Οι πιο γνωστές φαινόλες είναι η φαινόλη, η κατεχόλη, η υδροκινόνη και η φλωρογλυκινόλη (**Εικόνα 3**). Οι φυτικές φαινόλες παρουσιάζουν μια ετερογένεια ως προς τη διαλυτότητα τους, αφού μερικές είναι διαλυτές μόνο σε οργανικούς διαλύτες, μερικές είναι υδατοδιαλυτές (κυρίως καρβοξυλικά οξέα και γλυκοζίτες), ενώ άλλες είναι ισχυρά αδιάλυτα ισομερή. Οι ιδιότητες αυτές προσδίδουν ξεχωριστούς χαρακτήρες στις φαινόλες και ταυτόχρονα τις ξεχωρίζουν από τα άλλα χημικά (Καράταγλης 1994)



Οι φαινολικές ενώσεις που απαντώνται στα φυτά χωρίζονται σε κατηγορίες ανάλογα με τη βιοσυνθετική πορεία που ακολουθεί το φυτό για να τις συνθέσει. Έτσι, οι φαινολικές ενώσεις από φυτά χωρίζονται στις απλές φαινόλες, στις πολυφαινόλες ή φλαβονοειδής φαινόλες και στα φαινολικά τερπενοειδή.

Οι απλές φαινόλες είναι ενώσεις που βρίσκονται στους φυτικούς ιστούς και αποτελούνται από έναν υποκατεστημένο βενζολικό δακτύλιο με μία ή περισσότερες υδροξυλομάδες.

Οι πολυφαινόλες ή φλαβονοειδής φαινόλες είναι περισσότερο πολύπλοκες δομικά ενώσεις, οι οποίες περιλαμβάνουν ενώσεις με περισσότερους από ένα φαινολικούς δακτυλίους και ανάλογα με τη βιοσυνθετική τους πορεία οι πολυφαινόλες χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες: α) τα παράγωγα του γαλλικού οξέος, β) τα παράγωγα του εξα-υδροξυ-διφαινοϊκού οξέος και γ) τις προανθοκυανιδίνες. Η τρίτη κατηγορία φαινολικών ενώσεων είναι τα φαινολικά τερπενοειδή.

Γενικότερα ταξινομούνται σε κατηγορίες ανάλογα με τον αριθμό των αρωματικών δακτυλίων που φέρουν καθώς και τα δομικά στοιχεία που συνδέουν τους δακτυλίους μεταξύ τους. Οι δύο βασικές κατηγορίες στις οποίες ταξινομούνται είναι τα φλαβονοειδή και τα μη φλαβονοειδή τα οποία με την σειρά τους χωρίζονται στα φαινολικά οξέα και τα στιλβένια.

1.3. ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ

↳ *Τί είναι φλαβονοειδή;*

Φλαβονοειδή είναι μια μεγάλη ομάδα πολυφαινολικών ενώσεων, πολλές από τις οποίες είναι υπεύθυνες για το χρώμα των καρπών και των ανθέων, είναι πολύ διαδεδομένες στα φυτά και συνιστούν σημαντικό κομμάτι της διατροφής. Μπορούν να βοηθήσουν στην προστασία από τη μόλυνση. Το κρασί και το πράσινο τσάι αποτελούν δυο βασικές πηγές του. Επίσης, πολλές από αυτές είναι ευρέως γνωστές για την αντιοξειδωτική δραστηριότητα τους. Εντούτοις, είναι τώρα γνωστό ότι τα οφέλη υγείας παρέχουν κατά του καρκίνου και οι καρδιακές παθήσεις είναι το αποτέλεσμα άλλων μηχανισμών.

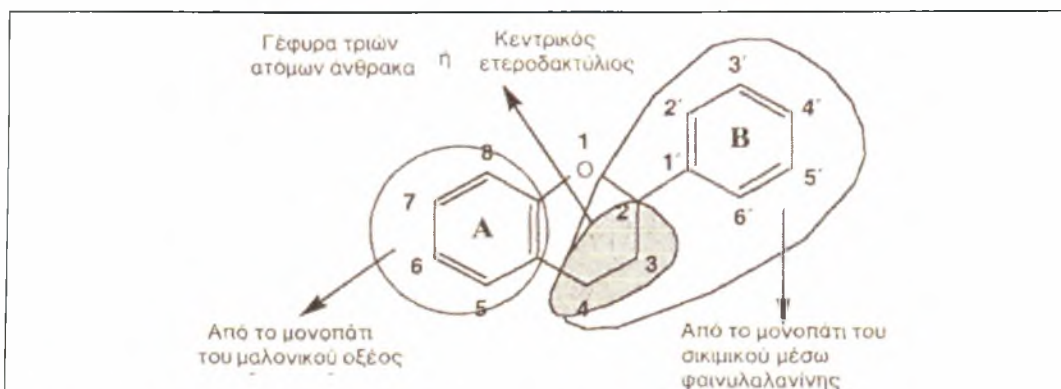
Περίπου 3.000 ενώσεις, ίσως και περισσότερος αριθμός, είναι γνωστές και απαντούν στα ανώτερα φυτά. Στις λειχήνες και στο ζωικό βασίλειο δεν έχουν βρεθεί φλαβονοειδή μέχρι σήμερα εκτός από μερικά φλαβονοειδή που βρέθηκαν στα φτερά μιας πεταλούδας. Επίσης, δεν απαντούν στα φύκη και τους μύκητες, αν και υπάρχει μια αναφορά για μια φλαβόνη που απαντά στα φύκη του γένους *Nitella* και ενός άλλου που βρέθηκε στο μύκητα *Aspergillus candidus*.

Η ονομασία τους προέρχεται από το κίτρινο χρώμα (*flavus*=κίτρινος) μερικών ενώσεων της ομάδας αυτής. Τα φλαβονοειδή είναι συνήθως οι χρωστικές ουσίες των φυτών. Επίσης η λίγο πικρή γεύση του πράσινου τσαγιού αποδίδεται σ' αυτές.

Επειδή είναι ευρέως διαδεδομένα στη φύση συνιστούν μέρος της διατροφής του ανθρώπου. Υπολογίζεται ότι ο άνθρωπος παίρνει με την τροφή του 1gr/ημερησίως.

↳ *Χημική δομή τους*

Ο βασικός ανθρακικός σκελετός ενός φλαβονοειδούς παρουσιάζεται να περιέχει 15 άτομα άνθρακα σε μια διάταξη με δύο αρωματικούς δακτυλίους, που συνδέονται με μια γέφυρα τριών ατόμων άνθρακα. Η γέφυρα αυτή αναφέρεται και ως κεντρικός ετεροδακτύλιος. Η δομή αυτή είναι το αποτέλεσμα της συνένωσης δύο προϊόντων που προέρχονται από δύο διαφορετικά βιοσυνθετικά μονοπάτια. Ο αρωματικός δακτύλιος (δακτύλιος B) και η γέφυρα των τριών ατόμων του άνθρακα είναι μια φαινυλοπροπανική μονάδα που προέρχεται μέσω φαινυλαλανίνης από το μονοπάτι του σικιμικού οξέος. Τα 6 άτομα του άνθρακα του άλλου αρωματικού δακτυλίου (δακτύλιος A) προέρχονται από το μονοπάτι του μαλονικού οξέος (Εικόνα 4).



Εικόνα 4. Βασικός σκελετός των φλαβονοειδών.

Η ονομασία τους προέρχεται από το κίτρινο χρώμα (flavus=κίτρινος) μερικών ενώσεων της ομάδας αυτής. Τα φλαβονοειδή ταξινομούνται σε διαφορετικές ομάδες που βασίζονται πρωτογενώς στο βαθμό οξειδωσης των ατόμων του άνθρακα της γέφυρας. Στον **Πίνακα 2** παρουσιάζονται οι σημαντικότερες κατηγορίες φλαβονοειδών και η βιολογική σημασία τους (Nach J. B. Harborne, 1980).

Στα φυτά απαντούν είτε με τη μορφή αγλύκου ή σε μορφή γλυκοσιδών. Οι γλυκοσίδες είναι Ο-γλυκοσίδες και μικρός αριθμός είναι C-γλυκοσίδες. Οι φλαβονόλες, για παράδειγμα, βρίσκονται κυρίως ως 3-Ο-γλυκοσίδες, ενώ οι 7- και 4'-θέσεις μπορούν να γλυκοσιλιωθούν, όπως συμβαίνει στα κρεμμύδια. Άλλες κατηγορίες φλαβονοειδών όπως οι φλαβόνες, φλαβανόνες και ισοφλαβόνες, είναι κυρίως γλυκοσιλιωμένες στην 7-θέση.

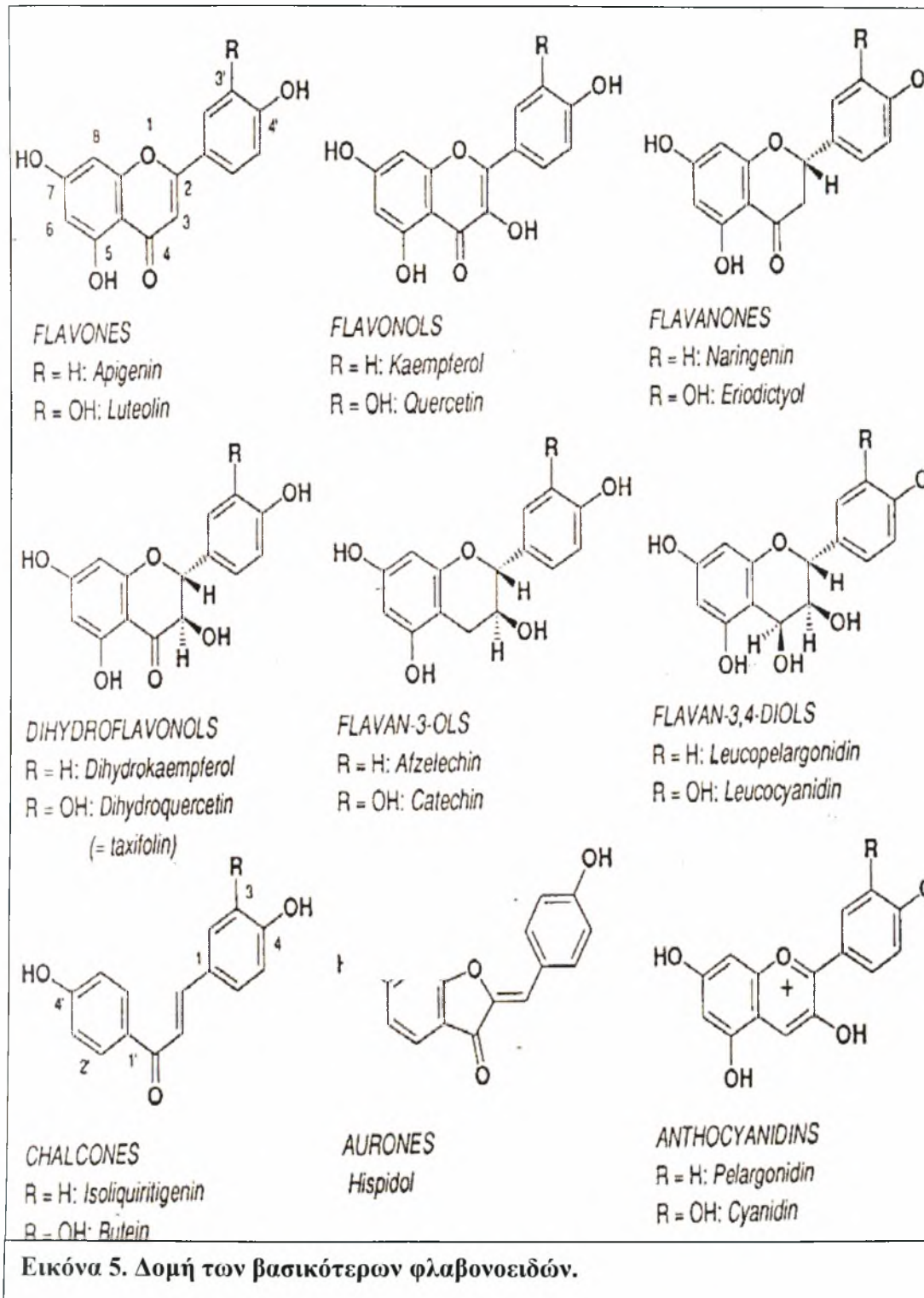
ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΓΝΩΣΤΩΝ ΜΕΛΩΝ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ
anthocyanin(s)	250	κόκκινες και μπλε χρωστικές ουσίες
chalcones	60	κίτρινες χρωστικές ουσίες
aurones	20	κίτρινες χρωστικές ουσίες
Flavones	350	κρεμ χρώματος χρωστικές ουσίες των λουλουδιών
flavonols	350	αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδης δράση
dihydrochalcones	10	πικρή γεύση
proanthocyanidins	50	στυπτικές ουσίες
catechins	40	έχουν ιδιότητες όπως οι ταννίνες
biflavonoids	65	δεν γνωρίζουμε ακριβώς την λειτουργία τους
isoflavonoids	15	επίδραση οιστρογόνων
<i>Πηγή: Nach J. B. Harborne, 1980</i>		
Πίνακας 2. Οι σημαντικότερες κατηγορίες φλαβονοειδών και η βιολογική σημασία τους.		

☞ Κατηγορίες φλαβονοειδών

Ανάλογα του βαθμού οξειδωσης του πυρανικού τους δακτυλίου διαιρούνται σε κατηγορίες:

1. Παράγωγα του 2-φαινυλοβενζοπυριλίου: ανθοκυάνες
2. Παράγωγα της 2-φαινυλοχρωμόνης: φλαβόνες, φλαβονόλες, και τα διμερή τους, φλαβανόνες, ισοφλαβόνες, ισοφλαβανόλες, ξανθόνες.
3. Παράγωγα της 2-φαινυλοχρωμανόνης: Φλαβάνες, φλαβαν-3-όλες, φλαβαν-3,4-διόλες, χαλκόνες, διϋδροχαλκόνες, κατεχίνες.
4. Παράγωγα της βενζυλιδενεκουμαρόνης: αουρόνες. (**Εικόνα 5**)

Τα παράγωγα των κατηγοριών 2 (φλαβονόλες και φλαβόνες) και 3 (κατεχίνες) αποτελούν δυο από τα βασικότερα συστατικά του πράσινου τσαγιού και παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον στη φυσιολογία των φυτών.

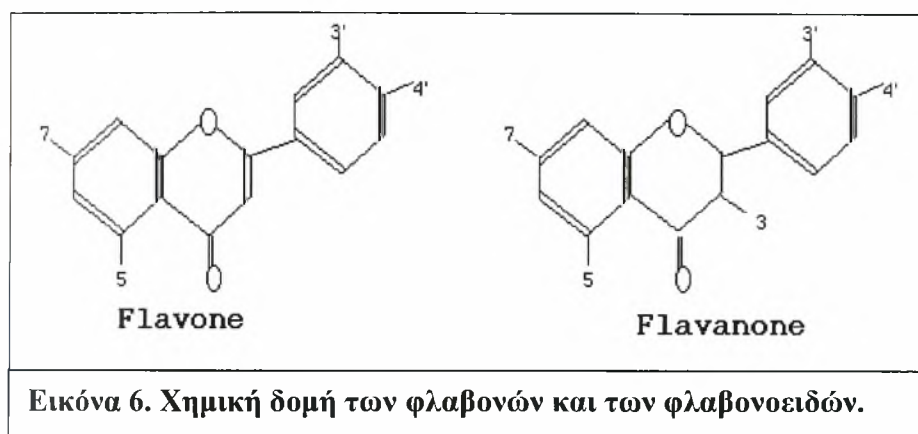


Εικόνα 5. Δομή των βασικότερων φλαβονοειδών.

1.3.1 Φλαβονόλες (Κερκετίνη, Καιμπφερόλη) και Φλαβόνες

☞ Τί είναι φλαβόνες;

Ο όρος "flavone" προέρχεται από το λατινικό flavus=κίτρινο. Απαντούν είτε ως άγλυκα είτε σε μορφή γλυκοσιδών. Δύο μεγάλες ομάδες των φλαβονοειδών που βρίσκονται στα άνθη είναι οι φλαβόνες και οι φλαβονόλες (Εικόνα 6). Αν μια υδροξυλική ομάδα εισέλθει στην 3-θέση της γέφυρας μιας φλαβόνης τότε προκύπτουν οι φλαβονόλες. Οι γλυκοζίτες των φλαβονολών δίδουν ένα λευκό ή ελαφρώς κίτρινο χρώμα στα άνθη. Η παρουσία τους δεν περιορίζεται μόνο στα άνθη αλλά και σε άλλα μέρη του φυτού. Η έντονη παρουσία των φλαβονολών υποδηλώνει ότι επιτελούν μια βασική λειτουργία. Πιστεύεται ότι μερικές φλαβονόλες παίζουν σημαντικό ρόλο στις φυσιολογικές λειτουργίες της ρύθμισης της δραστηριότητας των οξειδάσων του IAA (μερικές δρουν ως αναστολείς και άλλες ως ενεργοποιητές της οξειδάσης του IAA).



Μια άλλη βασική λειτουργία των φλαβονών και φλαβονολών είναι ότι απορροφούν φως σε μικρά μήκη κύματος που δεν είναι ορατά από ανθρώπινο μάτι. Ακόμη και οι άχρωμες φλαβόνες και φλαβονόλες έχουν την ιδιότητα αυτή με αποτέλεσμα να προσελκύουν τις μέλισσες και άλλα έντομα που έχουν τη δυνατότητα οράσεως σ' αυτά τα μήκη κύματος. Οι ερευνητές, με φωτογράφιση σε υπεριώδες φως έδειξαν ότι οι φλαβονόλες σ' ένα άνθος σχηματίζουν συμμετρικά σχήματα ακτινωτά ή κυκλικά, τα οποία ονόμασαν οδηγούς νέκταρους. Τα σχήματα αυτά είναι ορατά από τα έντομα και πιστεύεται ότι βοηθάνε στο να εντοπίζουν την τοποθεσία της γύρης και του νέκταρος. Οι φλαβονόλες προστατεύουν τα κύτταρα από υπερβολική υπεριώδη (UV) ακτινοβολία, επειδή απορροφούν έντονα την ακτινοβολία στην υπεριώδη περιοχή, ενώ επιτρέπουν το ορατό μήκος κύματος (φωτοσυνθετικά δραστικό) να περάσει ανεμπόδιστα.

Τα τελευταία χρόνια άρχισαν να διαπιστώνονται διάφορες νέες λειτουργίες των φλαβονοειδών. Για παράδειγμα, φλαβόνες και φλαβονόλες εκκρίνονται από τις ρίζες των ψυχανθών στη ριζόσφαιρα, οι οποίες ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων στα αζωτοδεσμευτικά βακτήρια των ριζικών τους φυματίων. Προσφάτως έχει αποδειχθεί ότι η φλαβονόλη κερκετίνη λειτουργεί ως ενδογενείς ρυθμιστές της πολικής μεταφοράς της αυξίνης, αποδεικνύοντας κατ' αυτό τον τρόπο ότι τα δευτερογενή προϊόντα παίζουν σημαντικούς φυσιολογικούς και οικολογικούς ρόλους.

↳ Χημική δομή τους

Οι φυσικές φλαβόνες είναι συνήθως ολιγοϋδροξυλιωμένα παράγωγα. Ο βαθμός υδροξυλίωσης κυμαίνεται από 0-7. Ο βαθμός υδροξυλίωσης μπορεί να έχει βιογενετική σημασία διότι σε χαμηλό βαθμό υδροξυλίωσης επικρατούν οι φλαβόνες (3-θέση ελεύθερη), ενώ οι πολυϋδροξυλιωμένες συνήθως είναι φλαβονόλες (με OH στη θέση C-3). Σπουδαιότερες είναι: κερκετίνη, καιμφερόλη, μυρικετίνη, ισοραμετίνη και οι γλυκοσίδες τους.

Η ύπαρξη ή όχι OH στη θέση C-3 έχει σημαντική βιοσυνθετική, φυσιολογική, φαρμακολογική και αναλυτική σημασία.

1.3.2. Κατεχίνες (Επιγαλλοκατεχίνη - EGCG)

↳ Τι είναι κατεχίνες;

Είναι βασικότερες πολυφαινόλες των πράσινων τσαγιών και αντιπροσωπεύουν το 30-42% των φαινολικών παραγώγων.

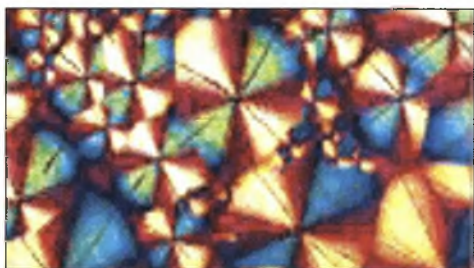
Η κατεχίνη (**Εικόνα 7**) απομονώθηκε αρχικά από το εκχυλισμάτων φυτών *catechu*, από το οποίο αντλεί το όνομά του. Η θέρμανση της κατεχίνης πάνω από το σημείο αποσύνθεσής της απελευθερώνει πυροκατεχόλη.

Οι κατεχίνες συντίθενται εντονότερα μετά από τραυματισμό του φυτικού ιστού, κατά συνέπεια την καταστροφή των κυττάρων. Λόγω αυτής της καταστροφής έρχονται σε επαφή οι πολυφαινολικές οξειδάσες με τα φαινολικά υποστρώματα όπως το γαλλικό οξύ, το χλωρογενικό οξύ, το καφεϊκό οξύ και τα φλαβονοειδή.

Οι χαρακτηριστικές ιδιότητες τους αποδίδονται στην ικανότητα τους να συνδέονται με τις πρωτεΐνες σχηματίζοντας αδιάλυτα σύμπλοκα και σ' αυτό ενδεχομένως να οφείλονται οι αντισηπτικές τους ιδιότητες. Πιστεύεται ότι οι φυτικές κατεχίνες ενώνονται με τις πρωτεΐνες στο έντερο των φυτοφάγων ζώων με υδρογονικούς δεσμούς, μεταξύ των υδροξυλικών ομάδων των φαινολών και των πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα να αδρανοποιούνται τα πεπτικά ένζυμα των φυτοφάγων και τα σχηματιζόμενα σύμπλοκα κατεχινών και φυτικών πρωτεϊνών που είναι δύσκολη η πέψη τους.

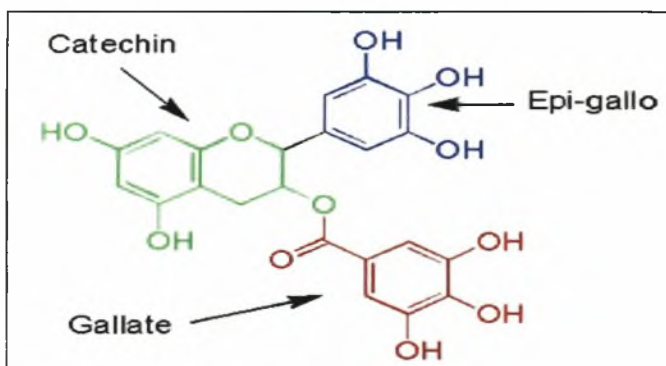
Οι κατεχίνες αποτελούν το 30 – 50% του βάρους των ξηρών φύλλων (*Balentine DA et. al. 1998*), αν και η συνολική περιεκτικότητα του ποικίλλει ευρέως ανάλογα με τον τόπο καλλιέργειας του φυτού, την εποχή και το ύψος. Είναι παρόντες σχεδόν σε όλοι τα είδη τσαγιού που προέρχονται από το φυτό *Camellia sinensis*, του άσπρου τσαγιού, πράσινο τσάι, μαύρο τσάι και τσάι Oolong. Περιέχονται επίσης στην σοκολάτα, τα φρούτα, τα λαχανικά και το (*Ruidavets JB et. al. 2000*) και βρίσκεται σε πολλά άλλα είδη φυτών.

Όσον αφορά τα παράγωγα των κατεχινών ισχύουν τα εξής: Η επιγαλλοκατεχίνη και η γαλλοκατεχίνη περιέχουν μια πρόσθετη φαινολική ομάδα υδροξυλίου συγκρινόμενα με την επικατεχίνη και κατεχίνη, αντίστοιχα. Οι gallates κατεχίνες είναι εστέρες γαλλικού οξέος των κατεχινών όπως το EGCG (**Εικόνα 8**), το οποίο είναι αφθονότερο στο πράσινο τσάι. Επίσης, είναι το κυρίως ενεργό και υδροδιαλυτό συστατικό του πράσινου τσαγιού και αποτελεί 9-13% του πράσινου



Εικόνα 7. Κατεχίνη.
Εικόνα της κατεχίνης από μικροσκόπιο.

τσαγιού σε καθαρό βάρος. Το EGCG μπορεί να αυξήσει τον βασικό μεταβολισμό και να ενισχύσει τα τριχοειδή αγγεία.



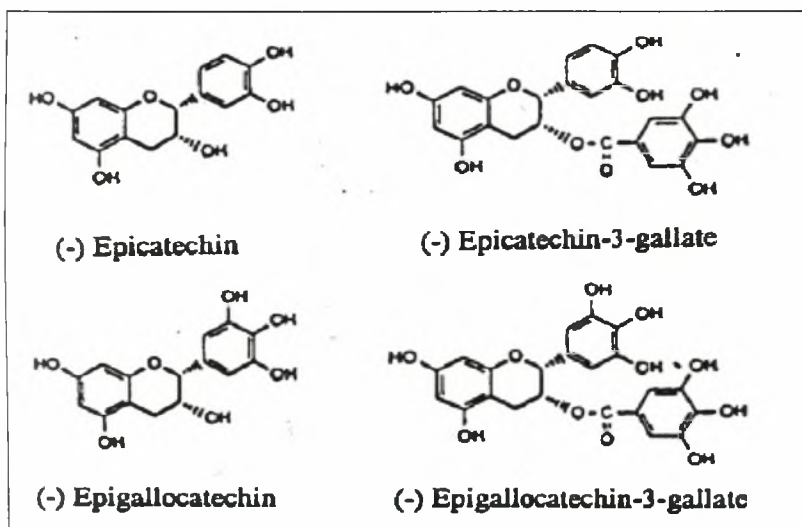
Εικόνα 8. Δομή της EGCG.

Διακρίνονται οι τρεις χημικές δομές των ενώσεων από τις οποίες αποτελείται (κατεχίνη, επί - γαλλο, gallate).

Στο πράσινο τσάι, βρίσκονται οι εξής κατεχίνες: η επικατεχίνη (EC), η επιγαλλοκατεχίνη (EGC), η επικατεχίνη gallate (ECG) και η επιγαλλοκατεχίνη gallate (EGCG) (Εικόνα 9, 10).

Catechins	R ₁	R ₂
(-)-Epicatechin (EC)	■	■
(-)-Epicatechin gallate (ECG)	■	-OC-C ₆ H ₂ (OH) ₃
(-)-Epigallocatechin (EGC)	OB	■
(-)-Epigallocatechin gallate (EGCG)	OB	-OC-C ₆ H ₂ (OH) ₃

Εικόνα 9. Οι σημαντικότερες κατεχίνες που περιέχει το πράσινο τσάι.



Εικόνα 10. Χημική δομή κάποιων βασικών κατεχινών του πράσινου τσαγιού.

☞ Δράση κατεχινών και κυρίως EGCG

Τα οφέλη υγείας κατεχινών έχουν μελετηθεί εκτενώς στους ανθρώπους και σε ζωικά πρότυπα. Ως αποτέλεσμα παρατηρήθηκε η μείωση μείωση της καρκινογένεσης φάνηκε *in vitro*.

Πολλές μελέτες για τα οφέλη υγείας έχουν συνδεθεί με τη περιεκτικότητα διαφόρων φυτών και τροφίμων σε κατεχίνη. Σύμφωνα με το Norman Hollenberg, καθηγητής της ιατρικής στο τμήμα Ιατρικής του Χάρβαρντ, η επικατεχίνη μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο από τα τρία από σημαντικότερα προβλήματα υγείας: καρδιαγγειακά, καρκίνο και διαβήτη. Πραγματοποίησε μελέτες σε ανθρώπους στον Παναμά, οι οποίοι έπιναν μέχρι 40 φλυτζάνια κακάου εβδομαδιαίως, και διαπίστωσε ότι η υπερίσχυση των τριών προβλημάτων ήταν λιγότερη από 10%. Γι' αυτό διατύπωσε την άποψη ότι η επικατεχίνη πρέπει να θεωρηθεί ουσιαστική στη διατροφή και να ταξινομηθεί έτσι ως βιταμίνη (*Science Daily March 12, 2007*) (*Balentine DA et. al. 1998*).

Οι κατεχίνες του πράσινου τσαγιού έχουν αποδειχθεί επίσης ότι έχουν αντιμικροβιακές ιδιότητες λόγω του ρόλου τους να αναστατώσουν ένα συγκεκριμένο στάδιο της βακτηριακής διαδικασίας αντενστάσεων DNA (*Helena Gradisar. et. al. 2007*).

Θεωρούνται χρήσιμες για τους καρκινοπαθείς που υποβάλλονται σε χημειοθεραπεία ή ακτινοβολίες. Μια μορφή κατεχίνης, η EGCG, που υπάρχει άφθονη στο πράσινο τσάι, έχει βρεθεί ότι μπορεί να αυξήσει την ταχύτητα του βασικού μεταβολισμού κατά 3-5%. Η συστηματική κατανάλωση τσαγιού έχει συσχετιστεί με ελαττωμένη συχνότητα εκδήλωσης καρδιαγγειακών παθήσεων και καρκίνου, μικρότερη φθορά των δοντιών, χαμηλότερο κίνδυνο οστεοπόρωσης, καλύτερη λειτουργία των νεφρών και απώλεια σωματικού βάρους (*Best Ben, 2002*).

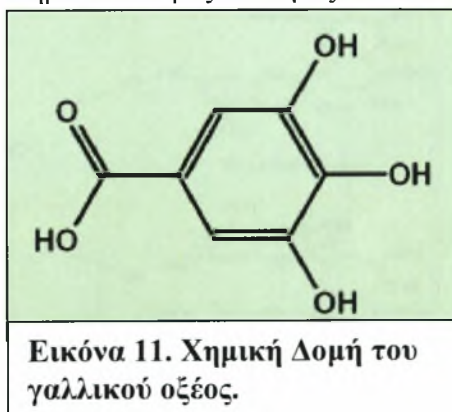
1.4. ΜΗ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΗ

Οργανικά οξέα: γαλλικό οξύ, κινινικό οξύ

Γενικά θα λέγαμε για τις ενώσεις αυτές, ότι είναι γνωστή η αντισηπτική, αντιβακτηριακή, συντηρητική δράση των πέρα από τις εξειδικευμένες που θα αναφέρουμε παρακάτω. Σ' αυτές οφείλουν οι διάφοροι καρποί τη διουρητική τους δράση. Στα αρωματικά οξέα και στα παράγωγά τους οφείλονται οι αντισηπτικές, αντιφλεγμονώδεις, αντιβηχικές, αντιπυρετικές ιδιότητες.

Ειδικότερα, από πλευράς φαρμακολογικής εξειδικευμένης δράσης τα φαινολικά οξέα και παράγωγά τους έχουν ένα ευρύ φάσμα ιδιοτήτων, και από αυτή τη σκοπιά θα αναφερθούν τα σπουδαιότερα και οι σημαντικότερες ιδιότητές των:

Γαλλικό οξύ: Το οξύ αυτό προέρχεται από το βενζοϊκό οξύ. Αυτό έχει αιμοστατικές, σηπτικές ιδιότητες Σύμφωνα με νεότερες έρευνες είναι ο «προστάτης» της βιταμίνης C. Επειδή έχει ισχυρές αντιοξειδωτικές ιδιότητες δρα σαν παγίδα ελεύθερων ριζών με αποτέλεσμα τα επίπεδα της βιταμίνης να διατηρούνται σταθερά στον οργανισμό. είναι ένα οργανικό οξύ, επίσης γνωστός ως οξύ 3,4,5-τριυδροξυβενζοϊκό. Ο χημικός τύπος είναι $C_6H_2(OH)_3CO_2H$ (**Εικόνα 11**). Το γαλλικό οξύ βρίσκεται και ελεύθερο και ως



τμήμα των τανινών. Χρησιμοποιείται συνήθως στη φαρμακευτική βιομηχανία. Το γαλλικό οξύ μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για να συνθέσει και παραισθησιογόνα.

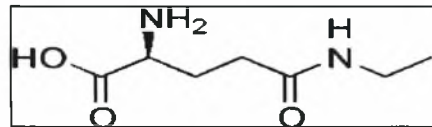
Κινινικό οξύ: Είναι ένα κρυστάλλινο οξύ που γίνεται συνθετικά από την υδρόλυση του χλωρογενούς οξέος. Εμπλέκεται επίσης στην αντιληπτή οξύτητα του καφέ. Έχει κα φαρμακευτικές χρήσεις.

Αμινοξέα: Θεανίνη

Η **θεανίνη** είναι ένα αμινοξύ (**Εικόνα 12**) βρίσκεται στο πράσινο τσάι (*Camellia sinensis*).

Συνδέεται με τη γλουταμίνη και μπορεί να διασχίσει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (*Yokogoshi H. et. al 1998*). Επειδή μπορεί να μπει στον εγκέφαλο έχει αποδειχθεί ότι μειώνει το ψυχικό στρες και μπορεί να παραγάγει τα συναισθήματα της χαλάρωσης (*Lu K. et. al. 2004*). Αυτά τα αποτελέσματα

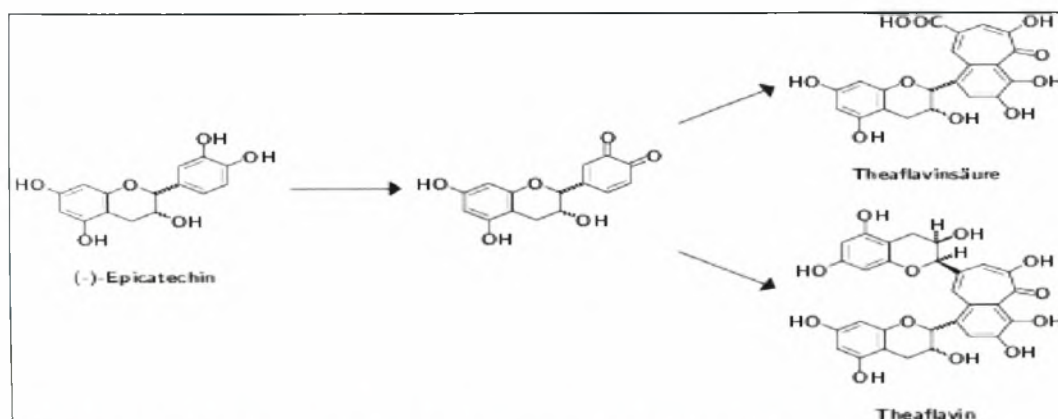
πιθανολογείτε ότι παράγονται με την αύξηση της παραγωγής του επιπέδου GABA. Αυξάνει τη σεροτονίνη, την ντοπαμίνη, τα επίπεδα GABA του εγκεφάλου και έχει τις μικρομοριακές συγγένειες για τους υποδοχείς AMPA και NMDA (*Nathan P. et. al. 2006*). Οι μελέτες δοκιμής σε αρουραίους έχουν δείξει ακόμη και επαναλαμβανόμενος, οι εξαιρετικά υψηλές δόσεις της θεανίνης προκαλούν ελάχιστα ψυχολογικό ή φυσικό αποτέλεσμα. Η L- θεανίνη μπορεί να βοηθήσει τα ανοσοποιητικά συστήματα του σώματος κατά την μόλυνση με την ώθηση της ικανότητας ασθένεια-πάλης των T κυττάρων. Η μελέτη, που δημοσιεύθηκε το 2003 από το νοσοκομείο Brigham and Women's, περιέλαβε μια δοκιμή τεσσάρων εβδομάδων με 11 πότες καφέ και 10 πότες τσαγιού, οι οποίοι κατανάλωσαν 600 mL του καφέ ή του μαύρου τσαγιού καθημερινά. Η ανάλυση δειγμάτων αίματος διαπίστωσε ότι η παραγωγή των αντιβακτηριακών πρωτεϊνών ήταν μέχρι πέντε φορές υψηλότερη στους τσάι-πότες, ένας δείκτης μιας ισχυρότερης άνοσης απάντησης (*Kamath A. Et. al. 2003*).



Εικόνα 12. Χημική δομή της θεανίνης.

Θεοφλαβίνες

Όταν τα φύλλα τσαγιού σπάζουν σκόπιμα ή κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας, η επαφή της πολυφαινόλης με την οξειδάση αναγκάζει τις κατεχίνες να ενωθούν μεταξύ τους και να σχηματίζουν διμερή και πολυμερή σώματα γνωστά ως θειοφλαβίνες και θειοουβικονόνες, αντίστοιχα. αυτή η διαδικασία οξειδωσης είναι γνωστή στη βιομηχανία τσαγιού ως "ζύμωση" (**Εικόνα 13**).



Εικόνα 13. Παραγωγή των θεοφλαβινών από την επικατεχίνη.

Μεθυλοξανθίνες

Η ξανθίνη είναι μια βάση πουρίνης και βρίσκεται στους περισσότερους ιστούς και σε άλλους οργανισμούς.

Είναι ένα προϊόν στο μονοπάτι της αποικοδόμησης των πουρινών και δημιουργείται από τη γουανίνη από διαμίνωση γουανίνης ή από την υποξανθίνη από την οξειδωαναγωγή της ξανθίνης. Η ξανθίνη μετατρέπεται στη συνέχεια του ουρικού οξέος από τη δράση της οξειδάσης της ξανθίνης .

Τα παράγωγα της είναι ομάδα αλκαλοειδών συνήθως χρησιμοποιημένος για τα αποτελέσματά τους ως ήπιοι τονωτικά και ως βρογχοδιαστολείς, ειδικότερα στη μεταχείριση των συμπτωμάτων του άσθματος.

Μεθυλιωμένα παράγωγα της περιλαμβάνουν την καφεΐνη και τη θεοφυλλίνη. Αυτά τα φάρμακα είναι αναστολείς φωσφοδιεστεράση και αγωνιστές υποδοχέων αδενοσίνης. Βρίσκονται επίσης πολύ σπάνια ως συστατικά των νουκλεϊνικών οξέων

Καφεΐνη

Η καφεΐνη (**Εικόνα 14**) βρίσκεται σε ποικίλα φυτά και ενεργεί ως φυσικό φυτοφάρμακο και οδηγεί στην παράλυση και θάνατο ορισμένοι εντομών που τρέφονται από αυτά. Συνηθέστερα καταναλώνεται από τους ανθρώπους που εξάγονται από τα φύλλα του θάμνου τσαγιού (*Camellia sinensis*) και του καφέ.

Στους ανθρώπους, η καφεΐνη είναι ένα τονωτικό για κεντρικό νευρικό σύστημα, επιδρά προσωρινά και σταματάει την υπνηλία και αποκαθιστά την επαγρύπνηση. Η οποία έχει ισχυρή τονωτική δράση, μέσω της βελτίωσης της κυκλοφορίας του αίματος.

Στον καφέ η καφεΐνη απελευθερώνεται απότομα στον οργανισμό και δρα για περίπου 2-3 ώρες, ενώ στο τσάι απελευθερώνεται σταδιακά και δρα για πολύ περισσότερο.



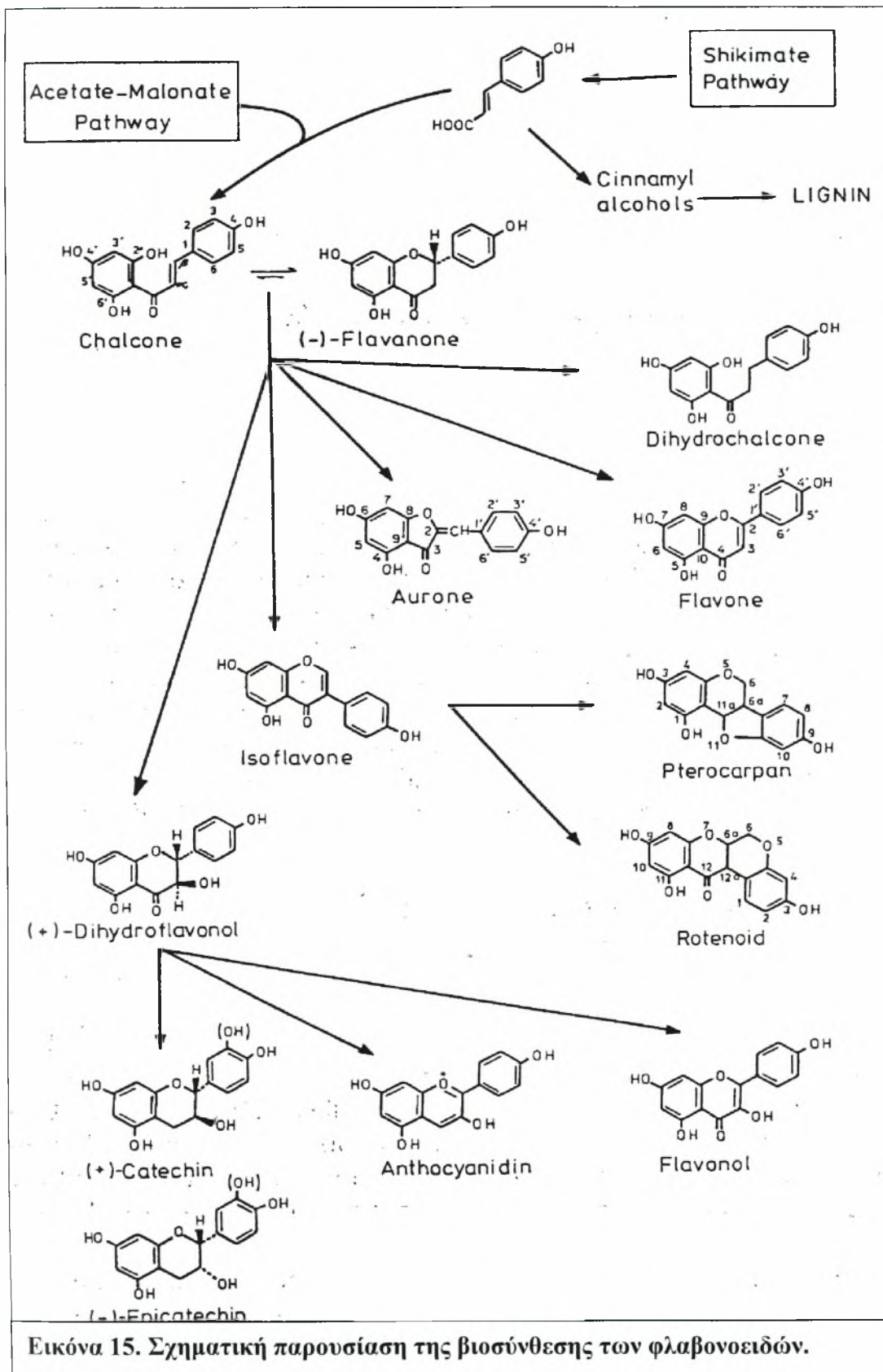
1.5. ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ

Τα δευτερογενή αυτά προϊόντα δεν αποτελούν βασικά μοριακά δομικά συστατικά του φυτικού κυττάρου, αλλά σχηματίζονται μόνο σε συγκεκριμένους ιστούς ή όργανα και σε κατάλληλα στάδια της ανάπτυξης. Τα φλαβονοειδή ως δευτερογενείς μεταβολίτες είναι ουσίες που βιοσυντίθενται κατά τις μεταβολικές διαδικασίες των υδατανθράκων, των λιπών και των αμινοξέων, χρησιμοποιώντας κάποια από τα ενδιάμεσα προϊόντα ως βασικές ουσίες για τη δημιουργία των προϊόντων αυτών (*Καράταγλης, 1994*).

Όλα τα φλαβονοειδή έχουν κοινό βιοσυνθετικό δρόμο και ως εκ τούτου έχουν τον ίδιο βασικό σκελετό. Τα φλαβονοειδή (C6-C3-C6) είναι φαινολικές ενώσεις παραγόμενες από τη φαινυλαλανίνη και μοιράζονται ένα κοινό μεταβολικό μονοπάτι με τις λιγνίνες και τα λιγνάνια. Το πρώτο στάδιο για την βιοσύνθεσή τους προϋποθέτει το σχηματισμό της φαινυλαλανίνης από το φαινυλοπυροσταφιλικό (*G.Soleas et al.1997*) και την μετατροπή της σε κινναμικό οξύ μέσω του μονοπατιού του σικιμικού οξέως.

Η συσσωμάτωση των δύο δρόμων του άλατος του σικιμικού και μαλονικού οξέος δίνει το πρώτο φλαβονοειδές, τη χαλκόνη από το ένζυμο συνθάσης της χαλκόνης. Το ένζυμο συνθάσης της χαλκόνης καταλύει μια σειρά ενζυμικών βημάτων για να παράγει ποικίλια μορίων που ενεργούν ως χρωστικές ουσίες, αμυντικές χημικές ουσίες (φυτοαλεξίνες) και ρυθμιστικά μόρια. Κάτω από αυτή με

την επίδραση διαφόρων ενζυμικών συστημάτων προέκυψαν οι άλλοι τύποι των φλαβονοειδών, συμπεριλαμβανομένων των φλαβονολών, και ένας πλήθος άλλων πολυφαινολικών (Εικόνα 15).



Εικόνα 15. Σχηματική παρουσίαση της βιοσύνθεσης των φλαβονοειδών.

1.6. ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΦΛΑΒΟΝΟΕΙΔΩΝ

Τα φλαβονοειδή παρουσιάζουν πληθώρα βιολογικών ιδιοτήτων. Κάποιες από αυτές είναι αντιφλεγμονώδης, αντιβακτηριακή, αντιαλλεργική, αντική ιδιότητες και δρουν κατά της οστεοπόρωσης (*R.J.Nijveldt et al. 2001*). Η αντιφλεγμονώδη δράση, η οποία πιθανώς να οφείλεται στην αναστολή μερικών ενζυμικών συστημάτων τα οποία εμπλέκονται κατά το σχηματισμό και εξέλιξη της φλεγμονής.

Πράγματι σε ένα πλήθος από επιδημιολογικές μελέτες, και πειραμάτων τόσο *in vivo*, όσο και *in vitro*, γίνεται φανερό ότι οι πολυφαινόλες μπορούν να αποτελέσουν σημαντικούς αντικαρκινικούς, χημειοπροστατευτικούς παράγοντες (*W.Ren et al. 2003*).

Τα φλαβονοειδή περιέχουν ουσίες με αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση και είναι υψίστης σημασίας για την ανθρώπινη υγεία λόγω των συστατικών που περιέχουν με αποτέλεσμα την πρόληψη και θεραπεία ασθενειών. Σε πειράματα κυτταροκαλλιέργειας αποδείχθηκε ότι επάγουν τα ένζυμα φάσης 2, συμβάλουν στην μείωση των μεταλλάξεων του κύτταρου μειώνοντας την πιθανότητα για καρκίνο, εμποδίζουν την απόπτωση και τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων. Μπορούν να προλάβουν τις καρδιαγγειακές παθήσεις και τις νευροεκφυλιστικές ασθένειες (*Ben Best, 2002*).

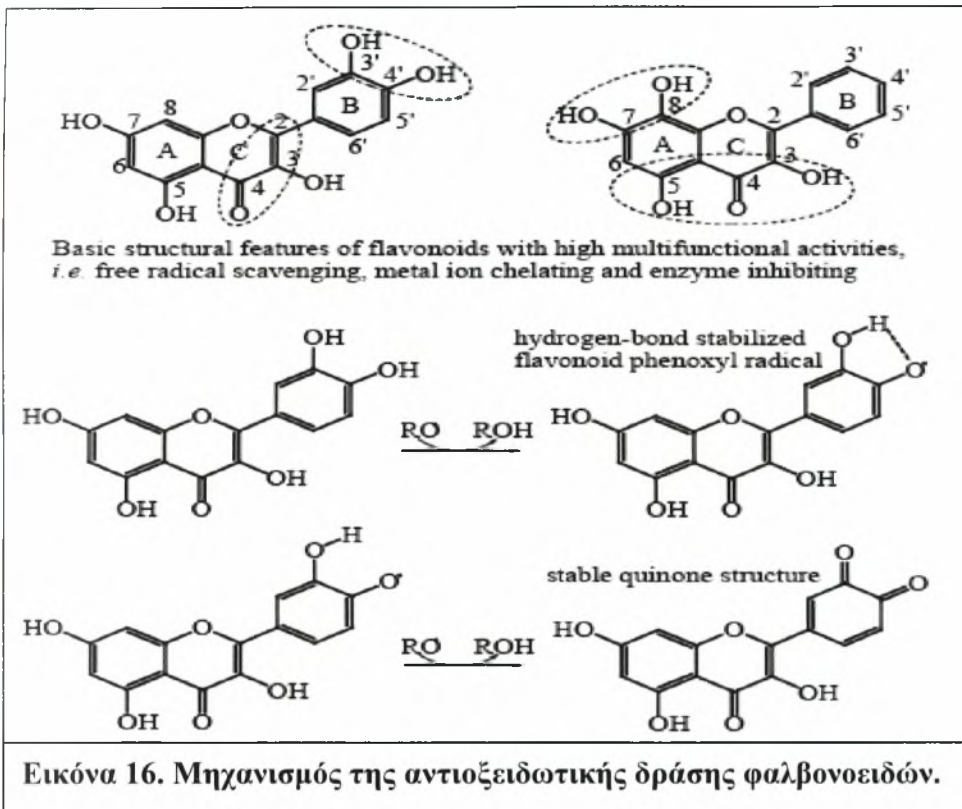
Αντιοξειδωτική Δράση

▪ Φλαβόνες και Φλαβονόλες

Στον ανθρώπινο οργανισμό παρουσιάζουν σημαντική αντιοξειδωτική δράση (**Εικόνα 16**). Έτσι, παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της δραστηριότητας των οξειδασών, ενώ προστατεύουν το DNA των κυττάρων από την υπερβολική υπερϊώδη ακτινοβολία και τα μάτια από το φως μικρών κυμάτων, που συνήθως δεν είναι ορατό, αλλά είναι πολύ βλαβερό. Ενισχύουν επίσης τα τοιχώματα των αγγείων, καταπολεμούν τις φλεγμονές, ελαττώνουν τον κίνδυνο θρομβώσεων και βοηθούν στην εξουδετέρωση ιών και καρκινογόνων ουσιών.

▪ Κατεχίνη

Η κατεχίνη είναι αντιοξειδωτικό και έχει αντικαρκινικές ιδιότητες προστατεύοντας το γενετικό υλικό των κυττάρων (DNA) και επομένως είναι χρήσιμο για τους ασθενείς που υποβάλλονται σε χημειοθεραπεία ή σε θεραπεία με ακτινοβολίες. Ενδέχεται η κατεχίνες του τσαγιού είτε να προκαλούν το θάνατο στα καρκινικά κύτταρα χωρίς να καταστρέφουν τους υγιείς ιστούς, μέσω του μηχανισμού της απόπτωσης (προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος), είτε να εμποδίζουν την εξέλιξη του όγκου αναστέλλοντας κάποια ένζυμα "κλειδιά" γι αυτή την εξέλιξη, είτε να αναστέλλουν ορισμένες πρωτεΐνες, σχετιζόμενες με τον καρκίνο, οι οποίες ρυθμίζουν την αντιγραφή και μεταγραφή του DNA, είτε να παγιδεύουν ενεργοποιημένους μεταβολίτες καρκινογόνων ουσιών, είτε να αποτρέπουν τον σχηματισμό καρκινικών όγκων μέσω καταστολής εξωτερικών καρκινικών σημάτων.



▪ **Επιγαλλοκατεχίνη**

Η κατανάλωση του τσαγιού έχει συνδεθεί με πρόληψη ορισμένων ασθενειών όπως καρδιαγγειακές παθήσεις, ενδοθηλιακή λειτουργία, μείωση του καρκίνου του κόλου, του στομάχου, της ωοθήκης, του προστάτη και της στοματικής κοιλότητας, καθώς επίσης, την οστεοπόρωση, μείωση της οδοντικής πλάκας, πέτρες των νεφρών και απώλεια βάρους (*Best Ben, 2002*).

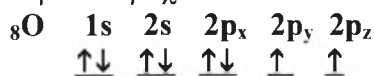
Το πιο ισχυρό αντιοξειδωτικά των πολυφαινόλων του πράσινου τσαγιού, συνδέεται με τις αντιοξειδωτικές, κατά του όγκου και αντικαρκινικές δραστηριότητες. Η αντιοξειδωτική δραστηριότητα είναι 100 φορές περισσότερο αποτελεσματική από τη βιταμίνη C και 25 φορές αποτελεσματικότερη από τη βιταμίνη E στην προστασία των κυττάρων και από τη βλάβη του DNA. Αυτά συνδέονται με τον καρκίνο, τις καρδιακές παθήσεις και άλλες ενδεχομένως μοιραίες ασθένειες.

1.7. ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ

ΟΞΥΓΟΝΟ

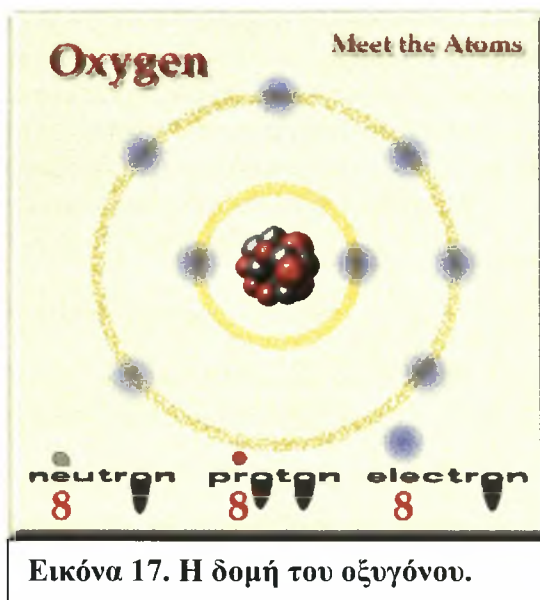
Τι είναι;

Το οξυγόνο είναι ένα χημικό στοιχείο με χημικό σύμβολο O και ατομικό αριθμό 8. Είναι αέριο και άχρωμο. Η κατανομή των ηλεκτρονίων σε στιβάδες στο άτομο του ή αναλυτικότερα σε τροχιακά είναι:



Δηλαδή στον περιοδικό πίνακα, ανήκει στην 2^η περίοδο, επειδή είχε τα ηλεκτρόνια του δομημένα σε δυο στιβάδες. Επίσης ανήκει στην VIIA ομάδα επειδή έχει 6 ηλεκτρόνια στην εξωτερική του στιβάδα (**Εικόνα 17**).

Το οξυγόνο σχηματίζει έναν μεγάλο αριθμό ενώσεων στις οποίες μοιράζεται τα ηλεκτρόνια (δηλ. το οξυγόνο σχηματίζει εύκολα ομοιοπολικούς δεσμούς). Το οξυγόνο έχει υψηλή συγγένεια για τα ηλεκτρόνια είναι δηλαδή ηλεκτροαρνητικό. Οι ομοιοπολικοί δεσμοί που σχηματίζονται από το οξυγόνο είναι πολικοί. Το νερό είναι ένα καλό παράδειγμα ενός μορίου με πολικούς ομοιοπολικούς δεσμούς. Άλλα γνωστά παραδείγματα περιλαμβάνουν το γυαλί, το διοξείδιο του άνθρακα (CO₂), οι αλκοόλες (R-OH), τα καρβονύλια (R-OOH ή R-OO-R), και τα καρβοξυλικοί οξέα (R-R-OOH). Οξυγονωμένες ρίζες όπως τα χλωρικά άλατα (ClO₃), χρωμικά άλατα, υπερμαγγανικά κάλια και νιτρικά άλατα .



Εικόνα 17. Η δομή του οξυγόνου.

Στην ατμόσφαιρα, το καθαρό οξυγόνο αποτελείται σχεδόν εξ ολοκλήρου από τα μόρια στα οποία τα δύο άτομα του οξυγόνου διατηρούνται σε συνοχή από έναν διπλό ομοιοπολικό δεσμό. Στα υψηλότερα επίπεδα της ατμόσφαιρα, τα μόρια οξυγόνου αποτελούνται από τρία άτομα σχηματίζοντας το αποκαλούμενο όζον. Αυτή η μοριακή ρύθμιση προστατεύει τους ζωντανούς οργανισμούς στον πλανήτη από τα επιβλαβή αποτελέσματα της υπεριώδους ακτινοβολίας του ήλιου. Στις πολύ χαμηλές θερμοκρασίες (περίπου -183 βαθμοί σε εκατοντάβαθμο), το οξυγόνο γίνεται ένα χλωμό μπλε υγρό και γίνεται ακόμη και στερεό (περίπου στους -218 βαθμοί σε εκατοντάβαθμο).

Είναι το πιο σημαντικό στοιχείο στην φύση και βρίσκεται σε μεγαλύτερο ποσοστό από τ' άλλα αέρια.

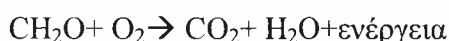
Ιστορία – Ανακάλυψη

Πρώτος, ο Σουηδός φαρμακοποιός *Carl Wilhelm Scheele* το 1772 ανακάλυψε το οξυγόνο, όταν θέρμαινε νιτρικό άλας καλίου. Όμως, δύο έτη αργότερα ο Άγγλος φαρμακοποιός *Joseph Priestley* ανακάλυψε πάλι το οξυγόνο όταν θέρμαινε το οξείδιο υδραργύρου II. Ο *Priestley* δημοσίευσε τα συμπεράσματά του το 1774. Το 1777 ο *Antoine Lavoisier* αναγνώρισε αρχικά ότι το αέριο ήταν ένα καθαρό στοιχείο και εξήγησε τη καύση ως χημική αντίδραση μεταξύ του οξυγόνου και του υλικού που καίγεται. Ο ίδιος το βάφτισε «οξυγόνο» από τις ελληνικές ρίζες, οξύς (*oxys*) και -γενής (*-genēs*), βασισμένος στη λανθασμένη σκέψη (της εποχής εκείνης) ότι όλα τα οξέα υποχρεωτικά περιέχουν οξυγόνο..

Εμφάνιση στην ατμόσφαιρα

Το οξυγόνο ήταν σχεδόν ανύπαρκτο στη γήινη ατμόσφαιρα πριν από την εξέλιξη της οξειδωσης ύδατος στα φωτοσυνθετικά βακτηρίδια. Το ελεύθερο οξυγόνο εμφανίστηκε αρχικά σε σημαντικές ποσότητες πριν 2,5 δισεκατομμύριο, όταν θαλάσσιοι μονοκύτταροι οργανισμοί χρησιμοποιούν τη φωτοσύνθεση για την παραγωγή της τροφής τους. Συγκεκριμένα, παγίδευαν την ηλιακή ενέργεια και την χρησιμοποιούσαν για τη μετατροπή του H₂O και του CO₂ σε υδατάνθρακες με ταυτόχρονη απελευθέρωση O₂ στην ατμόσφαιρα.

Με την πάροδο του χρόνου τα φωτοσυνθετικά βακτήρια πλήθαιναν με άμεση συνέπεια την αύξηση του οξυγόνου στην ατμόσφαιρα. Πρώτα, το παραχθέν οξυγόνο διέλυσε στους ωκεανούς και αντέδρασε με το σίδηρο, δημιουργώντας τους ενωμένους σχηματισμούς σιδήρου. Στην συνέχεια, εμφανίστηκαν και οι πρώτοι οργανισμοί οι οποίοι ήταν ανεκτικοί στην υψηλή περιεκτικότητα της ατμόσφαιρας σε οξυγόνο και χρησιμοποιούσαν αυτό το στοιχείο στη διαδικασία μετατροπής της τροφής σε ενέργεια (ATP). Συνοπτικά, συνέβαινε η εξής αντίδραση:



Η ανάπτυξη μιας ατμόσφαιρας πλούσιας σε οξυγόνο ήταν ένα από τα σημαντικότερα γεγονότα στην ιστορία της εξέλιξης της ζωής στη γη.

Ρόλος

Το οξυγόνο παράγεται κατά τη διάρκεια της φωτοσύνθεσης και είναι αναγκαίο και απαραίτητο για την αερόβια αναπνοή στα ζώα και τον άνθρωπο. Είναι συστατικό του νερού και όλων των μακρομορίων. Όμως, γίνεται τοξικό για τους αναερόβιους οργανισμούς και είναι ένα δηλητηριώδες προϊόν αποβλήτων για πολλούς μικροοργανισμούς ζωή στη γη. Επίσης, το όζον O_3 συγκεντρώνεται στα ανώτερα στρώματα της ατμόσφαιρας και των δρα ως ασπίδα ενάντια στην UV ακτινοβολία του ηλίου.

Φωτοσύνθεση

Με τον όρο *φωτοσύνθεση* χαρακτηρίζεται η μεταβολή της ακτινοβόλου ενέργεια σε ελεύθερη χημική. Η διαδικασία συνδέεται με την σύνθεση οργανικών μορίων πλούσιων σε υδρογόνο (υδατάνθρακες) από ανόργανα μόρια. Ανεπιφύλακτα θεωρείται το σημαντικότερο βιολογικό φαινόμενο στην φύση. Προμηθεύει τους ζωντανούς οργανισμούς με ανθρακικό σκελετό για τα οργανικά μόρια, με ελεύθερη ενέργεια και οξυγόνο που χρησιμοποιείται για την οξειδωση του υδρογόνου κατά την αναπνοή του κυττάρου. Συμπερασματικά, όλα τα οργανικά μόρια που υπάρχουν στην φύση και το μοριακό οξυγόνο οφείλονται σ' αυτή τη διεργασία των φυτών.

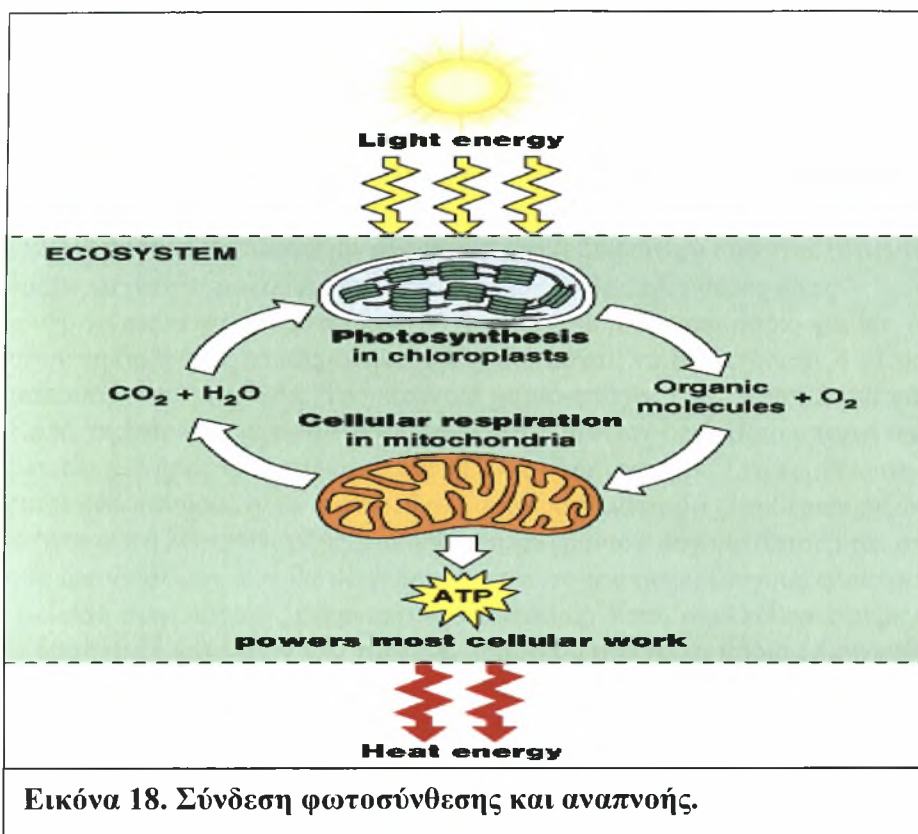
Ουσιαστικά, η ζωή πάνω στην γη εξαρτάται από την ενέργεια που προέρχεται από τον ήλιο. Η φωτοσύνθεση είναι η μοναδική διεργασία βιολογικής σημασίας που μπορεί να αντλήσει αυτήν την ενέργεια. Επιπρόσθετα, ένα μεγάλο τμήμα των πηγών ενέργειας πάνω στον πλανήτη μας προκύπτει από την φωτοσυνθετική δραστηριότητα είτε σε πρόσφατους (βιομάζα) ή σε παλιούς χρόνους (απολιθωμένη καύσιμη ύλη)

Συνοπτικά, κατά τη φωτοσύνθεση συμβαίνει η εξής αντίδραση:



Αναπνοή και χρήση στα βιομόρια

Η αναπνοή μαζί με τη φωτοσύνθεση δημιουργεί έναν κύκλο όπου το οξυγόνο που παράγεται κατά τη φωτοσύνθεση χρησιμοποιείται από άλλους οργανισμούς για την παραγωγή ενέργειας. Το τελικό προϊόν της αναπνοής είναι CO_2 το οποίο χρησιμοποιείται από τα φυτά κλείνοντας έτσι ο κύκλος (**Εικόνα 18**).



Εικόνα 18. Σύνδεση φωτοσύνθεσης και αναπνοής.

Τα τμήματα DNA αποτελούνται από το οξυγόνο και το στοιχείο βρίσκεται σχεδόν σε όλα τα μόρια που είναι σημαντικά στη ζωή. Το μοριακό οξυγόνο, O₂, είναι ουσιαστικό για την κυτταρική αναπνοή σε όλους τους αερόβιους οργανισμούς. Σχεδόν όλα τα ζώα χρησιμοποιούν την αιμοσφαιρίνη στο αίμα για να μεταφέρουν το οξυγόνο από τους πνεύμονες στους ιστούς τους. Επίσης ο οργανισμός χρησιμοποιεί το οξυγόνο σε πολλές οξειδωτικές αντιδράσεις στο σώμα. Το οξυγόνο χρησιμοποιείται ακόμη ως αποδέκτης ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια για να παραγάγει τη χημική ενέργεια υπό μορφή τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) κατά τη διάρκεια της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Κατά μέσον όρο, ένα άτομο οξυγόνου χρησιμοποιείται στην αναπνοή μία φορά κάθε 3.000 έτη.

Η συνοπτική εξίσωση των αντιδράσεων που συμβαίνουν στον οργανισμό κατά την αναπνοή είναι η παρακάτω. Να σημειωθεί ότι μεταξύ αυτών υπάρχουν τρία στάδια αντιδράσεων. Το πρώτο στάδιο είναι η γλυκόλυση, το δεύτερο στάδιο είναι ο κύκλος Krebs και το τρίτο είναι η φωσφορυλίωση.



ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ

Ορισμός

Ελεύθερη ρίζα ονομάζουμε κάθε χημικό στοιχείο (άτομο ή μια ομάδα ατόμων) με ένα ή περισσότερα αζευγάρωτα (ή μονήρη) ηλεκτρόνια στην εξωτερική τους στοιβάδα (Ternay A.L. and Sorokin V. 1997, Halliwell B. and Gutteridge J.M.C. 1999). Αυτό σημαίνει ότι έχουν περιττό αριθμό ηλεκτρονίων σθένους. Η οντότητα

αυτή μπορεί να είναι είτε φορτισμένη είτε ουδέτερη. Στην περίπτωση φορτισμένης ελεύθερης ρίζας μπορεί να είναι είτε θετικά είτε να είναι αρνητικά φορτισμένη, η οποία ονομάζεται κατιονική ή ανιονική ρίζα αντίστοιχα.

Οι ελεύθερες ρίζες είναι ιδιαίτερα δραστικά και ασταθή μόρια λόγω της ύπαρξης των μονήρων ηλεκτρονίων. Τυπικά, τα σταθερά μόρια περιέχουν ζεύγη ηλεκτρονίων. Αυτό σημαίνει ότι οι έχουν μια τάση προς δημιουργία σταθερών μορίων. Ως εκ τούτου (ανάλογα με την αναγωγική/οξειδωτική ιδιότητα τους) τείνουν να αντιδρούν ταχύτητα με άλλα γειτονικά μόρια ή άλλες ελεύθερες ρίζες προκειμένου να αποσπάσουν ένα ηλεκτρόνιο από ένα γειτονικό μόριο για να αποκτήσουν τη δική τους σταθερότητα. Με άλλα λόγια, να αποκτήσουν 4 ηλεκτρόνια στην εξωτερική τους στοιβάδα. Το γειτονικό μόριο-στόχος όμως γίνεται μια νέα ρίζα.

Κατά τη διάρκεια οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων ένα μόριο μπορεί να δώσει ή να λάβει ένα μονήρες ηλεκτρόνιο ή ένα ζεύγος ηλεκτρονίων. Στη περίπτωση που μεταφέρεται ένα μονήρες ηλεκτρόνιο, έχουμε τον σχηματισμό ελευθέρων ριζών. Η δραστικότητα αυτή λόγω ύπαρξης μονήρους ηλεκτρονίου αντικατοπτρίζεται στην αναζήτηση αντιδράσεων που θα οδηγήσουν στον σχηματισμό ζεύγους ηλεκτρονίων και άρα μείωση στις αρχικής ενεργειακής αστάθειας. Έτσι, οι ελεύθερες ρίζες είναι ιδιαίτερα δραστικές και έχουν την τάση να προσβάλλουν άλλα μόρια (Acworth I.N., McCabe D.R. and Maher T, 1997).

Ιστορία – Ανακάλυψη

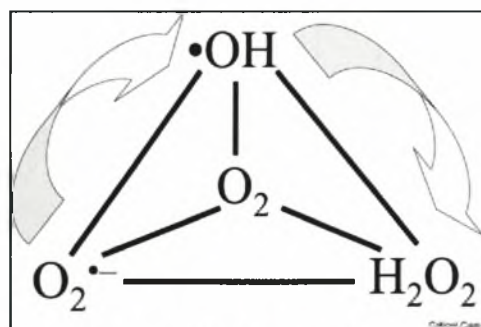
Πρώτος ο Denham Harman, γνωστός ευρέως ως "πατέρα της θεωρίας των ελευθέρων ριζών της γήρανσης", το 1956 πρότεινε την ιδέα για την ύπαρξη της «ελεύθερης ρίζας» και αργότερα έθεσε ως αξίωμα ότι αυτά τα συστατικά έχουν ρόλο στη γήρανση μέσω της πρόκλησης διασταυρωμένων αντιδράσεων και της δημιουργίας ομοιοπολικών δεσμών τροποποιώντας λιπίδια, πρωτεΐνες, κυτταρικό DNA, ιδιαίτερα το μιτοχondριακό DNA. Το 1995 ορίστηκε για το βραβείο Νόμπελ στην Ιατρική.

Κατηγορίες

Η πιο απλή ελεύθερη ρίζα είναι το άτομο του υδρογόνου που αποτελείται από ένα πρωτόνιο και ένα ηλεκτρόνιο. Οι ελεύθερες ρίζες ταξινομούνται με βάση το στοιχείο που φέρει το μονήρες ηλεκτρόνιο στην εξωτερική του τροχιά. Για παράδειγμα ως ελεύθερη ρίζα οξυγόνου χαρακτηρίζεται κάθε ελεύθερη ρίζα της οποίας η εξωτερική στιβάδα ανήκει στο οξυγόνο (Εικόνα 19). Οι βιολογικές ρίζες περιλαμβάνουν το οξυγόνο, το άζωτο (π.χ. το μονοξειδίου του αζώτου (NO^{\bullet})), τον άνθρακα και το χλώριο.

Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου είναι τα φυσιολογικά προϊόντα του μεταβολισμού του οξυγόνου και είναι απαραίτητες για την άμυνα του οργανισμού. Είναι άτομα ή μόρια που έχουν χάσει ένα ηλεκτρόνιο και γι' αυτό το λόγο γίνονται εξαιρετικά δραστικά επειδή έχουν την τάση να δεσμεύσουν άλλα άτομα ή μόρια (πρωτεΐνες, λιπίδια κλπ).



Εικόνα 19. Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και ROS.

Δραστικά Στοιχεία Οξυγόνου (ROS)

In vino, έχουμε συνεχώς παραγωγή ελευθέρων ριζών όπως επίσης έχουμε τη παραγωγή άλλων δραστικών ενώσεων που περιέχουν οξυγόνο (Halliwell B. and Gutteridge J.M.C. 1999, Acworth I.N., McCabe D.R. and Maher T. 1997, Halliwell B. and Chirico S. 1993). Οι ενώσεις αυτές ονομάζονται «δραστικά στοιχεία οξυγόνου» ή ROS (Reactive Oxygen Species). Με τον όρο ROS δεν αναφερόμαστε μόνο στις ελεύθερες ρίζες που περιέχουν οξυγόνο, όπως η ρίζα του σουπεροξειδίου ($O_2^{\bullet-}$), αλλά και μη ριζικά παράγωγα του οξυγόνου που δεν αποτελούν ελεύθερες ρίζες, αλλά είναι ιδιαίτερα δραστικές, όπως για παράδειγμα το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), το οξυγόνο απλής κατάστασης (singlet oxygen 1O_2), το όζον (O_3) και το υποχλωριώδες οξύ (HClO) (Πίνακα 3, Εικόνα 20) καθώς και οι δραστικές μορφές αζώτου όπως το NO^{\bullet} και το NO_2^{\bullet} (B. Halliwell 2001, Y-Z.Fang et al. 2002).

ΔΡΑΣΤΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΟΞΥΓΟΝΟΥ

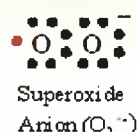
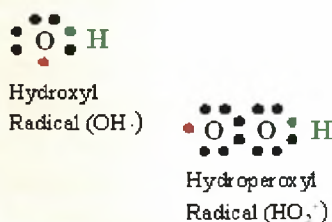
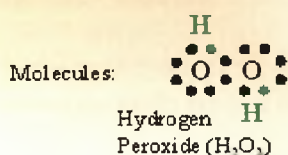
Ρίζες	Μη ρίζες
Σουπεροξειδίου ($O_2^{\bullet-}$) Ρίζα υδροξυλίου (OH^{\bullet}) Ρίζα αλκοξυλίου (RO^{\bullet}) Ρίζα υδροπεροξυλίου (HO_2^{\bullet})	Υπεροξείδιο υδρογόνου (H_2O_2) Υποχλωριώδες οξύ (HOCl) Υποβρωμιώδες οξύ (HOBr) Όζον (O_3) Singlet oxygen ($^1\Delta_g$)

Πίνακας 3. Διάφορα δραστικά στοιχεία οξυγόνου (ROS).

Reactive Oxygen Species (ROS)

ROS contain non-radicals

...and radicals



Εικόνα 20. Δραστικών Στοιχείων Οξυγόνου (ROS).

Απεικόνιση των δραστικών στοιχείων οξυγόνου (ROS), όπου παρουσιάζεται η κατανομή των ηλεκτρονίων στην εξωτερική τους στιβάδα.

Κατηγορίες αντιδράσεως ριζών

Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να πάρουν μέρος σε δύο είδη αντιδράσεων.

1. Αντιδράσεις ρίζα-ρίζα

Σ' αυτές αντιδρούν και συνδέονται μεταξύ τους με αποτέλεσμα την παραγωγή μη-ρίζας. Το προϊόν αυτό είναι συνήθως λιγότερο δραστικό από τα αντιδρώντα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα τέτοιων αντιδράσεων είναι αντίδραση ανάμεσα σε δύο άτομα υδρογόνου που οδηγούν στον σχηματισμό του διατομικού υδρογόνου:



Ωστόσο αυτό δεν συμβαίνει πάντα, γιατί μπορεί η ένωση που παράγεται να είναι πιο δραστική. Με χαρακτηριστικό παράδειγμα την αντίδραση της ρίζας του σουπεροξειδίου $O_2^{\cdot-}$ με την ρίζα του μονοξειδίου του αζώτου $NO\cdot$, που οδηγούν στον σχηματισμό του περοξυνιτρίτη $ONOO^-$ ο οποίος είναι πιο δραστικός από τις δύο ελεύθερες ρίζες που οδήγησαν στην παραγωγή του.



2. Αντιδράσεις ρίζας – μη-ρίζας

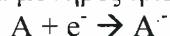
Σ' αυτές οι ρίζες μπορούν να αντιδράσουν με διάφορα μόρια τα οποία δεν είναι ρίζες (μη-ρίζα) οπότε σχηματίζεται μια νέα ελεύθερη ρίζα. Συγκεκριμένα, οι ρίζες κατά την αντίδρασή τους με άλλα μόρια, προκειμένου να αποκτήσουν τη συμπληρωμένη οκτάδα ηλεκτρονίων των ευγενών αερίων, μετατρέπουν το μόριο-στόχο σε ρίζα. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την έναρξη μίας αλυσιδωτής αντίδρασης, η οποία συνεχίζεται μέχρι να συναντηθούν δύο ρίζες οπότε λαμβάνει χώρα αντίδραση ρίζας-ρίζας. Στα περισσότερα βιολογικά μόρια παρατηρούνται τέτοιου είδους αντιδράσεις. Μια διαδικασία που μπορεί να συνεχίζεται αλυσιδωτά καταλήγοντας σε καταστροφικές συνέπειες για τον οργανισμό. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αντίδρασης ρίζας-μη ρίζας αποτελεί η αλυσιδωτή αντίδραση της υπεροξειδωσής των λιπών (B. Halliwell., 2001).

Τρόποι Παραγωγή τους

Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να παραχθούν με διάφορους τρόπους. Συνοπτικά είναι οι εξής:

i. Μια μη –ρίζα χάνει ένα ηλεκτρόνιο: $A \rightarrow e^- + A^+$

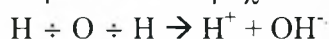
ii. Μια μη – ρίζα απόκτα ένα μονήρες ηλεκτρονίου:



iii. Ομολυτική διάσπαση, όπου ο ομοιοπολικός δεσμός διασπάται συμμετρικά, έτσι ώστε κάθε τμήμα του μορίου λαμβάνει ένα ηλεκτρόνιο:



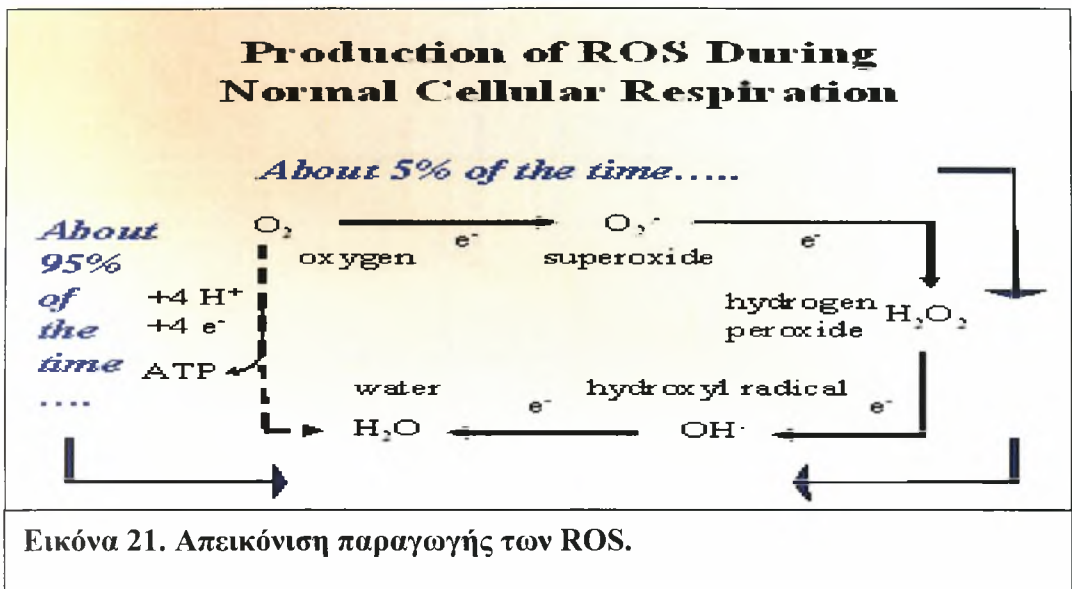
iv. Ετερολυτική διάσπαση, όπου ο ομοιοπολικός δεσμός διασπάται μη-συμμετρικά, έτσι ώστε και τα δύο δεσμικά ηλεκτρόνια παραμένουν στο ίδιο τμήμα, αφήνοντας το άλλο με ένα κενό τροχιακό:



(John McMurry, 2000, Halliwell Barry and Gutteridge John M.C.1998).

Ένας ενδεικτικός τρόπος παραγωγής των ελευθέρων ριζών είναι αυτός με τον οποίο παράγονται οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και οι ROS κατά τη διάρκεια κανονικής κυτταρική αναπνοή (Εικόνα 21). Η παραγωγή κάθε ROS από το οξυγόνο γίνεται ως εξής: 1) η ρίζα του σουπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$) με προσθήκη ενός ηλεκτρονίου στο οξυγόνο. 2) το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) με προσθήκη ενός ηλεκτρονίου στη ρίζα του σουπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$) ή με την προσθήκη δυο ηλεκτρονίων στο οξυγόνο. 3) η ρίζα του υδροξυλίου ($OH\cdot$) με την προσθήκη ενός ηλεκτρονίου στο υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) ή την προσθήκη τριών ηλεκτρονίων στο οξυγόνο,

ηλεκτρονίου στο υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) ή την προσθήκη τριών ηλεκτρονίων στο οξυγόνο, 4) το νερό κατά την κυτταρική αναπνοή το 95% ή με την προσθήκη 4ηλεκτρονίων στο οξυγόνο.



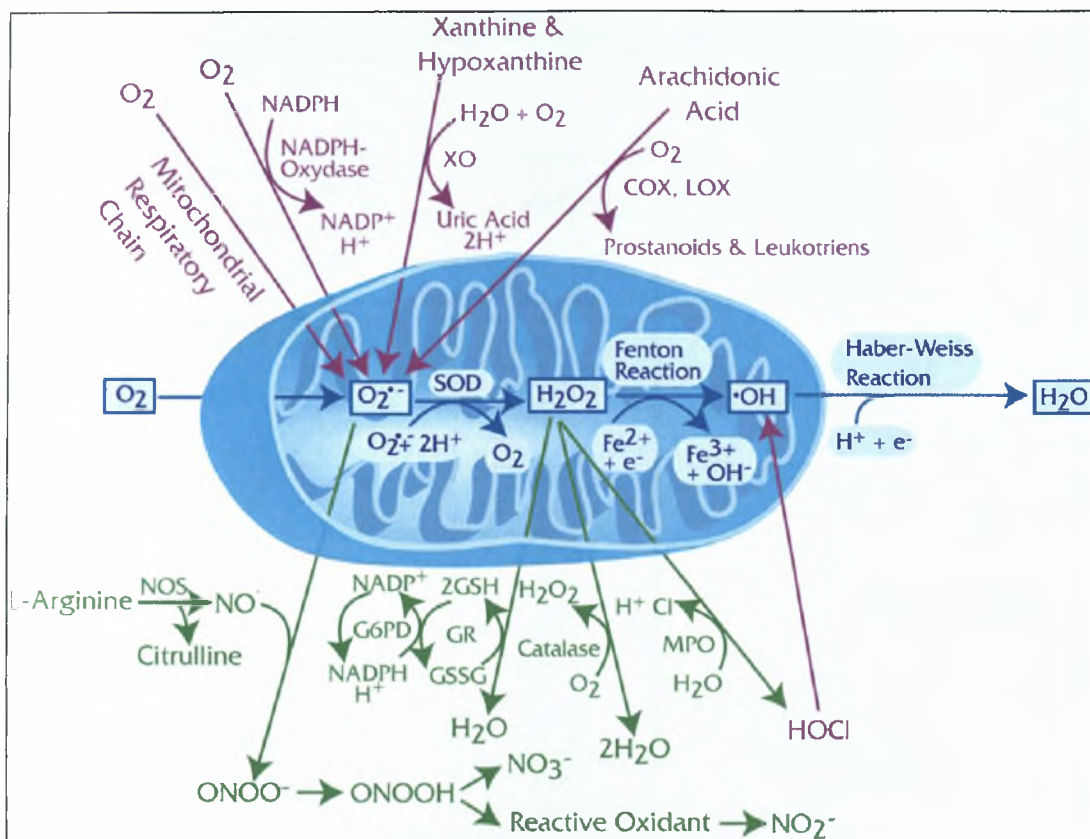
Πηγές παραγωγής τους

Μέσα στα κύτταρα, οι ελεύθερες ρίζες παράγονται κατά την διάρκεια μεταβολικής δραστηριότητας είτε αυθόρμητα είτε αποτέλεσμα αντιδράσεων που καταλύονται από ένζυμα ή από μέταλλα μεταφορείς, όπως ο χαλκός ή σίδηρος. Σε ορισμένες περιπτώσεις, κάποιοι εξωγενείς παράγοντες είναι ικανοί να αυξήσουν την παραγωγή των ελευθέρων ριζών. Έτσι, μπορούν να ταξινομηθούν σε δυο βασικές κατηγορίες ανάλογα με τη πηγή τους: *ενδογενής πηγές* και *εξωγενής πηγές*.

Ενδογενής πηγές

1. Η κυτταρική μεμβράνη εμπλέκεται στην παραγωγή οξειδωτικών ριζών κυρίως κατά τη διάρκεια φλεγμονής και λοιμώξεων. Στα ουδετερόφιλα, η μεμβράνη τους φιλοξενεί όχι μόνο την οξειδάση του NADPH, η οποία καταλύει τη δημιουργία ανιόντων υπεροξειδίου, αλλά και το σύστημα της λιποξυγενάσης που δημιουργεί ποικίλα ROOS ως ενδιάμεσα συστατικά.

2. Τα **μιτοχόνδρια** αποτελούν κύρια πηγή οξειδωτικών ριζών (**Εικόνα 22**), γιατί σε αυτά βρίσκεται η αλυσίδα των αναπνευστικών ενζύμων, τα οποία είναι υπεύθυνα για την οξειδωτική φωσφορυλίωση. Η οξειδωτική φωσφορυλίωση έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό ATP. Η οξείδωση των υποστρωμάτων συμβαίνει κατά τη διάρκεια του κύκλου του Krebs καθώς και στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, με το οξυγόνο να αποτελεί τον αποδέκτη αυτών. Στην πραγματικότητα, η μεταφορά ηλεκτρονίων δεν καταλήγει αποκλειστικά στην δημιουργία του μορίου του νερού (95-99%), ενώ μικρά αλλά σημαντικά ποσά των ηλεκτρονίων (1-2%) μεταφέρονται από τα ένζυμα της αναπνευστικής αλυσίδας κατευθείαν στο μοριακό οξυγόνο, δημιουργώντας ανιόντα υπεροξειδίου ή ρίζες υδροξυλίου. Έχει υπολογιστεί ότι κατά τη διάρκεια σημαντικής άσκησης στους σκελετικούς μυς, το ποσό των ηλεκτρονίων που διαφεύγει κατ' αυτόν τον τρόπο μπορεί να μειώσει άμεσα το 15% του μιτοχονδριακού οξυγόνου.



Εικόνα 22. Παραγωγή ROS στο μιτοχόνδριο.

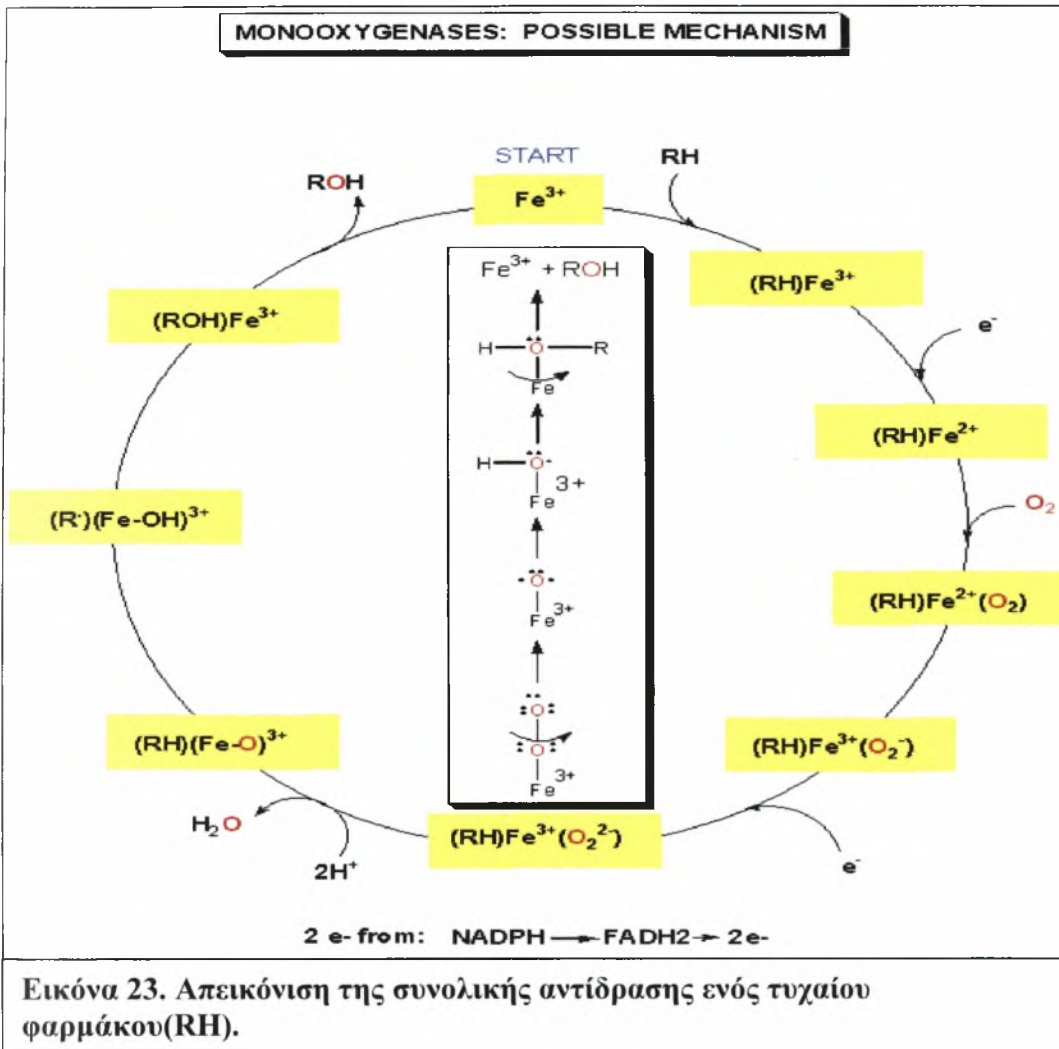
Στην εικόνα παρατηρούνται τέσσερις πιθανοί τρόποι παραγωγής της σουπεροξειδικής ρίζας $O_2^{\bullet-}$ και οι αντιδράσεις που πραγματοποιούνται στο μιτοχόνδριο και οι λοιπές ROS που παράγονται.

3. Τα *υπεροξειδιωσώματα* είναι επίσης όργανα μέσα στα οποία αναπτύσσονται ελεύθερες ρίζες. Συγκεκριμένα, μέσα στα υπεροξειδιωσώματα τα λιπαρά οξέα υφίστανται μια ειδική οξειδωτική διαδικασία. Στο πρώτο στάδιο αυτής της διαδικασίας, μια φλαβοπρωτεΐνη αφαιρεί ένα ζευγάρι ατόμων υδρογόνου από ένα μόριο ενεργοποιημένου λιπαρού οξέος (acyl-Coa). Τα δυο άτομα υδρογόνου μεταφέρονται απευθείας στο μοριακό οξυγόνο και παράγεται το υπεροξείδιο του υδρογόνου.

4. Στο *λείο ενδοπλασματικό δίκτυο*, ενεργός παραγωγή ριζών γίνεται μέσω του *κυτοχρώματος P450* που είναι γνωστό ότι παίζει ρόλο στη διαδικασία αποτοξίνωσης ξενοβιοτικών παραγόντων (π.χ. φάρμακα, εντομοκτόνα κ.α.). Το κυτόχρωμα P450 είναι μια αιμοπρωτεΐνη που έχει τη δυνατότητα να καταλύει αντιδράσεις υδροξυλίωσης για την παραγωγή ενεργών οξειδωτικών ριζών. Συγκεκριμένα, μεταφέρει ηλεκτρόνια από το NADH ή το NADPH στο μοριακό οξυγόνο και οξειδώνει το υπόστρωμα (π.χ. φάρμακο) και η εξίσωση έχει ως εξής:



Κατά την αντίδραση αυτή παράγονται ROS σαν παραπροϊόντα (Κουρέτας Δ. 2003) (Εικόνα 23).



5. Γίνεται σαφές ότι σε κάθε σημείο του κυττάρου η παραγωγή των ριζών έχει μια ειδική λειτουργία, όχι μόνο στο μεταβολισμό του κυττάρου αλλά και σε άλλες διαδικασίες, όπως φλεγμονές και λοιμώξεις, έτσι, για παράδειγμα, υπεροξειδία και άλλες ρίζες παράγονται στην κυτταρική μεμβράνη των ουδετερόφιλων, επιτίθενται στα μικρόβια και τα εξασθενούν, ώστε να φαγοκυτταρωθούν και να καταστραφούν ολοκληρωτικά πιο εύκολα. Σε αυτή την ανοσιακή απόκριση περιλαμβάνονται εκτός από τα μικρόβια και ξένα βιολογικά υλικά όπως μοσχευθέντα όργανα ή ιστοί. Τα λευκοκύτταρα μεταναστεύουν εκεί, ενεργοποιούνται και βομβαρδίζουν κύτταρα με ROS. Τα λευκοκύτταρα όπως τα ενεργοποιημένα μακροφάγα και ουδετερόφιλα απελευθερώνουν έναν μεγάλο αριθμό ROS μεταξύ των οποίων υπεροξειδίο του υδρογόνου (H₂O₂), ρίζα σουπεροξειδίου (O₂^{-•}), ρίζα υδροξυλίου (OH[•]), υποχλωριώδες οξύ (HOCl) και μονοξειδίο του αζώτου (NO) (Adams, D. O., Hamilton, T. A. 1992, Klebanoff, S. J).

6. Μία άλλη πολύ σημαντική πηγή η οποία δημιουργεί πολλές ελεύθερες ρίζες, είναι η παρουσία τοξικών βαρέων μετάλλων στο σώμα, ειδικότερα αυτών που έχουν μείνει στους κυτταρικούς ιστούς. Όλα τα μέταλλα, με εξαίρεση τον χαλκό, περιέχουν ένα ήλεκτρο στο εξωτερικό τους κέλυφος και μπορούν να θεωρηθούν ως ελεύθερες ρίζες. Ο χαλκός, ενώ έχει πλήρες εξωτερικό κέλυφος 2 ηλεκτρων, χάνει το ήλεκτρό του εύκολα και μπορεί να θεωρηθεί επίσης ελεύθερη ρίζα. Τα παρακάτω

μέταλλα είναι, μείζονες παράγοντες δημιουργίας ελεύθερων ριζών στο σώμα: υδράργυρος, ασβέστιο, αργίλιο, μόλυβδος, χλώριο, σίδηρος, κάδμιο.

7. Σε περιπτώσεις έντονου αντιοξειδωτικού στρες μερικές ενδογενείς ορμόνες (π.χ. κατεχολαμίνες), φλαβίνες, θειόλες, και η αιμογλοβίνη μπορούν να αυτοοξειδωθούν σχηματίζοντας σουπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$). Για παράδειγμα, οι μπορούν να αυτοοξειδωθούν σχηματίζοντας σουπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$) (Cutler R. 1994).

8. Η χαμηλή παροχή αίματος, γενικά προκύπτει κατά τη διάρκεια καρδιακών προσβολών και εγκεφαλικών επεισοδίων, σχηματίζει ελεύθερες ρίζες.

Εξωγενής πηγές

Οι ελεύθερες ρίζες είναι απαραίτητα ενδιάμεσα στοιχεία στον κυτταρικό μεταβολισμό. Η παραγωγή τους είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με την ανθρώπινη ζωή, ενώ επηρεάζεται και εξωγενείς παράγοντες. Διάφοροι φυσικοί, χημικοί ή βιολογικοί παράγοντες μπορούν να πυροδοτήσουν την έναρξη της παραγωγής τους, ενώ μπορούν ακόμη να την αυξήσουν. Αυτοί είναι οι εξής:

Χημικοί παράγοντες

1. Η ρύπανση του περιβάλλοντος. Για παράδειγμα το όζον που αποτελεί χημικό παράγοντα παραγωγής των ελευθέρων ριζών υδροϋπεροξειδίων, δρώντας σε συστατικά που προέρχονται από την φαινόλη.

2. Το κάπνισμα τσιγάρου και η έκθεση σε καπνό τσιγάρο (παθητικοί καπνιστές) (Suzuki, et.al. 1995, Asami. S. et. al. 1996). Για παράδειγμα ο καπνός του τσιγάρου περιέχει αρωματικούς πολυκυκλικούς υδρογονάνθρακες που δρουν με έμμεσο μηχανισμό και συγκεκριμένα μέσω ενεργοποίησης του κυτοχρώματος P450 (Howard, D. J.et. al. 1998).

3. Οι ανθυγιεινές τροφές (τυποποιημένες τροφές, τηγανιτές τροφές, ψητές στα κάρβουνα τροφές) και διάφορα συντηρητικά αυτών Παράδειγμα αποτελούν οι τηγανιτές τροφές σε μεγάλη θερμοκρασία, που προκαλεί την αστάθεια των κυτταρικών δεσμών.

4. Χημικά τροφών όπως εντομοκτόνα και φυτοφάρμακα.

5. Τοξικά προϊόντα που βρίσκονται στα λούστρα των επίπλων και στις μογιές, π.χ. βαλσαμικά υγρά, βενζίνη και φορμαλδεΰδη.

6. Η κατανάλωση αλκοολών (Nakajima, M. et. al. 1996).

Φυσικοί Παράγοντες

7. Η ιονίζουσα και υπεριώδη ακτινοβολία, όπως κατά την υπερβολική έκθεση στον ήλιο και η διαρκής έκθεση σε ακτίνες Χ. Ανήκουν στους φυσικούς παράγοντες που ευνοούν την παραγωγή ελευθέρων ριζών μέσω της ραδιόλυσης και της φωτόλυσης του νερού.

8. Η υπερβολική άσκηση (Λεπτομέρειες αναφέρονται παρακάτω στην ενότητα Άσκηση) (Inoue, T. et. al. 1993, Poulsen, H. et. al. 1993).

9. Το άγχος

Βιολογικοί Παράγοντες

10. Διαταραχές θερμοκρασίας και υγρασίας (Bowler et al, 1992)

11. Βακτήρια και άλλοι μολυσματικοί παράγοντες καθώς και κάποια αντισώματα.

Επιδράσεις στον οργανισμό

1. Θετικές επιδράσεις

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου μπορούν να είναι ευεργετικές για τον ανθρώπινο οργανισμό. Να σημειωθεί ότι ο πιο σημαντικός λόγος παραγωγής τους είναι κατά η αποτοξίνωσης τοξινών και αποβλήτων προϊόντων του οργανισμού. Η θετική τους επίδραση φαίνεται στις εξής περιπτώσεις:

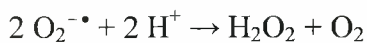
1. Στο ανοσοποιητικό σύστημα.

Οι ελεύθερες ρίζες χρησιμοποιούνται από το ανοσοποιητικό σύστημα του σώματος για να καταστρέψουν βακτηρίδια και ιούς που προκαλούν βλάβες. Παράγονται από τα ουδετερόφιλα και μακροφάγα ως απάντηση στα μηνύματα που στέλνουν οι υποδοχείς των φαγοκυττάρων για την ύπαρξη ξένων μικροοργανισμών στον οργανισμό. Αυτός είναι ένας τρόπος να επιτεθούν και να σκοτώσουν τα παθογόνα.

Η ρίζα του σουπεροξειδίου $O_2^{\cdot-}$ παράγεται από τα φαγοκύτταρα με σκοπό την καταστροφή βακτηρίων που έχουν εισέλθει στον οργανισμό. Αυτό πραγματοποιείται μέσω του συστήματος της ανηγμένης NADPH οξειδάσης, που είναι παρόν στα λευκοκύτταρα. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας απαιτούνται δύο μόρια οξυγόνου, όπως φαίνεται και στην αντίδραση:



Το $O_2^{\cdot-}$ μπορεί να μετατραπεί σε H_2O_2 σύμφωνα με την αντίδραση Fenton:



Στη συνέχεια το H_2O_2 μετατρέπεται σε HOCl, το οποίο δραστηριοποιείται κυρίως στην αποικοδόμηση των αντιγόνων. Συνεπώς, μία σημαντική ποσότητα ROS μπορεί να παραχθεί με αντιδράσεις του ανοσοποιητικού και παίζει θεμελιώδη βιολογικό ρόλο στον έλεγχο της ομοιόστασης.

Επίσης, τα αιμοπετάλια επιδρούν στην επούλωση της πληγή και στην ομοιόσταση του αίμα, απελευθερώνοντας ROS για την στρατολόγηση των πρόσθετων αιμοπεταλίων στις περιοχές του τραυματισμού. Αυτοί παρέχουν επίσης μια σύνδεση με το προσαρμοστικό ανοσοποιητικό σύστημα μέσω της στρατολόγησης των λευκοκυττάρων.

2. Στην διακυτταρική επικοινωνία.

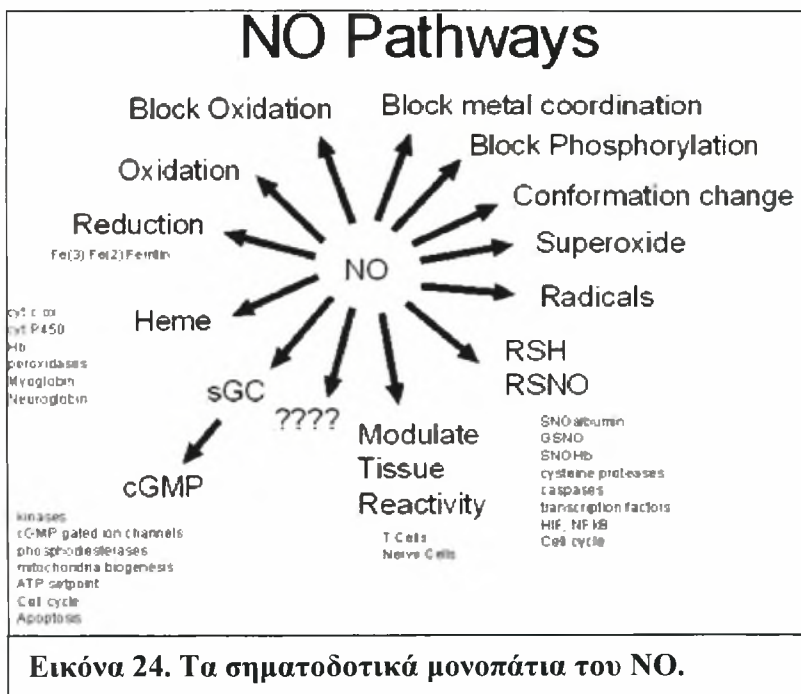
Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου συμμετέχουν άλλα και ενεργοποιούν πολλά ενδοκυτταρικά σηματοδοτικά μονοπάτια. Δηλαδή περιλαμβάνουν την ενεργοποίηση διαφόρων οδών όπως την οδό του πυρινικού παράγοντα NF-kB (*Angel P, Karin M. 1991*), τις κυτταροπλασματικές πρωτεϊνικές κινάσες, κινασών MAPK, του JNK/SAPK, τους μεταγραφικούς παράγοντες APAF-1 (*Meyer M 1993*) και συμμετέχουν στη ρύθμιση των υποδοχέων ινσουλίνης με δράση κινάσης τυροσίνης (*Schmid E. et. al. 1999*). Επιπλέον δρουν ως δευτερογενή μηνύματα ρυθμίζοντας ποικίλους μοριακούς μηχανισμούς που συνδέονται με την ανοσία, την προσκόλληση κυττάρου-κυττάρου, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, το μεταβολισμό και την απόπτωση (*Hensley, K., and Floyd, R.A. 2002*).

2a. Το H_2O_2 είναι ένα παράδειγμα δράσης ROS ως διακυτταρικό σηματοδοτικό μόριο (*Barry Halliwell 2001*). Για παράδειγμα, παράγεται στον οργανισμό μετά από την παραγωγή πολλών ριζών υπεροξειδίου μέσω της παρακάτω αντίδρασης:

$2 O_2^{\cdot-} + 2 H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$, η οποία καταλύεται από το ένζυμο υπεροξειδική δισμουτάση (SOD).

Επίσης έχει πολλές χρήσιμες λειτουργίες. Συχνά χρησιμοποιείται από το ένζυμο θυρεοειδική υπεροξειδάση και βοηθά στην παραγωγή των θυρεοειδικών ορμονών. Τέλος μπορεί να αναστέλλει τις πρωτεϊνικές φωσφατάσες αυξάνοντας έτσι το δίκτυο φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών.

2b. Το NO είναι ένα είναι ένα άλλο παράδειγμα δράσης ROS ως διακυτταρικό σηματοδοτικό μόριο, άλλα διαδραματίζει σημαντικό ρόλο και σε διάφορες λειτουργίες του οργανισμού (**Εικόνα 24**). Για παράδειγμα, η δράση του ως δεύτερο μήνυμα συμμετέχοντας στην ενεργοποίηση διαφόρων σηματοδοτικών μονοπατιών και η συμμετοχή του στην νευροδιαβίβαση στον εγκέφαλο. Το NO ανάλογα με το κύτταρο συμβάλλει στην εξουδετέρωση καρκινικών κυττάρων και βακτηρίων από μακροφάγα, στην διαστολή αιμοφόρων αγγείων, στην ρύθμιση της πίεσης του αίματος και της κυτταρικής αναπνοής (*Boveris A. et. al. 1999*), στην παραγωγή ενέργειας και στην μεταβολή του μονοπάτι του κυτταρικού θανάτου από απόπτωση σε νέκρωση σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις (*Halliwel B., I 2001, Y-Z.Fang et al. 2002*). Αυτές οι δράσεις του NO οφείλονται στην ικανότητα του να αναστέλλει την μιτοχονδριακή παραγωγή ενέργειας (*Cleeter MWJ et. al. 1994*). Επιπλέον, πρόσφατα αποδείχτηκε ο ρόλος του στην ενδοκυτταρική διακίνηση του σιδήρου, παρεμποδίζοντας την μετάφραση του mRNA της φερριτίνης. Η μοριακή βάση της δράσης του βασίζεται στην αντιδραστικότητα του με άλλες ρίζες, με μοριακό οξυγόνο και με σουλφιδρικές ομάδες.



Εικόνα 24. Τα σηματοδοτικά μονοπάτια του NO.

3. Συμβάλλουν στην αποτοξίνωση του οργανισμού από φάρμακα καθώς και από διάφορες τοξικές ουσίες και απόβλητα, μέσω της ενεργοποίησης διαφόρων μεταβολικών μονοπατιών.

4. Τη μυϊκή σύσπαση. Ο τελευταίος τους ρόλος έχει επιδειχθεί ιδιαίτερα διότι αναστολή της παραγωγής των ROS έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια της συσταλτότητας ορισμένων μυϊκών ινών. Αντίθετα αύξηση των επιπέδων των ROS αυξάνει τη δύναμη σύσπασης των ινών.

2. Αρνητικές επιδράσεις

Η ελεύθερη ριζική δραστηριότητα, εάν ελέγχεται σωστά, είναι βασική για ένα υγιές σώμα. Στο σώμα μας υπάρχουν ελεύθερες ρίζες, οι οποίες υπό φυσιολογικές συνθήκες εξουδετερώνονται από τους αμυντικούς μας μηχανισμούς. Σε περίπτωση όμως που η συγκέντρωσή τους αυξηθεί κατά πολύ μέσα στον οργανισμό,

λόγω υπερβολικής έκθεσης σε κάποιον ή κάποιους από τους παράγοντες που αναφέρθηκαν, τότε αυτός δεν μπορεί να τις αντιμετωπίσει. Έτσι, οι ρίζες προκαλούν επικίνδυνες μεταλλάξεις και καταστρέφουν τα κύτταρα. Οι ελεύθερες ρίζες λοιπόν μπορούν να είναι αιτία των παρακάτω βλαβερών αποτελεσμάτων στον οργανισμό:

☞ Γήρανση

Σύμφωνα με τη θεωρία των ελεύθερων ριζών της γήρανσης (*Harman - 1956*), η γήρανση εμφανίζεται μέσω μιας απώλειας ενέργειας που παράγουν τα κύτταρα είτε όταν αρχίζουν τα μιτοχόνδρια να πεθαίνουν είτε όταν παραμένουν λιγότερα λειτουργικά μιτοχόνδρια μέσα σε αυτά τα κύτταρα, λόγω της συσσωρευμένης δράσης των ελεύθερων ριζών.

☞ Δημιουργία Διαφόρων Ασθενειών

Οι ελεύθερες ρίζες που παράγονται από διάφορες πηγές, ανοίγουν οπές στις κυτταρικές μεμβράνες που αποδυναμώνουν τους ιστούς και τα όργανα στο σώμα μας. Όταν η καταστροφή συνεχίζεται ανεξέλεγκτα, η άμυνα του οργανισμού μειώνεται εναντίον προβλημάτων όπως ο καρκίνος, η σκλήρυνση των αρτηριών, Alzheimer, η νόσος του Parkinson το πρόωρο γήρας και άλλα θέματα υγείας. Άλλες ασθένειες είναι η αρθρίτιδα, ο διαβήτης, οι πνευμονοπάθειες, οι αυτοάνοσες νόσοι, οι νόσοι του ήπατος, οι νόσοι των νεφρών και δερματικές παθήσεις.

Ένας τρόπος δημιουργία των ασθενειών είναι μέσω των επιπτώσεις των ελευθέρων ριζών στον κυτταρικό μεταβολισμό ασβεστίου. Η ανεξέλεγκτη αύξηση του ελεύθερου ενδοκυτταρικού ασβεστίου μπορεί να οδηγήσει στον τραυματισμό ή το θάνατο κυττάρων. Άλλοι τρόπος είναι μέσω επάγωγης απόπτωσης σε υγιή κύτταρα, αναστείλει τη φλεγμονών και γενικότερα η διαφοροποίηση άλλων φυσιολογικών κυτταρικών λειτουργιών.

Εξαιτίας αυτών των γεγονότων, η μέτρηση των ελευθέρων ριζών του οργανισμού οφείλει να αποτελεί τακτική υποχρέωση.

☞ Τροποποίηση βιολογικών μορίων

Οι στόχοι των ενεργών ελεύθερων ριζών του οξυγόνου (κυρίως της υδροξυλικής ρίζας), είναι τα λιπίδια (υπεροξειδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων των μεμβρανών), οι πρωτεΐνες (αποικοδόμηση ενζύμων), οι υδατάνθρακες (διάσπαση πολυσακχαριτών), τα νουκλεϊκά οξέα (αποχωρισμός των ελίκων, σπασίματα σε χρωμάτισες, μεταλλαγές). Το τελικό αποτέλεσμα όλων των παραπάνω είναι ο κυτταρικός θάνατος (*Fridovich, 1986*). Οι επιπτώσεις αυτές σύμφωνα με τα μακρομόρια στα οποία επιδρούν οι ελεύθερες ρίζες διαιρούνται σε 3 κατηγορίες:

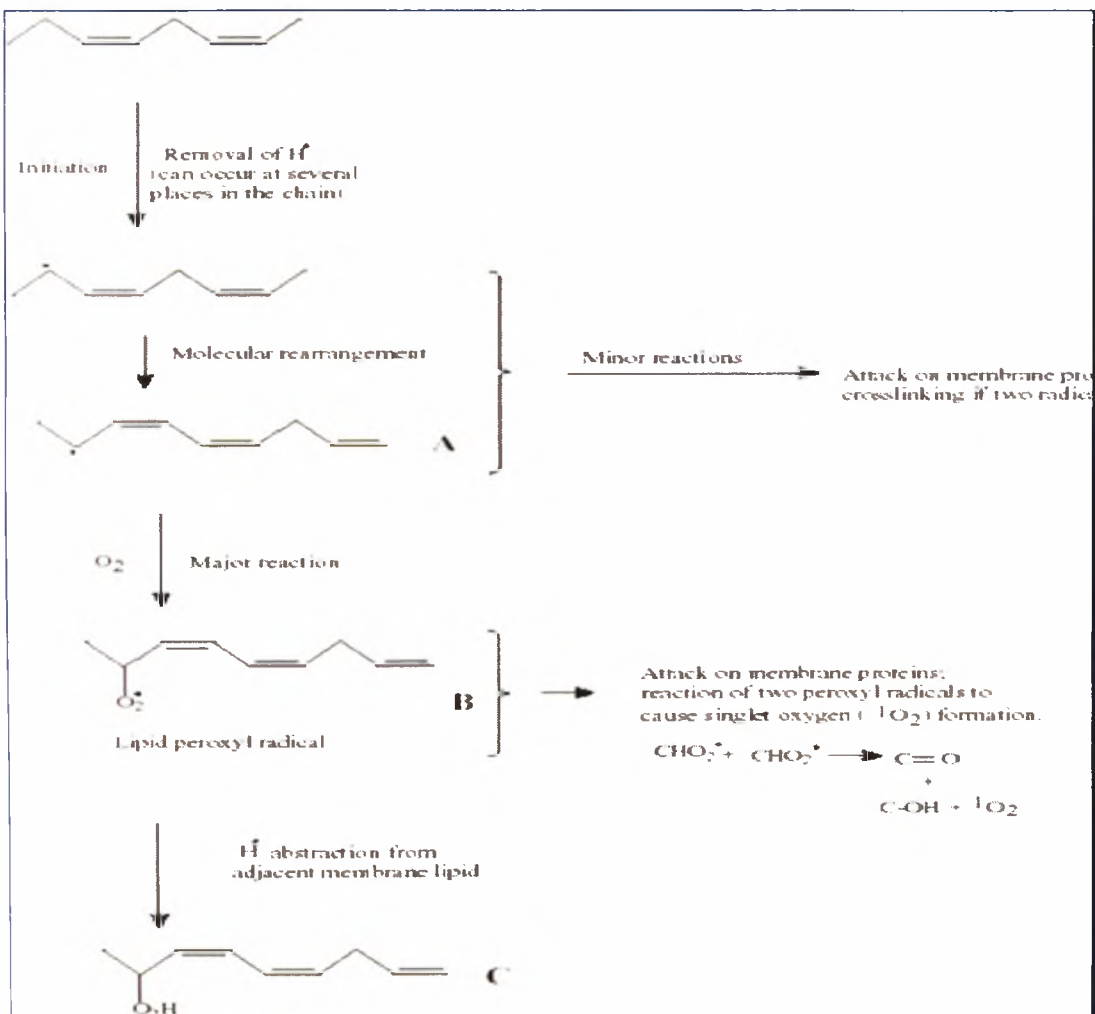
1. Λιπίδια

Οι διάφορες κυτταρικές μεμβράνες, όπως οι εξωτερικές και οι μεμβράνες των οργανιδίων, αποτελούνται κατά μεγάλο ποσοστό από λιπίδια (*Halliwel B. and Gutteridge J.M.C. 1999*). Τα μεμβρανικά λιπίδια είναι αμφίφιλα μόρια τα οποία περιέχουν μία υδρόφοβη υδατανθρακική αλυσίδα και ένα υδρόφιλο τμήμα. Στις κυτταρικές μεμβράνες των ζώων υπάρχουν κυρίως φωσφολιπίδια εστεροποιημένα σε ένα μόριο γλυκερόλης. Τα κυριότερα φωσφολιπίδια είναι η φωσφατιδυλοχολίνη, η φωσφατιδυλοϊθανολαμίνη, η φωσφατιδυλοϊνσιτόλη και η σφιγγομυελίνη (*Farooqui A.A., Horrocks L.A. and Farooqui T. 2000*).

Τα φωσφολιπίδια, μαζί με λιπαρά οξέα, χοληστερόλη και μεμβρανικές πρωτεΐνες διευθετούνται σε μία λιπιδική διπλοστιβάδα, στην οποία το πολικό τμήμα

προσανατολίζεται στο υδατικό περιβάλλον, σχηματίζοντας τις κυτταρικές μεμβράνες. Οι υδατανθρακικές αλυσίδες των μεμβρανικών λιπιδίων αποτελούνται από λιπαρά οξέα με 14-24 άτομα άνθρακα και διπλούς δεσμούς σε cis διαμόρφωση. Οι διπλοί δεσμοί είναι πολύ σημαντικοί, αφού μειώνουν το σημείο τήξης των λιπαρών οξέων και κατά συνέπεια αυξάνουν τη ρευστότητα των μεμβρανών (Halliwell B. and Gutteridge J.M.C. 1999, Farooqui A.A., Horrocks L.A. and Farooqui T. 2000).

Σύμφωνα με τα παραπάνω, τα ακόρεστα λιπαρά οξέα έχουν σπουδαίο βιολογικό ρόλο στη λειτουργία των κυτταρικών μεμβρανών (Oldham K.M. and Bowen P.E. 1998). Ενδεχόμενη καταστροφή τους, λοιπόν, έχει σημαντική σημασία στη λειτουργία των κυττάρων. Η υπεροξείδωση των λιπιδίων είναι αποτέλεσμα της δράσης των ελεύθερων ριζών πάνω στα μόρια των λιπιδίων. Οι ελεύθερες ρίζες προτιμούν, κυρίως, τους ηλεκτρονικά πλούσιους διπλούς δεσμούς των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων του αποτελούν τις υδατανθρακικές αλυσίδες κάποιων λιπιδίων. Η αντίδραση υπεροξείδωσης των λιπαρών οξέων μέσω ελευθέρων ριζών είναι μία αλυσιδωτή αντίδραση που αποτελείται από τρία βασικά στάδια: α) το στάδιο της εκκίνησης, β) το στάδιο της διάδοσης και γ) το στάδιο του τερματισμού της αντίδρασης (McMurry, 2000, Spiteller G. 1998) (Εικόνα 25).



Εικόνα 25. Διαγραμματική απεικόνιση του μηχανισμού της υπεροξείδωσης των λιπιδίων (Gutteridge & Halliwell, 1990).

Στο στάδιο της εκκίνησης σχηματίζεται η ελεύθερη ρίζα, η οποία έπειτα προσβάλλει το λιπαρό οξύ. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την απόσπαση ενός ατόμου υδρογόνου από ένα μεθυλενικό άτομο άνθρακα της αλυσίδας του λιπαρού οξέος, με αποτέλεσμα την παραγωγή μιας αλκυλικής ρίζας (L^{\bullet}). Σε αυτό το στάδιο, εμπλέκονται υδροξυλικές ρίζες HO^{\bullet} , υδροϋπεροξειδικές ρίζες HO_2^{\bullet} , αλκόξυ ρίζες LO^{\bullet} , υπεροξειδικές ρίζες LOO^{\bullet} και μεταλλικά ιόντα όπως τα $Fe(III)/Fe(II)$ μέσω αντιδράσεων Fenton (Muriel P. 1997, Halliwell B. and Chirico S. 1993). Η σουπεροξειδική ρίζα $O_2^{\bullet-}$, δεν είναι ιδιαίτερα δραστική στην οξείδωση των λιπιδίων των μεμβρανών, επειδή εξαιτίας του φορτίου της δεν μπορεί να προσεγγίσει εύκολα το υδρόφοβο περιβάλλον των κυτταρικών μεμβρανών (Halliwell B. and Gutteridge J.M.C. 1999).

Στο στάδιο διάδοσης της αλυσιδωτής αντίδρασης, η αλκυλο ρίζα L^{\bullet} αντιδρά γρήγορα με μοριακό οξυγόνο, το οποίο ως λιπόφιλο μόριο συγκεντρώνεται στο εσωτερικό των κυτταρικών μεμβρανών, παράγοντας μία υπεροξειδική ρίζα LOO^{\bullet} (Halliwell B. and Gutteridge J.M.C. 1999, Minotti G. and Aust S.D. 1992). Η υπεροξειδική ρίζα LOO^{\bullet} αφαιρεί το άτομο υδρογόνου από ένα άλλο λιπαρό οξύ με αποτέλεσμα την παραγωγή ενός υδροϋπεροξειδίου $LOOH$ και μίας αλκυλο ρίζας L^{\bullet} (Halliwell B. and Gutteridge J.M.C. 1999, Minotti G. and Aust S.D. 1992). Το υδροϋπεροξειδίου $LOOH$ μπορεί να διασπασθεί σε διάφορες ελεύθερες ρίζες ($L-O-O^{\bullet}$, LO^{\bullet}) και κυρίως αλδεύδες. Τα προϊόντα αυτά της υπεροξείδωσης των λιπιδίων μπορούν περαιτέρω να βλάψουν τις πρωτεΐνες και τους υποδοχείς των μεμβρανών, και να οδηγήσουν στην απώλεια ακεραιότητας μεμβρανών. Συγκεκριμένα, η υπεροξείδωση των λιπιδίων αλλάζει τη ρευστότητα των κυτταρικών μεμβρανών, μειώνει την ικανότητα τους να περιέχουν ισορροπημένες συγκεντρώσεις συστατικών κι επίσης αυξάνει τη διαπερατότητα τους. Όλοι οι τύποι κυττάρων μπορούν να τραυματιστούν από την επίδραση των ROS ανάμεσα τους και τα μυϊκά κύτταρα αλλά και τα ερυθροκύτταρα. Η υπεροξείδωση λιπιδίων εμπλέκεται στην ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης.

Συνοπτικά, στον **Πίνακα 4** φαίνονται οι αντιδράσεις με τις οποίες έστω και μία ρίζα R^{\bullet} με λιπαρά οξέα των μεμβρανικών λιπιδίων μπορεί να οδηγήσει σε υπεροξείδωση των λιπιδίων στην πλασματική μεμβράνη των κυττάρων η οποία μπορεί να οδηγήσει στην συνέχεια στον θάνατό τους (B. Halliwell 2001, C.Mylonas, D. Kouretas 1999).

$LH + R^{\bullet} \rightarrow L^{\bullet} + H_2O$
$L^{\bullet} + O_2 \rightarrow L-O-O^{\bullet}$
$L-O-O^{\bullet} + LH \rightarrow L-O-OH + L^{\bullet}$
Lipid hydroperoxide $L-O-OH \rightarrow L-O-O^{\bullet}, LO^{\bullet},$ αλδεύδες
Πίνακας 4. Γενική σειρά αντιδράσεων με τις οποίες έστω και μία ελεύθερη ρίζα (R^{\bullet}) μπορεί να οδηγήσει σε υπεροξείδωση των λιπιδίων και στον σχηματισμό νέων ελεύθερων ριζών (C.Mylonas, D. Kouretas 1999).

2. Πρωτεΐνες

Οι ελεύθερες ρίζες μπορεί να επιδράσουν στις κυτταρικές πρωτεΐνες είτε άμεσα, απευθείας με την πρωτεΐνη είτε έμμεσα, αντιδρώντας με άλλα μόρια όπως σάκχαρα και λιπίδια και παράγοντας προϊόντα που αντιδρούν με τις πρωτεΐνες. Οι οξειδωμένες πρωτεΐνες μπορούν να προάγουν το σχηματισμό αντισωμάτων και τις αυτοάνοσες διαδικασίες. Αποτέλεσμα της οξείδωσης είναι οι πρωτεΐνες να χάσουν αμινοξέα ή να θρυμματιστούν. Έτσι οι πρωτεΐνες οδηγούνται σε αλλαγές των δομικών πρωτεϊνών ή της λειτουργίας των ενζύμων, σε χημική διάσπασή τους ή σε αυξημένη επιδεκτικότητα σε πρωτεόλυση. Η καταστροφή των πρωτεϊνών αυξάνεται με την ηλικία (Standman E.R. 2001) και σε περιπτώσεις φλεγμονής, έντονης άσκησης και ισχαιμίας.

3. DNA

Το οξυγόνο (O_2) δεν έχει την ικανότητα να οξειδώσει άμεσα το DNA στη θερμοκρασία του σώματος των ζωντανών οργανισμών. Ορισμένα όμως οξυγονούχα προϊόντα του φυσιολογικού μεταβολισμού, όπως το υπεροξειδικό ανιόν ($O_2^{\bullet-}$) και το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2), μπορούν να αντιδράσουν άμεσα με το DNA όταν οι συγκεντρώσεις τους ξεπεράσουν τα φυσιολογικά επίπεδα. Οι περισσότερες όμως οξυγονούχες ελεύθερες ρίζες (όπως η ρίζα υδροξυλίου, HO^{\bullet}), αζωτούχες ελεύθερες ρίζες και άλλα δραστικά στοιχεία οξυγόνου μπορούν να αντιδράσουν και να προκαλέσουν συγκεκριμένες βλάβες στη δομή του DNA, μεταλλάξεις και πρόσθετα-DNA. Μέχρι σήμερα έχουν καταγραφεί από πειραματικά αποτελέσματα πάνω από 100 είδη οξειδωτικών μετατροπών στο DNA (Carey JH). Οι βλάβες στο DNA από ελεύθερες ρίζες είναι κυρίως τριών ειδών:

α. Πρόκληση δομικών αλλαγών στο DNA: μεταλλάξεις σε ζεύγος βάσεων (base pair mutations), μεταθέσεις, απάλειψη (deletion), εισαγωγές και επέκταση της σειράς-διαδοχής αλληλουχία των νουκλεοβάσεων (insertions, sequence amplifications), νίτρωση, απαμίνωση, οξείδωση, μεθυλίωση, αποπουρίνωση κ.λπ. Τέτοια είδη βλαβών μπορούν να προκληθούν από τη ρίζα υδροξυλίου, το μονήρες Οξυγόνο (1O_2 , singlet oxygen), αλκοξυ- και υπεροξυλο- ρίζες (RO^{\bullet} , ROO^{\bullet}), το όζον (O_3), το υπεροξυνιτρώδες ανιόν ($O=NOO^-$, peroxyxynitrite anion) και τα οξειδία του αζώτου (Glaze WH. Et. al. 1987, Halmann MM. 1996). Τα δραστικά οξυγονούχα είδη ενώσεων (που δεν είναι ελεύθερες ρίζες, αλλά έχουν ισχυρή οξειδωτική δράση) μπορούν να προκαλέσουν σημειακές μεταλλάξεις και μαζικές αλλαγές στα χρωμοσώματα. Οι αλλαγές αυτές συμβάλλουν στην αδρανοποίηση ή απώλεια δευτέρου φυσικού (άγριου) τύπου αλληλομόρφου (second wild-type allele) ενός μεταλλαγμένου πρωτο-ογκογονιδίου ή κατασταλακτικού ογκογονιδίου κατά τη διάρκεια της προαγωγής ή μετεξέλιξης του κακοήθους κυττάρου, επιτρέποντας την έκφραση μεταλλαγμένου φαινοτύπου (Acher A. et. al. 1997). Οι οξειδωτικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα με την επίδραση των ελευθέρων ριζών στις νουκλεοβάσεις οφείλονται κυρίως στις ρίζες υδροξυλίου (HO^{\bullet}) και σε ενυδατωμένα ηλεκτρόνια (eaq^-). Οι ρίζες υδροξυλίου προστίθενται στον διπλό δεσμό μεταξύ του C5-C6 των πυριμιδινών (ουρακίλη, θυμίνη και κυτοσίνη), σχηματίζοντας 5-υδροξυ-6-υλο- και 6-υδροξυ-5-υλο- ελεύθερες ρίζες. Η θέση C5 στις πυριμιδίνες είναι η θέση που προτιμάται λόγω της υψηλότερης ηλεκτρονικής πυκνότητας και της υψηλής ηλεκτρονιόφιλης φύσης της ρίζας υδροξυλίου. Στην περίπτωση των πυριμιδινικών βάσεων των νουκλεϊνικών οξέων, θυμίνης και κυτοσίνης, η προσθήκη της ρίζας υδροξυλίου γίνεται στη θέση C5 σε ποσοστό 60% και 90% (περίπου) αντίστοιχα, και

στη θέση C6 σε ποσοστό 30% και 10% αντίστοιχα. Εκτός από την προσθήκη, η ρίζα υδροξυλίου αφαιρεί ένα άτομο H από τη μεθυλο- ομάδα της θυμίνης σε ποσοστό (περίπου) 10%. Η ελεύθερη ρίζα που προκύπτει διαφέρει ως προς τις οξειδοαναγωγικές της ιδιότητες (*Steenken S. et. al. 1989*). Οι αντιδράσεις που συμβαίνουν σε βιολογικά συστήματα, όταν παράγονται ηλεκτρόνια σε υδατικό διάλυμα, έχουν σαν αποτέλεσμα την παραγωγή ενώσεων προσθήκης με πυριμιδίνες. Τα ριζικά ιόντα που σχηματίζονται δίνουν τις 6-υδροξυ-5-υλο- ελεύθερες ρίζες. Οι ρίζες που σχηματίζονται με την επίδραση των ελευθέρων ριζών, μπορούν να οξειδωθούν ή να υποστούν αναγωγή ανάλογα με τις οξειδοαναγωγικές τους ιδιότητες και τις ουσίες με τις οποίες αντιδρούν και να σχηματίσει τη μεταλλαξιγόνους βάσεις (*Das S 1984*).

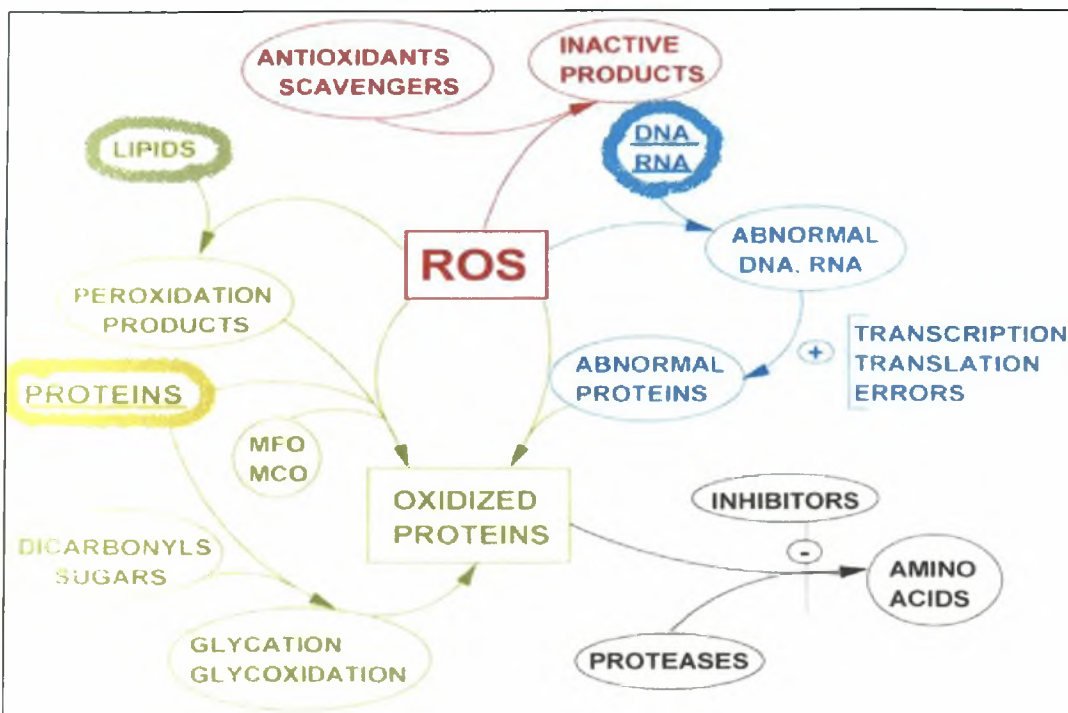
Οι αντιδράσεις της ρίζας υδροξυλίου με τις *πουρινικές* νουκλεοβάσεις (αδενίνη, γουανίνη) είναι προσθήκες στους άνθρακες σε θέσεις C4, C5 και C8, με αποτέλεσμα να σχηματίζονται παρόμοιες ποσότητες οξειδωμένων και αναγωμένων ριζικών ενώσεων προσθήκης (adduct radicals)(*O' Neil P 1983*).

β. Η δεύτερη σημαντική επίδραση των οξυγονούχων ελευθέρων ριζών στην κυτταρική λειτουργία είναι στους μηχανισμούς-οδούς μεταγωγής σημάτων (signal transduction pathways) σε κυτταροπλασματικό και πυρηνικό επίπεδο (*Sedlak DI, et. al. 1991, Haag WR. et. al. 1992*). Για παράδειγμα, το H₂O₂ που διαπερνά εύκολα τις μεμβράνες των κυττάρων και οργανιδίων, μπορεί να οδηγήσει σε μετατόπιση της ανασταλτικής υπομονάδας από τον κυτταροπλασματικό μεταγραφικό παράγοντα στον πυρηνικό παράγοντα kB, επιτρέποντας στον παράγοντα ενεργοποίησης να μεταναστεύει στον πυρήνα (*Sedlak DI, et. al. 1991, Haag WR. et. al. 1992*). Σε άλλο παράδειγμα, η νίτρωση της τυροσίνης από το O=NOO⁻ μπορεί να παρεμποδίζει την φωσφορυλίωση (*Trapido M, et. al. 1995*).

γ. Οι ελεύθερες ρίζες (οξυγονούχες και αζωτούχες) μπορούν να διαμορφώσουν την ενεργότητα των πρωτεϊνών και γονιδίων που ανταποκρίνονται στο οξειδωτικό στρες και τα οποία ρυθμίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, διαφοροποίηση και κυτταρική απόπτωση. Πολυάριθμες έρευνες δείχνουν ότι οι οξυγονούχες ελεύθερες ρίζες ενεργοποιούν ογκογονίδια με τα οποία θεωρείται ότι συμβάλλουν σε μηχανισμούς καρκινογένεσης (*Patterson JW. 1985, Chapman PM et. al. 1982, Exon JH. 1984*).

Έρευνες έχουν δείξει ότι οι βλάβες στο DNA οφείλονται στο κάπνισμα, σε χρόνιες φλεγμονές και σε διαρροές από τα μιτοχόνδρια, οι οποίες αυξάνονται με τη φυσική άσκηση.

Συνοπτικά απεικονίζονται παρακάτω όσα προαναφέρθηκαν για την μοριακή τροποποίηση από τις ελεύθερες ρίζες (**Εικόνα 26**).



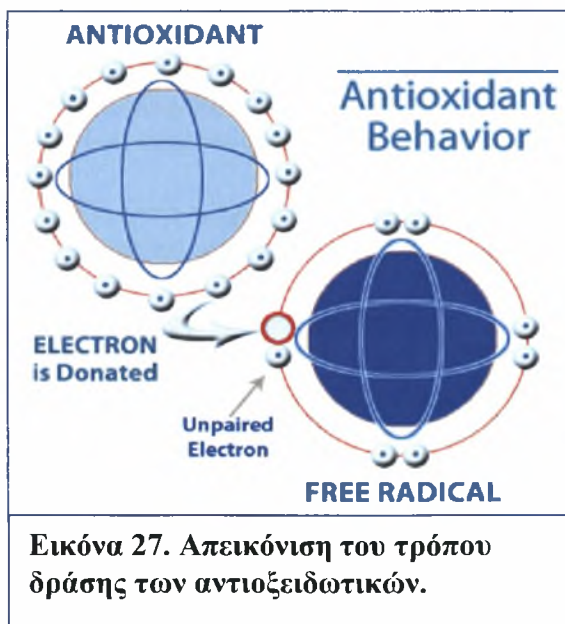
Εικόνα 26. Οι τρεις στόχοι των ενεργών ελεύθερων ριζών του οξυγόνου (και ROS): 1) τα λιπίδια (lipids), 2) οι πρωτεΐνες, 3) τα νουκλεϊκά οξέα (DNA).

1.8. ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΑ

Ορισμός

Τα κύτταρα στην προσπάθειά τους να αντιμετωπίσουν τις επιβλαβείς δράσεις των ελευθέρων ριζών έχουν αναπτύξει αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς οι οποίοι δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες ή μειώνουν την παραγωγή τους.

Αντιοξειδωτικό είναι ένα μόριο ικανό για να επιβραδύνει ή να παρεμποδίσει την οξείδωση άλλων μορίων. Η οξείδωση είναι μια χημική αντίδραση κατά την οποία μεταφέρονται ηλεκτρόνια από μια ουσία σε έναν φορέα οξείδωσης. Οι αντιδράσεις οξείδωσης μπορούν να παραγάγουν ελεύθερες ρίζες, οι οποίες αρχίζουν τις αλυσιδωτές αντιδράσεις και καταστρέφουν τα κύτταρα. Τα αντιοξειδωτικά ολοκληρώνουν αυτές τις αλυσιδωτές αντιδράσεις είτε με την απομάκρυνση των ενδιάμεσων ελεύθερων ριζών, σχηματίζοντας λιγότερο δραστικές ρίζες είτε την παρεμπόδιση των αλυσιδωτών αντιδράσεων οξείδωσης (**Εικόνα 27**). Αυτό το πετυχαίνουν μέσω αυτό-οξείδωσης και μετατρέπονται σε ρίζες οι οποίες



Εικόνα 27. Απεικόνιση του τρόπου δράσης των αντιοξειδωτικών.

όμως δεν είναι δραστικές. Κατά συνέπεια, τα αντιοξειδωτικά είναι συχνά αναγωγικά μέσα όπως οι πολυφαινόλες.

Οι αντιδράσεις οξείδωσης είναι κρίσιμες για τη ζωή, μπορούν επίσης να είναι καταστρεπτικές ως εκ τούτου, τα φυτά και τα ζώα διατηρούν τα σύνθετα συστήματα των πολλαπλάσιων τύπων αντιοξειδωτικών, Τα χαμηλά επίπεδα αντιοξειδωτικών, ή η παρεμπόδιση των αντιοξειδωτικών ενζύμων, της οξειδωτικής πίεσης και μπορούν να βλάψουν ή να σκοτώσουν τα κύτταρα.

Ιστορία

Ο όρος αντιοξειδωτικό αρχικά χρησιμοποιήθηκε για μια συγκεκριμένη χημική ουσία που απέτρεψε την κατανάλωση οξυγόνου. Προς το τέλος του 19^{ου} και αρχές 20^{ου} αιώνα, μια εκτενής μελέτη αφιερώθηκε στις χρήσεις των αντιοξειδωτικών στις σημαντικές βιομηχανικές διαδικασίες, όπως η πρόληψη της διάβρωσης μετάλλων, η θείωση του λάστιχου, και ο πολυμερισμός των καυσίμων στο λέρωμα των μηχανών εσωτερικής καύσεως (*Matill HA, 1947*). Η αρχική έρευνα για το ρόλο των αντιοξειδωτικών στη βιολογία εστίασε στη χρήση τους στην παρεμπόδιση της οξείδωσης των ακόρεστων λιπαρών οξέων. Οι πιθανοί μηχανισμοί της δράσης των αντιοξειδωτικών εξερευνήθηκαν αρχικά όταν αναγνωρίστηκε ότι μια ουσία με την αντιοξειδωτική δραστηριότητα είναι πιθανό να είναι μια εύκολα οξειδωμένη (*Moreau and Dufraisse, 1922*). Έρευνες για την ανακάλυψη του τρόπου με τον οποίο η βιταμίνη Ε αποτρέπει τη διαδικασία της υπεροξειδωσης λιπιδίων οδήγησαν στον προσδιορισμό των αντιοξειδωτικών ως αιτίες μείωσης των οξειδωτικών αντιδράσεων (*Wolf G, 2005*).

Ρόλος αντιοξειδωτικών

- a. Προστατεύουν τις κυτταρικές μεμβράνες, εξουδετερώνοντας τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου.
- b. Δρουν καρδιοπροστατευτικά: Αυξάνουν την ανθεκτικότητα των αγγείων, περιορίζουν τους φλεγμονώδεις παράγοντες, αποτρέπουν την οξείδωση της LDL χοληστερίνης και συμβάλλουν στον έλεγχο των επιπέδων της αρτηριακής πίεσης και της ομοκυστεΐνης.
- c. Ασκούν αντικαρκινική δράση : Μπλοκάρουν ή εμποδίζουν την προσκόλληση επικίνδυνων ενζύμων στους ιστούς, αδρανοποιούν καρκινογόνες ουσίες που προκαλούν μεταλλάξεις σε υγιή κύτταρα κι επιβραδύνουν τους μηχανισμούς καρκινογένεσης.
- d. Βελτιώνουν τις πνευματικές ικανότητες και την ψυχική διάθεση, προστατεύοντας τους νευροδιαβιβαστές από την οξείδωση και βελτιώνοντας την εγκεφαλική μικροκυκλοφορία.
- e. Διατηρούν το δέρμα ελαστικό και το προφυλάσσουν από την πρόωρη γήρανση, περιορίζοντας τη διάσπαση του κολλαγόνου.
- f. Προστατεύουν οστά και αρθρώσεις, περιορίζοντας οιδήματα, φλεγμονές και εκφυλιστικές αλλοιώσεις.
- g. Βελτιώνουν τη λειτουργική κατάσταση του αμφιβληστροειδούς χιτώνα των ματιών και ενισχύουν την όραση.
- h. Δρουν αντιαλλεργικά σε μεγάλο φάσμα αλλεργιών.
- i. Διαφυλάσσουν τα αποθέματα άλλων απαραίτητων θρεπτικών ουσιών στον οργανισμό, αποτρέπουν την καταστροφή τους και, σε ορισμένες περιπτώσεις, ενισχύουν τη δράση τους.

Δεδομένου ότι το οξειδωτική στρες έχει συνδεθεί με την παθογένεια πολλών ανθρώπινων ασθενειών, η χρήση των αντιοξειδωτικών στη φαρμακολογία μελετάται εντατικά, ιδιαίτερα ως θεραπείες νευρογενετικών ασθενειών. Εντούτοις, είναι άγνωστο εάν η οξειδωτική πίεση είναι η αιτία ή η συνέπεια τέτοιων ασθενειών. Τα αντιοξειδωτικά επίσης ευρέως χρησιμοποιούνται ως συστατικά στα διαιτητικοί συμπληρώματα με την ελπίδα της διατήρησης της υγείας και της παρεμπόδισης των ασθενειών όπως ο καρκίνος και οι στεφανιαίοι καρδιακές παθήσεις. Παρόλο που μερικές μελέτες έχουν αποδείξει ότι τα αντιοξειδωτικά συμπληρώματα παρουσιάζουν οφέλη στην υγεία, υπάρχουν μεγάλες κλινικές δοκιμές οι οποίες δεν ανίχνευσαν κάποιο όφελος στην υγεία. Να σημειωθεί τέλος ότι η υπερβολική συμπλήρωση μπορεί περιστασιακά να είναι επιβλαβής.

Κατηγορίες

Τα αντιοξειδωτικά μπορούν να καταταχθούν σε πολλές διαφορετικές κατηγορίες ανάλογα με το κριτήριο κάθε φορά.

Ένας πρώτος διαχωρισμός που έχει ως κριτήριο τη την χημική τους φύση, δημιουργεί δυο μεγάλες κατηγορίες: *ενζυμικά* και *μη ενζυμικά*. Τα ενζυμικά είναι ενδογενή, ενώ τα μη ενζυμικά είναι εξωγενή και προέρχονται κυρίως από την τροφή.

Ένας δεύτερος διαχωρισμός είναι με βάση τη λειτουργία τους και τα κατατάσσει στις παρακάτω 4 κατηγορίες (Noguchi, N. Et. al. 2000):

1. Αντιοξειδωτικά της πρώτης γραμμής άμυνας ενάντια στις ελεύθερες ρίζες. Αυτά καταστέλλουν το σχηματισμό ελεύθερων ριζών (υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, καταλάση, σεληνιοπρωτεΐνες, τρανσφερρίνη, φερριτίνη, λακτοφερρίνη, καροτενοειδή).

2. Αντιοξειδωτικά δεύτερης γραμμής άμυνας. Αυτά εμποδίζουν την έναρξη των αλυσιδωτών αντιδράσεων και/ή διακόπτουν τη διάδοση της αντίδρασης.

3. Αντιοξειδωτικά τρίτης γραμμής άμυνας. Αυτά επιδιορθώνουν και είναι *de novo* αντιοξειδωτικά (πρωτεολυτικά ένζυμα, ένζυμα επιδιόρθωσης του DNA).

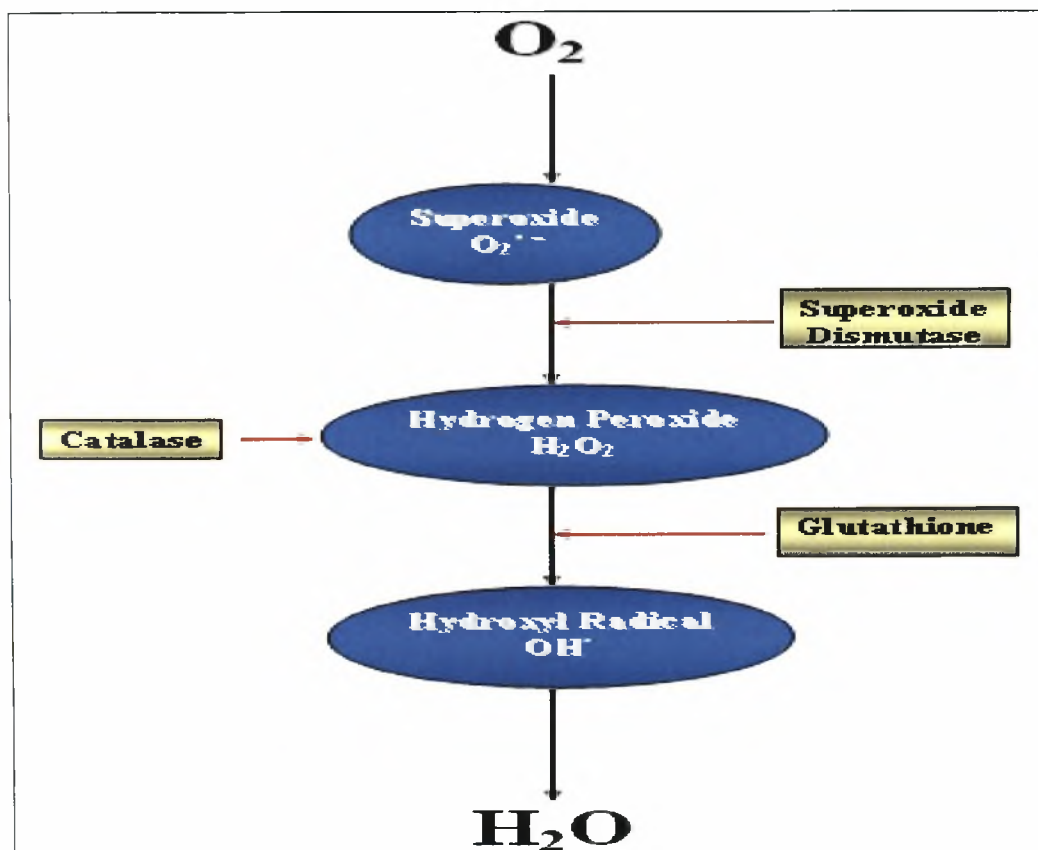
4. Αντιοξειδωτικά τέταρτης γραμμής άμυνας. Αυτά ενεργοποιούνται για το σχηματισμό και τη μεταφορά των κατάλληλων στη σωστή θέση μέσω του σήματος για την παραγωγή και τις αντιδράσεις των ελεύθερων ριζών.

Συγκεντρωτικά στον παρακάτω πίνακα φαίνονται οι κατηγορίες των αντιοξειδωτικών (Πίνακας 5). Στην εικόνα 28 παρουσιάζεται η δράση των ενζυμικών αντιοξειδωτικών ενάντια στις ελεύθερες ρίζες.

Πίνακας 4.

ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ

ENZYMΙΚΑ	ΜΗ ENZYMΙΚΑ	
	1 ^η Αντιοξειδωτικές βιταμίνες	2 ^η Άλλα αντιοξειδωτικά (εκτός των βιταμινών)
a. Δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD) b. Καταλάση c. Αναγωγή ή περοξειδάση της γλουταθειόνης	a. Βιταμίνη Ε (τοκοφερόλη) b. Βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ) c. β-καροτένιο και βιταμίνη Α (ρετινόλη)	a. ΣυνενζυμοQ10(ουβικινολη) b. Φλαβονοειδή c. Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα d. κυστεΐνη, ψευδάργυρος e. Ουρικό οξύ. f. Πρωτεΐνες θερμικού σοκ (Heat Shock Protein, HSP) g. Φερριτίνη h. γλουταθειονη (gsh), i. Μελατονίνη



Εικόνα 28. Σχηματική απεικόνιση της δράσης των αντιοξειδωτικών ενάντια στις ελεύθερες ρίζες και ROS που παράγονται από το οξυγόνο. Συγκεκριμένα, φαίνεται ότι αρχικά δρα η δισμουτάση του σουπεροξειδίου (SOD), ακολουθεί η καταλάση και η γλουταθειόνη ανάλογα με τις ελεύθερες ρίζες με τις οποίες αντιδρούν.

1.9. ΑΛΛΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Το πράσινο τσάι, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, έχει αντιοξειδωτικές ικανότητες και γι' αυτό μπορεί να συμβάλει σημαντικά στην πρόληψη του καρκίνου. Συγκεκριμένα, θεραπεύει το οξειδωτικό στρες υπερβολική οξείδωση στον οργανισμό και κυρίως των λιπιδίων). Πληθώρα επιστημονικών μελετών πιστοποιούν την ισχυρή αντιοξειδωτική, αντικαρκινική, αντιφλεγμονώδη και επουλωτική δράση του πράσινου τσαγιού, όπως επίσης και την προστασία που παρέχει ενάντια στην υπεριώδη ακτινοβολία. Επίσης, η κοσμητολογία θεωρεί το πράσινο τσάι σαν το πιο δυνατό όπλο της φύσης στην μάχη με το χρόνο εξαιτίας των ισχυρών αντιοξειδωτικών και αντιγηραντικών ιδιοτήτων του, καθώς επίσης και το ιδανικό συστατικό για την καθημερινή περιποίηση και προστασία της επιδερμίδας. Όμως, υπάρχουν και αρκετά άλλα νοσήματα που προλαμβάνει και ενδεχομένως θεραπεύει το πράσινο τσάι.

Το πράσινο τσάι φαίνεται να έχει τις παρακάτω επιδράσεις:

- Χημειοπροστατευτική δράση που οφείλεται στην δράση των κατεχινών. Τα συστατικά αυτά θεωρούνται ότι εμποδίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Εργαστηριακές μελέτες έχουν δείξει ότι οι πολυφαινόλες του πράσινου τσαγιού προωθούν τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση) στα ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα και εμποδίζουν την ανάπτυξη όγκων με το να αναστέλλουν τον παράγοντα νέκρωσης όγκου (TNFα) και με την προώθηση άλλων αντικαρκινικών δράσεων. Έρευνες σε ζώα έχουν επίσης δείξει την ανασταλτική δράση του πράσινου τσαγιού έναντι των καρκινογόνων.
- Αντιβακτηριακή και αντιική δράση. Εργαστηριακές μελέτες έχουν δείξει ότι οι πολυφαινόλες του πράσινου τσαγιού εμποδίζουν την ανάπτυξη των βακτηρίων που προκαλούν διάρροια και των ιών που προκαλούν γρίπη.
- Μείωση της χοληστερόλης και κυρίως της οξείδωσης των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών (LDL).
- Παρεμπόδιση της συσσώρευσης αιμοπεταλίων.
- Προστασία από τη νόσο του Parkinson και άλλες νευροεκφυλιστικές ασθένειες, διότι οι πολυφαινόλες του εμποδίζουν τον τραυματισμό των νευρικών κυττάρων από νευροτοξίνες και δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες στις, οποίες οφείλονται οι παραπάνω ασθένειες.
- Άλλες μελέτες σε πειραματόζωα έδειξαν ότι το πράσινο και μαύρο ενισχύουν τη δράση της ινσουλίνης, δηλαδή η αντιδιαβητική δράση του τσαγιού οφείλεται στο φαινολικό συστατικό του EGCG, το οποίο αυξάνει την ευαισθησία των ιστών στην ινσουλίνη και αναστέλλει τη δράση του ενζύμου α-αμυλάση (διασπά υδατάνθρακες).
- Πρόληψη του πολλαπλασιασμού των βακτηριδίων, που ευθύνονται για την τερηδόνα. Επίσης το τσάι είναι πηγή φθορίου, ιδιαίτερα χρήσιμο σε χώρες που το νερό περιέχει λίγο φθόριο.
- Προστασία από εγκεφαλικό, παθήσεις του ήπατος, καθώς και μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης οστεοπόρωσης (τα φυτοοιστρογόνα του τσαγιού είναι αυτά που επηρεάζουν θετικά την οστική πυκνότητα και προλαμβάνονται έτσι τα οστεοπορωτικά κατάγματα)
- Προστασία καρδιαγγειακού συστήματος. Οι πολυφαινόλες του πράσινου τσαγιού έχουν αποδειχτεί ότι είναι αντιοξειδωτικά και αντιφλεγμονώδη για το καρδιακό σύστημα (*Tipoe GLLeung 2007*). Συγκεκριμένα, προστασία από θρομβώσεις, συσσώρευση αιμοπεταλίων και αθηρωμάτωση, επιτυγχάνοντας χαμηλότερα επίπεδα χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων. Είναι αξιοσημείωτο

ότι όσοι πίνουν πράσινο τσάι έχουν υψηλά επίπεδα HDL «καλής χοληστερόλης». Μια πρόσφατη έρευνα, που ονομάστηκε " Zutphen Elderly Study ", σε 805 ενήλικες Ολλανδούς, έδειξε ότι τα άτομα που κατανάλωναν υψηλές συγκεντρώσεις φλαβονοειδών στη διαίτα τους είχαν 60% λιγότερες πιθανότητες να αναπτύξουν στεφανιαία νόσο, σε σχέση με αυτά που κατανάλωναν μικρές συγκεντρώσεις αντίστοιχα

- Καταρράκτης (επιβραδύνει την εξέλιξη της θάμπωσης των φακών)
- Παχυσαρκία. Η δράση του εντοπίζεται στην ικανότητα του πράσινου τσαγιού να δημιουργεί θερμογένεση, διαδικασία κατά την οποία ο οργανισμός καίει θερμίδες. Οφείλεται στην παρουσία της κατεχίνης (EGCG) και τη συνεργασία της με την καφεΐνη. Η μείωση της απορρόφησης του λίπους από τον οργανισμό και η μεγιστοποίηση της καύσης του λίπους επιτυγχάνεται χάρη στην παρουσία αυτών των δύο συστατικών στο πράσινο τσάι.

1.10. ΠΙΘΑΝΕΣ ΑΠΟΡΙΕΣ ΓΙΑ ΤΟ ΠΡΑΣΙΝΟ ΤΣΑΙ

Πιθανές παρενέργειες πράσινου τσαγιού

Όταν το πράσινο τσάι χρησιμοποιούνται υπερβολικά, βασιζόμενα στην παρερμηνεία ότι οι συχνές κινήσεις του εντέρου αποτρέπουν την απορρόφηση των θερμίδων, έχουμε σαν συνέπεια να αρχίσουν να εμφανίζονται τα προβλήματα. Οι πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει ότι η διάρροια που προκαλείται από τη λήψη καθαρτικών, δεν μειώνει σημαντικά την απορρόφηση των θερμίδων γιατί τα καθαρτικά δε δρουν στο λεπτό έντερο, όπου απορροφώνται οι θερμίδες.

Όταν το πράσινο τσάι λαμβάνεται περισσότερο από την προτεινόμενη δοσολογία, μπορεί να εμφανιστούν ανεπιθύμητες ενέργειες. Για εκείνους που πίνουν για πρώτη φορά πράσινο τσάι, οι κοινές διαταραχές που μπορεί να εμφανιστούν και να διαρκέσουν για αρκετές ίσως ημέρες είναι *πόνος του στομαχιού, εμετός, ναυτία και διάρροια*.

Αυτές οι συνέπειες της υπερβολικής χρήσης των πράσινων τσαγιών είναι περισσότερο πιθανό να εμφανισθούν στους ανθρώπους που δεν τρέφονται σωστά γιατί ακολουθούν αυστηρές δίαιτες απώλειας βάρους. Είναι σημαντικό ότι εκείνοι που χρησιμοποιούν τα πράσινα τσάγια για οποιοδήποτε σκοπό, να διαβάσουν προσεκτικά και να ακολουθήσουν πιστά τις συνιστώμενες οδηγίες και δοσολογία, διαφορετικά μπορεί να θέσουν την υγεία τους σε κίνδυνο. Γενικά, το πράσινο τσάι εφόσον χρησιμοποιούνται κατάλληλα και στη συνιστώμενη δοσολογία, είναι ασφαλή.



Εικόνα 29.
Φακελάκι
πράσινου τσαγιού.

Μορφές του στο εμπόριο

Στο πράσινο τσάι εμπεριέχονται φλαβονόλες, ταννίνες, μεταλλικά στοιχεία, ελεύθερα αμινοξέα και μέθυλοξανθίνες (καφεΐνη, θεοφυλλίνη και θεοβρωμίνη) και διατίθεται με τη μορφή κάψουλας αλλά και σε φακελάκια (**Εικόνα 29**).

Δόση

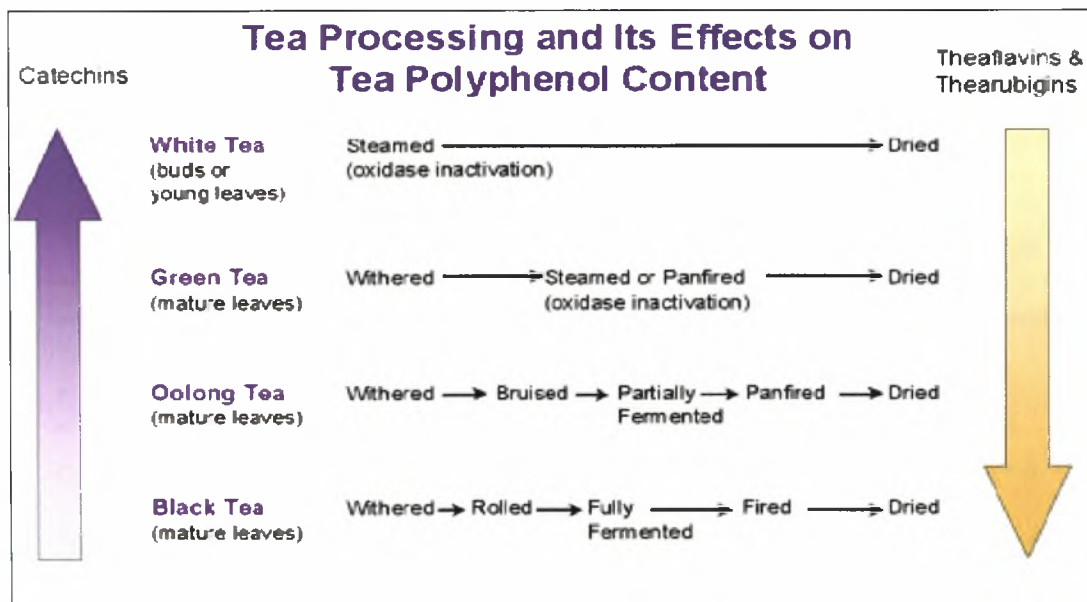
Δεν υπάρχει συγκεκριμένη δόση, αλλά συνήθως χρησιμοποιούνται δόσεις των 250 – 300 mg ημερησίως. Τα συμπληρώματα θα πρέπει να είναι τυποποιημένα με σύσταση 50 – 97% σε πολυφαινόλες και να εμπεριέχουν, ανά δόση, τουλάχιστον 50% γαλλική επιγαλλοκατεχίνης. Τέσσερις με έξι κούπες εγχύματος νωπών φύλλων τσαγιού προσδίδουν την ίδια ποσότητα περίπου σε πολυφαινόλες.

Πρόσθετες ουσίες

Οι ζάχαρες, οι γλυκαντικές ουσίες, το λεμόνι και το γάλα δεν εμφανίζονται να επηρεάζουν τα αντιοξειδωτικά επίπεδα των πολυφαινόλων του πράσινου τσαγιού²⁰

Σύγκριση των τεσσάρων κύριων τύπων τσαγιού (Εικόνα 30):

- **Μαύρο τσάι.** Τα φύλλα οξειδώνονται πλήρως κατά την επεξεργασία, παράγοντας ένα δυνατό άρωμα με υψηλά επίπεδα καφεΐνης. Αυτός ο τύπος τσαγιού περιέχει τη μικρότερη ποσότητα κατεχινών (είδος φωτοχημικού που σχετίζεται με αρκετά υγιεινά πλεονεκτήματα) εξαιτίας της μεγάλης διάρκειας επεξεργασίας. Στο Δυτικό κόσμο, το μαύρο τσάι έχει πάρει το όνομά του από το χρώμα των φύλλων του τσαγιού. Στην Κίνα, μερικές φορές αποκαλείται κόκκινο τσάι λόγω του χρώματος που έχει το παραγόμενο ρόφημα. Στις ΗΠΑ είναι το τσάι με τη μεγαλύτερη κατανάλωση.
- **"Oolong" τσάι.** Συνδυασμός μαύρου και πράσινου τσαγιού. Τα φύλλα είναι μερικώς οξειδωμένα κατά την επεξεργασία. Συνήθως οξειδώνονται για 2-3 μέρες οπότε και διακόπτεται η οξείδωση πριν ολοκληρωθεί. Ο χρόνος επεξεργασίας είναι ανάμεσα στους χρόνους του μαύρου τσαγιού και του πράσινου τσαγιού ενώ η γεύση μοιάζει περισσότερο με αυτή του πράσινου τσαγιού.
- **Πράσινο τσάι.** Η μικρότερη οξείδωση, η οποία επέρχεται συνήθως κατά την εξάτμιση ή το ξηρό ψήσιμο σε καυτές κατσαρόλες. Το πράσινο τσάι συνήθως επεξεργάζεται μέσα σε 2 μέρες από τη στιγμή που θα γίνει η συγκομιδή και παράγεται από ώριμα φύλλα τσαγιού. Το πράσινο τσάι έχει περισσότερα αντιοξειδωτικά από το μαύρο τσάι και το oolong αλλά λιγότερα από το άσπρο, διότι έχει πολύ μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε κατεχίνες από το μαύρο.
- **Άσπρο τσάι.** Παράγεται από νέα φύλλα που δεν έχουν γίνει ακόμα πράσινα. Τα φύλλα μπαίνουν στον ατμό και ξηραίνονται σχεδόν αμέσως αφότου συλλεχθούν και δεν αφήνονται να οξειδωθούν καθόλου. Το άσπρο τσάι έχει τα υψηλότερα επίπεδα αντιοξειδωτικών από τα 4 είδη τσαγιού. Αυτός ο τύπος τσαγιού είναι ακριβός και δεν είναι συνηθισμένος έξω από την Κίνα.



Εικόνα 30. Σύγκριση των τεσσάρων τύπων τσαγιού που προέρχονται από το φυτό, *Camellia Sinensis*. Συγκεκριμένα παρουσιάζονται οι διαφορές του τρόπου παραγωγής της ποσότητας των κατεχινών και των θεοφλαβονοειδών.

Προσοχή

Αν και οι επιστήμονες έχουν εκθέσει τις πολύτιμες πληροφορίες για τα υψηλά επίπεδα ισχυρών αντιοξειδωτικών που βρίσκονται στο πράσινο τσάι, είναι ακόμα σημαντικό να σημειωθεί ότι η ισορροπημένη διατροφή είναι απαραίτητη για την διατήρηση της καλής υγείας. Για παράδειγμα, τα φρούτα και τα λαχανικά προσφέρουν τις ζωτικής σημασίας πηγές βιταμινών, ανόργανων αλάτων, και ίνας που δεν βρίσκεται σε άλλες ομάδες τροφίμων στην ανθρώπινη διατροφή.

1.11. ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

↳ Τι είναι;

Ένα φαινόμενο κατά το οποίο τα επίπεδα των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) και αζώτου (RNS) υπερβαίνουν τα φυσιολογικά όρια, με αποτέλεσμα να γίνεται καταστροφικό για τους ιστούς και κατ' επέκταση για την υγεία του οργανισμού. Πρόκειται δηλαδή για μια ανισορροπία ανάμεσα στην παραγωγή ελεύθερων ριζών και στην υπάρχουσα αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού, με αποτέλεσμα να υφίσταται πλεονασμός από ROS. Είναι ένας σημαντικός παράγοντας στην υγεία και στην ασθένεια.

↳ Πού οφείλεται;

Η αύξηση αυτή του ποσοστού των ROS και RNS μπορεί να οφείλεται σε μια από τις δυο παρακάτω αιτίες:

1. Στην υπερπαραγωγή ελευθέρων ριζών, που ίσως προέρχεται από αύξηση των επιπέδων των τοξινών ή της ενεργοποίησης των φυσικών συστημάτων παραγωγής ROS/RNS,
2. Στην ανεπάρκεια ή μείωση των κυτταρικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών λόγω
 - α. τοξικών παραγόντων που μειώνουν την φυσική αντιοξειδωτική άμυνα
 - β. μεταλλάξεων που επηρεάζουν την λειτουργία των αντιοξειδωτικών ένζυμων,
 - γ. διατροφικών ελλείψεων ή μειωμένης πρόσληψης αντιοξειδωτικών λόγω κακής διατροφής.

↳ Παράγοντες δημιουργίας του

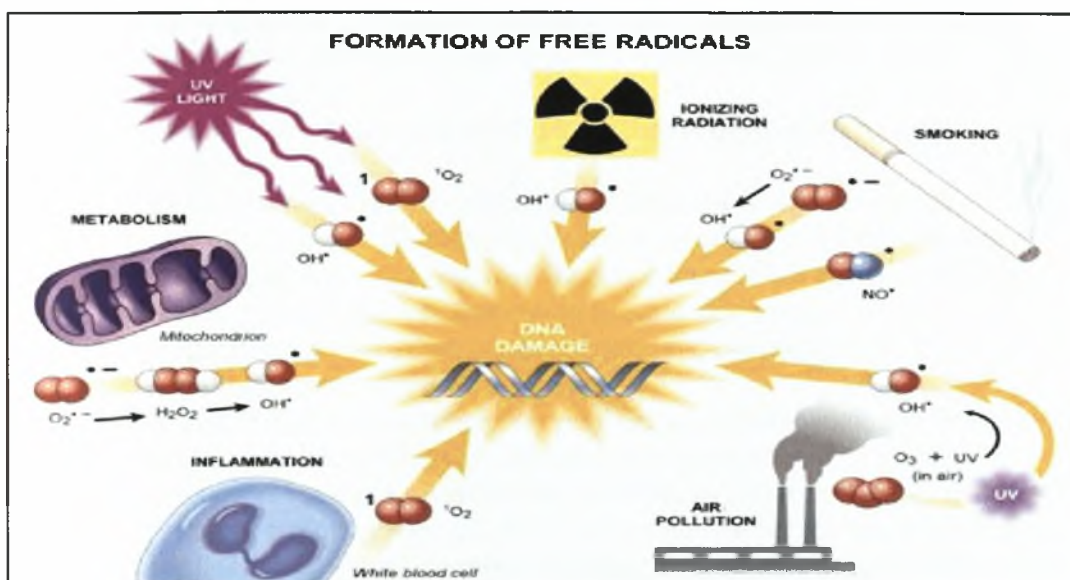
Οι παράγοντες που αυξάνουν τα επίπεδα των ελευθέρων ριζών και κατά επέκταση προκαλούν οξειδωτικό στρες είναι πολυάριθμοι. Όμως, ταξινομούνται σε δυο κατηγορίες ανάλογα με την προέλευση τους, στους εξωγενείς και ενδογενείς παράγοντες.

Οι κυριότερες εξωγενείς καταστάσεις ή/ και περιβάλλοντα είναι (**Εικόνα 31**):

- Χημικά και τοξίνες
- Αυξανόμενη κατανάλωση οξυγόνου (δραστηριότητα ή σωματική άσκηση υψηλής έντασης)
- Κάπνισμα
- Περιβαλλοντική ρύπανση (μόλυνση νερού, αέρα, τροφής),
- Ηλιακή (υπεριώδης) ακτινοβολία και διαφόρων τύπων ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία
- Κακή διατροφή (τα λιπαρά γεύματα, η στέρηση φρούτων και λαχανικών από τη διαίτα, η πολυφαγία)
- Έλλειψη σωματικής άσκησης
- Ασθένειες κυρίως χρόνιας φλεγμονής. Για παράδειγμα, η έλλειψη οξυγόνου, συνηθισμένη στο εγκεφαλικό επεισόδιο και τη στεφανιαία νόσο, οδηγούν σε

οξειδωτικό στρες. Αυτό με τη σειρά του ενεργοποιεί το ένζυμο PLA₂ (Bazan *ym.* 2002), το οποίο μπορεί να καταστρέψει τα βασικά λιπαρά οξέα από τα εγκεφαλικά κύτταρα και να επηρεάσει την επαρκή λειτουργία της ντοπαμίνης, σεροτονίνης και άλλων νευροδιαβιβαστών

- Φάρμακα. Για παράδειγμα, τα νευροληπτικά (αλοπεριδόλη, φλουφανζίδη) προκαλούν οξειδωτικό στρες στον εγκέφαλο και μπορεί να βλάψουν τους νευρώνες (εγκεφαλικά κύτταρα). Ένα άλλο ψυχιατρικό φάρμακο η κλοπαζίνη, καθαυτή, δρά ως ελεύθερη ρίζα.
- Κανάλωση αλκοόλ
- Ρύποι (CO₂, NO₂)
- Παθογενή βακτήρια και ιοί
- Άγχος.



Εικόνες 31. Απεικόνιση κάποιων σημαντικών παραγόντων δημιουργίας των ROS και συνεπώς δημιουργίας οξειδωτικού στρες.

Οι σημαντικότερες ενδογενείς πηγές ROS:

- Ένζυμα που μπορούν άμεσα να παράγουν υπεροξείδιο, π.χ. οι η οξειδάση της ξανθίνης, οξειδάσεις NADPH και το κυτόχρωμα P450 που παράγουν υπεροξείδιο. Πιο συγκεκριμένα, η οξειδάση της ξανθίνης που μετατρέπει την ξανθίνη σε ουρικό οξύ καθώς επίσης και το οξυγόνο σε υπεροξείδιο
- Ένζυμα που παράγουν υπεροξείδιο του υδρογόνου π.χ. μονοξυγενάσες και οξειδάσες.
- Μιτοχόνδρια, στους αερόβιους οργανισμούς σε περίπτωση αποφυγής κάποια ποσότητας ενεργού οξυγόνου κατά την διάρκεια της οξειδωτικής αναπνοής.
- Κύτταρα όπως τα φαγοκύτταρα και ουδετερόφιλα που μετά την ενεργοποίησή τους παράγουν ελεύθερες ρίζες εκτός των υπολοίπων προϊόντων τους.



Εικόνα 32. Σχηματική αναπαράσταση της δημιουργίας και των επιπτώσεων του οξειδωτικού στρες.

↳ **Επιπτώσεις του**

Τα αποτελέσματα του οξειδωτικού στρες (Εικόνα 32) εξαρτώνται από το μέγεθος αυτών των αλλαγών. Έτσι, το κύτταρο προσπαθεί να υπερνικήσει τις μικρές διαταραχές και να επανακτήσει το αρχική του κατάσταση. Σε περιπτώσεις όμως έντονων οξειδωτικών στρες έχουμε κάποια αρνητικά αποτελέσματα για τον οργανισμό. Αυτά είναι τα εξής:

1. Τραυματισμό των ιστών, προκαλώντας καταστροφή στο DNA, τις πρωτεΐνες και τα λιπίδια.

2. Κυτταρικό θάνατο μέσω δύο μηχανισμών ανάλογα με την ένταση του οξειδωτικού στρες: α. νέκρωση. Σε αυξημένα επίπεδα οξείδωσης η ζημία προκαλεί ATP μείωση, που αποτρέπει τον ελεγχόμενο κυτταρικό θάνατο και που αναγκάζει το κύτταρο για να καταρρεύσει απλά ή β. απόπτωση (μετρία οξείδωση).

3. Προσαρμογή, για παράδειγμα μέσω αύξησης της έκφρασης της αντιοξειδωτικής άμυνας (Barry Halliwell., 2001).

Το οξειδωτικό στρες ευθύνεται σχεδόν για όλες τις εκφυλιστικές παθήσεις, καθώς και την πρόωγη γήρανση. Με τις οξειδώσεις που δημιουργούν οι παραπάνω παράγοντες (λόγω των αυξημένων επιπέδων των ελευθέρων ριζών) επέρχονται αλλοιώσεις στην κυτταρική μεμβράνη και σε άλλα δομικά συστατικά του κυττάρου. Έτσι, έχουμε προσβολή διάφορων βιομορίων (λιπίδια, πρωτεΐνες, σάκχαρα, DNA κ.ά) από τα ROS, προκαλώντας οξειδωτική καταστροφή των κυττάρων, δυσλειτουργία των μεμβρανών, τροποποίηση πρωτεϊνών, απενεργοποίηση ενζύμων και σχάση ή τροποποίηση των βάσεων του DNA. Αυτό έχει ως συνέπεια Πρόωγη γήρανση και μια σειρά παθολογικών καταστάσεων και ασθενειών όπως Καρκίνος, Καρδιαγγειακές παθήσεις, Καρκίνος, Ρευματικά νοσήματα, Αρθρίτιδες, πρόωρο Γήρας, Καταρράκτης, Γεροντική Άνοια, Alzheimer, Νόσος του Parkinson, Διαβήτης, Αλλεργίες, Άσθμα, Παχυσαρκία, Ηπατοπάθειες, Λοιμώξεις και Φλεγμονές, Σχιζοφρένεια και Κατάθλιψη κλπ.

Επιπλέον, το οξειδωτικό στρες καταστρέφει τα λιπαρά οξέα στις κυτταρικές μεμβράνες και παράγει τοξικές ουσίες, όπως η μαλονδιαλδεϋδη (MAD) και οι αντιδρώσες ουσίες του θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBARs). Αυτές οι τοξικές ενώσεις επιδεινώνουν την ανάπτυξη των ψυχιατρικών καταστάσεων.

Σύμφωνα με Halliwell, το οξειδωτικό εμφανίζεται στις περισσότερες ανθρώπινες ασθένειες. Αυτό δεν σημαίνει ότι η οξειδωτική πίεση είναι η αιτία των περισσότερων ασθενειών. Η αύξηση των ελευθέρων ριζών μπορεί να είναι δευτεροβάθμια στη διαδικασία ασθενειών.

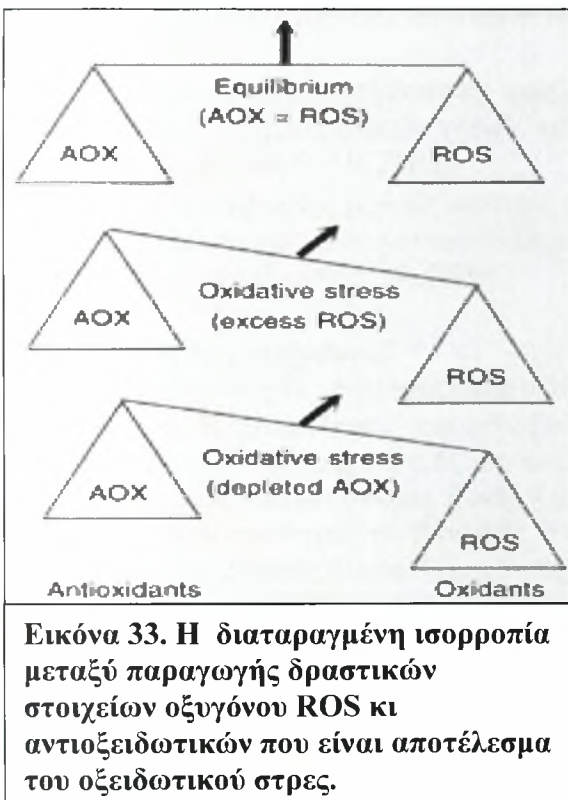
☞ Αντιμετώπιση οξειδωτικού στρες

Το οξειδωτικό στρες μπορεί να αντιμετωπισθεί ή να προληφθεί με ποικίλους τρόπους ανάλογα με την προέλευση του.

A. Σε περίπτωση υγιών ατόμων σημαντικό ρόλο παίζει η βελτίωση τρόπου ζωής, η διακοπή καπνίσματος, η βελτίωση διατροφικών συνηθειών, η άσκηση, η παραπέρα διερεύνηση για να αποκλεισθεί η πιθανότητα υποκείμενης ασθένειας και λήψη αντιοξειδωτικών ουσιών.

B. Σε περίπτωση ατόμων με κάποια σχετική ασθένεια, Επανεκτίμηση της θεραπευτικής αγωγής.

Επομένως, το οξειδωτικό στρες είναι ένα ζωτικό σήμα κινδύνου και η παρακολούθησή του είναι θεμελιώδους σημασίας για την προληπτική ιατρική και την διατήρηση της υγείας καθώς επίσης και για τον έλεγχο σχετικών θεραπειών, σε ένα μεγάλο φάσμα εφαρμογών.



1.12. ΑΣΚΗΣΗ

Για τα περισσότερα ζώα η κίνηση είναι ουσιώδης για την επιβίωσή τους. Για τον άνθρωπο συγκεκριμένα, η άσκηση εκτός από μέσο επιβίωσης αποτελεί πλέον τρόπο ζωής, αναζωογόνησης και πολλές φορές συστήνεται για την αντιμετώπιση διαφόρων ασθενειών.

Η *σωματική άσκηση* είναι μια δραστηριότητα που αναπτύσσει ή διατηρεί τη φυσική κατάσταση και γενικά την υγεία. Η συχνή και κανονική σωματική άσκηση ενισχύει τους μυς και το καρδιαγγειακό σύστημα και βοηθάει το ανοσοποιητικό σύστημα. Αποτρέπει τις ασθένειες όπως οι καρδιακές παθήσεις, καρδιαγγειακό ασθένεια, τύπου 2 διαβήτη και την παχυσαρκία. Αυτό βελτιώνει επίσης τη διανοητική υγεία και βοηθούν την κατάθλιψη.

Η αεροβική άσκηση είναι οποιαδήποτε μεγάλη δραστηριότητα μυών που μπορείτε να στηρίζετε για δύο έως τρία λεπτά ή περισσότερο, επειδή η άσκηση για τις παρατεταμένες περιόδους απαιτεί μια πηγή οξυγόνου και παράδοσής της στους μυς. Επειδή η αεροβική άσκηση απαιτεί το οξυγόνο από τον αέρα για να φτάσει στους μυς, η άσκηση μπορεί να συνεχιστεί μόνο όταν μια πηγή οξυγόνου είναι διαθέσιμη. Η καρδιά και οι πνεύμονές σας λειτουργούν μαζί για να παρέχουν το οξυγόνο στους ιστούς στο σώμα σας. Σε όσους αθλούνται για αρκετό χρονικό διάστημα με αερόβια άσκηση βελτιώνεται η αποδοτικότητα καρδιών και πνευμόνων.

☞ **Θετικές επιδράσεις**

Οι θετικές επιδράσεις της άσκησης στον οργανισμό είναι οι εξής παρακάτω:

- ☞ Αναζωογονεί το ανθρώπινο σώμα,
- ☞ Η εντατική άσκηση αυξάνει τη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων μεταξύ των οποίων της SOD, της καταλάσης και της GSH-Px στον σκελετικό μυ, την καρδιά και το ήπαρ (*Ji, L. L et. al. 1992, 1993, 2000*).
- ☞ Η τακτική φυσική άσκηση συμβάλλει στη μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρδιακών νόσων, καρκίνου, οστεοπόρωσης και διαβήτη (*McCarter R.J.M 2000*).
- ☞ Συγκεκριμένες μορφές άσκησης βελτιώνουν τη λειτουργία των σκελετικών μυών και συμβάλλουν στη διατήρηση της μυϊκής μάζας (*C. Leeuwenburgh et. al. 2001*)

☞ **Αρνητικές επιδράσεις**

Μια περίοδος της άσκησης στην ικανοποιητική ένταση είναι καλή για να υποκινήσει τις δραστηριότητες των αντιοξειδωτικών ενζύμων. Αυτό θα μπορούσε να θεωρηθεί ως αμυντικός μηχανισμός του κυττάρου κάτω από την οξειδωτική πίεση. Εντούτοις, η παρατεταμένη βαριά άσκηση μπορεί να προκαλέσει μια παροδική μείωση της περιεκτικότητας σε βιταμίνες Ε ιστού και μια αλλαγή της οξειδοαναγωγικής θέσης γλουταθειού στους διάφορους ιστούς σωματίων. Αυτό φανερώνει την ανάγκη του συστήματος να προστατευθεί από την δράση των ελευθέρων ριζών.

Επίσης, έχει βρεθεί ότι η έντονη άσκηση σε απροπόνητα άτομα, στα οποία δεν έχουν αναπτυχθεί οι παραπάνω προσαρμογές, αυξάνει την παραγωγή ελεύθερων ριζών, οι οποίες όπως έχει αναφερθεί είναι ιδιαίτερα καταστροφικές (*C. Leeuwenburgh et. al. 2001*).

Στο σημείο αυτό γίνεται φανερό ένα παράδοξο γεγονός. Από την μια μεριά είναι γνωστό ότι η άσκηση μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης κάποιων ασθενειών και από την άλλη η παραγωγή ελεύθερων ριζών λόγω της άσκησης οδηγεί στην δημιουργία των ασθενειών. Για παράδειγμα τα καρδιοαγγειακά νοσήματα, όπου η άσκηση μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης τους, αλλά ταυτόχρονα η παραγωγή ελεύθερων ριζών αποτελεί μια βασική αιτία τους (*Elosua, R., Molina et. al. 2003*).

☞ **Συσχέτιση άσκησης – οξειδωτικού στρες**

Η πρώτη συσχέτιση μεταξύ άσκησης και οξειδωτικού στρες έγινε το 1978 από τους *Dillard et al.* Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε ότι η άσκηση αυξάνει την υπεροξειδωση των λιπιδίων στα κύτταρα. Έκτοτε μεγάλος αριθμός μελετών ασχολήθηκε με τη σύνδεση της άσκησης και του οξειδωτικού στρες.

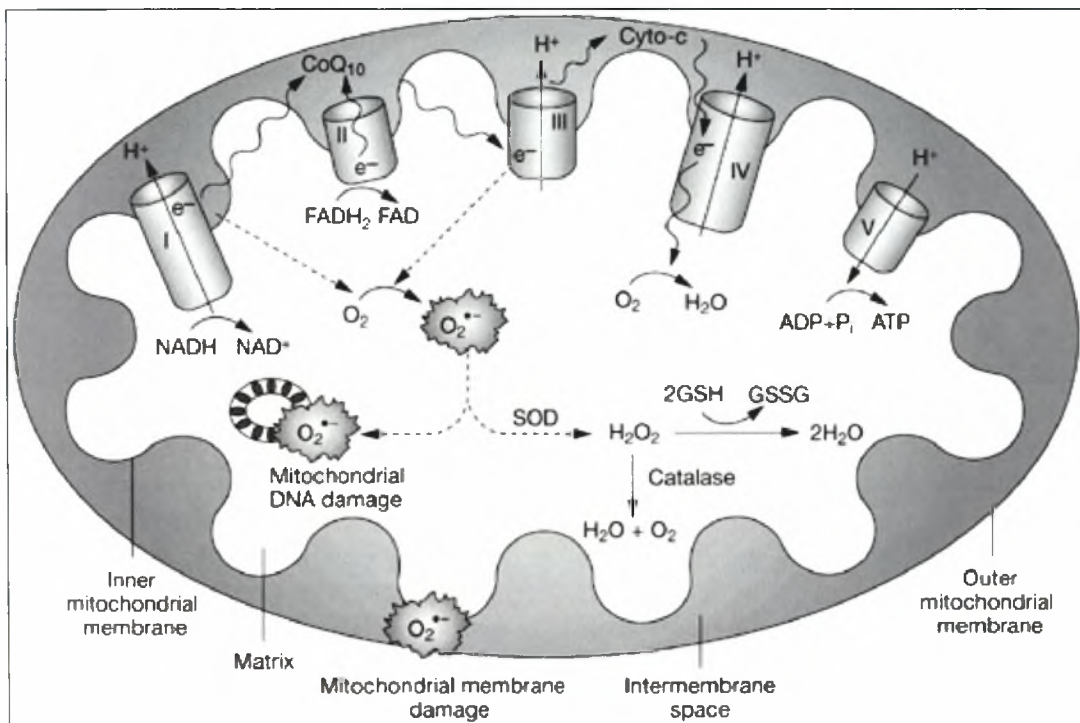
Είναι γεγονός πως οι ROS είναι υπεύθυνες για την εκκίνηση της υπεροξειδωσής των λιπιδίων και συγκεκριμένα της LDL λιποπρωτεΐνης. Αυτή η υπεροξειδωση εξαρτάται από την αντιοξειδωτική ικανότητα του αίματος και μπορεί να αυξηθεί κάτω από καταστάσεις οξειδωτικού στρες οφειλομένου σε φυσική άσκηση. Ωστόσο αυτή η επίδραση εξισορροπείται σε αθλητές διότι η φυσική άσκηση προσδίδει την ικανότητα προσαρμογής στο οξειδωτικό στρες μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων.

↳ Πηγές οξειδωτικού στρες στην άσκηση

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω (αρνητικές επιδράσεις) κατά την έντονη άσκηση παράγονται ROS. Οι πηγές από τις οποίες μπορεί να προέρθουν και οι οποίες μπορεί να ενεργοποιούνται ταυτόχρονα είναι οι εξής:

ι. Τα μιτοχόνδρια και συγκεκριμένα η μιτοχονδριακή αναπνευστική αλυσίδα.

Κατά την διάρκεια της άσκησης οι ρυθμοί αναπνοής αυξάνονται και κατά επέκταση η κατανάλωση του οξυγόνου. Αυτό σημαίνει ότι ακολουθεί αυξημένη μιτοχονδριακή παραγωγή $O_2^{\cdot-}$ και υπάρχει πιθανότητα διαρροής ηλεκτρονίων από την αναπνευστική αλυσίδα. Επιπλέον, έχουν παρατηρηθεί προσαρμογές, λόγω της άσκησης, των μιτοχονδριακών αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως των Mn-SOD και GSH-Px (Εικόνα 34).



Εικόνα 34. Απεικονίζεται η μιτοχονδριακή παραγωγή $O_2^{\cdot-}$ και (α) η καταστροφή του μιτοχονδρικού DNA από αυτό, (β) οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί δράσης (SOD, GSH, καταλάση).

Επίσης, να σημειωθεί ότι έχει βρεθεί ότι μετά την άσκηση αυξάνεται η υπεροξειδωση λιπιδίων, μειώνονται τα επίπεδα των θειολών και απενεργοποιούνται τα οξειδωτικά ένζυμα στα μιτοχόνδρια.

ii. Η ισχαιμική επανοξυγόνωση (ischaemia reperfusion)

Ισχαιμική επανοξυγόνωση είναι το φαινόμενο κατά το οποίο οι ιστοί που είχαν βρεθεί σε κατάσταση υποξίας κατά τη διάρκεια έντονης αερόβιας ή αναερόβιας άσκησης λαμβάνουν μεγάλη ποσότητα οξυγόνου.

Σε αυτή την κατάσταση έχουμε μετατροπή κάποιων ένζυμων, της αφυδρογονάσης της ξανθίνης σε οξειδάση της ξανθίνης. Η τελευταία καταλύει τη μετατροπή της υποξανθίνης σε ξανθίνη και τελικά σε ουρικό οξύ με απελευθέρωση $O_2^{\cdot-}$. Συγκεκριμένα, κατά την διάρκεια της άσκησης που η παροχή οξυγόνου είναι ανεπαρκής τα επίπεδα του AMP αυξάνονται συνεχώς με αποτέλεσμα τη μετατροπή της αφυδρογονάσης της ξανθίνης σε οξειδάση της ξανθίνης και την αποικοδόμηση του AMP σε υποξανθίνη. Η υποξανθίνη αποτελεί το υπόστρωμα τόσο της αφυδρογονάσης όσο και της οξειδάσης της ξανθίνης και μέσω της δράσης αυτών των ενζύμων μετατρέπεται σε ξανθίνη και τελικά σε ουρικό οξύ. Εκτιμάται ότι η άσκηση υψηλής έντασης παράγει ένα κυτταρικό περιβάλλον που ευνοεί αυτήν την ενεργοποίηση. Κατά τη διάρκεια της επανοξυγόνωσης σχηματίζεται $O_2^{\cdot-}$ από μια αντίδραση που καταλύεται από την οξειδάση της ξανθίνης.

iii. Η φλεγμονώδους αντίδρασης

Κατά την άσκηση λόγω καταστροφής των μυών παρατηρείται φλεγμονώδης αντίδραση. Σ' αυτή συμμετέχουν τα ουδετερόφιλα, τα οποία εκκρίνουν λυσοζύμη (διάσπαση κατεστραμμένων πρωτεϊνών και κυτταρικών υπολειμμάτων) και $O_2^{\cdot-}$, το οποίο προλαμβάνει επέκταση βακτηρίασης μόλυνσης. Σε αρκετές μελέτες έχει αποδειχτεί η φλεγμονώδης αντίδραση κατά την άσκησης. Για παράδειγμα, οι *Hack et al.* (1992) έδειξαν ότι μία έντονη άσκηση μέχρι εξάντλησης αυξάνει σημαντικά τον αριθμό των λευκοκυττάρων, λεμφοκυττάρων και των ουδετερόφιλων, στον άνθρωπο.

iv. Η αυτό-οξειδωση της αιμοσφαιρίνης και μυοσφαιρίνης

Η μυοσφαιρίνη οξειδώνεται με αυτοοξειδωση ή από ελεύθερες ρίζες κατά την ισχαιμική επανοξυγόνωση με ταυτόχρονη παραγωγή H_2O_2 . Στη συνέχεια, η μυοσφαιρίνη αντιδρά με το H_2O_2 παράγοντας άλλες ελεύθερες ρίζες.

Όσον αφορά την αιμοσφαιρίνη, η οξειδωση της συνήθως οδηγεί στην παραγωγή ROS, συγκεκριμένα παράγοντας μεθαιμοσφαιρίνη και $O_2^{\cdot-}$. Αυτή κατάσταση συμβαίνει κατά την διάρκεια της άσκησης λόγω συσσώρευσης του γαλακτικού οξέος, που οδηγεί στην απελευθέρωση οξυγόνου από την αιμοσφαιρίνη με τη μείωση της πίεσης του οξυγόνου στα τριχοειδή και τα αγγεία του αίματος που συνοδεύει την άσκηση.

Επίσης, η πτώση του pH οδηγεί σε απελευθέρωση ιόντων σιδήρου από την αιμοσφαιρίνη και τη μυοσφαιρίνη.

Συνοπτικά, οι αντιδράσεις κατά την αυτοοξειδωση της αιμοσφαιρίνης και της μυοσφαιρίνης, που πραγματοποιούνται είναι οι εξής:

- $Fe^{2+} + O_2 \rightarrow Fe^{3+} + O_2^{\cdot-}$, παράγεται ρίζα σουπεροξειδίου
- $O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$, μετατρέπεται σε υπεροξειδίο του υδρογόνου
- $R + Fe^{3+} + H_2O_2 \rightarrow R^{\cdot-} + Fe^{4+} - O_2^- + H_2O$

v. Οι κατεχολαμίνες.

Σε περιπτώσεις παρατεταμένης και έντονης άσκησης τα επίπεδα των κατεχολαμινών αυξάνονται. Οι κατεχολαμίνες αυξάνουν τον οξειδωτικό μεταβολισμό των μυών και του μυοκαρδίου μέσω των β- αδρενεργικών υποδοχέων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση παραγωγής ROS από τα μιτοχόνδρια (*Elosua, R., Molina, L. et. al. 2003*).

1.13. ΣΚΟΠΟΣ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η μελέτη της προσαρμογής διαφόρων αντιοξειδωτικών μηχανισμών και του προκαλούμενου οξειδωτικού στρες αμέσως μετά το τέλος έντονης άσκησης σε αθλητές αερόβιας άσκησης στους οποίους είχε προηγηθεί χορήγηση πράσινου τσαγιού. Από την ανασκόπηση στη βιβλιογραφία φαίνεται ότι δεν υπάρχουν σχετικές έρευνες που να μελετούν την επίδραση του πράσινου τσαγιού σε μη αθλητές μετά από αερόβια άσκηση και συγκεκριμένα στο οξειδωτικό στρες. Συνεπώς, σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης ήταν η μελέτη δεικτών οξειδωτικού στρες σε μη αθλητές έπειτα από έντονη – μέχρι εξαντλήσεως αερόβια άσκησης. Συγκεκριμένα, χωρίστηκαν σε δυο ομάδες και χορηγήθηκε πράσινο τσάι στα άτομα της μιας και placebo της άλλης. Μετά την πάροδο ενός μηνός μετρήθηκαν τα επίπεδα της μαλοναλδεϋδης (MDA) και των πρωτεϊνικών καρβονυλίων πριν και μετά την αερόβια άσκηση και η διαδικασία ακολουθήθηκε για 3 μήνες. Οι δείκτες αυτοί επιλέχτηκαν διότι αποτελούν δείκτες υπεροξειδωσης των λιπιδίων και πρωτεϊνικής βλάβης αντίστοιχα, σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία.

Επίσης, συνεργασία με άλλες δύο διπλωματικές εργασίες, που ασχολήθηκαν με τη μελέτη της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας, της δραστηρότητας της καταλάσης, των επιπέδων της GSH και της GSSG καθώς και του λόγου τους GSH/GSSG, για τους ίδιους αθλητές, ούτως ώστε να δημιουργηθεί μία ολοκληρωμένη εικόνα για την απόκριση των παιδιών στο οξειδωτικό stress.

2. ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 ΥΛΙΚΑ

2.1.1. Χημικά αντιδραστήρια

Τα χημικά αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε μέθοδο για την διεξαγωγή του πειράματος ήταν τα παρακάτω, δίπλα αναγράφονται και οι εταιρείες προμηθεύτηκαν.

- Στην μέθοδο TBARS
 1. Tris (MB: 121.14 – stock 37%) - MERCK
 2. HCl (MB: 36.46) - MERCK
 3. TBA (MB: 144.1) - SIGMA
 4. Na₂SO₄ (MB: 142.04) - Fluca
 5. TCA - Riedel de Haen
- Στην μέθοδο των Πρωτεϊνικών Καρβονυλίων
 1. HCl (MB: 36.46 – stock 37) - Riedel de Haen
 2. DNPH (MB: 198.1) - Riedel de Haen
 3. Ουρία (MB: 60.06) - Aldrich
 4. Αιθανόλη
 5. Αιθυλική αλκοόλη

2.1.2. Σκεύη και συσκευές

Τα σκεύη και οι συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε μέθοδο για την διεξαγωγή του πειράματος είναι τα εξής.

Οι οροί αίματος ήταν συλλεγμένοι σε eppendof.

- Στην μέθοδο TBARS
 1. Falcon
 2. ποτήρια ζέσεων διαφόρων μεγεθών
 3. vortex
 4. πιπέτες των 20μL, 100 μL, 1000 μL.
 5. υδατόλουτρο
 6. πάγος
 7. eppendof
 8. κυβέτα για μέτρηση σε VIS το φωτόμετρο
 9. φωτόμετρο
- Πρωτεϊνικά Καρβονύλια
 1. eppendof
 2. πιπέτες των 20μL, 100 μL, 1000 μL.
 3. vortex
 4. φυγόκεντρο
 5. ποτήρια ζέσεων διαφόρων μεγεθών
 6. κυβέτα για μέτρηση σε VIS το φωτόμετρο
 7. φωτόμετρο

Το φωτόμετρο που χρησιμοποιήθηκε κατά τη διάρκεια της διπλωματικής εργασίας ήταν Hitachi U-1500.

2.1.3. Ορός αίματος

iii. Συμμετέχοντες

Στην παρούσα μελέτη έλαβαν μέρος 18 άνδρες που χωρίστηκαν σε δύο ισάριθμες ομάδες (placebo και πράσινο τσάι) ηλικίας 20-35 ετών. Τα άτομα της ομάδας «πράσινο τσάι» λάμβαναν καθημερινά 300 mg εκχύλισμα πράσινου τσαγιού για διάστημα 3 μηνών.

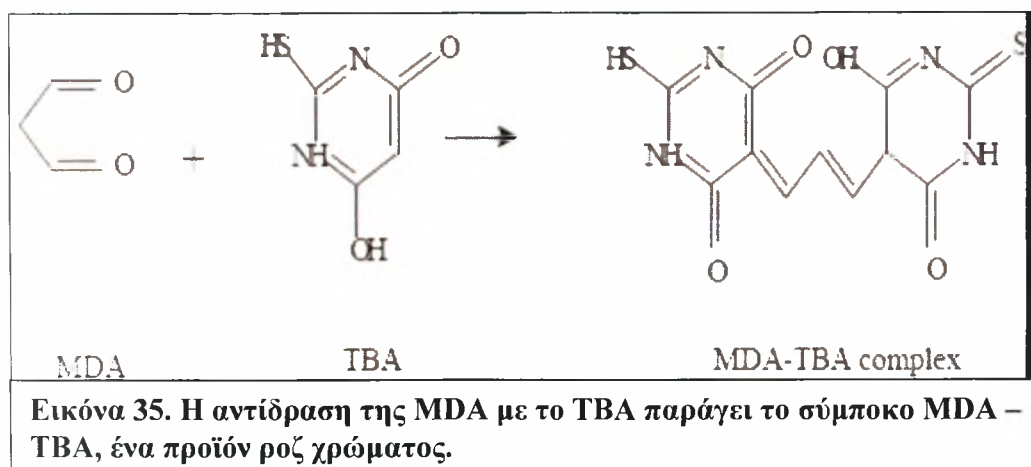
iv. Πρωτόκολλο άσκησης και συλλογή αίματος

Η δοκιμασία περιελάμβανε τρέξιμο στο δαπεδοεργόμετρο στο 75 % της $VO_2\max$ για 45 λεπτά και κατόπιν στο 90% μέχρι εξάντλησης. Πριν, μετά, καθώς και στις 1 και 6 h μετά την άσκηση έγινε λήψη αίματος.

2.2. ΜΕΘΟΔΟΙ

2.2.1. Μαλονδυαλδεύδη (MDA) - TBARS (ThioBarbituric Acid-Reactive Substances)

Η μαλονυδιαλδεύδη (MDA) ως προϊόν της οξειδωσης των λιπαρών οξέων (Schaunenstein, 1997) αποτελεί ένα σημαντικό δείκτη του οξειδωτικού στρες λόγω άσκησης. Συγκεκριμένα κατά την άσκηση παράγονται ελεύθερες ρίζες οξυγόνου των οποίων ένας από τους στόχους τους είναι πολυακόρεστα λιπαρά οξέα των κυτταρικών μεμβρανών. Έτσι, επάγει μια αλυσιδωτή αντίδραση γνωστή ως υπεροξειδωση των λιπών που οδηγεί στην παραγωγή υπεροξειδίων των λιπών. Τα τελευταία στην συνέχεια διασπώνται παράγοντας αέριους υδρογονάνθρακες και αλδεύδες. Το αφθονότερο μόριο που παράγεται ως αποτέλεσμα του οξειδωτικού στρες είναι η μαλονδυαλδεύδη (Reiter et al, 1995). Αυτή έχει την ιδιότητα να αντιδρά με δύο μόρια θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA), κάτω από όξινες συνθήκες με επίδραση θέρμανσης, με συνέπεια την παραγωγή ενός προϊόντος χρώματος ροζ (Εικόνα 35).



Το μόριο που σχηματίζεται απορροφά στα 532-534 nm και φθορίζει στα 553 nm. Στην αντίδραση αυτή βασίζεται ο μέθοδο TBARS (ThioBarbituric Acid-Reactive Substances) του Keles et al. (2001), που ανήκει στις φωτομετρικές τεχνικές και είναι από τα πιο διαδεδομένα τεστ μέτρησης της έκτασης της οξειδωσης.

Γενικά, συγκέντρωση πλάσματος ή ούρων σε θειοβαρβιτουρικά οξέα (TBARS) χρησιμοποιείται ως δείκτης της υπεροξειδωσής λιπιδίων και του οξειδωτικού στρες.

Άλλοι μέθοδοι προσδιορισμού της MDA αποτελούν η HPLC, οι φωτομετρικές τεχνικές και φασματομετρίας φθορισμού.

MDA παράγεται επίσης κατά την οξειδωτική καταστροφή της δεοξυριβόζης. Άρα, ο προσδιορισμός TBA, χρησιμοποιείται και στην μέτρηση της έκτασης της οξειδωτικής καταστροφής της δεοξυριβόζης.

2.2.2. Πρωτεϊνικά καρβονύλια – Protein Carbonys

Πολλές πρωτεΐνες μπορούν να τροποποιηθούν από την επίδραση ελευθέρων ριζών. Οι κυριότερες τροποποιήσεις που έχουν παρατηρηθεί αφορούν απώλεια της καταλυτικής δράσης, τροποποιήσεις αμινοξέων, δημιουργία καρβονυλικών ομάδων, αύξηση της οξύτητας, μείωση της θερμικής σταθερότητας, αλλαγή του ιξώδους, αλλαγή του φθορισμού, θρυμματισμός, δημιουργία γεφυρών S-S κι αυξημένη επιδεκτικότητα σε πρωτεόλυση.

Η πιο κοινή μέθοδος προσδιορισμού της πρωτεϊνικής οξειδωσής σε βιολογικά δείγματα είναι η μέτρηση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων. Τα καρβονύλια, τα οποία είναι χημικά σταθερές ενώσεις, επάγονται *in vitro* και *in vivo* από μία ποικιλία παραγόντων, όπως οξείδωση καταλυόμενη από μέταλλα, το όζον, HOCl, ατομικό οξυγόνο και ιονίζουσα ακτινοβολία. Σαν αποτέλεσμα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες οξειδωτικού stress για τους περισσότερους τύπους των ROS. Για τον προσδιορισμό τους χρησιμοποιούνται μέθοδοι υψηλής ευαισθησίας, πολλές εκ των οποίων περιέχουν τη χημική ένωση των καρβονυλίων με το DNP (DiNitroPhenylHydrazine).

Το DNP οδηγεί στο σχηματισμό σταθερών προϊόντων, ικανά για αποθήκευση και ποσοτικοποίηση. Απορροφά υπεριώδη ακτινοβολία στα 370 nm και με αυτόν τον τρόπο η ολική ποσότητα των καρβονυλίων, προερχόμενων από την οξείδωση μίας πρωτεΐνης ή ενός μίγματος πρωτεϊνών, μπορεί να ποσοτικοποιηθεί με φασματοφωτομετρικό προσδιορισμό.

Η φασματοφωτομετρική μέθοδος μπορεί να συζευχθεί με HPLC για μεγαλύτερη ευαισθησία κι εξειδίκευση από τη μέτρηση της ολικής ποσότητας των καρβονυλίων ενός μίγματος πρωτεϊνών.

Άλλοι μέθοδοι προσδιορισμού DNP αποτελεί *anti-DNP* αντισώματα για την ποσοτικοποίηση των καρβονυλίων με τη μέθοδο ELISA.

2.2.3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

iii. Μαλονδυαλδεύδη - TBARS (ThioBarbituric Acid-Reactive Substances)

Προετοιμασία δειγμάτων ή παρασκευασμάτων

Αρχικά, σε σωλήνες Falcon προσθέτονταν 100 μl ορού (ή 100 μl απιονισμένο νερό για το τυφλό), 500 μl τριχλωροξικό οξύ (TCA) 35%. Έπειτα, από ανάδευση προστέθηκε ρυθμιστικό διάλυμα 500 μl Tris-HCl (50mM) pH 7,4. Στην συνέχεια, τα δείγματα αναδεύτηκαν κι επώαστηκαν για 10 min σε RT. Έπειτα, προστέθηκε στα δείγματα 1 mL Na₂SO₄ – TBA και μεταφέρθηκαν για επώαση σε υδατόλουτρο στους 100^oC για 45 λεπτά. Να αναφερθεί ότι η αντίδραση αυτή συμβάλλει στην παραγωγή του έγχρωμου προϊόντος. Ακολουθούσε μια δεύτερη επώαση στον πάγο για 5 min.

Στη συνέχεια, προστέθηκε σε κάθε σωλήνα 1 ml TCA 70% και αναδεύτηκαν. Μετά, από κάθε δείγμα 1 ml μεταγγίστηκε σε erpendorf, το οποίο φυγοκεντρήθηκε στις 10000 rpm (950g), για 3 min, σε RT. Τέλος, το υπερκείμενο των δειγμάτων φωτομετρήθηκε στα 530 nm.

Οι μετρήσεις για κάθε δείγμα πραγματοποιήθηκε εις τριπλούν.

Προσδιορισμός

Η ποσότητα της MDA σε σχέση με τις συνολικές ενώσεις που αντιδρούν με θειοβαρβιτουρικό οξύ προσδιορίστηκε με βάση το συντελεστή μοριακής απόσβεσης της MDA, ο οποίος είναι 0,156 (είναι αποτέλεσμα της διαίρεσης του συντελεστή μοριακής απόσβεσης της MDA, ο οποίος είναι 156000, διαιρούμενου με το 10^{-6} ούτως ώστε να μετατραπούν τα mol/L σε $\mu\text{mol/L}$) και προσδιοριζόταν από τον τύπο:

$$TBARS (\mu\text{mol/L}) = (\text{Abs}_{\text{δείγματος}} - \text{Abs}_{\text{τυφλού}}) / 0.156 \times 31,$$

όπου 31 είναι ο συντελεστής αραίωσης, που προέρχεται από το λόγο του συνολικού όγκου (3100 μl) προς τον όγκο του ορού (100 μl).

iv. Πρωτεϊνικά καρβονύλια – Protein Carbonys

Προετοιμασία δειγμάτων ή παρασκευασμάτων

Ο προσδιορισμός των καρβονυλίων έγινε με τη μέθοδο *Patsoukis et al.*

Συγκεκριμένα σε 50 μl ορού, που τοποθετήσαμε σε σωλήνες erpendorf, προστέθηκαν 50 μl 20% TCA. Ακολούθησε ανάδευση, επώαση σε παγόλουτρο για 15 min, φυγοκέντρηση στα 15,000g, για 5 min, στους 4°C και απομάκρυνση του υπερκείμενου. Ακολούθως προστέθηκαν σε κάθε δείγμα 0,5 ml 10mM DNPH, το οποίο είχε προηγουμένως διαλυθεί σε 2,5N HCl, και σε κάθε αντίστοιχο control 0,5 ml HCl (για κάθε δείγμα δημιουργήθηκε και αντίστοιχο δείγμα control). Ακολούθησε ανάδευση κι επώαση στο σκοτάδι για 1hr σε θερμοκρασία δωματίου. Κατά τη διάρκεια της συγκεκριμένης επώασης γίνονταν ανάδευση κάθε δείγματος ανά 15 min (δηλαδή σύνολο 4 φορές καθόλη τη διάρκεια τής). Την επώαση ακολούθησε φυγοκέντρηση στα 15,000g, για 5 min, στους 4°C και απομάκρυνση του υπερκείμενου. Στη συνέχεια προστέθηκε σε κάθε erpendorf 1 ml 10% TCA, οι σωλήνες αναδεύτηκαν, φυγοκεντρήθηκαν στις ίδιες συνθήκες και απομακρύνθηκε το υπερκείμενο. Έπειτα, προστέθηκαν 0,5 ml αιθανόλης και 0,5 ml ethyl acetate (1:1 v/v) σε κάθε erpendorf, οι σωλήνες αναδεύτηκαν και φυγοκεντρήθηκαν στις ίδιες συνθήκες και απομακρύνθηκε το υπερκείμενο. Η προσθήκη αιθανόλης και ethyl acetate καθώς και η ακόλουθη ανάδευση, φυγοκέντρηση και απομάκρυνση του υπερκείμενου πραγματοποιήθηκαν ακόμη 2 φορές. Τέλος, το ίζημα που υπήρχε σε κάθε erpendorf διαλύθηκε σε 1 ml 5M ουρίας (pH 2,3), αναδεύτηκε, επώαστηκε για 15 min στους 37°C, φυγοκεντρήθηκε στις ίδιες συνθήκες (εκτός του χρόνου, ο οποίος ελαττώθηκε στα 2-3 min) και μετρήθηκε η απορρόφηση του στα 375 nm.

Να σημειωθεί ότι κάθε control περιέχει ορό αλλά όχι DNPH σε αντίθεση με κάθε τυφλό που περιέχει απιονισμένο νερό αντί του ορού. Αυτό έγινε ούτως ώστε κάθε δείγμα να συγκρίνεται με τον εαυτό του επιτυχάνοντας έτσι μεγαλύτερη ακρίβεια στους υπολογισμούς των καρβονυλίων για κάθε δείγμα ξεχωριστά.

Οι μετρήσεις για κάθε δείγμα πραγματοποιήθηκαν εις τριπλούν.

Προσδιορισμός

Η ποσότητα των πρωτεϊνικών καρβονυλίων κάθε δείγματος προέκυψε σε σχέση με την απορρόφηση του control κάθε δείγματος και με βάση το συντελεστή

μοριακής απόσβεσης του DNPΗ, ο οποίος ισούται με 22 mMcm^{-1} , σύμφωνα με τον παρακάτω τύπο:

$$\text{Πρωτεϊνικά καρβονύλια (nmol/ml)} = A_{\text{δείγματος}} - A_{\text{control}} / 0.022 \times 1000 / 50$$

Ακολούθησε μετατροπή των nmol/ml σε nmol/mg για κάθε δείγμα σύμφωνα με τον τύπο:

$$\text{Πρωτεϊνικά καρβονύλια (nmol/mg)} = [\text{καρβονύλια}] \text{ σε nmol/ml} / [\text{πρωτεΐνης}] \text{ σε mg/ml}$$

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

iii. Μαλονδυαλδεύδη - TBARS (ThioBarbituric Acid-Reactive Substances)

Πίνακας 6.	
Placebo	
ΔΕΙΓΜΑ	M.O ± SD
Ηρεμία	6.72 ± 3.1
Αμέσως μετά την άσκηση	7.21 ± 1.9
Ηρεμία	5.77 ± 1.6
Αμέσως μετά την άσκηση	7.35 ± 1.5

Πίνακας 7.	
Green Tea	
ΔΕΙΓΜΑ	M.O ± SD
Ηρεμία	8.07 ± 2.9
Αμέσως μετά την άσκηση	9.53 ± 2.5
Ηρεμία	7.5 ± 2.7
Αμέσως μετά την άσκηση	8.6 ± 3.1

Όπως προέκυψε από τη στατιστική ανάλυση παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση της άσκησης και μη σημαντική επίδραση του πράσινου τσαγιού στη συγκέντρωση της μαλονδυαλδεύδης. (Πίνακας 6. Placebo, Πίνακας 7. Green Tea).

iv. Πρωτεϊνικά καρβονύλια

Πίνακας 8. Placebo	
ΔΕΙΓΜΑ	M.O ± SD
Ηρεμία	0.43 ± 0.11
Αμέσως μετά την άσκηση	0.51 ± 0.27
Ηρεμία	0.60 ± 0.30
Αμέσως μετά την άσκηση	0.57 ± 0.23

Πίνακας 9. Green Tea	
ΔΕΙΓΜΑ	M.O ± SD
Ηρεμία	0.61 ± 0.18
Αμέσως μετά την άσκηση	0.86 ± 0.22
Ηρεμία	0.53 ± 0.33
Αμέσως μετά την άσκηση	0.83 ± 0.39

Όπως προέκυψε από τη στατιστική ανάλυση παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση της άσκησης και μη σημαντική επίδραση του πράσινου τσαγιού στη συγκέντρωση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων (Πίνακας 8. Placebo, Πίνακας 9. Green Tea).

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα τελευταία χρόνια αυξάνει συνεχώς το ενδιαφέρον για την βελτίωση του τρόπου διαβίωσης ως μέτρο πρόληψης της διατήρησης της καλής υγείας. Ως εκτούτου πραγματοποιείται ένας μεγάλος αριθμός μελετών γύρω από την άσκηση και από το πράσινο τσάι που είναι πλούσιο σε ευεργετικές συστατικά. Συγκεκριμένα το πράσινο τσάι έχει σε υψηλή συγκέντρωση πολυφαινόλες με σημαντικότερη την επιγαλλοκατεχίνη. Πληθώρα επιστημονικών μελετών πιστοποιούν την ισχυρή αντιοξειδωτική, αντικαρκινική και αντιφλεγμονώδη δράση του πράσινου τσαγιού. Συγκεκριμένα, έρευνες σε ζώα εργαστηρίου έχουν δείξει την ανασταλτική δράση του πράσινου τσαγιού έναντι των καρκινογόνων. Επιπλέον, διάφορες εύθυνες έχουν δείξει ότι την αύξηση της χημειοπροστασία της επιγαλλοκατεχίνης EGCG, όταν χορηγείται με κάποιο άλλο αντικαρκινικό, π.χ. ετοποσίδη. Πρόσφατες μελέτες σε πράσινο τσάι παρουσίασαν την αντικαρκινική δράση απέναντι σε καρκίνο του πνεύμονα, μαστού, προστάτη και του γαστρεντερικού συστήματος η οποία αποδόθηκε στις πολυφαινόλες που βρίσκονταν σε αυτά. Ακόμη διάφορες έρευνες σε ζώα εργαστηρίου φανερώνουν τις ευεργετικές ιδιότητες του πράσινου τσαγιού σε διάφορες νόσους όπως, το Parkinson, το Alzheimer, η γήρανση και οι καρδιαγγειακές δυσλειτουργίες.

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η μελέτη της επίδρασης του πράσινου τσαγιού και της άσκησης στο οξειδωτικό στρες. Από την βιβλιογραφική ανασκόπηση στη διεθνή βιβλιογραφία γύρω από τις μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί για το πράσινο τσάι και την επίδραση της άσκησης προκύπτει ότι αυτή η μελέτη είναι η πρώτη προσπάθεια η κατανόησης της επίδρασης της άσκησης και του πράσινου τσαγιού στο οξειδωτικό στρες. Στην παρούσα μελέτη μετρήθηκαν δυο βιολογικοί δείκτες οξειδωτικού στρες (πρωτεϊνικά καρβονύλια και MDA) για την μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας των συστατικών (πολυφαινόλες και κυρίως την επιγαλλοκατεχίνη) του πράσινου τσαγιού σε ορό ανθρώπων σε σύγκριση με άλλες μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε ζώα εργαστηρίου. Παράλληλα, βασισμένοι στα αποτελέσματα των δεικτών αυτών του οξειδωτικού στρες μελετήθηκε και η οξειδωτική ικανότητα της άσκησης. Σε αρκετές μελέτες έχει αποδειχτεί ότι η άσκηση επάγει την αύξηση της παραγωγή ελεύθερων ριζών σε πολλούς ιστούς(μυς και ήπαρ), αυξάνει τους βιολογικούς δείκτες του οξειδωτικού στρες (πρωτεϊνικά καρβονύλια και MDA) και αλλάζει τα επίπεδα των διαφόρων ενζυμικών και μη αντιοξειδωτικών.

Οι βιολογικοί δείκτες του οξειδωτικού στρες που χρησιμοποιήθηκαν όπως προαναφέρθηκε ήταν τα πρωτεϊνικά καρβονύλια και η MDA. Τα καρβονύλια λόγω της χημικής τους σταθερότητας επάγονται *in vitro* και *in vivo* από μία ποικιλία παραγόντων, όπως το όζον, HOCl και ατομικό οξυγόνο, γι' αυτό χρησιμοποιούνται σε πληθώρα ερευνών για την απόδειξη της ύπαρξης οξειδωτικού στρες. Επιπλέον, η MDA ως προϊόν της οξείδωσης των λιπαρών οξέων αποτελεί ένα σημαντικό δείκτη του οξειδωτικού στρες λόγω άσκησης, γεγονός που το καθιστά και αυτό σημαντικό δείκτη οξειδωτικού στρες σε αρκετές μελέτες.

Όσον αφορά την άσκηση, τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης καταδεικνύουν στατιστικά σημαντική αύξηση των επιλεγμένων οξειδωτικών δεικτών. Γεγονός που φανερώνει ότι η έντονη άσκηση ατόμων που ανήκουν στην κατηγορία των μη αθλητών οδηγεί σε αύξηση των ελευθέρων ριζών στον οργανισμό. Όσον αφορά το πράσινο τσάι, τα αποτελέσματα παρουσιάζουν μη στατιστική σημαντικότητα. Και αυτό με τη σειρά του δείχνει ότι το πράσινο τσάι έχει ελάχιστη αντιοξειδωτική δράση.

Να σημειωθεί ότι έχει αποδειχτεί πειραματικά ότι δεν υπάρχει κάποιο χρονικό σημείο που ισχύει για όλους τους δείκτες όσον αφορά τη συλλογή των δειγμάτων

αίματος μετά από την αεροβική άσκηση. Τα καλύτερα χρονικά σημεία για η συλλογή αίματος των μη αθλητών είναι 1 ώρα για την μέθοδο TBARS και 4 ώρες μετά από την άσκηση για τα πρωτεϊνικά καρβονύλια (Kouretas D., Nikolaidis MG et. al 2007).

Σύγκριση των αποτελεσμάτων της διπλωματικής εργασίας με τα αποτελέσματα άλλων μελετών για το πράσινο τσάι

✓ ***Για την μέθοδο Μαλονδουαλδεύδη (MDA) - TBARS (ThioBarbituric Acid-Reactive Substances)***

Στην παρούσα μελέτη, η επίδραση του πράσινου τσαγιού (και συγκεκριμένα τα συστατικά του) ήταν στατιστικά σημαντική στο δείκτη οξειδωτικού στρες, την MDA. Αυτά υποδηλώνει ότι τα συστατικά του πράσινου τσαγιού εμφανίζουν κάποια αντιοξειδωτική ικανότητα. Αρκετές μελέτες κλίνουν προς αυτά την παρατήρηση.

Έχουν πραγματοποιηθεί και άλλες μελέτες για την επίδραση του πράσινου τσαγιού με οξειδωτικό δείκτη την μαλονδουαλδεύδη. Συγκεκριμένα, οι Gawlik M και Czajka A μελέτησαν την επίδραση των εκχυλισμάτων τσαγιού στην υπεροξειδωση λιπιδίων και στην οξειδωτική βλάβη των ανθρώπινων κυττάρων αίματος (RBC) και παρατήρησαν σημαντικά μείωση της συγκέντρωση των MDA. Επίσης, ανακάλυψαν ότι το εκχύλισμα του πράσινου τσαγιού σε σύγκριση με του μαύρου και του άσπρου στα ίδια επίπεδα εμφανίζει μεγαλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα. Επιπλέον, οι Tiroe et.al. μελετώντας τις αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις αντιδράσεις ιδιότητες του πράσινου τσαγιού στην καρδιαγγειακή προστασία, παρατήρησαν ότι η επιγαλοκατεχίνη (EGCG) του πράσινο τσαγιού ελαττώνει την υπεροξειδωση λιπιδίων.

✓ ***Για την μέθοδο Πρωτεϊνικά καρβονύλια***

Στην παρούσα μελέτη, η επίδραση του πράσινου τσαγιού (και συγκεκριμένα τα συστατικά του) ήταν στατιστικά σημαντική στο δείκτη οξειδωτικού στρες, στα πρωτεϊνικά καρβονύλια. Αυτά οδηγεί στο συμπέρασμα ότι το πράσινο τσάι έχει αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Διάφορες μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί σε ανθρώπους χρησιμοποιώντας τα πρωτεϊνικά καρβονύλια ως οξειδωτικό δείκτη και έχουν καταλήξει στα ίδια αποτελέσματα με της δικιάς μελέτης.

Σύγκριση των αποτελεσμάτων της διπλωματικής εργασίας με τα αποτελέσματα άλλων μελετών για την άσκηση

✓ ***Για την μέθοδο Μαλονδουαλδεύδη (MDA) - TBARS (ThioBarbituric Acid-Reactive Substances)***

Στην παρούσα μελέτη, η έντονης αερόβιας άσκησης επιδρά στα επίπεδα της MDA, προκαλώντας την αύξηση τους. Αυτά υποδηλώνει ότι η έντονη άσκηση σε μη αθλητές οδηγεί σε υπεροξειδωση λιπιδίων, λόγω των αυξημένων ROS που παράχθηκαν στον οργανισμό. Σε αυτό το αποτέλεσμα είναι σύμφωνες είναι και οι μελέτες των Kretzschmar et.al. και Laaksonen et.al., οι οποίοι μελέτησαν την υπεροξειδωση των λιπιδίων σε αγύμναστα άτομα.

Βέβαια αρκετές από τις μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σχετικά με την επίδραση της άσκησης στα επίπεδα της καλό και συγκεκριμένα στην αύξηση της. Μια πρώτη είναι των Davis et.al έδειξαν ότι η άσκηση μέχρι εξάντλησης προκαλεί δύο-

τρεις φορές αύξηση στη συγκέντρωση των ελεύθερων ριζών στους μύες και το ήπαρ που συνοδεύεται από σημαντική αύξηση των TBARS. Μια δεύτερη είναι των *Marzatico et.al* βρήκαν αύξηση των επιπέδων TBARS του πλάσματος σε δρομείς και μαραθωνοδρόμους μετά από έντονη άσκηση και έδειξαν ότι όσο πιο έντονη είναι η άσκηση τόσο πιο μεγάλη είναι η αύξηση της προκαλούμενης από την άσκηση υπεροξειδωση των λιπιδίων. Τέλος, των *Bloomer et.al*, έδειξαν ότι τόσο η αναερόβια όσο και η αερόβια άσκηση προκάλεσαν αύξηση των επιπέδων της MDA, του κύριου ενδιάμεσου προϊόντος της αντίδρασης με θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS).

Όμως, υπάρχουν και κάποιες μελέτες στις οποίες τα επίπεδα της MDA δεν αυξάνονται κατά την διάρκεια της έντονης άσκησης. Σε μελέτες των *Davies et.al* και *Kanter et.al*, έδειξαν ότι η άσκηση δεν είχε επίδραση στα επίπεδα TBARS του πλάσματος σε μετρίως γυμνασμένα άτομα μετά από τρέξιμο για 2,5 ώρες. Επιπλέον, σε πολλές μελέτες όπου οι συμμετέχοντες υποβλήθηκαν σε αναερόβια ισότονη ή έκκεντρη άσκηση δεν παρουσίασαν καμία αλλαγή στα επίπεδα της MDA ή των TBARS.

Να σημειωθεί ότι κάποιοι ερευνητές από την άλλη δεν την θεωρούν ακριβής μέθοδο για τον προσδιορισμό ύπαρξης οξειδωτικού στρες διότι έχει την ικανότητα να αντιδρά εκτός από την MDA και με κορεσμένες και ακόρεστες μη λειτουργικές αλδεύδες, υδρογονάνθρακες και προσταγλανδίνες.

✓ Για την μέθοδο *Πρωτεϊνικά καρβονύλια – Protein Carbonys*

Στην παρούσα μελέτη, η έντονη αερόβια άσκησης επιδρά στα επίπεδα των πρωτεϊνικών καρβονυλίων προκαλώντας την αύξηση τους. Το γεγονός αυτό φανερώνει την οξείδωση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων ως αποτέλεσμα του οξειδωτικού στρες λόγω της έντονης άσκησης. Κάποιες μελέτες σε ορό ανθρώπων έχουν χρησιμοποιήσει τα πρωτεϊνικά καρβονύλια ως δείκτες οξειδωτικού στρες παρατήρησαν ότι αυξάνονται τα επίπεδα των δεικτών σε έντονη άσκηση ενώ σε μέτριας έντασης άσκηση δεν παρατήρησαν αύξηση.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η μελέτη αυτή πιθανώς είναι η πρώτη που ασχολείται με την επίδραση της έντονης άσκησης και του πράσινου τσαγιού στο οξειδωτικό στρες σε μη αθλητές μετά από έντονη άσκηση. Το συμπέρασμα το οποίο τελικά προκύπτει για την έντονη αερόβια άσκηση είναι ότι αυτή προκαλεί έντονο οξειδωτικό στρες. Το τελευταίο οφείλεται στην παρουσία αυξημένων ριζών ROS του έντονου βαθμού άσκησης. Αυτό στην εργασία έγινε εμφανές από τα αυξημένα επίπεδα τόσο της MDA όσο και των πρωτεϊνικών καρβονυλίων. Βέβαια ο οργανισμός ενεργοποιεί διάφορους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς για να επανέρθει στην φυσιολογική του κατάσταση και να αποφύγει οποιοδήποτε είδους βλάβη. Να σημειωθεί ότι οξειδωτικό στρες παράγεται κατά την διάρκεια έντονης άσκησης σε μη αθλητές. Καθώς επίσης ότι το συμπέρασμα μας δεν ισχύει σε περιπτώσεις κανονικού ρυθμού άσκησης.

Όσον αφορά το πράσινο τσάι επιδρά, το συμπέρασμα στο οποίο καταλήγουμε είναι ότι παρουσιάζει μικρού βαθμού αντιοξειδωτική ικανότητα η οποία όμως δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική. Αυτή οφείλεται στην χημική του σύσταση που είναι πλούσια σε πολυφαινόλες με πιο σημαντική όσον αφορά τη δράση της, την EGCG. Επίσης το πράσινο τσάι έχει αποδειχτεί ότι έχει και άλλες ιδιότητες αντικαρκινικές, αντιφλεγμονώδης και αντιμικροβιακές. Γι' αυτό χρησιμοποιείται για την θεραπευτική αντιμετώπιση διαφόρων ασθενειών.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adams, D. O.; Hamilton, T. A. Macrophages as destructive cells in host defense. In: Gallin, J. I.; Goldstein, I. M.; Synderman, R., eds. *Inflammation: basic principles and clinical correlates*. New York: Raven; 1992:637–662.
- Asami, S.; Hirano, T.; Yamaguchi, R.; Tomioka, Y.; Itoh, H.; Kasai, H. Increase of a type of oxidative DNA damage, 8-hydroxyguanine, and its repair activity in human leukocytes by cigarette smoking. *Cancer Res.* 56:2546–2549; 1996.
- Angel P, Karin M. The role of jun, fos and the AP-1 complex in cell proliferation and transformation. *Biochim Biophys Acta* 1072:129–157, 1991.
- Acworth I.N., McCabe D.R. and Maher T. 1997. The analysis of free radicals, their reaction products, and antioxidants In “Oxidants, Antioxidants and Free Radicals”, (Baskin S.I. and Salem H. Ed.), Taylor & Francis Press Washington, D.C., pp 23-77.
- Acher A, Ficher E, Turnheim R, Manor Y. Ecologically friendly wastewater disinfection techniques. *Water Res*, 31: 1398-1404, 1997.
- Balentine DA, Harbowy ME and Graham HN, Tea: the Plant and its Manufacture; Chemistry and Consumption of the Beverage in Caffeine (1998)
- Boveris A, Costa LE, Cadenas E, Poderoso JJ (1999b) Regulation of mitochondrial respiration by adenosine diphosphate, oxygen and nitric oxide. *Meth Enzymol*, 301: 188-198.
- Casero I, Sicilia D, Rubio S, Perez-Bendito D. Chemical degradation of aromatic amines by Fenton’s reagent. *Water Res*, 31: 1985-1995, 1997.
- Carey JH. An introduction to advanced oxidation processes (AOP) for destruction of organics in wastewater. In proceedings: A symposium on advanced oxidation processes for the treatment of contaminated water and air. Toronto, Canada, Wastewater Technology Center, Burlington, Canada.
- Cleeter MWJ, Cooper JM, Darley Mar VM, Moncandas, Schapira AHV (1994) Reversible inhibition of cytochrome c oxidase, the terminal enzyme of the mitochondrial respiratory chain, by nitric oxide. Implications for neurodegenerative diseases. *FEBS Lett* 345: 50-54.
- C. Leeuwenburgh & J. W. Heinecke, Oxidative Stress and Antioxidants in Exercise, *Current Medicinal Chemistry* 2001, 8, 829-838.
- Chapman PM, Romberg GP, Vigers CA. Design of monitoring studies for priority pollutants. *J Wat Pollut Control Fed*, 54: 292-297, 1982.
- Cutler R. (1994) Antioxidants, aging and longevity. In: Pryor W A (ed) *Free Radicals in Biology*, vol 6. Orlando, FL: Academic Press, Inc. pp 381-395.
- Das S, Deeble DJ, Schuchmann MN, von Sonntag C. Pulse radiolytic studies on uracil and uracil derivatives. Protonation of their electron adducts at oxygen and carbon. *Int J Rad Biol* 1984, 46:7-9.
- Dillard, C. J., Litov, R. E., Savin, W. M., Dumelin, E. E. Tappel, A. L. *J. Appl. Physiol.* 45, 927±932(1978).
- "EGCG down-regulates telomerase in human breast carcinoma MCF-7 cells, leading to suppression of cell viability and induction of apoptosis" *Int J Oncol.* 2004 Mar;24(3):703-10.
- Elosua, R., Molina, L., Fito, M., Arquer, A., Sanchez-Quesada, J.L., Covas, M.I., Ordonez-Llanos, J., Marrugat, J., 2003. Response of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program, and to acute physical activity, in healthy young men and women.
- Exon JH. A review of chlorinated phenols. *Vet Hum Toxicol*, 26: 508-519, 1984.

- Farooqui A.A., Horrocks L.A. and Farooqui T. 2000. Glycerophospholipids in brain: Their metabolism, incorporation into membranes, functions, and involvement in neurological disorders. *Chemistry and Physics of Lipids*, 106, 1-29.
- Glaze WH, Kang JW, Chapin DH. The chemistry of water treatment processes involving ozone, hydrogen peroxide and UV-radiation. *Ozone Sci Enghg*, 9: 335-352, 1987.
- G. J. Soleas, E.R. Diamandidis, D.M. Goldberg, (1997), *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 11:287-313.
- Haag WR, Yao CCD. Rate constants for reaction of hydroxyl radicals with several drinking water contaminants. *Environ Sci Technol*, 26: 10005-1013, 1992.
- Halliwell B. and Chirico S. 1993. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am. J. Clin. Nutr.*, 57, 715S-725S.
- Halliwell B. and Gutteridge J.M.C. 1999. Oxidative stress: Adaptation, damage, repair and death In "Free Radicals in Biology and Medicine", 3rd ed., Oxford University Press Inc. N.Y., pp 246-350.
- Halliwell Barry. Free radicals and other reactive species in disease, *Encyclopedia of life sciences Nature publishing group*, 2001.
- Minotti G. and Aust S.D. 1992. Redox cycling of iron and lipid peroxidation. *Lipids*, 27, 219-226.
- Halliwell B. and Gutteridge J.M.C. 1999. Oxidative stress: Adaptation, damage, repair and death In "Free Radicals in Biology and Medicine", 3rd ed., Oxford University Press Inc. N.Y., pp 246-350.
- Halmann MM. Photodegradation of water pollutants. CRC Press, New York, 1996.
- Hack V, StrobelG, Rau JP, Weicker H. The effect of maximal exercise on the activity of neutrophil granulocytes im highly trained athletes in a moderate training period. *Eur J Appl Physiol* 65:520-524,1992.
- Halliwell Barry. Free radicals and other reactive species in disease, *Encyclopedia of life sciences Nature publishing group*, 2001.
- Halliwell B. and Chirico S. 1993. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am. J. Clin. Nutr.*, 57, 715S-725S.
- Halliwell Barry and Guteridge John M.C. (1998). Free radicals in biology and chemistry, *Oxford Science Publocations*
- Halliwell B. and Gutteridge J.M.C. 1999. Oxygen is a toxic gas-an intriduction to oxygen toxicity and reactive oxygen species In "Free Radicals in Biology and Medicine", 3rd ed., Oxford University Press Inc. N.Y., pp 1-35.
- Halliwell B. (2001) Free Radicals and other reactive oxygen species in Disease, *Engyclopedia of Life Sience*
- Halliwell B. Free radicals and other reactive species in disease, *Encyclopedia of life sciences Nature publishing group*, 2001.
- Hensley, K., and Floyd, R.A. (2002). Reactive oxygen species and protein oxidation in aging: A look back, a look ahead. *Arch. Biochem. Biophys.* 397: 377-383.
- Helena Gradisar, Primoz Pristovsek, Andreja Plaper, Roman Jerala. Green tea catechins inhibit bacterial DNA gyrase by interaction with its ATP binding site. *J Med Chem.* 2007 Jan 25;50 (2):264-71.
- History of planet Earth <http://warrensburg.k.12.mo.us/ew/ehissumm.html>.
- Howard, D. J.; Ota, R. B.; Briggs, L. A.; Hampton, M.; Pritsos, C. A. Environmental tobacco smoke in the workplace induces oxidative stress in

- employees, including increased production of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 7:141–146; 1998.
- Ji, L. L.; Fu, R. G.; Mitchell, E. Glutathione and antioxidant enzyme in skeletal muscle: Effect of fiber type and exercise intensity. *J. Appl. Physiol.* 73:1854-1859; 1992.
 - Ji, L. L.; Fu, R. G. Responses of glutathione system and antioxidant enzymes to exhaustive exercise and hydroperoxide. *J. Appl. Physiol.* 72:549-554; 1992.
 - Ji, L. L. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Med. Sci. Sports Exer.* 25:225-231; 1993.
 - John McMurphy: Οργανική Χημεία (2^η έκδοση), Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 2000
 - Inoue, T.; Mu, Z.; Sumikawa, K.; Adachi, Z.; Okochi, T. Effect of physical exercise on the content of 8-hydroxydeoxyguanosine in nuclear DNA prepared from human lymphocytes. *Jpn. J. Cancer Res.* 84:720 –725; 1993.
 - Kamath A, Wang L, Das H, Li L, Reinhold V, Bukowski J (2003). "Antigens in tea-beverage prime human Vgamma 2Vdelta 2 T cells in vitro and in vivo for memory and nonmemory antibacterial cytokine responses". *Proc Natl Acad Sci U S A* 100 (10): 6009-14.
 - Klebanoff, S. J. Phagocytic cells: products of oxygen metabolism.
 - Matill HA (1947). Antioxidants. *Annu Rev Biochem* 16: 177–192.
 - McCarter R.J.M. In *Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise*. Eds., Sen C., Packer L., Hanninen O., Amsterdam, 2000, pp 797-830.
 - Meyer M, Schreck R, Baeuerle PA. H₂O₂ and antioxidants have opposite effects on activation of NF-κB and AP-1 in intact cells: AP-1 as secondary antioxidant response factor. *EMBO J* 12: 2005–2015, 1993.
 - Moreau and Dufraisse, (1922) *Comptes Rendus des Séances et Mémoires de la Société de Biologie*, 86, 321.
 - Muriel P. 1997. Peroxidation of lipids and liver damage In “Oxidants, Antioxidants and Free Radicals”, (Baskin S.I. and Salem H. Ed.), Taylor & Francis Press Washington, D.C., pp 237-257.
 - Nakajima, M.; Takeuchi, T.; Takeshita, T.; Morimoto, K. 8 Hydroxydeoxyguanosine in human leukocyte DNA and daily health practice factors: effects of individual alcohol sensitivity. *Environ. Health Perspect.* 104:1336 –1338; 1996.
 - Noguchi, N., Watanabe, A., Shi H. (2000) *Free Rad. Res.* 33: 809-817 Lu K, Gray M, Oliver C, Liley D, Harrison B, Bartholomeusz C, Phan K, Nathan P (2004). "The acute effects of L-theanine in comparison with alprazolam on anticipatory anxiety in humans". *Hum Psychopharmacol* 19 (7): 457-65.
 - Lu Y-P, Lou Y-R, Xie J-G, et al. Topical applications of caffeine or epigallocatechin gallate (EGCG) inhibit carcinogenesis and selectively increase apoptosis in UVB-induced skin tumors in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 12455 – 12460.
 - Nathan P, Lu K, Gray M, Oliver C (2006). "The neuropharmacology of L-theanine(N-ethyl-L-glutamine): a possible neuroprotective and cognitive enhancing agent". *J Herb Pharmacother* 6 (2): 21-30.
 - O’ Neil P. Pulse radiolytic study of the interaction of thiols and ascorbate with HO-adducts of dGMP and fG. Implications for DNA repair processes. *Radiation Res* 1983, 96:198-210.
 - Poulsen, H. E.; Loft, S.; Vistisen, K. Increased oxidative DNA damage after 30 days of vigorous exercise. *J. Toxicol. Environ. Health* 40:459–462; 1993.

- Patterson JW. Industrial wastewater treatment technology, 2nd ed., Butterworth Publishers, Boston, 1985.
- R.J. Nijveldt, Els van Nood, D.EC van Hoorn, P. G. Boelens, K. van Norren, P.AM van Leeuwen, (2001), Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications, *American Society for Clinical Nutrition*, 74:48-25
- Ruidavets JB, Teissedre PL, Ferrieres J, Carando S, Bougard G, Cabanis JC (2000) Catechin in the Mediterranean diet : vegetable, fruit or wine? *Atherosclerosis*, 153, 101-117.
- Sedlak DI, Andren AW. Oxidation of chlorobenzene with Fenton's reagent. *Environ Sci Technol*, 25: 777-782, 1991.
- Schmid E, Hotz-Wagenblatta, Drogew. Inhibition of the insulin receptor kinase phosphorylation by nitric oxide: functional and structural aspects. *Antioxidants Redox Signal* 1: 45-53, 1999.
- Spiteller G. 1998. Linoleic acid peroxidation-the dominant lipid peroxidation process in low density lipoprotein-and its relationship to chronic diseases. *Chemistry and Physics of Lipids*, 95, 105-162.
- Standman E.R. (2001). Protein oxidation in aging and age-related diseases. *Ann NY Acad Sci.*, 928:22-38.
- Steenken S. Purine base, nucleosides, and nucleotides: aqueous solution redox chemistry and transformation reactions of their radical cations and e- and OH adducts. *Chem Rev* 1989, 89:503-520.
- Suzuki, J.; Inoue, Y.; Suzuki, S. Changes in urinary level of 8-hydroxyguanine by exposure to reactive oxygen-generating substances. *Free Radic. Biol. Med.* 18:431- 436; 1995.
- Trapido M, Hirvonen A, Veressina Y, Hentunen J, Iunder R. Ozonation, ozone/UV and Vuv/H2O2 degradation of chlorophenols. *Ozone Sci Eng*, 17: 75-95, 1995.
- Ternay A.L. and Sorokin V. 1997. Redox, Radicals, and Antioxidants In "Oxidants, Antioxidants, and Free Radicals", (Baskin S.I. and Salem H. Ed.), Taylor & Francis Press Washington, D.C., pp 1-21.
- W. Ren, Z. Qiao, H. Wang, L. Zhu, L. Zhang, (2003), Flavonoids: Promising Anticancer Agents, *Medical Research Reviews*, 23 No4:519-534.
- Wolf G (2005). The discovery of the antioxidant function of vitamin E: the contribution of Henry A. Mattill, *J Nutr* 135 (3): 363-6.
- Yang C, Wang Z. Tea and cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 1038-1049.
- Yokogoshi H, Kobayashi M, Mochizuki M, Terashima T (1998). "Effect of theanine, r-glutamylethylamide, on brain monoamines and striatal dopamine release in conscious rats", *Neurochem Res* 23 (5): 667-73.
- Καράταλγης Σ., 1994. Φυσιολογία φυτών. Κεφάλαιο 10, σελ:365-414.
- Κουρέτας Δημήτριος Βιοχημική Τοξικολογία (2003).

