



# **Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο Αθηνών**

**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ:**

**“ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ-ΔΙΑΤΡΟΦΗ”**

**ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: “ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΑΔΚΗΣΗ”**

## **ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

Επίδραση βιοχημικών δεικτών διατροφικής πρόσληψης σε δείκτες ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης και οξειδωτικού στρες ποδοσφαιριστών

Effect of biochemical markers of dietary intake on oxidative stress and exercise-induced muscle damage indices of soccer players

### **Επιβλέπων**

Κ.Τζώρτζης Νομικός, Επίκουρος Καθηγητής

### **Μέλη**

Κ.Αντωνοπούλου Σμαραγδή,

Καθηγήτρια

Κ.Συντώσης Λάμπρος,

Καθηγητής

**ΕΛΕΝΗ ΠΕΡΣΙΑ Α.Μ. 4421332**

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

|                 |            |
|-----------------|------------|
| <b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b> | <b>5-6</b> |
|-----------------|------------|

|                    |          |
|--------------------|----------|
| <b>ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ</b> | <b>7</b> |
|--------------------|----------|

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.**

Ασκησιογενής μυϊκή βλάβη(AMB) –

Τι είναι και πώς αντιμετωπίζεται

|                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------|----|
| 1.1 Εισαγωγή                                                       | 8  |
| 1.1.2 Συμπτώματα AMB                                               | 8  |
| 1.1.3 Καθυστερημένος Μυϊκός Πόνος                                  | 8  |
| 1.2 Μηχανισμός ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης και ακολουθία συμβάντων | 9  |
| 1.2.2 AMB και έκκεντρη συστολή                                     | 10 |
| 1.3 Κλινικά συμπτώματα ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης                 | 13 |
| 1.4 Δείκτες εκτίμησης ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης                  | 14 |
| 1.5 Βιοχημικοί δείκτες                                             | 15 |
| 1.6 Διατροφή και ασκησιογενής μυϊκή βλάβη                          | 16 |
| 1.7 Συμπληρώματα διατροφής για AMB και ΚΜΠ                         | 16 |
| 1.8 Επίδραση της AMB στην αθλητική απόδοση                         | 18 |
| 1.9 Ασκησιογενής μυϊκή βλάβη και ποδόσφαιρο                        | 20 |
| 1.10 Στρατηγικές αντιμετώπισης μυϊκής βλάβης στο ποδόσφαιρο        | 22 |

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2**

Βιοχημικοί Δείκτες Διατροφικής πρόσληψης

|                                              |    |
|----------------------------------------------|----|
| 2.1 Γενικές Αρχές                            | 25 |
| 2.2 Βιοχημικοί Δείκτες Διατροφικής πρόσληψης | 25 |

|                    |                                                                                       |    |
|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.3                | Προϋποθέσεις που πρέπει να τηρούν οι Βιοχημικοί Δείκτες διατροφικής Πρόσληψης         | 28 |
| 2.4                | Παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδα βιοχημικών δεικτών διατροφικής πρόσληψης         | 30 |
| 2.4.1              | Τύποι αναλυτικών δοκιμασιών μέτρησης βιοχημικών δεικτών διατροφικής πρόσληψης         | 30 |
| 2.4.2              | Τα Λιπαρά Οξέα ιστών και βιολογικών υγρών ως βιοχημικοί δείκτες διατροφικής πρόσληψης | 30 |
| 2.4.3              | Βιολογικά δείγματα μέτρησης ΛΟ                                                        | 31 |
| 2.5                | Εκτίμηση διατροφικής πρόσληψης επιμέρους ΛΟ.                                          | 32 |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3</b>  |                                                                                       |    |
|                    | Σκοπός                                                                                | 34 |
| <b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4</b>  |                                                                                       |    |
| <b>ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ</b> |                                                                                       |    |
| 4.1                | Πρωτόκολλο μελέτης                                                                    | 35 |
| 4.2                | Πρωτόκολλο Loughborough Intermittent Shuttle Test (LIST)                              | 36 |
| 4.3                | Ανθρωπομετρία                                                                         | 36 |
| 4.4                | Σύσταση σώματος                                                                       | 37 |
| 4.4                | Υπολογισμός Μέγιστης Πρόσληψης Οξυγόνου                                               | 37 |
| 4.5                | Προσδιορισμός μυϊκής δύναμης                                                          | 37 |
| 4.6                | Αντίληψη καθυστερημένου μυϊκού πόνου                                                  | 38 |
| 4.7                | Αιμοληψίες                                                                            | 38 |
| 4.8                | Απομόνωση ορού και πλάσματος από το αίμα                                              | 39 |

|                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------|----|
| 4.9 Απομόνωση ερυθροκυττάρων                                          | 39 |
| 4.10 Μέτρηση λιπαρών οξέων στα ερυθροκύτταρα                          | 39 |
| 4.11.1 Εκχύλιση των λιπαρών οξέων                                     | 40 |
| 4.11.2 Μεθυλεστεροποίηση των λιπαρών οξέων και παραλαβή των εστέρων   | 40 |
| 4.11.3 Ανάλυση μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων με αέρια χρωματογραφία (GC) | 40 |

## **Κεφάλαιο 5**

### **Αποτελέσματα**

|                                                                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 5.1 Ανθρωπομετρικά, βιοχημικά και προπονητικά χαρακτηριστικά των εθελοντών της μελέτης.                                              | 43 |
| 5.2 Σύσταση λιπαρών οξέων ερυθροκυττάρων πριν την παρέμβαση – Συσχετίσεις με σωματομετρικούς, εργομετρικούς και βιοχημικούς δείκτες. | 44 |
| 5.3 Επίδραση του LIST στο προφίλ των ΛΟ στα ερυθροκύτταρα των εθελοντών.                                                             | 47 |
| 5.4.Συσχέτιση του προφίλ των ΛΟ στα ερυθροκύτταρα με τις μεταβολές δεικτών ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης μετά το LIST                  | 48 |

## **Κεφάλαιο 6**

|          |    |
|----------|----|
| Συζήτηση | 51 |
|----------|----|

## **Κεφάλαιο 7**

|              |    |
|--------------|----|
| Βιβλιογραφία | 58 |
|--------------|----|

## Περίληψη

**Εισαγωγή:** Ο μυϊκός πόνος, η προσωρινή απώλεια δύναμης και ο περιορισμός στο εύρος κίνησης που προκύπτουν από την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη (AMB) αποτρέπουν τη γρήγορη αποκατάσταση ενός αθλητή, π.χ. ποδοσφαιριστή, στις αγωνιστικές και προπονητικές τους υποχρεώσεις. Ολοένα και περισσότερο κρίνεται αναγκαία η εύρεση διαδικασιών που μειώνει ή αποτρέπει την εμφάνιση των συμπτωμάτων της AMB. Η σύσταση του προσλαμβανόμενου λίπους των αθλητών σε λιπαρά οξέα μπορεί να επηρεάσει τους μηχανισμούς φλεγμονής που συνοδεύουν την AMB. Ένας από τους καλύτερους τρόπους εκτίμησης της μακροχρόνιας πρόσληψης λιπαρών οξέων είναι η μέτρηση των λιπαρών οξέων στα ερυθροκύτταρα.

**Σκοπός:** Σκοπός της παρούσα διατριβής είναι η αξιολόγηση της διατροφικής πρόσληψης αθλητών ποδοσφαίρου στη σύσταση του λίπους με τη μέτρηση των λιπαρών οξέων στα ερυθροκύτταρα, την επίδραση διαλλειματικής άσκησης που προσομοιάζει ένα αγώνα ποδοσφαίρου στη σύσταση σε λιπαρά οξέα των ερυθροκυττάρων και η μελέτη της σχέσης που μπορεί να έχει η παραπάνω σύσταση με δείκτες ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης.

**Μεθοδολογία:** Το δείγμα της έρευνας αποτέλεσαν 22 νέοι ενήλικες αθλητές ποδοσφαίρου, ενεργά μέλη ποδοσφαιρικών ομάδων ερασιτεχνικών κατηγοριών του νομού Αττικής. Οι δοκιμαζόμενοι υποβλήθηκαν σε δοκιμασία (Loughborough Intermittent Shuttle Test, LIST), η οποία προσομοιάζει έναν αγώνα ποδοσφαίρου. Πριν την άσκηση και 2,24,48,72 ώρες μετά την άσκηση, έγινε εργομετρική αξιολόγηση, μέτρηση βιοχημικών δεικτών AMB καθώς και μέτρηση λιπαρών οξέων στα ερυθροκύτταρα με τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας.

**Αποτελέσματα:** Τα κορεσμένα λιπαρά οξέα (SFA) απαρτίζουν το  $39,2 \pm 3,8\%$  του συνολικού εμβαδού του χρωματογραφήματος, τα μονοακόρεστα (MUFA) το  $15,6 \pm 1,2\%$  και τα πολυακόρεστα (PUFA) το  $27,28 \pm 3,21$  ενώ ο λόγος  $\omega-6/\omega-3$  λιπαρά οξέα ήταν  $9,8 \pm 4,2$ . Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές στο στη σύσταση των ερυθροκυττάρων σε λιπαρά οξέα μετά την άσκηση. Σε ανάλυση συσχετίσεων μεταξύ της σύστασης των λιπαρών οξέων και των μεταβολών δεικτών AMB, οι σημαντικότερες ήταν η αρνητική συσχέτιση μεταξύ των SFA, PUFA και  $\omega-3$  με τη μεταβολή της υπεροξειδάση της γλουταθειόνης στις 72 ώρες, η αρνητική συσχέτιση μεταξύ του 20:2 και η θετική συσχέτιση με του  $\alpha$ -λινολενικού οξέος με την αύξηση της CRP μετά την άσκηση.

**Συμπεράσματα:** Η σύσταση των λιπαρών οξέων ερυθροκυττάρων δεν επηρεάζεται από ένα πρωτόκολλο διαλλειματικής άσκησης σε αθλητές, ενώ δεν εμφανίζει ισχυρές συσχετίσεις με δείκτες ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης εκτός από τη μεταβολή της δραστηριότητας αντιοξειδωτικών ενζύμων που χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

## Abstract

**Introduction:** Exercise-induced muscle damage can induce delayed onset muscle pain, strength decline and attenuation of the range of motion which in turn prevent the rapid recovery of a soccer player after a competitive game. Therefore, strategies aiming to attenuate the clinical symptoms of muscle damage are necessary for competitive athletes. The composition of dietary fat in fatty acids can modulate exercise-induced inflammatory and oxidative stress mechanisms. The composition of red blood cell (RBC) fatty acids is one of the most accurate markers for the estimation of long-term dietary fat intake.

**Aim:** Aims of the present study were: a) the evaluation of the quality of dietary fat of soccer players through the determination of RBC FAs, b) the acute effect of an intermittent exercise on the RBC fatty acid profile and c) the investigation of possible associations between the RBC FA profile and indices of exercise-induced muscle damage after the exercise protocol

**Methodology:** Twenty two semi-professional soccer players were recruited. The volunteers undertook a Loughborough Intermittent Shuttle Test (LIST) which simulates a real soccer match. Blood samples were taken pre-exercise and 2, 24, 48 and 72 hours post-exercise. Red blood cells were isolated and their fatty acid profile was determined with gas chromatography. The percentages of fatty acids were correlated with indices of muscle damage

**Results:** Saturated fatty acids, monounsaturated fatty acids and polyunsaturated fatty acids comprise the  $39.2\pm3.8\%$ ,  $15.6\pm1.2\%$  and  $27.3\pm3.2$  of total fatty acids while the ration of  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 fatty acids was  $9.8\pm4.2$ . The LIST protocol could not induce changes in the fatty acid profile of RBCs. Correlation analysis revealed a inverse correlation between SFA, PUFA and  $\omega$ -3 with changes of the glutathione peroxidase of leukocytes in 72 hours after exercise, a negative correlation between 20:2 and CRP and a positive correlation between  $\alpha$ -linolenic acid and CRP

**Conclusions:** The fatty acid content of RBC is not affected by an intermittent shuttle test that simulates a soccer match. No strong, significant correlation between the RBC fatty acid profile and indices of muscle damage were observed with the exception of the activity of antioxidant enzymes which demands further investigation.

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Θεωρώ τουλάχιστον αναγκαίο στην αρχή της εργασίας μου να ευχαριστήσω με ιδιαίτερη συγκίνηση μερικά άτομα χωρίς την συμβολή των οποίων η εκπόνηση της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής δεν θα είχε πραγματοποιηθεί.

Επιβλέποντας καθηγητής ήταν ο κ. Νομικός Τζώρτζης και μέλη της τριμελούς επιτροπής, η Καθηγήτρια κ. Αντωνοπούλου Σμαραγδή και ο κ. Συντώσης Λάμπρος.

Αρχικά οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στον κ. Νομικό που με τόση υπομονή, θέληση και αγάπη για αυτό που κάνει μου μετέφερε επιστημονικές γνώσεις, εφόδια για το μέλλον, από το πειραματικό στάδιο μέχρι την παράδοση της διατριβής μου.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω και τον κ Καλογερόπουλο Νικόλαο για την βοήθεια που μου παρείχε κατά την διεξαγωγή των πειραματικών διεργασιών και τη μεθοδολογία μέτρησης των λιπαρών οξέων στα ερυθρά κύτταρα.

## **Κεφάλαιο 1.**

### **Ασκησιογενής μυϊκή βλάβη – Τι είναι και πως αντιμετωπίζεται**

#### **1.1 Εισαγωγή**

Ως ασκησιογενής μυϊκή βλάβη (AMB) ορίζεται η αίσθηση δυσφορίας ή πόνου στο σκελετικό μυ μετά από έντονη σωματική δραστηριότητα την οποία ένας οργανισμός δεν έχει συνηθίσει. Η συχνότητα εμφάνισης της AMB είναι δύσκολο να χαρακτηριστεί επειδή οι περισσότεροι άνθρωποι που τη βιώνουν δε ζητούν ιατρική συμβουλή αλλά αντιμετωπίζουν την κατάσταση ως μια προσωρινή ενόχληση.

Η AMB συνδέεται μόνο με προσωρινές βλάβες όπως είναι ο πόνος και η μειωμένη μυϊκή δραστηριότητα. Δεν υπάρχουν στοιχεία που να την συνδέουν με μόνιμη βλάβη ή μακροχρόνια μειωμένη λειτουργία των μυών. Χαρακτηρίζεται ως μυϊκή θλάση 1ου βαθμού, εμφανίζεται 24-48 ώρες μετά από την άσκηση και συνήθως δεν σχετίζεται με έντονα κλινικά συμπτώματα. Μπορεί να προκαλεί είτε μια ελαφριά ενόχληση που εξαφανίζεται λίγες ώρες ή μέρες αργότερα είτε πιο έντονο πόνο και δυσκαμψία που δυσκολεύει αρκετά την κίνηση. Η ενόχληση εντοπίζεται αρχικά στο ακραίο τμήμα των μυών πιθανόν λόγω της εκεί ύπαρξης μεγάλου αριθμού υποδοχέων μυϊκού πόνου [1]

Η AMB εμφανίζεται μετά από ασυνήθιστη άσκηση έντονης διάρκειας, ιδιαίτερα αν η άσκηση περιλαμβάνει μεγάλο ποσό έκκεντρων συστολών. Έκκεντρες συστολές υπάρχουν σε πλήθος κινήσεων και αθλημάτων όπως ο μαραθώνιος, το τρέξιμο σε κατηφόρα, η ποδηλασία κτλ [2]

##### **1.1.2 Συμπτώματα**

Τα άμεσα συμπτώματα της μυϊκής βλάβης περιλαμβάνουν πόνο, κούραση, μειωμένη αντοχή, οίδημα και δυσκαμψία. Υπάρχουν αρκετοί δείκτες που μαρτυρούν την εμφάνιση μυϊκής βλάβης. Έμμεσοι δείκτες της μυϊκής βλάβης μεταξύ άλλων είναι η αύξηση της έντασης του T2 σήματος μέσω τεχνικών απεικόνισης μαγνητικού συντονισμού, η παρατεταμένη μείωση στην παραγωγή δύναμης κατά τη διάρκεια των συστολών, η αύξηση των δεικτών φλεγμονής τόσο στο εσωτερικό του τραυματισμένου μυ αλλά και στο αίμα, η αυξημένη εμφάνιση των μυϊκών πρωτεϊνών στο αίμα και τέλος ο μυϊκός πόνος [3]

### 1.1.3 Καθυστερημένος Μυϊκός Πόνος

Η εμφάνιση μυϊκού πόνου μετά από άσκηση εμφανίζεται στα άτομα ανεξάρτητα από το επίπεδο φυσικής κατάστασης τους και των δημογραφικών χαρακτηριστικών όπως το φύλο και η ηλικία. Ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος (ΚΜΠ) παρατηρείται συχνά σε αθλητές που γυμνάζονται με ασκήσεις υψηλής έντασης καθώς και σε αγύμναστα άτομα που συμμετέχουν σποραδικά σε αθλητικές δραστηριότητες και καταβάλλουν έντονη προσπάθεια. Η μυϊκή βλάβη μετά από ασυνήθιστη έκκεντρη άσκηση είναι παρόμοια σε άνδρες και γυναίκες και το μόνο που διαφέρει είναι η φλεγμονώδης απόκριση που ακολουθεί τον ΚΜΠ [1][4]

| Timeline after exercise        |               |              |             |
|--------------------------------|---------------|--------------|-------------|
| <u>Symptom / Indicator</u>     | <u>Starts</u> | <u>Peaks</u> | <u>Ends</u> |
| <b>Pain</b>                    | Hours         | 1-3 days     | 7-10 days   |
| <b>Swelling</b>                | Hours         | 4-6 day      | 10 days     |
| <b>CK &amp; Mb</b>             | 1 Day         | 5-6 days     | 10 days     |
| <b>Glycogen depletion</b>      | Hours         | 9 Days       | 18 Days     |
| <b>Ultra-structural Damage</b> | Immediate     | 8-20 Days    | 21 Days+    |
| <b>Weakness</b>                | Immediate     | 1-2 Days     | 14 Days     |

Συγκεντρωτικός πίνακας με τα συμπτώματα της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης και τους χρόνους εμφάνισης τους. ( Wilmore and Costill 2004, Nosaka et al, 2011).

### 1.2 Μηχανισμός ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης και ακολουθία συμβάντων

Ο μηχανισμός που κρύβεται πίσω από την εμφάνιση της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως. Έχουν προταθεί διάφορες θεωρίες και συνεχώς γίνονται μελέτες προκειμένου να δημιουργηθεί μια σαφέστερη εικόνα. Ωστόσο πιο πιθανός φαίνεται ο συνδυασμός δύο ή και περισσότερων μηχανισμών μοντέλων υπεύθυνων για την καθυστερημένη εμφάνιση μυϊκού πόνου έπειτα από άσκηση. Ως επί το πλείστο την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη την προκαλεί η έκκεντρη άσκηση. Δημιουργείται η αρχική βλάβη στο μυϊκό και συνδετικό ιστό, η οποία με τη σειρά της προκαλεί την εμφάνιση φλεγμονής και τοπικού οιδήματος. [5]

### 1.2.2 AMB και έκκεντρη συστολή

Η άσκηση που περιλαμβάνει έκκεντρες συστολές προκαλεί μεγαλύτερη βλάβη στο μυ από ότι η άσκηση που περιλαμβάνει ομόκεντρες ή ισομετρικές συσπάσεις. Αυτό οφείλεται πιθανότατα στο γεγονός ότι λιγότερες κινητικές μονάδες (και κατά επέκταση μυϊκές ίνες) ενεργοποιούνται κατά τη διάρκεια έκκεντρης άσκησης σε σχέση με μειομετρική άσκηση παρόμοιου έργου. Το φαινόμενο αυτό κορυφώνεται στις κυτταρικές διαταραχές των λεπτών νηματίων που είναι αγκυροβολημένα στις ζώνες-Z, όπως μπορεί να παρατηρηθεί σε μια απεικόνιση MRI. Η μεγάλη δύναμη που παράγεται ανά μυϊκή ίνα κατά την έκκεντρη συστολή δημιουργεί μια κατάσταση όπου λίγες ίνες επιστρατεύονται για την παραγωγή σχετικά μεγάλων δυνάμεων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα οι αριθμητικά λιγότερες μυϊκές ίνες να μην αντέχουν τη μεγάλη επιβάρυνση και να δημιουργείται μυϊκή βλάβη και πόνος. Πράγματι, η αυξημένη ένταση που ασκείται ανά μονάδα επιφάνειας μπορεί να προκαλέσει μηχανική διάσπαση των δομικών στοιχείων των μυϊκών ινιδίων ή και του συνδετικού ιστού. [6][2]

Από έρευνες που έχουν χρησιμοποιήσει τη μεθοδολογία της ηλεκτρομυογραφίας προκύπτει πως κατά την έκκεντρη συστολή επιστρατεύονται λιγότερες μυϊκές ίνες για τη παραγωγή δύναμης σε σχέση με την μειομετρική. Οι ίνες αυτές έχουν μεγαλύτερη προδιάθεση σε βλάβη επειδή οι Z ζώνες τους, που είναι ο πιο αδύναμος κρίκος μεταβίβασης της δύναμης, είναι πιο λεπτές και αδύνατες από ότι στις ίνες βραδείας συστολής. Ο τραυματισμός των μυοϊνιδίων αυξάνεται προοδευτικά 1-3 μέρες μετά την εκτέλεση της έκκεντρης άσκησης και δύναται να οδηγήσει σε εκτεταμένη κάκωση του συνδετικού ιστού που βρίσκεται στην περιοχή της μυοτενόντιας ένωσης αλλά και γύρω από τις μυϊκές ίνες. Η διατάραξη στην περιοχή των Z-ζωνών προκαλεί βλάβη στις κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες (πχ. δεσμίνες) που είναι καίριας σημασίας για τη διατήρηση της δομής του σαρκομερίου. [7] [6]

Επιπλέον, η μηχανική πίεση μπορεί να ενεργοποιήσει τα κανάλια ασβεστίου με αποτέλεσμα την αύξηση του ενδοκυτταρικού ασβεστίου. Η αύξηση αυτή με τη σειρά της ενεργοποιεί τις πρωτεάσες ασβεστίου που προκαλούν περαιτέρω καταστροφή των πρωτεϊνών των μυϊκών ινών. Η συσσώρευση των κατεστραμμένων πρωτεϊνών σηματοδοτεί την έναρξη φλεγμονώδους αντίδρασης και τελικά το αποτέλεσμα της μυϊκής ζημιάς είναι η μειωμένη παραγωγή ισχύος, ο μυϊκός πόνος, αυξημένα επίπεδα πρωτεϊνών στο αίμα (CK και μυοσφαιρίνη) και πρήξιμο στα άκρα του μυ που είχε ασκηθεί η πίεση [8]

Επίσης, η περιορισμένη παροχή ενέργειας μπορεί να συμβάλλει στην εμφάνιση ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης. Οι μεταβολικές διαταραχές προκαλούν ισχαιμία που οδηγεί σε μυϊκή ζημιά έπειτα από έντονη άσκηση ενώ και η σύνθεση γλυκογόνου μπορεί επίσης να είναι παράγοντας που συμβάλλει στην εμφάνιση καθυστερημένου μυϊκού πόνου. Η ταχύτητα αναπαραγωγής μειώνεται σοβαρά κατά τη διάρκεια επισκευής των μυϊκών ινών, δημιουργώντας μια ανεπάρκεια σε ATP, το οποίο είναι απαραίτητο για τη συνεχόμενη δραστηριότητα του μυός ή και την ανάκτηση αυτής.

Η αλλοίωση του σαρκοπλασματικού δικτύου είναι υπεύθυνη για την διαρροή ιόντων ασβεστίου στο σαρκόπλασμα τα οποία προκαλούν ενεργοποίηση των πρωτεολυτικών μονοπατιών, τα οποία συμβάλλουν στον μυϊκό καταβολισμό και μειώνουν ακόμα περισσότερο την λειτουργικότητα του μυ. Πέρα από τη μηχανική πίεση ζημιά στις μυϊκές ίνες προκαλεί και η ενεργοποίηση των καλπαϊνών, πρωτεϊνών που ρυθμίζουν τον κύκλο παραγωγής των μυϊκών πρωτεϊνών.

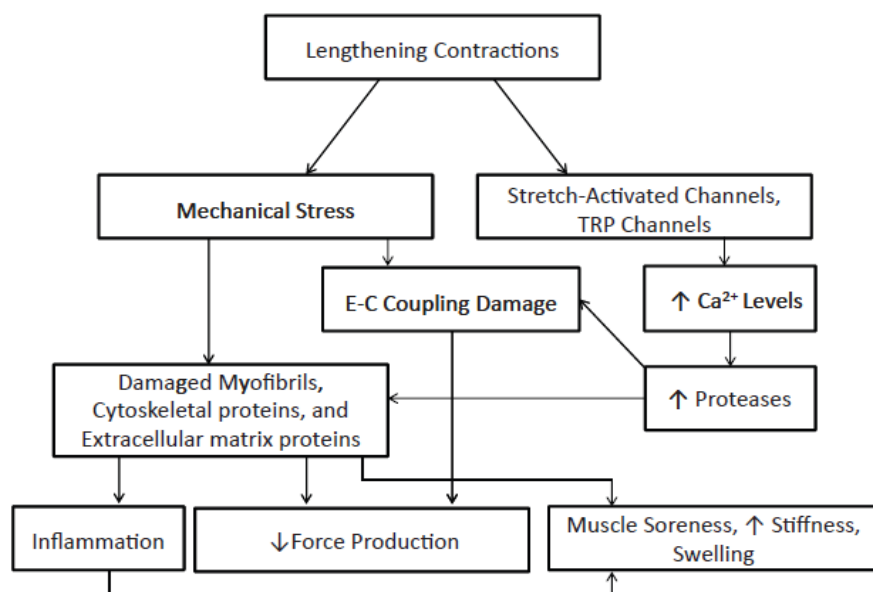
Έχει παρατηρηθεί πως τα επίπεδα του ενδοκυτταρικού ασβεστίου αυξάνονται σημαντικά μετά από έκκεντρες συστολές. Καθώς το επίπεδο του ενδοκυτταρικού ασβεστίου αυξάνεται ενεργοποιούνται ασβεστιο-εξαρτώμενα πρωτεολυτικά ένζυμα τα οποία διασπούν τη Ζ-ζώνη του σαρκομερίου, την τροπονίνη, την τροπομυοσίνη, την τιτίνη, τη δεσμίνη, κινάσες και άλλα σηματοδοτικά μόρια.[9]

Σε λίγες μόνο ώρες η φλεγμονή αυξάνει με αποτέλεσμα ουδετερόφιλα και μακροφάγα να εισέρχονται στις μυϊκές ίνες. Σύμφωνα μάλιστα με τους Tidball et al. [10] στα πρώτα στάδια της μυϊκής ζημιάς αυξάνονται τα μακροφάγα M1 και τα ουδετερόφιλα ενώ στη συνέχεια αυξάνεται η συγκέντρωση των M2 μακροφάγων τα οποία βοηθούν στην ενεργοποίηση δορυφορικών κυττάρων και στην μετέπειτα αποκατάσταση της ζημιάς των σκελετικών μυών [11]

Ο αριθμός των μονοκυττάρων-μακροφάγων φτάνει την μέγιστη τιμή τους στις 48 ώρες. Λόγω της έκθεσης τους σε φλεγμονώδες περιβάλλον, τα μακροφάγα παράγουν προσταγλαδίνη E2 η οποία ευαισθητοποιεί τις νευρικές απολήξεις τύπου III και IV σε μηχανικό, χημικό ή θερμικό ερεθισμό [12]

Η συσσώρευση ισταμίνης, καλίου και κινίνων που προέρχονται από την ευεργετική φαγοκυττάρωση και την κυτταρική νέκρωση, σε συνδυασμό με την αυξημένη πίεση λόγω του ιστικού οιδήματος και την τοπικά αυξημένη θερμοκρασία, μπορούν κάλλιστα να

ενεργοποιήσουν νευρικές απολήξεις του πόνου που βρίσκονται στο εσωτερικό των μυικών ινών και στην περιοχή της μυοτενόντιας σύνδεσης. Η αίσθηση του πόνου στον σκελετικό μυ μεταδίδεται από δυο ομάδες ινών, τις εμμύελες ίνες ομάδας III (A-delta ίνες) και τις αμύελες της ομάδας IV (C-ίνες). Οι αισθητικοί νευρώνες των ομάδων III και IV καταλήγουν σε ελεύθερες νευρικές απολήξεις. Οι ελεύθερες νευρικές απολήξεις διανέμονται κυρίως στον συνδετικό ιστό του μυ μεταξύ των ινών και των μυοτενοντώδων συνάψεων. Οι εμμύελες ίνες της ομάδας III φέρονται υπεύθυνες για την μετάδοση του απότομου τοπικού πόνου ενώ οι αμύελες ίνες της IV ομάδας μεταφέρουν θαμπό και διάχυτο γενικευμένο πόνο. Η αντίληψη του ασκησιογενούς μυϊκού πόνου γίνεται κατά κύριο λόγο από τις ίνες της ομάδας IV. Οι ελεύθερες νευρικές απολήξεις της ομάδας των αμύελων ινών είναι πολυτροπικές και αντιδρούν σε μια ποικιλία ερεθισμάτων τόσο χημικών όσο και μηχανικών και θερμικών (Kedlaya et al. 2014). Ο πόνος αυτός μπορεί να αυξάνεται με την κίνηση επειδή η αυξημένη ενδομυϊκή πίεση προκαλεί μηχανικό ερεθισμό για τους υποδοχείς του πόνου οι οποίοι είναι ήδη ευαισθητοποιημένοι από την PGE2.[13]



Εικόνα: Σχηματική απεικόνιση των πιθανών μηχανισμών της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, που αναλύθηκαν παραπάνω. [14]

### 1.3Κλινικά συμπτώματα ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης

#### Δομικές αλλαγές

Η πιο άμεση δομική αλλαγή που παρατηρείται είναι ανομοιογένεια στα σαρκομέρια και ανομοιογενής κατανομή υπερ- και υπο-εκτεταμένων σαρκομερίων.

#### Οίδημα

Ως επίπτωση της φλεγμονώδους απόκρισης, εμφανίζεται πρήξιμο στον έκκεντρα ασκούμενο μυ. Τα προϊόντα διάσπασης των μυών (π.χ. πρωτεϊνικά κλάσματα) απομακρύνονται σταδιακά από το εξωκυττάριο δίκτυο μέσω του λεμφικού συστήματος και μπορούν να προσελκύουν νερό, οδηγώντας σε τοπικό οίδημα. Το μέγιστο πρήξιμο μπορεί να υφίσταται μέχρι 5-10 ημέρες μετά την άσκηση. Ξεκινά μέσα στον μυ και στην συνέχεια διαχέεται στον υποδόριο χώρο τις πρώτες 5 ημέρες μετά την άσκηση.

Η  $[Na^+]$  φαίνεται να ακολουθεί τις έκκεντρες συστολές και διαρκεί 5-10 λεπτά για να φτάσει τις μέγιστες τιμές της. Η αύξηση στην  $[Na^+]$  είναι σημαντική και αναμένεται να συνοδεύεται από οσμωτικά ισοδύναμο νερού που θα μπορούσε να συμβάλλει στο σχετιζόμενο με τις συστολές επιμήκυνσης πρήξιμο. Η αύξηση της  $[Na^+]$  θα ενεργοποιήσει την αντλία  $Na^+-K^+$ , την εκροή του  $Na^+$  η οποία, συνοδεύεται από οσμωτική αύξηση στο νερό.

Συσχετιζόμενη με αυτό το οίδημα είναι η επίσης η συχνά παρατηρούμενη μείωση του εύρους κίνησης της εμπλεκόμενης άρθρωσης. Αυτοί οι παράγοντες πιθανότατα επηρεάζουν την αθλητική απόδοση.

#### Απώλεια δύναμης

Η υψηλής δύναμης έκκεντρη άσκηση οδηγεί σε μία παρατεταμένη απώλεια στην μυϊκή δύναμη, τέτοια που αμέσως μετά την άσκηση παρατηρούνται απώλειες δύναμης 50 με 60%, η οποία δεν επανέρχεται εντελώς έως και μετά από 10 ή περισσότερες μέρες.

Ο πόνος από μόνος του, δεν είναι αίτιο της μειωμένης ικανότητας για παραγωγή έργου, αφού η δύναμη εμφανώς μειώνεται αμέσως μετά την έκκεντρη άσκηση πριν ακόμη γίνει αντιληπτός ο πόνος, και η απώλεια της δύναμης επιμένει αρκετά μετά την μείωση του αισθήματος πόνου.

Η βλάβη στην αρχιτεκτονική των μυοϊνιδίων χειροτερεύει στις 2-3 μέρες μετά την άσκηση αφού η δύναμη επανέρχεται, και έτσι, η βλάβη στην αρχιτεκτονική του μυός δεν είναι ένας παράγοντας που εξηγεί την απώλεια της δύναμης.

Αυτές οι αλλαγές μπορεί να οφείλονται σε τροποποιήσεις της σύζευξης διέγερσης-συστολής και τον σχηματισμό/λειτουργία των εγκάρσιων γεφυρών ακτίνης - μυοσίνης.

#### **1.4 Δείκτες εκτίμησης ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης**

##### **Βιοψία**

Η βιοψία αποτελεί τον καλύτερο τρόπο εκτίμησης της AMB, μέσω παθολογοανατομικής ανάλυσης της δομής των σαρκομερίων. Παράλληλα, επιτρέπει τη μελέτη τοπικών μηχανισμών φλεγμονής και οξειδωτικού στρες με τη μέτρηση ενζύμων, πρωτεϊνών, κυτταροκινών και ενδογενών αντιοξειδωτικών. Ωστόσο, είναι το δυσκολότερο για παραλαβή δείγμα και απαιτεί έμπειρο προσωπικό και κλινικό περιβάλλον.

##### **Κλινικοί δείκτες**

##### **Καθυστερημένος μυϊκός πόνος (ΚΜΠ)**

Το μέγεθος του ΚΜΠ δεν αντιπροσωπεύει το μέγεθος της μυϊκής βλάβης και επομένως προσοχή πρέπει να δίνεται όταν εκτιμώνται οι βαθμίδες του ΚΜΠ ως δείκτες της μυϊκής βλάβης. Η χρονική ακολουθία του ΚΜΠ ξεκινά συνήθως 6-12 ώρες μετά την άσκηση, και τυπικά, τα άτομα πηγαίνουν για ύπνο με ήπια δυσφορία και ξυπνούν το επόμενο πρωί με πολύ έντονο πόνο, που μερικές φορές φτάνει σε πλήρη εξασθένιση. Ο μέγιστος πόνος εμφανίζεται συνήθως μεταξύ 48-72 ώρες μετά την άσκηση, πριν αρχίσει να υποχωρεί, με ελάχιστο ή καθόλου πόνο 5-7 ημέρες μετά την άσκηση. Η εκτίμηση του πόνου γίνεται συνήθως με ερωτηματολόγια στα οποία ζητείται η υποκειμενική αντίληψη του πόνου χρησιμοποιώντας αριθμητικές κλίμακες αλλά και με ειδικό αλγόμετρο. [15]

##### **Απώλεια δύναμης**

Η απώλεια δύναμης συνήθως παρουσιάζει την μεγαλύτερή της τιμή αμέσως μετά την άσκηση ή μέσα στις πρώτες 48 ώρες και αποκαθίσταται συνήθως σε περισσότερες από 5 ημέρες.

##### **Οίδημα**

Η δυσκαμψία και το οίδημα συνήθως κορυφώνονται 3 – 4 ημέρες μετά την άσκηση και εξαφανίζονται μέσα σε 10 ημέρες. Η περίμετρος του μυός στον οποίο έχει προκληθεί AMB μπορεί να αποτελέσει ένα αδρό τρόπο εκτίμησής του οιδήματος..

Εύρος κίνησης (range of motion, ROM)

Είναι η διαφορά στη γωνία μεταξύ της μεγαλύτερης κάμψης και έκτασης του συνδέσμου. Η μείωση στο ROM οφείλεται στην αυξημένη παθητική τάση του μυός εξαιτίας της έκκεντρης άσκησης.

### **1.5 Βιοχημικοί δείκτες**

Όταν υπάρχει μυϊκή βλάβη, οι μεμβράνες των κυττάρων υφίστανται ρήξη και μερικές πρωτεΐνες διαρρέουν στην κυκλοφορία του αίματος. Ένας πρακτικός δείκτης μυϊκής βλάβης στους αθλητές που εκτελούν έκκεντρη άσκηση είναι η άνοδος των μυϊκών πρωτεϊνών (π.χ. μυοσφαιρίνη, κρεατινική κινάση, γαλακτική αφυδρογονάση, τρανσαμινάση του ασπαρτικού) στο πλάσμα του αίματος.

Η κρεατινική κινάση (CK) βρίσκεται στο σαρκεύλημα και στο ενδομεμβρανικό μιτοχονδριακό χώρο των υγιών μυϊκών κυττάρων και είναι υπεύθυνη για την κατάλυση της μεταφοράς της φωσφορικής ομάδας από την φωσφοκρεατίνη στην διφωσφορική αδενοσίνη, σχηματίζοντας τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP) και κρεατίνη. Η CK είναι παρούσα στο σώμα ως 3 ισοένζυμα: η CK του σκελετικού μυϊκού ιστού, του καρδιακού ιστού και του εγκεφάλου. Η κρεατινική κινάση (CK) θεωρείται αξιόπιστος δείκτης της διαπερατότητας της μυϊκής μεμβράνης αφού αυτό το ένζυμο βρίσκεται αποκλειστικά στο εσωτερικό των σκελετικών μυών και του καρδιακού μυ. Συνεπώς, η αποδιοργάνωση των Z – ζωνών και η βλάβη στο σαρκεύλημα έχει ως αποτέλεσμα την διάχυση διαλυτών μυϊκών ενζύμων, όπως της CK, στο διάμεσο υγρό όπου και παραλαμβάνεται από το λεμφικό σύστημα. Η CK στην συνέχεια μεταφέρεται μέσω του λεμφικού συστήματος και τελικά ελευθερώνεται στην συστηματική κυκλοφορία, καταλήγοντας σε αύξηση των επιπέδων της CK στον ορό.

Η γαλακτική αφυδρογονάση (LDH) καταλύει την αμφίδρομη αντίδραση του σχηματισμού του πυροσταφυλικού οξέος σε γαλακτικό (και αντίστροφα). Πολυάριθμες έρευνες έχουν δείξει πως η LDH αυξάνεται στον ορό μετά από άσκηση και αυτή η αύξηση οφείλεται πιθανόν τόσο στην αύξηση της διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης, που συμβαίνει όταν το κύτταρο έχει εξαντλήσει τα ενεργειακά του υποστρώματα, όσο και την κυτταρική βλάβη που προέρχεται από την παρατεταμένη άσκηση.

## **1.6 Διατροφή και ασκησιογενής μυϊκή βλάβη**

Ένας μεγάλος αριθμός παρεμβάσεων έχει πραγματοποιηθεί με σκοπό τη διερεύνηση του ρόλου της διατροφής στην AMB. Όπως περιγράφηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο, η AMB προκύπτει αρχικά λόγω μηχανικής βλάβης των μυϊκών ινών, η οποία οδηγεί σε ένα σύνολο γεγονότων (φλεγμονή, οξειδωτικό στρες) που επιφέρουν επιπλέον βλάβη στο μυϊκά κύτταρα. Επομένως, είναι εύλογο να θεωρηθεί ότι συγκεκριμένοι διατροφικοί παράγοντες θα μπορούσαν να δράσουν περιορίζοντας αυτές τις δευτερογενείς διεργασίες ή/και ενισχύοντας της διαδικασίες επούλωσης που ακολουθούν, οδηγώντας σε χαμηλότερο βαθμό μυϊκής βλάβης ή/και ταχύτερη αποκατάσταση ύστερα από AMB.

Μια γρήγορη και αποτελεσματική αποκατάσταση θα επιτρέψει στους αθλητές να ανταποκριθούν επαρκώς στις απαιτήσεις του προπονητικού προγράμματος, κάτι που θα επιφέρει τις αναμενόμενες βελτιώσεις στην απόδοσή τους. Είναι ευρέως αποδεκτό, ότι κατά τη διάρκεια της αποκατάστασης μετά την άσκηση, η βέλτιστη διατροφική πρόσληψη είναι απαραίτητη προκειμένου να διευκολυνθεί η επιδιόρθωση των μυών και η αναγέννησή τους. Για το σκοπό αυτό, πολλοί ερευνητές έχουν εξετάσει το ρόλο συγκεκριμένων διατροφικών συμπληρωμάτων και τροφίμων στη μείωση της μυϊκής βλάβης και των συνοδών συμπτωμάτων της.

## **1.7 Συμπληρώματα διατροφής για AMB και ΚΜΠ**

### **Αντιοξειδωτικά**

Τα διατροφικά αντιοξειδωτικά είναι μη ενζυμικά συστατικά, στα οποία περιλαμβάνονται η λιποδιαλυτή βιταμίνη E, τα καροτενοειδή, το συνένζυμο Q10 (CoQ10), η υδατοδιαλυτή βιταμίνη C, η γλουταθειόνη κ.α. Τα αντιοξειδωτικά αυτά δρουν είτε μετατρέποντας τα ROS σε λιγότερα δραστικά μόρια, είτε προλαμβάνοντας τη μετατροπή τους σε πιο δραστικές μορφές, έχοντας εξωκυτταρικά και ενδοκυτταρικά σημεία δράσης. [16] Η αναστολή της παραγωγής ελευθέρων ριζών με τη χρήση αντιοξειδωτικών ενώσεων ή ενώσεων που ενισχύουν τους ενδογενείς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς θα μπορούσε να οδηγήσει σε μείωση των κλινικών φαινομένων που συνοδεύουν την AMB.

Διάφορα συμπληρώματα αντιοξειδωτικών, είτε μόνα τους, είτε σε συνδυασμό, καθώς και τρόφιμα με αντιοξειδωτικές ιδιότητες έχουν κατά καιρούς μελετηθεί ως προς αυτή τους τη δράση. Παρά το μεγάλο όγκο μελετών που έχουν πραγματοποιηθεί, τα αποτελέσματα παραμένουν αντικρουόμενα και μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν ισχυρά στοιχεία για να αποδείξουν σημαντικές επιδράσεις των αντιοξειδωτικών στις δομικές και λειτουργικές βλάβες που σχετίζονται με την AMB. Η ασυνέπεια των ευρημάτων οφείλεται εν μέρει στην ανομοιογένεια των μελετών όσον αφορά το είδος, τη δοσολογία και τη χρονική στιγμή χορήγησης των

συμπληρωμάτων, το πρωτόκολλο άσκησης που χρησιμοποιήθηκε για την πρόκληση AMB, τη προπονητική κατάσταση των εθελοντών καθώς και τους επιλεγόμενους δείκτες για την εκτίμηση και ποσοτικοποίηση της μυϊκής βλάβης.

### **ω-3 λιπαρά οξέα**

Τα ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (ω-3 PUFAs), στα οποία περιλαμβάνονται το εικοσιπεντενοϊκό οξύ (EPA) και το εικοσιδυοεξενοϊκό οξύ (DHA), έχουν εκτεταμένα συσχετιστεί με αντιφλεγμονώδεις και ανοσολογικές δράσεις.[17]

Πλούσιες πηγές ω-3 λιπαρών οξέων στη διατροφή αποτελούν τα λιπαρά ψάρια (σολομός, τόνος, σκουμπρί), τα ιχθυέλαια και τα καρύδια.

Τυπικά, τα φωσφολιπίδια των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος περιέχουν αναλογικά περισσότερο αραχιδονικό οξύ (AA), ένα ω-6 λιπαρό οξύ, από ό,τι άλλα μακράς αλύσου λιπαρά οξέα, συμπεριλαμβανομένων και των ω-3 PUFAs. Το AA αποτελεί το κύριο υπόστρωμα για τη σύνθεση των εικοσανοειδών, τα οποία αποτελούν το κύριο μεσολαβητή και ρυθμιστή της φλεγμονής. Τα εικοσανοειδή που προέρχονται από το AA (PGE<sub>2</sub> και 4 σειρές LTs), θεωρείται γενικά ότι έχουν προ-φλεγμονώδη δράση, αν και πρόσφατα ανακαλύφθηκε ότι η PGE<sub>2</sub> μπορεί να παρουσιάσει και αντι-φλεγμονώδεις δράσεις. Παρ'όλα αυτά, έχει φανεί ότι η περιεκτικότητα της μεμβράνης των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος σε EPA και DHA μπορεί να τροποποιηθεί ύστερα από στόματος χορήγησης αυτών των λιπαρών οξέων. Ένας τέτοιος χειρισμός έχει ως αποτέλεσμα μείωση της παραγωγής εικοσανοειδών από το AA, και παράλληλη αύξηση της παραγωγής λιπιδικών μεσολαβητών που προέρχονται από τα ω-3 λιπαρά οξέα (όπως PGE<sub>3</sub> και ρεσολβίνες), οι οποίοι είναι λιγότερο φλεγμονώδεις ή έχουν αντιφλεγμονώδη δράση. Μέσω αυτών των μηχανισμών, τα ω-3 λιπαρά οξέα φαίνεται ότι έχουν την ικανότητα να επηρεάζουν τη φαγοκυττάρωση, τη σηματοδότηση των T-κυττάρων και την ικανότητα παρουσίασης αντιγόνου και να οδηγούν σε μείωση της παραγωγής κυτταροκινών και ROS, καθώς επίσης και της έκφρασης των μορίων προσκόλλησης. Για το λόγο αυτό τα ω-3 μπορεί να αποτελούν μια χρήσιμη διατροφική βοήθεια για ρύθμιση της ασκησιογενούς φλεγμονής και της δυσλειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος που προκύπτουν μετά από AMB[15] .

Μια πρόσφατη ανασκόπηση, σχετικά με το ρόλο των ω-3 λιπαρών οξέων στην αθλητική απόδοση, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι συμπληρωματική χορήγηση ω-3 PUFAs μπορεί να βοηθήσει στην ανακούφιση των συμπτωμάτων του ΚΜΠ που προκύπτει από AMB, πιθανόν λόγω της ικανότητας αυτών των λιπαρών οξέων να αυξάνουν τη ροή του αίματος. Ωστόσο, ο

συγγραφέας αναφέρει ότι τα υπάρχοντα στοιχεία από μελέτες σε ανθρώπους δεν είναι επαρκή ώστε να υποστηριχθεί μια ευεργετική επίδραση των ω-3 λιπαρών οξέων στο περιορισμό της φλεγμονώδους και ανοσολογικής απάντησης ως απόκριση στην άσκηση [16]

### **1.8 Επίδραση της AMB στην αθλητική απόδοση [18]**

Οι έκκεντρον τύπου μυϊκές συστολές απαντώνται συχνά σε πολλά αθλήματα (μαραθώνιος, ποδόσφαιρο, πολεμικές τέχνες, άλματα, ρίψεις) καθώς και σε πολλές μορφές άσκησης (τρέξιμο σε κατηφόρα, κατέβασμα βαρών, κοιλιακοί, κάμψεις), για αυτό και η εμφάνιση ΚΜΠ είναι συχνό φαινόμενο, τόσο σε αθλητές, όσο και σε άτομα που αθλούνται για λόγους αναψυχής. Εκτός από το μυϊκό πόνο, η δομική βλάβη στο μυϊκό και συνδετικό ιστό κατά την AMB μπορεί να επιφέρει αλλαγές στη λειτουργία των μυών και τη μηχανική συμπεριφορά των αρθρώσεων.

Για έναν αθλητή, οι μεταβολές αυτές σε συνδυασμό με άλλους αντισταθμιστικούς μηχανισμούς για την ανακούφιση από το πόνο, μπορεί να προκαλέσουν σημαντική μείωση στην αθλητική απόδοση κατά τη διάρκεια αγωνιστικών περιόδων, καθώς επίσης και να υπονομεύσουν το προπονητικό του πρόγραμμα, οδηγώντας σε χαμηλότερη ένταση της προπόνησης.

Η AMB έχει φανεί ότι επηρεάζει δυσμενώς την απόδοση τόσο σε αθλήματα αντοχής όσο και σε αθλήματα εκρηκτικού τύπου που απαιτείται περισσότερη δύναμη. Αποτελέσματα ερευνών δείχνουν ότι η AMB μπορεί να επηρεάσει αρνητικά διάφορους παράγοντες της αθλητικής απόδοσης:

**Νευρομυϊκή απόδοση:** Μέσα στο μυϊκό και συνδετικό ιστό υπάρχουν διάφοροι υποδοχείς, οι οποίοι μεταφέρουν πληροφορίες στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ). Έχει φανεί ότι η μυϊκή βλάβη που προκύπτει μετά από έκκεντρη συστολή σχετίζεται με βλάβη στους υποδοχείς αυτούς, γεγονός που επιδρά δυσμενώς στη νευρομυϊκή λειτουργία. Κάτι τέτοιο θα μπορούσε να επηρεάσει αρνητικά την απόδοση ενός αθλητή ειδικά σε αγωνίσματα που απαιτείται υψηλός βαθμός κινητικού ελέγχου.

**Μυϊκή Δύναμη:** Η μυϊκή δύναμη αποτελεί ένα σημαντικό παράγοντα απόδοσης σε πολλά αθλήματα. Είναι εμφανές από πολλές μελέτες ότι μετά από άσκηση που προκαλεί μυϊκή βλάβη παρουσιάζεται άμεσα μείωση της δύναμης σε επίπεδα που μπορεί να ξεπεράσουν και το 50%, η οποία αντιστρέφεται αργά μέσα στις επόμενες ημέρες μετά την άσκηση. Οι Clarkson και συν ανέφεραν μείωση 50% της μέγιστης ισομετρικής δύναμης στους καμπτήρες μύες του

αντιβραχίου αμέσως μετά από έκκεντρη άσκηση, μείωση που εξακολουθούσε να υφίσταται ακόμα και 10 μέρες μετά την άσκηση .

**Ισχύς:** Σε πολλά αθλήματα υπάρχει η ανάγκη παραγωγής μεγάλης ισχύος, δηλαδή υψηλή παραγωγή δύναμης σε μικρό χρονικό διάστημα. Δεδομένα από κάποιες μελέτες υποστηρίζουν αρνητική επίδραση της AMB στην ικανότητα παραγωγής ισχύος. Μελέτη σε αθλητές ποδοσφαίρου που αντιμετώπιζαν ΚΜΠ έδειξε μια αντίστροφη σχέση μεταξύ του ΚΜΠ και του κατακόρυφου άλματος, δηλαδή όσο πιο έντονος ήταν ο πόνος τόσο μειωνόταν το ύψος του κατακόρυφου άλματος.

**Εύρος κίνηση:** Όπως αναφέρθηκε παραπάνω η AMB μπορεί να περιορίσει σημαντικά το εύρος κίνησης, μεταβολή η οποία μπορεί να διαρκέσει μέχρι και 10 ημέρες. Η μείωση του εύρους κίνησης μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την απόδοση του αθλητή.

**Επανασύνθεση γλυκογόνου:** Τα επίπεδα γλυκογόνου είναι ένας σημαντικός παράγοντας απόδοσης σε αθλήματα αντοχής. Η εξάντληση των αποθεμάτων γλυκογόνου κατά τη διάρκεια της άσκησης σχετίζεται με μείωση της απόδοσης και εμφάνιση κόπωσης. Φαίνεται ότι ο κατεστραμμένος μυϊκός ιστός παρουσιάζει μια διαταραγμένη ικανότητα για επανασύνθεση γλυκογόνου μετά από AMB, γεγονός που καθυστερεί την αποκατάσταση μετά από άσκηση και μπορεί να επηρεάσει την απόδοση σε ακόλουθες δοκιμασίες αντοχής.

**Δράση ινσουλίνης:** Αρκετές μελέτες αναφέρουν ότι η έκκεντρη άσκηση μειώνει την ευαισθησία του οργανισμού στην ινσουλίνη. Άσκηση έκκεντρης μορφής οδήγησε σε μεγαλύτερη αύξηση της ινσουλίνης κατά τη περίοδο υπεργλυκαιμίας από ότι η μειομετρική άσκηση, αύξηση που ωστόσο δε συνοδευόταν από αυξημένη αποθήκευση γλυκόζης στους μυς. Η μείωση της ινσουλινοευαισθησίας έχει ως αποτέλεσμα μεταφορά λιγότερης γλυκόζης μέσα στα μυϊκά κύτταρα, γεγονός που πιθανόν συντελεί στη μειωμένη επανασύνθεση γλυκογόνου μετά από έκκεντρη άσκηση.

**Δρομική Οικονομία:** Στα αγωνίσματα αντοχής, ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την απόδοση είναι η δρομική οικονομία. Δρομική οικονομία είναι η ικανότητα ενός ατόμου να χρησιμοποιεί τη μικρότερη δυνατή ποσότητα οξυγόνου για να τρέξει σε μια υπομέγιστη ταχύτητα. Αν και μερικές μελέτες παρέχουν στοιχεία που υποστηρίζουν ότι η AMB μπορεί να επηρεάσει τη δρομική οικονομία, αποτελέσματα άλλων εργασιών δε δείχνουν κάποια επίδραση.

## **1.9 Ασκησιογενής μυϊκή βλάβη και ποδόσφαιρο [19]**

### **Καθυστερημένος μυϊκός πόνος και χρόνος αποκατάστασης στο ποδόσφαιρο**

Σε ελίτ ποδοσφαιριστές παρατηρείται συχνά το φαινόμενο κόπωσης λόγω των πολλών αθλητικών υποχρεώσεων σε σύντομο χρονικό διάστημα. Αυτό έχει σαν συνέπεια την μείωση της απόδοσης μετά από τον κάθε αγώνα και την ανεπαρκή αποκατάσταση μέχρι τον επόμενο. Συχνά δύο διαδοχικοί αγώνες μπορεί να απέχουν μεταξύ τους 3-4 ημέρες, χρονικό διάστημα που δεν φτάνει για την ομαλοποίηση των μυϊκών βλαβών και την υποχώρηση της φλεγμονής. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα, οι παίκτες να εμφανίσουν οξεία ή και χρόνια κούραση που με τον καιρό δυνητικά μπορεί να παρουσιάσει υποαπόδοση ή τραυματισμό. (Ekstrand et al.) Επομένως κρίνεται αναγκαία η εύρεση τρόπων μείωσης της AMB και περιορισμός των φαινομένων που την συνοδεύουν.

Το ποδόσφαιρο περιλαμβάνει σωματικά απαιτητικές δραστηριότητες συμπεριλαμβανομένων των σπριντ, των αλλαγών στην ταχύτητα και την κατεύθυνση, άλματα καθώς και τεχνικά στοιχεία όπως ντρίμπλα, πάσα και σουτ. Αυτές οι κινήσεις περιλαμβάνουν πολλές έκκεντρες μυϊκές συσπάσεις και έχουν την δυνατότητα να προκαλέσουν βλάβη στους μύες. Επίσης, οι δραστηριότητες αυτές οδηγούν προς το τέλος του δεύτερου ημιχρόνου σε κούραση συνοδευόμενη από αφυδάτωση, εξάντληση του γλυκογόνου, μυϊκή βλάβη και ψυχική κόπωση. (Allen DG et al. 2008)

Όταν οι παίκτες διακόψουν ή μειώσουν την προπόνηση τους κατά τη διάρκεια της μη αγωνιστικής περιόδου ή λόγω κάποιου τραυματισμού, η επανεκκίνηση είναι πιθανό να χαρακτηρίζεται από μεγαλύτερη ασκησιογενή μυϊκή βλάβη.

Οι βασικοί δείκτες που χρησιμοποιούνται για να μελετήσουμε τη μυϊκή βλάβη στο ποδόσφαιρο είναι: η μέγιστη εθελοντική δύναμη συστολής, αιματολογικοί δείκτες όπως η κρεατινική κινάση και μυοσφαιρίνη, η υποκειμενική εκτίμηση του πόνου στους μυς (VAS), το εύρος της κίνησης και το πρήξιμο.

## Χρόνος αποκατάστασης

Η μετααγωνιστική κόπωση χαρακτηρίζεται από μείωση της σωματικής απόδοσης κατά τη διάρκεια των ωρών και ημερών μετά τον αγώνα. Η ανάκαμψη θεωρείται πλήρης, όταν ο παίκτης της είναι σε θέση να φτάσει ή να ξεπεράσει την αξιολόγηση της επίδοσης του σε μια συγκεκριμένη δραστηριότητα [20]. Κατά τη διάρκεια φορτισμένων από αγώνες περιόδους, ο χρόνος αποκατάστασης μεταξύ δύο διαδοχικών αγώνων είναι περίπου 72 ώρες, χρόνος ανεπαρκής για την ομαλοποίηση της σωματικής απόδοσης. [21,22,23] Σε αυτή την περίοδο, το μέγεθος της κόπωσης που προκαλείται από τον ποδοσφαιρικό αγώνα και η σημασία των δεικτών για την παρακολούθηση της διαδικασίας ανάκτησης αναθεωρείται.

Η απόδοση των σπρίντ για παράδειγμα διαταράσσεται αμέσως μετά την άσκηση από -2% έως -9%. Στη συνέχεια, η ανάκαμψη της απόδοσης στα σπρίντ διαφέρει σε μεγάλο βαθμό μεταξύ των μελετών μεταξύ 5 [21], και 96 ώρες. [24].

Όσον αφορά τη μέτρηση του άλματος μετά από αγώνα σύμφωνα με έρευνες που πραγματοποιήθηκαν παρατηρήθηκε μια μείωση απόδοσης της τάξης του -12%. Ο χρόνος αποκατάστασης σε αυτή την περίοδο κυμάνθηκε από 48- 72 ώρες (24,25,23)

## Μέγιστη δύναμη

Αρκετές μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει τη μέγιστη εθελοντική δύναμη των καμπτήρων του γόνατος /εκτεινόντων ως δείκτη ανάκαμψη. [21,22,23,26,27,28,29,30] Ανεξαρτήτως της συστολής (ομόκεντρες / έκκεντρες) και την ταχύτητα της αξιολόγησης, η μείωση της δύναμης των καμπτήρων του γόνατος αμέσως μετά την άσκηση κυμαίνεται από καμία μείωση έως -36% και η μείωση της αντοχής των εκτεινόντων του γόνατος, αμέσως μετά την άσκηση από καμία μείωση έως -25%.

## Βιοχημικοί δείκτες

Οι βιοχημικοί δείκτες όπως θα αναφέρουμε και παρακάτω αναλυτικά, είναι χρήσιμοι για τη διερεύνηση της υποκείμενη φυσιολογίας στη διαδικασία ανάκαμψης. Ένας ιδανικός βιοχημικός δείκτης θα πρέπει να εντοπίσει ένα μεγάλο μέρος της μυϊκής βλάβης, φλεγμονώδη αντίδραση ή οξειδωτικό στρες. Τέτοιοι δείκτες είναι για παράδειγμα η CK, η παραγωγή κυτταροκινών, η ιντερλευκίνη, η CRP και πολλές άλλες.

Συνοψίζοντας, η κόπωση μετά από έναν αγώνα ποδοσφαίρου είναι πολυπαραγοντική και σχετίζεται με την αφυδάτωση, την εξάντληση του γλυκογόνου, τη μυϊκή βλάβη και ψυχική κόπωση. Η διαδικασία ανάκαμψης των μηχανισμών κόπωσης είναι εξαιρετικά μεταβλητή και εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, ανάλογα με το μέγεθος της κόπωσης που προκαλείται σε έναν αγώνα, καθώς και εξωγενών και ενδογενών παραγόντων.

### **1.10 Στρατηγικές αντιμετώπισης μυϊκής βλάβης στο ποδόσφαιρο [31]**

Μια πληθώρα στρατηγικών ανάκαμψης που εφαρμόζονται σήμερα σε επαγγελματικούς συλλόγους ποδοσφαίρου στοχεύουν στα αίτια της κόπωσης.

Οι στρατηγικές ανάκαμψης αποσκοπούν στη μείωση της οξείας φλεγμονής από μυϊκή βλάβη και την ενίσχυση του ρυθμού απομάκρυνσης της. Ορισμένες στρατηγικές όπως η ενυδάτωση, η διατροφή, ο ύπνος και η κρύα εμβύθιση σε νερό είναι αποτελεσματικές, όσον αφορά την ικανότητά τους για την εξουδετέρωση των μηχανισμών κόπωσης.

### **Διατροφική πρόσληψη**

Ένα γεύμα που περιέχει υδατάνθρακες υψηλού γλυκαιμικού δείκτη και πρωτεΐνη θα πρέπει να καταναλώνεται από τους παίκτες εντός μίας ώρας από τον αγώνα για την αποκατάσταση του γλυκογόνου. Επιπλέον, ορισμένες θρεπτικές ουσίες που περιέχουν ωμέγα-3 λιπαρά οξέα και αντιοξειδωτικά θα πρέπει να περιλαμβάνονται στην καθημερινή διατροφή για τη μείωση δυνητικά του πόνου των μυών και τον μετριασμό της απώλεια της μυϊκής δύναμης. Μελέτες έχουν δείξει ότι τα ω-3 λιπαρά οξέα, ο χυμός κερασιού και ο χυμός ντομάτας βελτιώνουν τη διαδικασία αποκατάστασης λόγω της αντι-φλεγμονώδους και αντιοξειδωτικής τους δράσης. Αυξημένες συγκεντρώσεις ωμέγα-3 ΛΟ στο αίμα συσχετίζονται με μειωμένα επίπεδα προφλεγμονωδών δεικτών και υψηλά επίπεδα αντιφλεγμονωδών δεικτών.

Οι Tartibianet al. έδειξαν την αποτελεσματικότητα των συμπληρωμάτων κατά την διάρκεια 30 ημερών με 1,8 g / ημέρα ωμέγα-3 λιπαρά οξέα στο κατώτερο άκρο του πόνου 48 ώρες μετά την εκκεντρική άσκηση στους εκτείνοντες του γόνατος. Οι συγγραφείς υποστήριξαν ότι τα ευρήματά τους οφείλονται στις αντι-φλεγμονώδεις επιδράσεις των ωμέγα-3 λιπαρών οξέων. Παρ'όλα αυτά, η απόδειξη της αποτελεσματικότητας των ωμέγα-3 λιπαρών οξέων για τη βελτίωση της σωματικής απόδοσης μετά την άσκηση είναι ανύπαρκτη [32,33]

## **Ύπνος**

Ο ύπνος είναι ένας ουσιαστικός τρόπος διαχείρισης της ανάκαμψης. Οι διαταραχές του ύπνου μετά από έναν αγώνα είναι κοινό φαινόμενο και μπορεί να επηρεάσει αρνητικά τις διαδικασίες ανάκτησης. Ο επαρκής ύπνος επιτρέπει τη μείωση του πλάτους του πόνου των μυών και φαίνεται να είναι ένας σημαντικός παράγοντας για την ψυχική κόπωση.

## **Βύθιση σε παγωμένο νερό**

Η έρευνα σχετικά με τις στρατηγικές αποκατάστασης που χρησιμοποιούνται από επαγγελματικές ομάδες ποδοσφαίρου αποκάλυψε ότι η βύθιση σε κρύο νερό σε αντίθεση με τη θεραπεία του νερού είναι η πιο κοινή στρατηγική αποθεραπείας που χρησιμοποιούνται στις γαλλικές επαγγελματικές ομάδες ποδοσφαίρου. Η εμβύθιση σε κρύο νερό πραγματοποιείται αμέσως μετά την άσκηση και επαναλαμβάνεται καθ' όλη τη διαδικασία αποθεραπείας. Έχει αποδειχθεί ότι είναι καλύτερος τρόπος αποκατάστασης σε σύγκριση με την παθητική αποκατάσταση, και τη βύθιση σε ζεστό νερό [34]. Αξίζει να σημειωθεί ότι η βύθιση σε κρύο νερό ήταν ευεργετική στη μείωση του πόνου των μυών καθώς και τη μείωση της CK και της συγκέντρωσης μυοσφαιρίνης.[28, 35].

## **Ξεκούραση ή θεραπευτική άσκηση;**

Το αν είναι προτιμότερο να ασκείται ή να ξεκουράζεται κανείς όταν νιώθει ΚΜΠ, αποτελεί ένα θέμα με μεγάλο ενδιαφέρον.

Τα οφέλη της ακινητοποίησης στηρίζουν την άποψη πως οι θεραπευτικές μέθοδοι θα πρέπει να στοχεύουν στην ενίσχυση της επουλωτικής ικανότητας του μυϊκού ιστού. Πιστεύεται πως με αυτόν τον τρόπο μειώνεται ο σχηματισμός ουλώδους ιστού και ενισχύεται η διαδικασία αναγέννησης των σαρκομεριδίων.

Πρόσφατα ο Sayers et al. εξέτασαν τα πιθανά οφέλη της ελαφριάς άσκησης ή της ακινητοποίησης σε σύγκριση με την απλή ξεκούραση.

Η ανάκτηση της δύναμης ήταν καλύτερη και μετά την ελαφριά άσκηση αλλά και μετά την ακινητοποίηση σε σχέση με την απλή ξεκούραση. Αυτά τα αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά γιατί υπάρχει μια φυσική τάση προς την ελαφριά άσκηση προκειμένου να ανακουφιστεί κανείς από τον ΚΜΠ.

## **Διατάσεις**

Οι μεγάλες ποδοσφαιρικές ομάδες αφιερώνουν αρκετό χρόνο στις διατάσεις κατά τη διάρκεια της προθέρμανσης ενός αγώνα αλλά και της προπόνησης. Ο Dadebo et al. [36] αναφέρουν ότι οι αγγλικοί σύλλογοι της Premiership θυσιάζουν σχεδόν το 40% του συνολικού χρόνου προπόνησης στην ευλυγισία με στατικές διατάσεις.

Οι διατάσεις εκτελούνται για διάφορους λόγους, συμπεριλαμβανομένης της βελτίωσης του εύρους κίνησης, τη μείωση δυσκαμψίας [37, 38] για την πρόληψη τραυματισμών [36,39, 40], καθώς και την προώθηση της αποκατάστασης. Στο γαλλικό επαγγελματικό ποδόσφαιρο, το 50% των ομάδων χρησιμοποιούν σήμερα τις διατάσεις ως μέσο αποκατάστασης. Ωστόσο, δεν υπάρχει ουσιαστική επιστημονική άποψη που να υποστηρίζει τη χρήση των διατάσεων για την ενίσχυση της αποκατάστασης μετά την άσκηση στους ποδοσφαιριστές [41, 42]

## **Μασάζ**

Η χρήση του μασάζ ως μέσο ανακούφισης των μυών είναι αποτελεσματική, τόσο στον πόνο όσο και στην αποκατάσταση αν και η επίδρασή του στην μυϊκή λειτουργία και απόδοση είναι ασαφής. Η διαφοροποίηση στα πορίσματα των ερευνών σχετικά με το μασάζ, θα μπορούσε να αποδοθεί στη μεγάλη ποικιλία τεχνικών μασάζ που χρησιμοποιούνται καθώς και στην ατομική ικανότητα του θεραπευτή [43, 44]. Περαιτέρω έρευνα πρέπει να προσδιορίσει τους όρους του μασάζ (το είδος, διάρκεια και περίοδο) που παράγουν θετικά οφέλη για την διαδικασία της αποκατάστασης.

## **Κεφάλαιο 2**

### **Βιοχημικοί δείκτες διατροφικής πρόσληψης**

[45, 46, 47]

#### **2.1. Γενικές Αρχές**

Η ποσότητα και η ποιότητα των προσλαμβανόμενων διατροφικών συστατικών είναι ένας μόνο τρόπος εκτίμησης της διατροφικής κατάστασης ενός ανθρώπου, και αυτό γιατί κάθε άνθρωπος έχει το δικό του μοναδικό τρόπο να απορροφά και να μεταβολίζει τα θρεπτικά συστατικά. Είναι λοιπόν σημαντικό να υπάρξουν αξιόπιστοι βιοχημικοί δείκτες διατροφικής πρόσληψης, οι οποίοι θα εκτιμούσαν όχι μόνο την ποσότητα πρόσληψης αλλά και την τελική βιοδιαθεσιμότητα ενός θρεπτικού συστατικού. Οι δείκτες αυτοί, για να μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη διατροφική έρευνα κλινική πράξη, θα πρέπει να έχουν τις παρακάτω ιδιότητες:

- Να αναλύονται σχετικά εύκολα.
- Να έχουν ευαισθησία ως προς την πρόσληψη, δηλαδή μικρές αλλαγές στις διατροφικές προσλήψεις να επάγουν μετρήσιμες αλλαγές στο βιοδείκτη.
- Η ποσότητα τους στο βιολογικό δείγμα να είναι ανάλογη της βραχυχρόνιας ή μακροχρόνιας πρόσληψης του συστατικού για ένα μεγάλο εύρος προσλήψεων. Γενικότερα, ιστοί και κύτταρα με μεγάλο χρόνο ανακύκλωσης της σύστασής τους (π.χ. ερυθροκύτταρα, λιπώδης ιστός) αποτελούν καλύτερα βιολογικά δείγματα για την εκτίμηση της μακροχρόνιας πρόσληψης.
- Να μην επηρεάζονται κατά το δυνατόν από άλλους παράγοντες και αν αυτό δεν είναι δυνατόν να κανονικοποιούνται βάση αυτών. Για παράδειγμα τα επίπεδα της βιταμίνης Ε στο πλάσμα σχετίζονται με τα επίπεδα των λιποπρωτεϊνών.

#### **2.2. Βιοχημικοί Δείκτες Διατροφικής πρόσληψης**

Βιοχημικοί δείκτες διατροφικής πρόσληψης μπορεί να είναι τόσο τα επίπεδα του θρεπτικού συστατικού σε κάποιον ιστό αλλά και λειτουργικές δοκιμασίες όπως για παράδειγμα η δραστηριότητα ενός ενζύμου, του οποίου η ποσότητα ή/και δραστηριότητα εξαρτάται από το θρεπτικό συστατικό (π.χ. η δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης στα ερυθροκύτταρα είναι ανάλογη της πρόσληψης σεληνίου).

Πίνακας 2.1 Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται χαρακτηριστικοί βιοχημικοί δείκτες διατροφικής πρόσληψης για βασικά θρεπτικά συστατικά και τρόφιμα.

| Θρεπτικό συστατικό | Βιοχημικός δείκτης πρόσληψης                                    | Αναλυτική τεχνική | Σχόλια                                                                                                                                                                                               |
|--------------------|-----------------------------------------------------------------|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Βιταμίνη Α         | Ρετινόλη ορού ή πλάσματος                                       | HPLC              | Δεν είναι ευαίσθητος δείκτης για καλά τρεφόμενους πληθυσμούς                                                                                                                                         |
|                    | Πρωτεΐνη σύνδεσης ρετινόλης ορού (retinol-binding protein, RBP) | ELISA             | Η RBP είναι η πρωτεΐνη μεταφοράς της ρετινόλης στο αίμα. Η μέτρηση της είναι δείκτης της βιολογικά διαθέσιμης ρετινόλης                                                                              |
| Βιταμίνη Ε         | α-τοκοφερόλη ή συνολική βιταμίνη Ε στον ορό ή πλάσμα            | HPLC              | Τα επίπεδα της στο πλάσμα είναι ανάλογα με τα επίπεδα της χοληστερόλης. Μέτρια απόκριση στη πρόσληψη α-τοκοφερόλης                                                                                   |
|                    | α,β,γ,δ-τοκοφερόλες στα ερυθροκύτταρα                           | HPLC              | Καλύτερος δείκτης της βιοδιαθέσιμης βιταμίνης Ε                                                                                                                                                      |
| Βιταμίνη D         | 25(OH)D                                                         | HPLC              | Ο κύριος μεταβολίτης της βιταμίνης D στην κυκλοφορία και ο πιο χρήσιμος δείκτης της πρόσληψης της. Επηρεάζεται από τον έκθεση στον ήλιο → καλύτερος δείκτης για πληθυσμός με χαμηλή έκθεση στον ήλιο |
|                    | 1,25(OH) <sub>2</sub> D                                         | HPLC              | Όχι καλός δείκτης εξαιτίας της επίδρασης των Ca, P και PTH στα επίπεδα της                                                                                                                           |
|                    | Αλκαλική φωσφατάση                                              | Φωτομετρικός      | Έμμεση εκτίμηση της                                                                                                                                                                                  |

|                        |                                                                               |                                          |                                                                                                                                |
|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                        | ορού                                                                          | προσδιορισμός                            | κατάστασης βιταμίνης D. Επηρεάζεται από υπερπαραθυροειδισμό και πρωτεϊνικό υποσιτισμό                                          |
| Βιταμίνη C             | Βιταμίνη C λευκοκυττάρων                                                      | HPLC                                     | Δείκτης μακροχρόνιας πρόσληψης                                                                                                 |
| Βιταμίνη B1 (θειαμίνη) | Διέγερση της ερυθροκυτταρικής τρανσκετολάσης από πυροφωσφορική θειαμίνη (TPP) | Φωτομετρικός προσδιορισμός               | Μέτρηση δραστηριότητας ενζύμου πριν και μετά την προσθήκη TPP. Μεγάλη αύξηση της δραστηριότητας → έλλειψη ενδογενούς θειαμίνης |
| Σελήνιο                | Σελήνιο σε τρίχες και νύχια                                                   | Ατομική απορρόφηση, ICP-MS               | Δείκτης μακροχρόνιας πρόσληψης                                                                                                 |
|                        | Σελήνιο σε πλάσμα                                                             | Ατομική απορρόφηση, ICP-MS               | Δεν δείχνει στοιχεία για την κατανομή του σεληνίου στις σεληνοπρωτεΐνες.                                                       |
|                        | Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης στα ερυθροκύτταρα ή τον ορό                    | Φωτομετρικά ενζυμικά τεστ                | Δείκτης της λειτουργικής κατάστασης του σεληνίου                                                                               |
| Na                     | Na ούρων                                                                      | Ατομική απορρόφηση, εκλεκτικά ηλεκτρόδια | Καλός δείκτης βραχυχρόνιας πρόσληψης Na                                                                                        |
| K                      | Na ούρων                                                                      | Ατομική απορρόφηση, εκλεκτικά ηλεκτρόδια | Καλή συσχέτιση με διατροφική πρόσληψη                                                                                          |
| Zn                     | Μεταλλοθειονίνες ψευδαργύρου                                                  | ELISA                                    | Δείκτης βραχυχρόνιας πρόσληψης, επηρεάζεται από παθήσεις                                                                       |

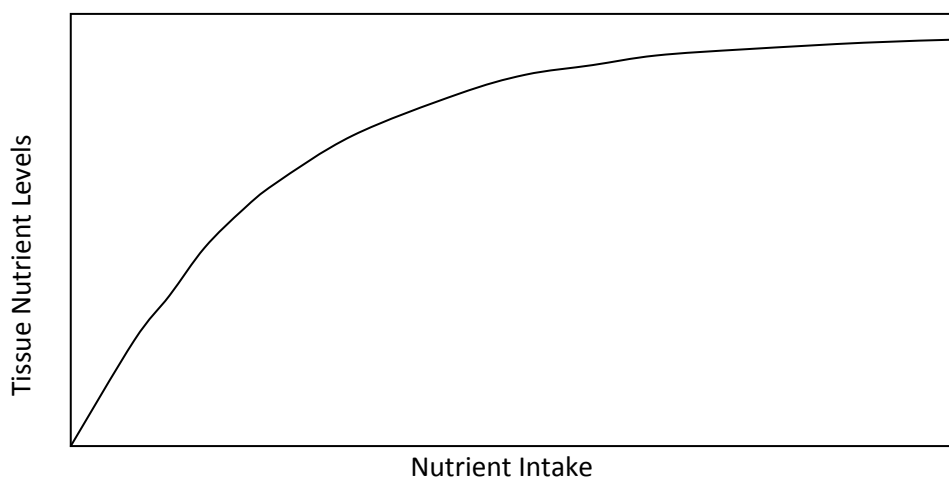
|                                    |                                                                |             |                                                                                                                                     |
|------------------------------------|----------------------------------------------------------------|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Σύσταση της δίαιτας σε λιπαρά οξέα | Λιπαρά οξέα μεμβράνης ερυθροκυττάρων ή λιπώδους ιστού          | GC-MS       | Δείκτης μακροχρόνιας πρόσληψης. Εκτιμά τη σύσταση του προσλαμβανόμενου λίπους σε κορεσμένα, μονοακόρεστα, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. |
| Πρωινβτεΐνη                        | Πρωτεΐνη ορού                                                  | Φωτομετρικά | Μόνο για πληθυσμούς με χαμηλή πρόσληψη πρωτεΐνης                                                                                    |
|                                    | Άζωτο ούρων                                                    | Φωτομετρικά | Η πιο αξιόπιστη μέθοδος αλλά απαιτείται συνεκτίμηση και με άλλες μεθόδους                                                           |
| Κρέας                              | 3-μεθυλο-ιστιδίνη ούρων                                        | HPLC        | Απαιτείται επιβεβαίωση και με άλλες μελέτες                                                                                         |
| Δημητριακά ολικής άλεσης           | Αλκυλορεσορκινόλη και μεταβολίτες αυτής στον ορό και στα ούρα. | HPLC        | Ο πιο αξιόπιστος δείκτης μέχρι τώρα                                                                                                 |
| Διαιτητικές ίνες                   | Διαιτητικές ίνες κοπράνων                                      |             | Δυσκολία παραλαβής βιολογικού δείγματος                                                                                             |

### 2.3 Προϋποθέσεις που πρέπει να τηρούν οι Βιοχημικοί Δείκτες διατροφικής Πρόσληψης

Η πιο σημαντική προϋπόθεση για κάθε βιοχημική δείκτη είναι τα επίπεδα του στο αίμα να αντικατοπτρίζουν τα επίπεδα του διατροφικού παράγοντα που αντικατοπτρίζει. Το μέγεθος της συσχέτισης μεταξύ των επιπέδων στο αίμα ενός θρεπτικού συστατικού και τα πραγματικά του επίπεδα εξαρτάται κυρίως από: α) το μέγεθος του ομοιοστατικού ελέγχου του θρεπτικού συστατικού στα διαθέσιμα βιολογικά δείγματα, β) το εύρος πρόσληψης στον πληθυσμό που ερευνάται, γ) την ύπαρξη των καθοριστικών παραγόντων εκτός από την πρόσληψη.

Οι συγκεντρώσεις των θρεπτικών ουσιών στους ιστούς και τα υγρά του σώματος ελέγχονται από ομοιοστατικούς μηχανισμούς. Οι μηχανισμοί αυτοί μπορούν να είναι απλοί, όπως ο κορεσμός της απορρόφησης (π.χ., σίδηρος), ή η απέκκριση της περίσσειας (π.χ. βιταμίνη

C), ή μπορεί να περιλαμβάνουν σύνθετες ορμονικές οδούς (π.χ., ασβέστιο). Για πολλά θρεπτικά συστατικά, οι μηχανισμοί αυτοί προκαλούν εξασθένηση της κλίσης της καμπύλης μεταξύ πρόσληψης και επιπέδων στα βιολογικά δείγματα σε υψηλότερες προσλήψεις θρεπτικών συστατικών οδηγώντας στη χαρακτηριστική καμπύλη υπερβολής.



Σχήμα 2.2 . Τυπική σχέση μεταξύ πρόσληψης θρεπτικών συστατικών και των επιπέδων του στους ιστούς

Ἡ έκθεση του ανθρώπινου οργανισμού σε ένα διατροφικό παράγοντα είναι συνήθως μεγάλης διάρκειας και είναι επιθυμητό ο βιοχημικός δείκτης να εκφράζει την συσσωρευμένη επίδραση της δίαιτας, για μεγάλο χρονικό διάστημα, στα επίπεδά του. Γι' αυτό το λόγο, βιολογικά δείγματα με αργό μεταβολικό ρυθμό είναι περισσότερο πιθανόν να εκφράζουν μία τέτοια μακροχρόνια έκθεση. Για παράδειγμα οι συγκεντρώσεις των θρεπτικών ουσιών στα ερυθροκύτταρα είναι λιγότερο επιρρεπείς σε βραχυπρόθεσμες διακυμάνσεις σε σχέση με τη σύσταση σε πλάσμα ή ορό. Τα ούρα 24ώρου είναι πιο πιθανό να είναι αντιπροσωπευτική της πρόσληψης από ένα τυχαίο δείγμα ούρων. Τέλος, τα επίπεδα διατροφικών συστατικών στους ιστούς μπορεί να είναι οι καλύτεροι δείκτες διατροφικής πρόσληψης μακροπρόθεσμα αλλά σπάνια χρησιμοποιούνται σε επιδημιολογικές μελέτες.

## **2.4 Παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδα βιοχημικών δεικτών διατροφικής πρόσληψης**

Ένα πλήθος παραγόντων γενετικών, περιβαλλοντικών και τρόπου ζωής μπορεί επίσης να επηρεάσει τα επίπεδα των θρεπτικών ουσιών στους ιστούς και μπορεί να προκύψει λανθασμένη ταξινόμηση των ατόμων σε σχέση με την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών εάν δεν ληφθούν υπόψη αυτοί οι παράγοντες. Για παράδειγμα τα επίπεδα βιταμίνης E σε ορό και πλάσμα σχετίζονται με την περιεκτικότητα της χοληστερόλης στο αίμα. Επίσης, ορισμένα άτομα φαίνεται να είναι «hyporesponders" ή "hyperresponders" στην πρόσληψη συγκεκριμένων διατροφικών χαρακτηριστικών λόγω γενετικού υπόβαθρου. Αυτό για παράδειγμα συμβαίνει με την απορρόφηση της χοληστερόλης.

### **2.4.1 Τύποι αναλυτικών δοκιμασιών μέτρησης βιοχημικών δεικτών διατροφικής πρόσληψης**

Η εκτίμηση της πρόσληψης θρεπτικών συστατικών μέσω βιοχημικών δεικτών μπορεί να γίνει με τρεις τρόπους. Ο πρώτος τρόπος είναι με άμεση μέτρηση του θρεπτικού συστατικού ή κάποιου μεταβολίτη του στους ιστούς ή τα βιολογικά υγρά. Ο δεύτερος τρόπος είναι μέσω λειτουργικών δοκιμασιών. Στην περίπτωση αυτή μετριέται μια βιοχημική διαδικασία που εξαρτάται από το προς εκτίμηση θρεπτικό συστατικό. Τέτοιες μπορεί να είναι η μέτρηση της δραστηριότητας ενζύμων (π.χ. υπεροξειδάση της γλουταθειόνης για σελήνιο και της ερυθροκυτταρικής τρανσκετολάσης για τη θειαμίνη). Θα πρέπει να λαμβάνεται μέριμνα έτσι ώστε η βιοχημική δοκιμασία που χρησιμοποιείται να είναι συγκεκριμένη για το θρεπτικό συστατικό και να μη επηρεάζεται από τον τρόπο συλλογής και αποθήκευσης του δείγματος. Πρέπει να τονιστεί ότι οι δοκιμασίες που μετρούν το τελικό προϊόν των μεταβολικών οδών είναι δοκιμές της επάρκειας της πρόσληψης των θρεπτικών συστατικών (π.χ., Fe και της αιμοσφαιρίνης). Τέλος, ο τρίτος τρόπος είναι με δοκιμασίες ανοχής. Οι δοκιμασίες αυτές περιλαμβάνουν τη λήψη ενός δείγματος αίματος / ούρων πριν και / ή μετά τη χορήγηση μιας δοκιμαστικής δόσης του σχετικού θρεπτικού (π.χ., βιτ. A και τη δοκιμή σχετικής δόσης-απόκρισης).

### **2.4.2 Τα Λιπαρά Οξέα ιστών και βιολογικών υγρών ως βιοχημικοί δείκτες διατροφικής πρόσληψης [48,49, 50].**

Τα λιπαρά οξέα (ΛΟ), που κυρίως μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες ποιότητας του προσλαμβανόμενου λίπους, είναι κυρίως αυτά που δεν μπορούν ενδογενώς να συντεθούν από υδατάνθρακες με τη διαδικασία της de novo βιογένεσης. Αυτά είναι κυρίως τα:

- (α) ω-3 ΛΟ (μακράς αλύσου που προέρχονται από φυτικά έλαια και από θαλάσσιους οργανισμούς)
- (β) ω-6 ΛΟ (κυρίως από φυτικά έλαια)
- (3) Α-ΛΟ (από μερικώς υδρογονωμένα λίπη και μηρυκαστικά)
- (4) μονής αλύσου διακλαδισμένα ΛΟ

Το λινελαϊκό οξύ (LA, 18: 2ω-6) είναι το σημαντικότερο διαιτητικό απαραίτητο ω-6 ΛΟ και μεταβολίζεται με μια σειρά ενζυμικών αντιδράσεων που περιλαμβάνουν διαδοχικές επιμηκύνσεις και εισαγωγές διπλών δεσμών στα μεγαλύτερης αλύσου ω-6 ΛΟ και κυρίως στο αραχιδονικό οξύ (20:4 ω-6). Αντιστοίχως, το λινολενικό οξύ (ALA, 18:3ω-3) είναι το απαραίτητο διαιτητικό ω-3 ΛΟ και ομοίως μπορεί να μετασχηματιστεί σε μεγαλύτερης αλύσου ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Τα ελαιοϊκά οξέα, το οποίο μπορεί να συντεθεί ενδογενώς αλλά και να προσληφθεί από το ελαιόλαδο, αποτελεί το πρόδρομο μόριο για τη σύνθεση ενδογενών ω-9 λιπαρών οξέων. Η σχέση μεταξύ της διαιτητικής πρόσληψης των παραπάνω 3 πρόδρομων ουσιών και τα επίπεδα των μεταβολιτών τους σε ανθρώπινους ιστούς είναι πολύπλοκη σε μεγάλο βαθμό, διότι η πρόσληψη ενός, αναστέλλει την επιμήκυνση-ακορεστότητα των άλλων.

Τα επίπεδα των ΛΟ σε ιστούς και βιολογικά δείγματα συνήθως εκφράζονται ως σχετικό ποσοστό των συνολικών ΛΟ. Συνεπώς μία αύξηση στη διαιτητική πρόσληψη ενός ΛΟ οδηγεί σε μείωση στις σχετικές ποσότητες όλων των άλλων ΛΟ. Πρέπει να τονιστεί ότι αν ο μεταβολισμός ενός λιπαρού οξέος επηρεάζεται από τα επίπεδα ενός αλληλεπιδρώντος ΛΟ, τότε τα επίπεδα του αρχικού οξέος επηρεάζονται όχι μόνο από τη πρόσληψη αυτού αλλά και από τη πρόσληψη του αλληλεπιδρώντος ΛΟ. Γενικότερα, η σύσταση σε ΛΟ ενός βιολογικού δείγματος πρέπει να αποτελεί ένδειξη της σχετικής και όχι της απόλυτης πρόσληψης των διαιτητικών λιπαρών οξέων.

#### **2.4.3 Βιολογικά δείγματα μέτρησης ΛΟ**

Μεμονωμένα ΛΟ μπορεί να μετρηθούν στα ερυθροκύτταρα, αιμοπετάλια, και στο λιπώδη ιστό, καθώς και σε διάφορα υποκλάσματα λιπιδίων στο πλάσμα. Επίσης, μεμονωμένα ΛΟ μπορούν να μετρηθούν και στα κλάσματα εστέρων χοληστερόλης (CE), φωσφολιπιδίων (PL) και τριγλυκεριδίων (TG) του ορού ή πλάσματος ή ως ελεύθερα λιπαρά οξέα. Η κατανομή των ΛΟ στο PL κλάσμα του πλάσματος σχετίζεται άμεσα με τη κατανομή στα PLs των μεμβρανών των ερυθροκυττάρων. Οι μεταβολές στις διαιτητικές συνήθειες αντανακλάται

στα PLs των ερυθροκυττάρων μέσα σε λίγες εβδομάδες από την έναρξη της διαιτητικής αλλαγής.

Οι διαφορές στη σύνθεση ΛΟ διαφόρων ιστών ή κλάσματα λιπιδίων στο πλάσμα οφείλονται σε:

α) την ενδογενή παραγωγή ορισμένων ΛΟ, β) στους διαφορετικούς ρόλους των κλασμάτων αυτών ως οχημάτων μεταφοράς ΛΟ, γ) στις φυσιολογικές λειτουργίες των επιμέρους ΛΟ.

Ως επιδημιολογικός δείκτης της πρόσληψης ΛΟ, η επιλογή ενός συγκεκριμένου κλάσματος εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ανταπόκριση ή την ευαισθησία του υποστρώματος σε αλλαγές των πρόσληψης ΛΟ, και ο βαθμός στον οποίο τα επίπεδα ΛΟ στο υπόστρωμα αντικατοπτρίζουν την πρόσληψη στην πάροδο του χρόνου.

Ο μεγάλος χρόνος ημιζωής που συνδέεται με την αλλαγή ΛΟ στον λιπώδη ιστό πιθανώς σημαίνει ότι παρέχει το καλύτερο υπόστρωμα για την εκτίμηση της μακροπρόθεσμης πρόσληψης διαιτητικών ΛΟ.

## **2.5. Εκτίμηση διατροφικής πρόσληψης επιμέρους ΛΟ.**

**Λινελαϊκό, λινολενικό, και ελαϊκό οξύ**

Συγχρονικές μελέτες της πρόσληψης των παραπάνω ΛΟ και μέτρησης ΛΟ στο πλάσμα έχουν γενικά αποτύχει να αποδείξουν ισχυρές θετικές σχέσεις. Σε μελέτες παρέμβασης, έχει αποδειχθεί ότι όταν αυξήθηκε η διαιτητική πρόσληψη του LA, η μεγαλύτερη μεταβολή στην απόκριση παρατηρήθηκε στο TG κλάσμα του ορού/πλάσματος σε σχέση με το CE και τα κλάσματα PL. Ο καλύτερος άμεσα διαθέσιμος ιστός για τη μέτρηση των παραπάνω ΛΟ είναι ο λιπώδης ιστός. Η σύνθεση ΛΟ του υποδόριου λίπους είναι πολύ παρόμοια με αυτή στο σπλαχνικό λίπος. Το περιεχόμενο σε ΛΟ του υποδόριου λίπους παρέχει ένα ποιοτικό μέτρο πρόσληψης ΛΟ για τα προηγούμενα 2 χρόνια ή και περισσότερο. Αυτό οφείλεται στο ότι τα επίπεδα ΛΟ στα CE και PL κλάσματα του πλάσματος υπόκεινται σε αυστηρότερη ρύθμιση σε σχέση με τα επίπεδα ΛΟ στο λιπώδη στο.

## **ωμέγα-3ΛΟ**

Τα μακράς αλύσου ω-3 θαλάσσιων ΛΟ που μετράμε στους ανθρώπινους ιστούς αντικατοπτρίζουν διαιτητική πρόσληψη. Τα επίπεδα EPA (20: 5ω-3) και DHA (22: 6ω-3) που μετράται σε διάφορα βιολογικά κλάσματα είναι σημαντικά υψηλότερα σε πληθυσμούς που διακρίνονται από μεγάλη κατανάλωση ψαριού και θαλασσινών.

Το ελαιϊκό οξύ (ΟΑ) είναι το κύριο μονοακόρεστο λιπαρό οξύ στη διατροφή. Οι περισσότερες μελέτες έχουν καταδείξει μια θετική σχέση μεταξύ της πρόσληψης ΟΑ και μέτρησης ΟΑ στο αίμα και στο λιπώδη ιστό. Η σχέση αυτή δεν είναι τόσο ισχυρή όσο αυτή που παρατηρήθηκε για LA πιθανώς επειδή το ΟΑ μπορεί να συντεθεί ενδογενώς από CHO και επειδή το εύρος της πρόσληψης είναι μικρότερο .

Τα επίπεδα πλάσματος δεν είναι καλοί εκτιμητές της πρόσληψης ΟΑ, αλλά ο λιπώδης ιστός μπορεί να αντανακλά ασθενώς την πρόσληψη ΟΑ.

### **Κορεσμένα λιπαρά οξέα**

Τα κύρια κορεσμένα λιπαρά οξέα (SFAs) σε δίαιτα και ιστούς είναι παλμιτικό οξύ (16: 0) και στεατικό οξύ (18: 0). Η εκτίμηση της πρόσληψης SFAs από τα SFAs στο πλάσμα δεν είναι εύκολη και δυσχεραίνεται από το γεγονός ότι η κατανάλωση LA και άλλων πολυακόρεστων λιπαρών οξέων μπορούν να μειώσουν τα επίπεδα SFAs στο πλάσμα.

Η μακροχρόνια πρόσληψη SFA μπορεί να εκτιμηθεί από τα επίπεδα τους στον λιπώδη ιστό.

### **Trans-λιπαρά οξέα**

Οι φυσικές πηγές των trans ΛΟ είναι τρόφιμα που περιέχουν λίπη μηρυκαστικών (γαλακτοκομικά προϊόντα, βόειο λίπος) και το μητρικό γάλα. Τα επίπεδα σε αυτές τις πηγές είναι σχετικά χαμηλά. Η μέση περιεκτικότητα σε trans-ΛΟ των τροφίμων που καταναλώνει ένας καταναλωτής σε Δυτικές κοινωνίες είναι περίπου 5-6% της συνολικής πρόσληψης λίπους και το ποσοστό αυτό είναι παρόμοιο με το περιεχόμενο trans-FA του ανθρώπινου λιπώδους ιστού.

## Κεφάλαιο 3

### ΣΚΟΠΟΣ

Η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη συνοδεύεται από ένα σύνολο αρνητικών επιδράσεων που μπορεί να δημιουργήσουν σημαντικά προβλήματα στην αποκατάσταση και στην απόδοση των αθλητών μετά από έντονη σωματική δραστηριότητα, αλλά και την εκγύμναση ατόμων που αθλούνται για λόγους αναψυχής. Ο μυϊκός πόνος, η προσωρινή απώλεια δύναμης, ο περιορισμός στη κίνηση και η μειωμένη ικανότητα πραγματοποίησης άσκησης στην επιθυμητή ένταση επηρεάζουν σημαντικά τις συνεδρίες άσκησης που ακολουθούν μετά την AMB. Επομένως η μεγιστοποίηση και η επιτάχυνση της διαδικασίας ανάκαμψης είναι ζωτικής σημασίας για την ενίσχυση της απόδοσης των αθλητών.

Η ταχύτερη και καλύτερη αποκατάσταση, είναι ιδιαίτερα σημαντική για τους επαγγελματίες αθλητές και ειδικότερα ποδοσφαιριστές, οι οποίοι πολλές φορές είναι αναγκασμένοι να δίνουν πολλούς και με μεγάλη ένταση αγώνες σε σύντομο χρονικό διάστημα. Ενώ η χρήση συμπληρωμάτων διατροφής και η εφαρμογή φυσιοθεραπευτικών μεθόδων έχει μελετηθεί εκτεταμένα στη μείωση των συμπτωμάτων της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, η επίδραση των διατροφικών συνηθειών είναι πολύ λιγότερο μελετημένη. Στα πλαίσια αυτά σκοπός της παρούσα διατριβής είναι η αξιολόγηση της διατροφικής πρόσληψης αθλητών ποδοσφαίρου όσον αφορά τη σύσταση του λίπους με τη μέτρηση των λιπαρών οξέων στα ερυθροκύτταρα, η επίδραση διαλλειματικής άσκησης που προσομοιάζει ένα αγώνα ποδοσφαίρου στη σύσταση σε λιπαρά οξέα των ερυθροκυττάρων και η μελέτη της σχέσης που μπορεί να έχει η παραπάνω σύσταση με δείκτες ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης.

## Κεφάλαιο 4

### ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

#### 4.1. Πρωτόκολλο μελέτης

Το δείγμα της έρευνας αποτέλεσαν 22 νέοι ενήλικες αθλητές ποδοσφαίρου, ενεργά μέλη ποδοσφαιρικών ομάδων ερασιτεχνικών κατηγοριών του νομού Αττικής

Οι προϋποθέσεις για την συμμετοχή τους στην μελέτη ήταν:

- i Να μην αντιμετωπίζουν κάποιο ορθοπεδικό πρόβλημα, τραυματισμό, κάποια ασθένεια, λοίμωξη, ή φλεγμονή τις δύο τελευταίες εβδομάδες πριν την έναρξη της έρευνας,
- ii Να συμμετέχουν κανονικά στις καθημερινές τους προπονήσεις

Επίσης, από όλους τους δοκιμαζόμενους ζητήθηκε κατά την διάρκεια της συμμετοχής τους στην έρευνα, να αποφύγουν να χρησιμοποιήσουν οποιοδήποτε αντιφλεγμονώδες ή αναλγητικό φάρμακο. Επιπλέον, σε όλους τους συμμετέχοντες δόθηκαν οδηγίες σχετικά με την διατήρηση των διατροφικών τους συνήθειών κατά το χρονικό διάστημα της συμμετοχής τους στην έρευνα.

Οι εθελοντές που ήρθαν στο εργαστήριο την πρώτη φορά υποβλήθηκαν σε αξιολόγηση:

1. ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών
2. σύστασης σώματος
3. μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου
4. μέγιστης ισομετρικής δύναμης (ΜΙΑ)
5. Άλματος από ημικάθισμα (SQJ)
6. Άλμα με αρχική επιτάχυνση προς τα κάτω (CMJ)

Μια εβδομάδα μετά τις προκαταρκτικές μετρήσεις οι εθελοντές ήρθαν στο εργαστήριο για δεύτερη φορά κατά την οποία:

1. Παραλήφθηκε αίμα για βιοχημικές και αιματολογικές εξετάσεις
2. Σάλιο για βιοχημικές εξετάσεις
3. Έγινε μέτρηση της ΜΙΑ, SQJ, CMJ
4. Έγινε μέτρηση της σύστασης σώματος με απορροφησιμετρία διπλοενεργειακών φωτονίων (Dual Energy X-Ray Absorptiometry, DXA)

Μετά τις μετρήσεις αυτές οι δοκιμαζόμενοι υποβλήθηκαν στη δοκιμασία (Loughborough Intermittent Shuttle Test, LIST), η οποία προσομοιάζει έναν αγώνα ποδοσφαίρου και ακόλουθα

υποβλήθηκαν σε αξιολόγηση της MIA, SQJ, CMJ και σε αιματολογική εξέταση σε 5 μεταγενέστερες χρονικές στιγμές:

1. Στις 2 ώρες
2. Στις 24 ώρες
3. Στις 48 ώρες
4. Στις 72 ώρες

#### **4.2 Πρωτόκολλο Loughborough Intermittent Shuttle Test (LIST)**

Οι δοκιμαζόμενοι τρέχουν ανάμεσα σε 2 γραμμές οι οποίες απέχουν μεταξύ τους 20m. Η ταχύτητα του δοκιμαζόμενου αλλάζει συνεχώς και αντιστοιχεί σε συγκεκριμένα ποσοστά της  $VO_{2max}$  των αθλητών και οι οποίες υπαγορεύονται από ηχητικό σήμα από ειδικά διαμορφωμένο πρόγραμμα υπολογιστή. Πιο συγκεκριμένα οι περίοδοι άσκησης έχουν ως εξής:

1. 3 x 20 m περπάτημα
2. 1 x 20 m σπριντ (μέγιστη ταχύτητα)
3. 4 sec αποκατάσταση
4. 3 x 20 m σε ταχύτητα που αντιστοιχεί στο 55%  $VO_{2max}$
5. 3 x 20 m σε ταχύτητα που αντιστοιχεί στο 95%  $VO_{2max}$

Αυτό το μοτίβο ακολουθείται για διαστήματα 15min τα οποία ακολουθούνται από αντίστοιχα 3λεπτα διαστήματα ανάπαυσης. Η συνολική χρονική διάρκεια του τεστ ήταν 90min. Το πρωτόκολλο LIST έγινε σε παρακείμενα του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου γήπεδα ποδοσφαίρου.

#### **4.3 Ανθρωπομετρία**

Το σωματικό βάρος των εθελοντών μετρήθηκε με τα εσώρουχα και χωρίς υποδήματα, σε ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας (Seca, Αμβούργο, Γερμανία) και με ακρίβεια 0,1kg. Το ύψος μετρήθηκε με τη χρήση εντοιχισμένου αναστημόμετρου (Seca, Αμβούργο, Γερμανία) και με ακρίβεια 0,5cm. Οι μετρήσεις αυτές έγιναν εις διπλούν. Επίσης υπολογίστηκε ο μέσος όρος του βάρους και του ύψους κάθε εθελοντή, από όπου και στη συνέχεια υπολογίστηκε ο ΔΜΣ ως το πηλίκο του βάρους (σε kg) προς το τετράγωνο του ύψους (σε m).

#### 4.4 Σύσταση σώματος

Η σύσταση του σώματος σε άλιπη και λιπώδη μάζα προσδιορίστηκε περίπου 1 εβδομάδα πριν από την έναρξη της μελέτης για κάθε εθελοντή ξεχωριστά, με τη μέθοδο της απορροφησιομετρίας ακτινών Χ διπλής ενέργειας (dual-energy X-ray absorptiometry, DXA), χρησιμοποιώντας τον σαρωτή σώματος (model DPX, Lunar Corp., Madison, WI, software version 3.6), ο οποίος βρίσκεται στο Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Η ανάλυση του ολικού σώματος έγινε σε μέτρια ταχύτητα σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Πριν τη διαδικασία της σάρωσης οι εθελοντές αφαίρεσαν τα μεταλλικά αντικείμενα που έφεραν, ώστε να μην επηρεαστεί η μέτρηση. Ο προσδιορισμός της λιπώδους και άλιπης μάζας σώματος καθώς και της οστικής πυκνότητας έγινε με κατάλληλο λογισμικό πρόγραμμα που προτείνει ο κατασκευαστής (version 4.6). Ο συνολικός χρόνος σάρωσης έχει διάρκεια περίπου 20 min. Οι εθελοντές θα προσήλθαν για τη μέτρηση αυτή χωρίς να έχουν καταναλώσει φαγητό ή ποτό κατά τις προηγούμενες 3 ώρες.

#### 4.5 Υπολογισμός Μέγιστης Πρόσληψης Οξυγόνου

Η μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου των εθελοντών αξιολογήθηκε με τεστ αυξανόμενης έντασης σε δαπεδοεργόμετρο. Μετά από προθέρμανση λίγων λεπτών, ο κάθε δοκιμαζόμενος ακολούθησε ένα πρωτόκολλο αυξανόμενης έντασης και παράλληλα μετρήθηκε η πρόσληψη οξυγόνου (Sensormedics, Vmax229, Yorba Linda CA), η μέγιστη καρδιακή του συχνότητα καθώς και η καρδιακή του συχνότητα σε κάθε στάδιο. Η κλίση του δαπεδοεργόμετρου ρυθμίστηκε σε κλίση 1%, ξεκινώντας από τα 8km/h και στη συνέχεια αυξήθηκε κατά 1km/h κάθε 2min ώσπου να παρατηρηθεί σταθεροποίηση (plateau) στο ρυθμό πρόσληψης οξυγόνου ή να εξαντληθεί ο δοκιμαζόμενος. Από την μετρηθείσα  $VO_{2max}$  υπολογίστηκε η ταχύτητα που αντιστοιχεί στο 55 και 95% της  $VO_{2max}$ . Μετά από την μέτρηση οι δοκιμαζόμενοι δοκίμασαν το LIST για 30min για εξοικείωση.

#### 4.6 Προσδιορισμός μυϊκής δύναμης

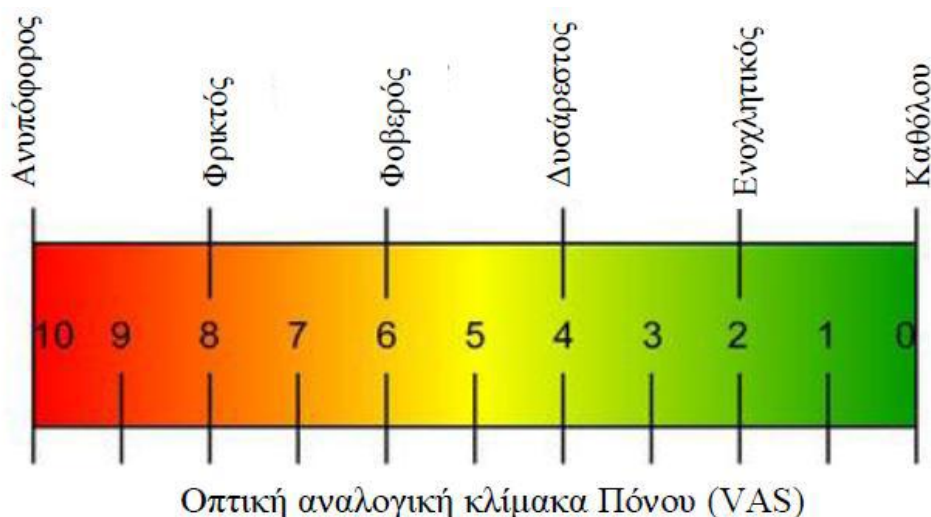
Η μέτρηση της μέγιστης ισομετρικής ροπής, πραγματοποιήθηκε με την βοήθεια του ισομετρικού δυναμόμετρου (BIODEX). Ωστόσο, πρέπει να προστεθεί πως η κάθε ισομετρική αξιολόγηση επαναλαμβάνεται 3 φορές (συνολικά 3 προσπάθειες), και για τους μετέπειτα υπολογισμούς χρησιμοποιήθηκε η μέγιστη τιμή ροπής εκ των τριών προσπαθειών.

Μεταξύ των διαδοχικών προσπαθειών, παρέχεται στον δοκιμαζόμενο χρόνος ξεκούρασης 2 λεπτών. Η μέτρηση ΜΙΑ θα γίνει στο εργαστήριο Εργοφυσιολογίας του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου.

#### 4.7 Αντίληψη καθυστερημένου μυϊκού πόνου

Για την αξιολόγηση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου χρησιμοποιήθηκε μία οπτική αναλογική κλίμακα (Visual Analog Scale – VAS) (υποκειμενικής αξιολόγησης του πόνου) 10 σημείων, η οποία συνίσταται από μία ευθεία γραμμή μήκους 10 εκατοστών όπου, η μία της άκρη αντιστοιχεί στην ένδειξη «καθόλου πόνος» και η άλλη της στην ένδειξη «ανυπόφορος πόνος» (σχήμα 4.1)

Οι δοκιμαζόμενοι καλούνταν να αξιολογήσουν το επίπεδο του πόνου σημειώνοντας το σημείο της κλίμακας που καλύτερα αντανakλούσε τον πόνο που αισθανόταν, όταν ο ερευνητής ψηλαφούσε την περιοχή των μυών: τετρακέφαλου, δικεφάλου, προσαγωγών, απαγωγών και γαστροκνημίου. Η κλίμακα αυτή έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως σε ανάλογες έρευνες και έχει αποδειχθεί ότι αποτελεί έγκυρη και αξιόπιστη κλίμακα (αριθμητική) για την αξιολόγηση του πόνου σε κλινικές ή πειραματικές συνθήκες. Παρέχει δε την δυνατότητα παραμετρικής στατιστικής ανάλυσης των δεδομένων.



**Σχήμα 4.1.** Παράδειγμα απεικόνισης οπτικής αναλογικής κλίμακας αξιολόγησης του πόνου

#### 4.8 Αιμοληψίες

Όλες οι αιμοληψίες έγιναν σε ειδικά διαμορφωμένο χώρο του Εργαστηρίου Διατροφής και Κλινικής Διαιτολογίας από έμπειρο προσωπικό που ανήκει στο ίδιο εργαστήριο παρουσία γιατρού. Πριν από κάθε αιμοληψία προηγήθηκε ένα 12ώρο νηστείας.

Σε κάθε αιμοληψία ελήφθησαν συνολικά 23 mL αίματος. Από αυτά τα 10 mL χρησιμοποιήθηκαν για την απομόνωση ορού (vacutainers ορού), τα 2 mL για τη γενική αίματος (vacutainers με αντιπηκτικό EDTA), τα 6 mL για απομόνωση πλάσματος και ερυθροκυττάρων (vacutainers με αντιπηκτικό EDTA) και τα υπόλοιπα 5 mL για την απομόνωση λευκοκυττάρων

#### **4.9 Απομόνωση ορού και πλάσματος από το αίμα**

##### Αναλυτική πορεία

Δέκα (10) mL αίματος λήφθηκαν σε σωλήνες αιμοληψίας κενού των 10 mL και αφέθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 30 min. Στη συνέχεια φυγοκεντρήθηκαν στα 1500 x g για 10 min σε θερμοκρασία 20 °C και παραλήφθηκε το υπερκείμενο, που αποτελεί τον ορό. Το υπερκείμενο μοιράστηκε σε σωλήνες τύπου erpendorfs και φυλάχθηκε στους - 80 °C.

Για την παραλαβή του πλάσματος έξι (6) mL αίματος λήφθηκαν σε σωλήνες αιμοληψίας κενού με αντιπηκτικό EDTA. Οι σωλήνες φυγοκεντρήθηκαν στα 1500 x g για 10 min σε θερμοκρασία 20 °C και παραλήφθηκε το υπερκείμενο, που αποτελεί τον πλάσμα. Το υπερκείμενο μοιράστηκε σε σωλήνες τύπου erpendorfs και φυλάχθηκε στους - 80 °C.

#### **4.10 Απομόνωση ερυθροκυττάρων**

Το vacutainer με αντιπηκτικό EDTA φυγοκεντρήθηκε στα 1500g x 10 min, και παραλήφθηκε το υπερκείμενο πλάσμα.

Το ίζημα των ερυθροκυττάρων ξεπλύθηκε μία φορά με 4 ml φυσιολογικό ορό με φυγοκέντρωση στα 200 g για 15 min. Το υπερκείμενο που περιείχε λευκοκύτταρα απομακρύνεται και το ίζημα των ερυθροκυττάρων ξεπλένεται 2 φορές με 4 ml φυσιολογικό ορό με. Το τελικό ίζημα των ερυθροκυττάρων μοιράζεται σε 5 erpendorfs

#### **4.11 Μέτρηση λιπαρών οξέων στα ερυθροκύτταρα**

Στο πλαίσιο αυτής της μελέτης μετρήθηκε η σύσταση των λιπαρών οξέων στις μεμβράνες των ερυθροκυττάρων. Ο προσδιορισμός αυτός περιλαμβάνει τρία στάδια :

1)Εκχύλιση των λιπαρών οξέων,

- 2) Μεθυλεστεροποίηση των λιπαρών οξέων και παραλαβή των εστέρων
- 3) Μέτρηση των λιπαρών οξέων με αέρια χρωματογραφία

#### **4.11.1 Εκχύλιση των λιπαρών οξέων**

Αρχικά βγάζουμε τα δείγματα ερυθροκυττάρων (RBC) από την κατάψυξη και τα αναδεύουμε έντονα σε Vortex. Σε δοκιμαστικό σωλήνα των 12ml με βιδωτό πώμα καλυμμένο με Teflon, προστίθενται 0,3 ml δείγμα ερυθροκυττάρων (RBC) και κατόπιν 0,3 ml αποσταγμένου νερού. Ακολουθεί έντονη ανάδευση για 15 λεπτά και μετά προσθήκη 3,1ml ισοπροπανόλης, έντονη ανάδευση και αναμονή για 1 ώρα. Συνεχίζουμε την διαδικασία της εκχύλισης με προσθήκη στο σωλήνα 2 ml χλωροφορμίου και έντονη ανάδευση και αναμονή για 1 ώρα.

Επόμενο βήμα είναι η φυγοκέντρηση του δείγματος στα 500g για 30 λεπτά. Ακολουθεί παραλαβή του υπερκείμενου μέρους σε καινούριο, γυάλινο, βιδωτό δοκιμαστικό σωλήνα με πιπέτα Pasteur, οποίος τοποθετείται στους -20°C μέχρι να χρησιμοποιηθεί για το επόμενο βήμα που είναι η μεθυλεστεροποίηση των λιπαρών οξέων.

#### **4.11.2 Μεθυλεστεροποίηση των λιπαρών οξέων και παραλαβή των εστέρων**

Το δείγμα εξατμίζεται με φυγοκέντρηση σε ελαττωμένη πίεση σε συσκευή CentriVar. Παρασκευάζεται το διάλυμα 5% κ.ο. ακετυλοχλωριδίου σε μεθανόλη. Στο εξατμισμένο δείγμα προστίθεται 1 ml από το διάλυμα 5% κ.ο. ακετυλοχλωριδίου σε μεθανόλη, αναδεύουμε, πωματίζουμε καλά και τοποθετούμε το δείγμα σε υδατόλουτρο στους 90°C για 30 λεπτά. Μετά την παραμονή στο υδατόλουτρο, αφήνουμε το δείγμα να έρθει σε θερμοκρασία δωματίου. Για την παραλαβή των εστέρων προσθέτουμε 1 ml εξανίου το οποίο περιέχει εσωτερικό πρότυπο εννεανικό οξύ (τελική συγκέντρωση 0,24 mg/ml) και BHT (τελική συγκέντρωση 0,11 mg/ml) και αναδεύουμε έντονα. Αφού δημιουργηθεί διφασικό διάλυμα, γίνεται παραλαβή της υπερκείμενης φάσης (800μl) με πιπέτα Pasteur και τοποθέτηση σε γυάλινο φιαλίδιο (vial) για GC. Ιδιαίτερη προσοχή χρειάζεται στο σφράγισμα των vial έτσι ώστε να γίνει καλή εφαρμογή.

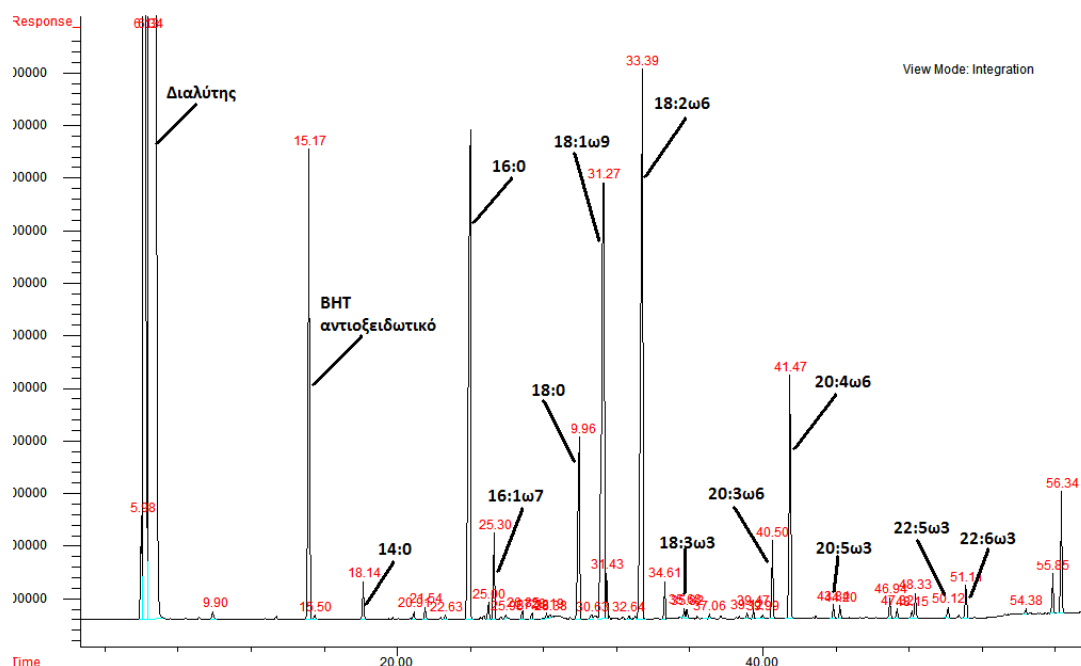
#### **4.11.3 Ανάλυση μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων με αέρια χρωματογραφία (GC)**

Η ανάλυση των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων στα δείγματα πραγματοποιήθηκε με αέρια χρωματογραφία σε τριχοειδή στήλη με προσδιορισμό της ποιοτικής και ποσοτικής σύστασης του μείγματος μεθυλεστέρων, οι οποίοι παραλήφθηκαν με τη μέθοδο που περιγράφηκε προηγουμένως. Για τον προσδιορισμό χρησιμοποιήθηκε αεριοχρωματογράφος HP6890 της Agilent (Hewlett Packard) εφοδιασμένος με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (Flame Ionization

Detector, FID), ανιχνευτή μάζας MS 6890 (Mass Selective Detector, MSD) και αυτόματο δειγματολήπτη HP 7673.

Ο διαχωρισμός των μεθυλεστέρων των λιπαρών οξέων έγινε σε τριχοειδή στήλη BPX 70 της SGE (Μελβούρνη, Αυστραλία), μήκους 60m, εσωτερικής διαμέτρου 0,25 mm και πάχους εσωτερικής επικάλυψης 0,25μm. Χρησιμοποιήθηκε ήλιο ως φέρον αέριο με ροή 0,8 mL/min ενώ η θερμοκρασία του εισαγωγέα του δείγματος και του ανιχνευτή ήταν 230° και 290° C αντίστοιχα. Για την ανάλυση γινόταν εισαγωγή -με ένεση- 1μL δείγματος στο χρωματογράφο με διαχωρισμό ροής (split mode) σε αναλογία 20:1. Έτσι τελικά το 1/20 του 1μL εισαγόταν στην στήλη. Η θερμοκρασία του φούρνου του χρωματογράφου ακολούθησε το πρόγραμμα: αρχική θερμοκρασία 130°C, αύξηση με ρυθμό 2° C / min έως τους 220° C όπου παρέμεινε σταθερή επί 7 λεπτά, στη συνέχεια αύξηση με ρυθμό 20° C / min έως του 250° C όπου παρέμεινε επί 6,5 λεπτά. Ο συνολικός χρόνος ανάλυσης ήταν 60 min.

Οι χρόνοι κατακράτησης των λιπαρών οξέων καταγράφηκαν αρχικά με ανάλυση πολυπροτύπων 37 μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων της Sigma (Sigma L9405, St Louis, MO, USA) με χρήση του ανιχνευτή 113 μάζας και με τη βοήθεια των βιβλιοθηκών (NIST και WILEY) του ανιχνευτή μάζας. Στη συνέχεια έγινε χρήση του ανιχνευτή ιονισμού φλόγας και τα πρότυπα παρεμβάλλονταν σε τακτά διαστήματα, ώστε αφ' ενός μεν να καταγράφονται τυχόν μικρές μεταβολές στους χρόνους κατακράτησης των συστατικών και αφ' ετέρου για υπολογισμό των συντελεστών απόκρισης (response factors, RF) των διαφόρων λιπαρών οξέων, ώστε να διορθώνονται τα εμβαδά των αντιστοιχών χρωματογραφικών κορυφών. Οι σχετικές αναλογίες των λιπαρών οξέων (%) καθορίστηκαν από την ολοκλήρωση των χρωματογραφημάτων και ποσοτικοποίηση των χρωματογραφικών κορυφών και διορθώθηκαν με τη χρήση συντελεστών απόκρισης.



**Σχήμα 4.2** Τυπικό αεριοχρωματογράφημα μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων σε δείγμα ανθρώπινου πλάσματος

### Στατιστική ανάλυση

Η κανονικότητα των συνεχών μεταβλητών εξετάστηκε με εφαρμογή του ελέγχου Kolmogorov-Smirnov. Όλες οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσος όρος  $\pm$  SD (standard deviation, τυπική απόκλιση). Οι συσχετίσεις μεταξύ των συνεχών μεταβλητών έγιναν με τη χρήση του συντελεστή συσχέτισης Pearson  $r$ . Για τη μελέτη της επίδρασης του χρόνου της παρέμβασης, καθώς και του είδους της παρέμβασης στις μεταβολές των μετρούμενων παραμέτρων χρησιμοποιήθηκε η απλή συσχετισμένη ανάλυση διακύμανσης για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις. Εξαιτίας των πολλαπλών συγκρίσεων χρησιμοποιήθηκε η διόρθωση κατά Bonferroni, προκειμένου να γίνει διόρθωση του σφάλματος τύπου I ώστε να προσεγγίζει το επίπεδο σημαντικότητας που έχει οριστεί για τους στατιστικούς ελέγχους αυτής της μελέτης. Όλες οι αναφερόμενες τιμές πιθανοτήτων ( $p$ ) βασίζονται σε αμφίπλευρους ελέγχους και συγκρίνονται στο επίπεδο σημαντικότητας του 5%. Για όλους τους στατιστικούς υπολογισμούς χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα SPSS έκδοση 18.0 (Statistical Package for social sciences, SPSS Inc., Chicago, Illinois, U.S.A.).

## Κεφάλαιο 5 - Αποτελέσματα

### 5.1 Ανθρωπομετρικά, βιοχημικά και προπονητικά χαρακτηριστικά των εθελοντών της μελέτης.

Στην έρευνα στρατολογήθηκαν αρχικά 22 εθελοντές μετά από πρόσκληση, στους οποίους πραγματοποιήθηκαν οι αρχικές μετρήσεις (baseline, t=0). Από τους εθελοντές αυτούς οι 22 ολοκλήρωσαν επιτυχώς το αρχικό πρωτόκολλο LIST.

Στο Πίνακα 5.1 παρουσιάζονται οι μέσες τιμές  $\pm$  τ.α των βασικών ανθρωπομετρικών και βιοχημικών δεικτών όλων των εθελοντών που συμμετείχαν στο 1<sup>ο</sup> πρωτόκολλο της μελέτης πριν την έναρξη της παρέμβασης (baseline, t=0).

**Πίνακας 5.1:** Σωματομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά των εθελοντών της μελέτης.

| <b>Ανθρωπομετρικοί και Βιοχημικοί Δείκτες</b>         | <b>Μέσος όρος <math>\pm</math> ΤΑ</b> |
|-------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| <b>Ηλικία (έτη)</b>                                   | 21,09 $\pm$ 2,9                       |
| <b>Ύψος (m)</b>                                       | 1,79 $\pm$ 0,06                       |
| <b>Βάρος (kg)</b>                                     | 75,45 $\pm$ 6,5                       |
| <b>ΔΜΣ (kg/m<sup>2</sup>)</b>                         | 23,3 $\pm$ 1,7                        |
| <b>Επίπεδα Λευκοκυττάρων (WBC) 10<sup>3</sup>/μL</b>  | 40,6 $\pm$ 2,9                        |
| <b>Επίπεδα Ερυθροκυττάρων (RBC) 10<sup>3</sup>/μL</b> | 5,15 $\pm$ 0,53                       |
| <b>Αιμοσφαιρίνη (g/dL)</b>                            | 15,05 $\pm$ 1,28                      |
| <b>Αιματοκρίτης (%)</b>                               | 45,17 $\pm$ 3,86                      |
| <b>Αιμοπετάλια ((10<sup>3</sup>/μL)</b>               | 220,73 $\pm$ 32,17                    |
| <b>Δραστητικότητα κρεατινικής κινάσης CK (U/L)</b>    | 191,29 $\pm$ 102,93                   |
| <b>C Αντιδρώσα πρωτεΐνη CRP (mg/L)</b>                | 0,89 $\pm$ 1,36                       |

Στον παραπάνω πίνακα μπορούμε να διαπιστώσουμε ότι το δείγμα που επιλέχθηκε για την μελέτη ήταν νεαροί αθλητές και όπως αναμενόταν με φυσιολογικές τιμές δείκτη μάζας σώματος καθώς και όλων των αιματολογικών και βιοχημικών δεικτών

Στον Πίνακα 5.2 παρουσιάζονται τα βασικά προπονητικά χαρακτηριστικά των εθελοντών

**Πίνακας 5.2:** Προπονητικά χαρακτηριστικά των εθελοντών

| Προπονητικά- Εργομετρικά χαρακτηριστικά         |                     | Μέσος όρος $\pm$ ΤΑ |
|-------------------------------------------------|---------------------|---------------------|
| VO <sub>2</sub> max (ml/Kg.min)                 |                     | 52,3 $\pm$ 2,16     |
| Έτη προπόνησης                                  |                     | 15,4 $\pm$ 2,19     |
| Χρόνος προπόνησης/εβδομάδα (min)                |                     | 472,3 $\pm$ 129,89  |
| Χρόνος προπόνησης με αντιστάσεις/εβδομάδα (min) |                     | 137 $\pm$ 84        |
| Θέση ποδοσφαίρου                                | Κεντρικοί Αμυντικοί | 6 εθελοντές         |
|                                                 | Εξτρέμ              | 3 εθελοντές         |
|                                                 | Μέσοι               | 11 εθελοντές        |
|                                                 | Τερματοφύλακες      | 1 εθελοντής         |
|                                                 | Επιθετικοί          | 1 εθελοντής         |
| Συνολικός αριθμός εθελοντών                     |                     | 22 εθελοντές        |

Από τον παραπάνω Πίνακα φαίνεται ότι η πλειοψηφία των αθλητών ήταν ημι-επαγγελματίες ποδοσφαιριστές, με πολυετή εμπειρία στο συγκεκριμένο άθλημα και αυτό φαίνεται και στα σχετικά υψηλά επίπεδα VO<sub>2</sub>max που μαρτυρούν το καλό επίπεδο φυσικής τους κατάστασης. Ένα σημαντικό μέρος της προπόνησης τους εβδομαδιαίως (~ 1/5) καταναλίσκονταν σε άσκηση με αντιστάσεις. Η πλειοψηφία των εθελοντών της μελέτης μας ήταν μέσοι και κεντρικοί αμυντικοί.

## 5.2 Σύσταση λιπαρών οξέων ερυθροκυττάρων πριν την παρέμβαση – Συσχετίσεις με σωματομετρικούς, εργομετρικούς και βιοχημικούς δείκτες.

Η μέτρηση των λιπαρών οξέων στα ερυθροκύτταρα των εθελοντών έγινε πριν και μετά το πρωτόκολλο LIST. Στο υποκεφάλαιο αυτό παρουσιάζεται η σύσταση των ερυθροκυττάρων σε ΛΟ πριν την παρέμβαση. Η ανάλυση έγινε στους 17 από τους 22 εθελοντές της ανάλυσης. Πρέπει να τονιστεί ότι τα αποτελέσματα δίνονται ως ποσοστό εμβαδού κορυφής κάθε ΛΟ σε σχέση με το συνολικό εμβαδόν του χρωματογραφήματος, το οποίο σε ποσοστό περίπου 20% περιέχει και κορυφές που δεν αντιστοιχούν σε ταυτοποιημένα λιπαρά οξέα. Στον Πίνακα 5.3 παρουσιάζεται η σύσταση σε ΛΟ πριν το πρωτόκολλο LIST

**Πίνακας 5.3: Σύσταση σε λιπαρά οξέα των ερυθροκυττάρων των εθελοντών της μελέτης.**

Τα αποτελέσματα δίνονται ως ποσοστό εμβαδού κορυφής κάθε ΛΟ σε σχέση με το συνολικό εμβαδόν του χρωματογραφήματος. Σε παρένθεση δίνεται η εμπειρική ονομασία του ΛΟ.

| Τύπος Λιπαρού Οξέος                | Μέσος όρος $\pm$ ΤΑ (%) |
|------------------------------------|-------------------------|
| 12:0 (Λαυρικό)                     | 0,29 $\pm$ 0,18         |
| 14:0 (Μυριστικό)                   | 0,38 $\pm$ 0,23         |
| 16:0 (Παλμιτικό)                   | 19,09 $\pm$ 1,61        |
| 18:0(Στεατικό)                     | 17,32 $\pm$ 2,24        |
| 20:0 (Αραχιδικό)                   | 0,24 $\pm$ 0,9          |
| 24:0 (Λιγνοκερικό)                 | 1,91 $\pm$ 0,76         |
| 16:1n-7 (Παλμιτελαικό)             | 0,13 $\pm$ 0,98         |
| 18:1n-7 (Βαχενικό οξύ)             | 0,85 $\pm$ 0,16         |
| 18:1n-9 (ελαικό, ΟΑ)               | 12,87 $\pm$ 1,5         |
| 20:1n-9 (Γονδοικό οξύ)             | 0,26 $\pm$ 0,56         |
| 24:1n-9 (Νερβονικό)                | 1,47 $\pm$ 0,51         |
| 18:2n-6 (Λινελαικό, LA)            | 9,55 $\pm$ 1,11         |
| 20:2n-6                            | 0,28 $\pm$ 0,06         |
| 20:3n-6 (Διομο-γ-λινολενικό, DGLA) | 1,42 $\pm$ 0,26         |
| 20:4n-6 (Αραχιδονικό, AA)          | 13,26 $\pm$ 2,26        |
| 18:3n-3 (α-Λινολενικό, ALA)        | 0,07 $\pm$ 0,07         |
| 20:5n-3 (εικοσαπεντενοικό, EPA)    | 0,19 $\pm$ 0,06         |
| 22:6n-3 (εικοσιδυοεξενοικό, DHA)   | 2,51 $\pm$ 0,76         |
| Κορεσμένα ΛΟ (SFA)                 | 39,18 $\pm$ 3,83        |
| Μονοακόρεστα ΛΟ (MUFA)             | 15,58 $\pm$ 1,23        |
| Πολυακόρεστα ΛΟ (PUFA)             | 27,28 $\pm$ 3,21        |
| $\omega$ -6 ΛΟ                     | 24,52 $\pm$ 3,09        |
| $\omega$ -3 ΛΟ                     | 2,78 $\pm$ 0,79         |
| $\omega$ -6/ $\omega$ -3 ΛΟ        | 9,77 $\pm$ 4,15         |
| PUFA_SFA                           | 0,69 $\pm$ 0,06         |

Από το παραπάνω πίνακα φαίνεται ότι από τα SFAs αποτελούν τη κύρια κατηγορία ΛΟ ακολουθούμενα από τα PUFA και τα MUFA. Μεταξύ των SFA το παλμιτικό και το στεατικό οξύ βρίσκονται σχεδόν στην ίδια αναλογία με μία ελαφρά υπεροχή του παλμιτικού οξέος. Όπως αναμενόταν, το ελαιικό οξύ αποτελεί το βασικό MUFA ενώ όσον αφορά τα PUFA, τα ω-6 βρίσκονται σε πολύ μεγαλύτερη αναλογία από τα ω-3 (9 φορές περισσότερα).

Τα κύρια ω-6 ΛΟ είναι το λινελαϊκό και το αραχιδονικό ενώ από τα ω-3 το DHA καταλαμβάνει τη πρώτη θέση ακολουθούμενο από το EPA.

Σε μία προσπάθεια να βρεθεί αν το προφίλ ΛΟ στα ερυθροκύτταρα των εθελοντών μας μπορεί να σχετίζεται με τα σωματομετρικά, βιοχημικά και προπονητικά χαρακτηριστικά των εθελοντών, έγινε ανάλυση συσχέτισης, κατά Pearson, μεταξύ του ποσοστού του κάθε λιπαρού οξέος με τα αντίστοιχα χαρακτηριστικά. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 5.4

**Πίνακας 5.4:** Σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ ποσοστού ΛΟ στα ερυθροκύτταρα και βασικών σωματομετρικών, βιοχημικών και προπονητικών χαρακτηριστικών των εθελοντών.

| Τύπος Λιπαρού Οξέος | Χρόνος προπόνησης με<br>αντιστάσεις | Συνολικός<br>χρόνος<br>προπόνησης |
|---------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|
| 14:0                | r=0,822, p=0,012                    | NS*                               |
| 18:2n6              | r= -0,709, p=0,032                  | NS                                |
| 20:1n-9             | NS                                  | r=-0,629, p=0,021                 |
| ω-6/ω-3             | r= -0,686, p=0,041                  | NS                                |
| ω-6                 | NS                                  | NS                                |

\*NS: non-significant, μη σημαντική συσχέτιση

Παρατηρούμε ότι οι όποιες σημαντικές συσχετίσεις παρουσιάζονται μεταξύ του χρόνου προπόνησης με αντιστάσεις και του 14:0 (θετική συσχέτιση), ενώ το ποσοστό του λινελαϊκού (18:2n-6) εμφανίζει αρνητική συσχέτιση κάτι που αντικατοπτρίζεται στην αρνητική συσχέτιση του λόγου ω-6/ω-3 με το χρόνο προπόνησης με αντίστασης. Τέλος, εμφανίζεται μία σημαντική αρνητική συσχέτιση μεταξύ του συνολικού χρόνου προπόνησης και του 20:1n-9 ΛΟ.

### 5.3 Επίδραση του LIST στο προφίλ των ΛΟ στα ερυθροκύτταρα των εθελοντών

Στην συνέχεια διερευνήθηκε κατά πόσο μετά το πρωτόκολλο LIST εμφανίζονται διαφοροποιήσεις στις σχετικές αναλογίες των ΛΟ στα ερυθροκύτταρα των εθελοντών. Συγκρίθηκε συνεπώς, με RM-ANOVA, η αναλογία των επιμέρους ΛΟ πριν την παρέμβαση μετά την αντίστοιχη αναλογία που εμφανίζεται 2,24,48 και 72 ώρες μετά το πρωτόκολλο άσκησης. Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στον Πίνακα 5.5.

**Πίνακας 5.5 :** Αναλογίες ΛΟ ερυθροκυττάρων πριν και μετά τα πρωτόκολλο LIST. Τα αποτελέσματα δίνονται ως  $\mu \pm \tau. \alpha.$

| Τύπος<br>Λιπαρού<br>Οξέος | 0h               | 2h               | 24h              | 48h              | 72h              | p     |
|---------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------|
| 12:0                      | 0,29 $\pm$ 0,18  | 0,23 $\pm$ 0,12  | 0,29 $\pm$ 0,12  | 0,26 $\pm$ 0,13  | 0,22 $\pm$ 0,102 | NS    |
| 14:0                      | 0,38 $\pm$ 0,23  | 0,37 $\pm$ 0,16  | 0,39 $\pm$ 0,18  | 0,39 $\pm$ 0,15  | 0,39 $\pm$ 0,18  | NS    |
| 16:0                      | 19,09 $\pm$ 1,61 | 19,23 $\pm$ 0,91 | 19,42 $\pm$ 1,38 | 19,82 $\pm$ 2,02 | 19,36 $\pm$ 1,03 | NS    |
| 18:0                      | 17,32 $\pm$ 2,24 | 18,10 $\pm$ 0,92 | 17,71 $\pm$ 1,64 | 18,34 $\pm$ 1,76 | 17,83 $\pm$ 2,02 | NS    |
| 20:0                      | 0,24 $\pm$ 0,9   | 0,23 $\pm$ 0,11  | 0,21 $\pm$ 0,05  | 0,23 $\pm$ 0,06  | 0,23 $\pm$ 0,7   | NS    |
| 24:0                      | 1,91 $\pm$ 0,76  | 1,74 $\pm$ 0,7   | 2,05 $\pm$ 0,84  | 2,21 $\pm$ 0,85  | 1,99 $\pm$ 0,92  | NS    |
| 16:1n-7                   | 0,13 $\pm$ 0,09  | 0,1 $\pm$ 0,05   | 0,11 $\pm$ 0,06  | 0,1 $\pm$ 0,04   | 0,1 $\pm$ 0,04   | NS    |
| 18:1n-7                   | 0,85 $\pm$ 0,16  | 0,88 $\pm$ 0,1   | 0,85 $\pm$ 0,12  | 0,85 $\pm$ 0,1   | 0,86 $\pm$ 0,11  | NS    |
| 18:1n-9                   | 12,87 $\pm$ 1,5  | 13,3 $\pm$ 1,34* | 12,79 $\pm$ 1,36 | 12,78 $\pm$ 1,24 | 12,93 $\pm$ 1,25 | 0,027 |
| 20:1n-9                   | 0,26 $\pm$ 0,05  | 0,27 $\pm$ 0,04  | 0,24 $\pm$ 0,04  | 0,24 $\pm$ 0,04  | 0,24 $\pm$ 0,05  | 0,074 |
| 24:1n-9                   | 1,47 $\pm$ 0,51  | 1,29 $\pm$ 0,48  | 1,54 $\pm$ 0,6   | 1,6 $\pm$ 0,57   | 1,49 $\pm$ 0,48  | NS    |
| 18:2n-6                   | 9,55 $\pm$ 1,11  | 9,52 $\pm$ 1,21  | 9,61 $\pm$ 1,13  | 9,61 $\pm$ 0,95  | 10,71 $\pm$ 4,44 | NS    |
| 20:2n-6                   | 0,28 $\pm$ 0,06  | 0,29 $\pm$ 0,05  | 0,29 $\pm$ 0,05  | 0,28 $\pm$ 0,057 | 0,28 $\pm$ 0,06  | NS    |
| 20:3n-6                   | 1,42 $\pm$ 0,26  | 1,51 $\pm$ 0,30  | 1,54 $\pm$ 0,35  | 1,52 $\pm$ 0,29  | 1,47 $\pm$ 0,23  | NS    |
| 20:4n-6                   | 13,26 $\pm$ 2,26 | 13,44 $\pm$ 2,05 | 13,84 $\pm$ 1,1  | 13,62 $\pm$ 1,42 | 13,57 $\pm$ 1,66 | NS    |
| 18:3n-3                   | 0,07 $\pm$ 0,07  | 0,06 $\pm$ 0,06  | 0,04 $\pm$ 0,01  | 0,04 $\pm$ 0,02  | 0,01 $\pm$ 0,22  | NS    |
| 20:5n-3                   | 0,19 $\pm$ 0,06  | 0,18 $\pm$ 0,05  | 0,17 $\pm$ 0,05  | 0,19 $\pm$ 0,08  | 0,17 $\pm$ 0,07  | NS    |
| 22:6n-3                   | 2,51 $\pm$ 0,76  | 2,54 $\pm$ 0,88  | 2,74 $\pm$ 0,86  | 2,85 $\pm$ 1,12  | 2,68 $\pm$ 1     | NS    |
| SFA                       | 39,18 $\pm$ 3,83 | 39,92 $\pm$ 1,62 | 40,11 $\pm$ 2,38 | 41,28 $\pm$ 3,23 | 40,03 $\pm$ 2,85 | NS    |
| MUFA                      | 15,5 $\pm$ 1,23  | 15,77 $\pm$ 1,48 | 15,4 $\pm$ 1,31  | 15,48 $\pm$ 1,36 | 15,6 $\pm$ 1,14  | NS    |

|         |            |            |           |            |            |    |
|---------|------------|------------|-----------|------------|------------|----|
| PUFA    | 27,28±3,21 | 27,55±3,32 | 28,41±1,6 | 28,11±2,13 | 28,99±3,16 | NS |
| N6      | 24,52±3,09 | 24,78±3,13 | 25,3±1,88 | 25,05±2,07 | 26,04±3,25 | NS |
| N3      | 2,78±0,79  | 2,75±0,91  | 2,94±0,91 | 3,06±1,21  | 2,86±0,99  | NS |
| N6:N3FA | 9,77±4,15  | 10,11±4,19 | 9,89±4,59 | 9,74±4,63  | 10,51±4,77 | NS |
| PUFA    | 0,69±0,06  | 0,69±0,08  | 0,71±0,05 | 0,68±0,07  | 0,73±0,15  | NS |

Στον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε ότι στατιστικά σημαντικές διαφορές στη μεταβολή της περιεκτικότητας των Λιπαρών Οξέων στα ερυθροκύτταρα στις διάφορες χρονικές στιγμές μετά το LIST παρουσιάζονται μόνο σε δύο Λιπαρά Οξέα, 18:1n-9 και το 20:1n-9. Το πρώτο εμφανίζει μία μεταβατική αύξηση 2 ώρες μετά την άσκηση και το δεύτερο μια διατηρούμενη ελαφρά μείωση της περιεκτικότητας του έως και 72h μετά την άσκηση.

#### 5.4 Συσχέτιση του προφίλ των ΛΟ στα ερυθροκύτταρα με τις μεταβολές δεικτών ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης μετά το LIST

Το βασικό ερώτημα της παρούσας εργασίας ήταν κατά πόσο το προφίλ των ΛΟ στα ερυθροκύτταρα σχετίζεται με το βαθμό μεταβολής δεικτών AMB μετά το LIST. Στα πλαίσια αυτά τα ποσοστά ΛΟ στα ερυθροκύτταρα σε χρόνο 0 συσχετίστηκαν είτε με τις % μεταβολές, είτε με το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη δεικτών AMB. Τα αποτελέσματα φαίνονται στους πίνακες 5.6, 5.7 και 5.8.

**Πίνακας 5.6:** Συσχέτιση ΛΟ ερυθροκυττάρων με τις μεταβολές εργομετρικών παραμέτρων μετά από LIST.

| Τύπος Λιπαρού Οξέος | AVTQ AUC         | VAS_AB AUC       | VAS_GAS AUC      |
|---------------------|------------------|------------------|------------------|
| 18:2n-6             | r=0,503, p=0,063 | NS               | NS               |
| 20:5n-3             | NS               | r=-0,852,p=0,000 | NS               |
| 20:1n-9             | NS               | NS               | r=-0,627,p=0,022 |

Συντμήσεις: AVTQ:Μέση ισομετρική ροπή, VAS:Υποκειμενική εκτίμηση πόνου με οπτική κλίμακα, AUC:εμβαδόν κάτω από την καμπύλη, AB: απαγωγός μυς, GAS: Γαστροκνήμιος μυς

Όσον αφορά τις συσχετίσεις των ΛΟ με εργομετρικούς δείκτες AMB οι μόνες συσχετίσεις που βρέθηκαν ήταν: α) η θετική συσχέτιση του λινελαικού με το AUC της μεταβολής της μέγιστης ισομετρικής ροπής. Αυτό σημαίνει ότι όσο μεγαλύτερο το ποσοστό LA στο ερυθροκύτταρα τόσο περισσότερο διατηρείται η μέγιστη ισομετρική ροπή σε υψηλά επίπεδα δεδομένου ότι μετά την άσκηση η ροπή μειώνεται και το AUC είναι αρνητικό, β) ισχυρά αρνητική συσχέτιση μεταξύ του EPA και της αύξησης του πόνου στον απαγωγό μυ και γ) αρνητική συσχέτιση μεταξύ του 20:1n-9 και της αύξησης του πόνου στον γαστροκνήμιο μυ.

**Πίνακας 5.7:** Συσχέτιση ΛΟ ερυθροκυττάρων με τις μεταβολές βιοχημικών δεικτών AMB μετά από LIST.

| Τύπος<br>Λιπαρού<br>Οξέος | CRP_PERC<br>24     | CRP_PERC<br>48      | CRP_PERC<br>72      | GPX3_PERC<br>48     | GPX3_PERC<br>72      | GPX1_PERC<br>48     |
|---------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------|
| 14:0                      | NS                 | r=0,598,<br>p=0,024 | r=0,597,<br>p=0,024 | r=-0,651<br>p=0,030 | NS                   | NS                  |
| 16:0                      | NS                 | NS                  | NS                  | NS                  | r=0,747,<br>p=0,008  | NS                  |
| 18:0                      | NS                 | NS                  | NS                  | NS                  | r=-0,825,<br>p=0,002 | NS                  |
| 18:2n-6                   | NS                 | NS                  | NS                  | NS                  | NS                   | r=0,673,<br>p=0,016 |
| 20:2n-6                   | r=-0,54<br>p=0,036 | r=-0,601<br>p=0,018 | NS                  | NS                  | NS                   | NS                  |
| SFA:0                     | NS                 | NS                  | NS                  | NS                  | r=-0,86,<br>p=0,001  | NS                  |
| N3:0                      | NS                 | NS                  | NS                  | NS                  | r=-0,644,<br>p=0,044 | NS                  |
| N6:N3:0                   | NS                 | NS                  | NS                  | NS                  | NS                   | r=0,632,<br>p=0,037 |

Απ τον παραπάνω πίνακα μπορούμε να παρατηρήσουμε τα εξής. Κανένα ΛΟ δεν σχετίζεται με τις μεταβολές της CK. Αντιθέτως, ΛΟ φαίνεται ότι σχετίζονται με την μετασκησιογενή συστηματική φλεγμονώδη απόκριση με μέτρο της τη CRP και με το αντιοξειδωτικό δυναμικό των κυττάρων, όπως τουλάχιστον αυτά εκφράζονται από από την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης της κυκλοφορίας (GPX-3) και την αντίστοιχη ισομορφή στο εσωτερικό των λευκοκυττάρων (GPX-1). Συγκεκριμένα, όσο μεγαλύτερη η σύσταση των ερυθροκυττάρων σε 14:0 τόσο μεγαλύτερη η αύξηση της CRP μετά την άσκηση στις 48 και 72 ώρες. Το άλλο ΛΟ που σχετίστηκε όμως αρνητικά με την αύξηση της CRP είναι το 20:2n-6.

Όσον αφορά τη GPX-3 τα κορεσμένα ΛΟ, ξεχωριστά (μυριστικό, παλμιτικό, στεαρικό) και στο σύνολο τους σχετίζονται αρνητικά με τις μεταβολές της GPX-3. Αρνητικά συσχετίζεται με τις μεταβολές της GPX-3 στις 72 ώρες και τα ω-3 ΛΟ. Τέλος όσο μεγαλύτερο το ποσοστό λινελαϊκού και αντίστοιχα του λόγου ω-6/ω-3 τόσο μεγαλύτερη η αύξηση της GPX-1 των λευκοκυττάρων 48 ώρες μετά την άσκηση.

## Κεφάλαιο 6

### Συζήτηση

Σε ελίτ ποδοσφαιριστές παρατηρούμε συχνά το φαινόμενο κόπωσης λόγω των πολλών αθλητικών υποχρεώσεων σε αρκετά σύντομο χρονικό διάστημα. Δεν είναι λίγες οι φορές κατά τη διάρκεια μιας αγωνιστικής περιόδου που καλούνται να αγωνιστούν σε δύο παιχνίδια διάρκειας 90 λεπτών σε διάστημα 72 ωρών, χρονικό διάστημα που δεν φτάνει για την ομαλοποίηση των μυϊκών βλαβών και την υποχώρηση της φλεγμονής. Αυτό έχει σαν συνέπεια την μείωση της απόδοσης μετά από τον κάθε αγώνα και την ανεπαρκή αποκατάσταση μέχρι τον επόμενο.

Οι παίκτες εμφανίζουν οξεία ή και χρόνια κόπωση που με τον καιρό δυνητικά μπορεί να παρουσιάσει υποαπόδοση ή τραυματισμό. (Ekstrand et al.) Επομένως κρίνεται αναγκαία η εύρεση τρόπων μείωσης της AMB και περιορισμός των φαινομένων που την συνοδεύουν. Ως εκ τούτου αξίζει να μελετηθεί η διατροφική πρόσληψη σε σχέση με την AMB, καθώς και τον περιορισμό των συμπτωμάτων της.

Τα λιπαρά οξέα των ερυθροκυττάρων με χρόνο ζωής 100-120 μέρες θεωρούνται αξιόλογοι βιοχημικοί δείκτες της πρόσληψης λιπαρών οξέων των τελευταίων 3- 4 μηνών [51]. Ο εύκολος τρόπος λήψης του βιολογικού δείγματος με απλή αιμοληψία και ο σχετικά μικρός χρόνος ανάλυσης κατατάσσει τη μέτρηση ΛΟ στα ερυθροκύτταρα ως έναν από του καλύτερους τρόπους εκτίμησης της πρόσληψης των λιπαρών οξέων. Επιπλέον, ένα ακόμα πλεονέκτημα των ερυθροκυττάρων αποτελεί η αυξημένη παρουσία πολυακόρεστων λιπαρών οξέων στη μεμβράνη τους έναντι των άλλων δειγμάτων εξαιτίας του μεγαλύτερου βαθμού ενσωμάτωσής τους στα ερυθροκύτταρα[52]. Δεδομένου ότι η μέτρηση των MUFA και SFA φαίνεται ότι δεν έχει ιδιαίτερη διαγνωστική αξία για την διαιτητική προσέγγιση αφού αυτά τα λιπαρά οξέα μπορούν να συντεθούν και ενδογενώς, η σύσταση των PUFA στα ερυθροκύτταρα είναι αυτή που επηρεάζεται κυρίως από τη διατροφή και παρουσιάζει ερευνητικό ενδιαφέρον [53.]. Το γεγονός ότι τα ερυθροκύτταρα δεν μπορούν να συνθέσουν de novo λιπαρά οξέα και να προκαλέσουν επιμήκυνση και αποκορεσμό τους αποτελεί ένα ακόμα προτέρημα. Αυτό προκύπτει επειδή στη μεμβράνη τους δεν εμπλέκονται λιπαρά οξέα από ενδογενή σύνθεση παρά μόνο από ανταλλαγές με τα λιπαρά οξέα του πλάσματος [52], [54]

Στην βιβλιογραφία δεν έχουν πραγματοποιηθεί αντίστοιχες έρευνες αξιολόγησης διατροφικής πρόσληψης αθλητών ποδοσφαίρου όσον αφορά τη σύσταση του λίπους με τη μέτρηση των λιπαρών οξέων στα ερυθροκύτταρα, την επίδραση διαλλειματικής άσκησης που προσομοιάζει ένα αγώνα ποδοσφαίρου στη σύσταση σε λιπαρά οξέα των ερυθροκυττάρων και της σχέσης που

μπορεί να έχει η παραπάνω σύσταση με δείκτες ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης. Η επιλογή ενός προσομοιωμένου αντί ενός κανονικού αγώνα για την πρόκληση AMB (LIST) έγινε για πολλούς λόγους. Οι εθελοντές εκτέλεσαν την ίδια ακριβώς άσκηση χωρίς να παίζει ρόλο η θέση τους μέσα στο γήπεδο, αλλά ούτε και ο αντίπαλος. Οι συνθήκες ήταν ιδανικές καθώς δεν είχαν να αντιμετωπίσουν την επαφή με άλλο αντίπαλο που θα μπορούσε να δημιουργήσει σύγχυση στους δείκτες φλεγμονής. Συνεπώς με τη χρήση προσομοιωμένων αγώνων μπορεί να επιτευχθεί επαναληψιμότητα της απόκρισης και ελεγχόμενες συνθήκες πρόκλησης AMB.

Στην έρευνα στρατολογήθηκαν αρχικά 22 εθελοντές μετά από πρόσκληση, στους οποίους πραγματοποιήθηκαν οι αρχικές μετρήσεις (baseline, t=0). Ο πληθυσμός της μελέτης ήταν ομοιογενής αφού αποτελούνταν από ημι-επαγγελματίες ποδοσφαιριστές με φυσιολογικό BMI και παρόμοιο εργομετρικό και βιοχημικό προφίλ.

Στην μελέτη μας ανιχνεύτηκαν τα λιπαρά οξέα 12:0, 14:0, 16:0, 18:0, 20:0, 24:0, 16:1n-7, 18:1n-7, 18:1n-9, 20:1n-9, 24:1n-9, 18:2n-6, 20:2n-6, 20:3n-6, 20:4n-6, 18:3n-3, 20:5n-3, 22:6n-3 και από αυτά προσδιορίστηκαν τα SFA, MUFA, PUFA, n-6 ΛΟ, n-3 ΛΟ και ο λόγος n-6/n-3. Τα παραπάνω ΛΟ αποτελούν τα κύρια λιπαρά οξέα στα ερυθροκύτταρα των εθελοντών της μελέτης έχοντας το κάθε ένα εκατοστιαία περιεκτικότητα >1%. Όσον αφορά τη σύσταση τους σε λιπαρά οξέα πρέπει να τονιστεί ότι οι % αναλογίες που δίνονται στον πίνακα 5.3 είναι η % αναλογία του εμβαδού της κορυφής στο σύνολο του εμβαδού του χρωματογραφήματος, το οποίο περιείχε όμως και κορυφές πέρα των λιπαρών οξέων. Λαμβάνοντας αυτό υπόψη οι αναλογίες του πίνακα είναι υποεκτιμημένες. Γνωρίζοντας ότι το συνολικό ποσοστό του εμβαδού των Λ.Ο στο σύνολο του εμβαδού του χρωματογραφήματος είναι 80%, κάνοντας μια χονδρική κανονικοποίηση ώστε να βρούμε το εμβαδό του Λ.Ο στο σύνολο του εμβαδού των υπολοίπων Λ.Ο, βρίσκουμε τα παρακάτω αποτελέσματα.

| Λιπαρού<br>οξύ | Ποσοστό<br>χρωματογραφήματος | Ποσοστό<br>Λ.Ο.<br>σε |
|----------------|------------------------------|-----------------------|
| 12:0           | 0,29                         | 0,3625                |
| 14:0           | 0,38                         | 0,475                 |
| 16:0           | 19,09                        | 23,8625               |
| 18:0           | 17,32                        | 21,65                 |
| 20:0           | 0,24                         | 0,3                   |
| 24:0           | 1,91                         | 2,3875                |
| 16:1n-7        | 0,13                         | 0,1625                |
| 18:1n-7        | 0,85                         | 1,0625                |
| 18:1n-9        | 12,87                        | 16,0875               |
| 20:1n-9        | 0,26                         | 0,325                 |
| 24:1n-9        | 1,47                         | 1,8375                |
| 18:2n-6        | 9,55                         | 11,9375               |
| 20:2n-6        | 0,28                         | 0,35                  |
| 20:3n-6        | 1,42                         | 1,775                 |
| 20:4n-6        | 13,26                        | 16,575                |
| 18:3n-3        | 0,07                         | 0,0875                |
| 20:5n-3        | 0,19                         | 0,2375                |
| 22:6n-3        | 2,51                         | 3,1375                |
| SFA            | 39,1                         | 48,875                |
| MUFA           | 15,58                        | 19,475                |
| PUFA           | 27,28                        | 34,1                  |
| N6:FA          | 24,52                        | 30,65                 |
| N3:FA          | 2,78                         | 3,475                 |

Τα αποτελέσματά μας φαίνεται να έχουν διαφορά από αυτά των Tepsic et al.[55] οι οποίοι σε έρευνα που συμμετείχαν 24 ποδοσφαιριστές και 23 μπασκετμπολίστες μέτρησαν την περιεκτικότητα των ερυθροκυττάρων σε ΛΟ. Αυτή είναι και η μοναδική μελέτη στην οποία έχει μετρηθεί το προφίλ των ΛΟ ερυθροκυττάρων σε ποδοσφαιριστές. Η περιεκτικότητα ορισμένων λιπαρών οξέων στα ερυθροκύτταρα των ποδοσφαιριστών ήταν σε χαμηλότερα επίπεδα από ότι στην δική μας μελέτη (18:0, 18:1n9, 20:4n6, SFA, MUFA, PUFA ) και σε άλλα υψηλότερη (16:0, 16:1n7, 20:3n6, 20:5n3, PUFA), ενώ περίπου ίδια ήταν η ποσότητα του DHA (20:6n3).

Από τις παραπάνω συσχετίσεις αξίζει να σημειωθεί η αρκετά υψηλότερη τιμή του ελαϊκού οξέος στη δική μας μελέτη προκύπτει πιθανότατα λόγω της αυξημένης πρόσληψης ελαιολάδου του πληθυσμού μας. Ωστόσο, ο λόγος n-6/n-3 ήταν περίπου ο ίδιος ενώ τα κορεσμένα, μονοακόρεστα λίπη ήταν σαφέστερα υψηλότερα στην περίπτωσή μας.

Πίνακας 6.1: Η σύσταση των ερυθροκυττάρων σε ΛΟ στην μελέτη των Tepsic et al.[55]

**Table 3** Fatty acid profile of erythrocyte phospholipids

|          | Control group | Basketball players | Football players |
|----------|---------------|--------------------|------------------|
| 16:0     | 21.56 ± 0.96  | 21.67 ± 1.33       | 21.73 ± 1.38     |
| 18:0     | 17.36 ± 0.88  | 18.28 ± 1.07*      | 17.19 ± 1.13     |
| 16:1 n-7 | 0.21 ± 0.06   | 0.19 ± 0.10        | 0.16 ± 0.08      |
| 18:1 n-9 | 16.87 ± 1.93  | 16.45 ± 0.98       | 16.81 ± 0.98     |
| 18:2 n-6 | 15.34 ± 1.16  | 13.64 ± 1.40***##  | 14.90 ± 1.35     |
| 20:3 n-6 | 1.77 ± 0.27   | 1.97 ± 0.26        | 1.86 ± 0.39      |
| 20:4 n-6 | 17.22 ± 1.43  | 17.40 ± 0.92       | 17.24 ± 1.11     |
| 20:5 n-3 | 0.26 ± 0.16   | 0.34 ± 0.13        | 0.29 ± 0.18      |
| 22:4 n-6 | 4.26 ± 0.98   | 4.65 ± 0.73#       | 4.13 ± 0.76      |
| 22:5 n-3 | 1.68 ± 0.36   | 1.69 ± 0.36        | 1.66 ± 0.36      |
| 22:6 n-3 | 3.48 ± 0.75   | 3.72 ± 1.10        | 4.02 ± 1.24      |
| SFA      | 38.92 ± 1.06  | 39.95 ± 1.56*#     | 38.93 ± 1.52     |
| MUFA     | 17.07 ± 1.91  | 16.65 ± 0.98       | 16.97 ± 0.98     |
| Σ n-6    | 38.58 ± 2.15  | 37.66 ± 1.76       | 38.13 ± 1.43     |
| Σ n-3    | 5.43 ± 1.00   | 5.74 ± 1.47        | 5.98 ± 1.69      |
| PUFA     | 44.01 ± 1.95  | 43.40 ± 1.72       | 44.12 ± 1.64     |
| n-6/n-3  | 7.34 ± 1.45   | 6.93 ± 1.57        | 6.79 ± 1.62      |

Σε αντίστοιχη μελέτη που έχει γίνει σε ελληνικό πληθυσμό, από τους Kontogianni et al. [63] παρατηρούνται μικρότερες αποκλίσεις όσον αφορά την περιεκτικότητα βασικών Λ.Ο οξέων στα ερυθροκύτταρα όπως μπορούμε να δούμε αναλυτικά στον πίνακα 6.2.

Πίνακας 6.2: Η σύσταση των ερυθροκυττάρων σε ΛΟ στην μελέτη των Kontogianni et al.[56]

| Table 1 – Anthropometric, dietary and energy expenditure variables before and after the interventions. <sup>a,b</sup> |                      |            |                  |            |        |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|------------|------------------|------------|--------|
|                                                                                                                       | Type of intervention |            |                  |            | P %    |
|                                                                                                                       | Flaxseed oil period  |            | Olive oil period |            |        |
|                                                                                                                       | Before               | After      | Before           | After      |        |
| Anthropometry                                                                                                         |                      |            |                  |            |        |
| BMI, kg/m                                                                                                             | 21.9±2.5             | 22.0±2.6   | 22.0±2.6         | 21.8±2.6** | 0.99   |
| Weight circumference, cm                                                                                              | 77.1±8.7             | 77.4±8.6   | 76.9±8.3         | 76.7±8.4   | 0.82   |
| Waist to hip ratio                                                                                                    | 0.78±0.07            | 0.78±0.07  | 0.77±0.07        | 0.77±0.07  | 0.68   |
| Dietary intake                                                                                                        |                      |            |                  |            |        |
| Energy intake, kJ/d                                                                                                   | 7838±2001            | 8072±2219  | 7076±2127        | 7557±2378  | 0.22   |
| Protein intake, % of energy                                                                                           | 16.7±3.3             | 15.9±3.4   | 17.1±3.1         | 18.4±10.7  | 0.17   |
| Carbohydrate intake, % of energy                                                                                      | 45.9±6.6             | 44.2±6.7   | 46.6±8.0         | 47.6±21.9  | 0.35   |
| Fat intake, % of energy                                                                                               | 35.5±6.4             | 37.0±7.2   | 34.5±7.0         | 39.0±9.2*  | 0.75   |
| Saturated fat, % of energy                                                                                            | 12.2±2.9             | 12.3±2.5   | 12.4±2.3         | 12.0±3.6   | 0.57   |
| Monounsaturated fat, % of energy                                                                                      | 14.9±3.3             | 14.5±3.9   | 13.9±4.5         | 17.6±5.0** | 0.08   |
| Polyunsaturated fat, % of energy                                                                                      | 4.9±1.4              | 8.4±1.9**  | 4.6±1.7          | 6.0±5.9    | <0.001 |
| n-6/n-3 fatty acids ratio                                                                                             | 7.9±3.0              | 1.4±1.2**  | 6.6±2.9          | 8.3±3.5†   | <0.001 |
| α-linolenic-acid, g/d                                                                                                 | 1.2±1.4              | 8.7±2.2**  | 0.9±1.2          | 0.8±0.3    | <0.001 |
| EPA, g/d                                                                                                              | 0.02±0.04            | 0.05±0.09† | 0.08±0.13        | 0.08±0.12  | 0.02   |
| DHA, g/d                                                                                                              | 0.07±0.12            | 0.12±0.22  | 0.19±0.26        | 0.17±0.24  | 0.07   |
| Fiber intake, g/d                                                                                                     | 17.5±5.8             | 17.6±13.6  | 14.8±7.2         | 15.2±4.8   | 0.11   |
| Alcohol intake, g/d                                                                                                   | 7.3±9.3              | 7.0±10.1   | 7.6±10.0         | 4.8±8.7    | 0.61   |
| Energy expenditure                                                                                                    |                      |            |                  |            |        |
| Daily energy expenditure, kJ/d                                                                                        | 8441±2001            | 8424±2240  | 8386±2127        | 8671±2378  | 0.80   |

Πρέπει να τονιστεί ότι δεν ανιχνεύθηκαν διαφορές στο προφίλ ΛΟ των δικών μας εθελοντών που ήταν αθλητές με το αντίστοιχο προφίλ στα ερυθροκύτταρα των εθελοντών της μελέτης των Kontogianni et al, οι οποίοι δεν ήταν αθλητές ή αθλούμενοι, επιβεβαιώνεται και από άλλες μελέτες που έχουν δείξει ότι τα ΛΟ των ερυθροκυττάρων δεν επηρεάζονται από τη χρόνια άσκηση [57].

Η ανάλυση συσχετίσεων μεταξύ του ποσοστού των ΛΟ με προπονητικές παραμέτρους των εθελοντών μας έδειξε ότι όσο περισσότερο προπόνηση με αντιστάσεις έκαναν συγκεκριμένοι εθελοντές τόσο περισσότερο Λαυρικό (12:0) και Μυριστικό οξύ(14:0) είχαν στα ερυθροκύτταρά τους (Πίνακας 5.4). Μια τέτοια συσχέτιση δεν έχει αναφερθεί ξανά στη βιβλιογραφία ωστόσο είναι γενικότερη η τάση ανθρώπων και αθλητών που ασκούνται με βάρη να καταναλώνουν περισσότερα τρόφιμα ζωικής προέλευσης και συνεπώς και κορεσμένα λιπαρά οξέα. Αν το λαυρικό και μυριστικό οξύ είναι δείκτες αυτής της πρόσληψης μένει να αποδειχτεί.

Βασικό εύρημα της μελέτης ήταν ότι το πρωτόκολλο άσκησης δεν επηρέασε τη σύσταση των λιπαρών οξέων στα ερυθροκύτταρα των αθλητών. Στην βιβλιογραφία έχουν αναφερθεί αντικρουόμενα αποτελέσματα όσον αφορά την οξεία επίδραση της άσκησης στα ΛΟ των ερυθροκυττάρων. Οι Sumikawa K et al μέτρησαν τα λιπαρά οξέα των δύο βασικών φωσφολιπιδίων της μεμβράνης των ερυθροκυττάρων, της φωσφατιδυλοχολίνης και φωσφατιδυλοσερίνης πριν και μετά από άσκηση ποδηλασίας και βρήκαν μειωμένα επίπεδα PUFA,n-6, n-3 μετά την άσκηση [58]. Αντιθέτως, οι Ceder et al, παρατήρησαν αυξημένα

επίπεδα PUFA, n-6, n-3 αμέσως μετά από αγώνα μαραθωνίου, τα οποία επανήλθαν στα αρχικά επίπεδα 21 ώρες μετά τον αγώνα [59]. Προφανώς και τα δύο πρωτόκολλα άσκησης είναι διαφορετικά από τα δικά μας και ειδικότερα αυτό του μαραθωνίου πολύ πιο έντονο. Μία συνεδρία άσκησης θα μπορούσε να επάγει διαφοροποιήσεις στη σύσταση σε ΛΟ των ερυθροκυττάρων πιθανόν μέσα από την οξειδωτική αποικοδόμηση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Επίσης, πιθανόν να ασκούσε πιέσεις στον λιπιδικό μεταβολισμό των ερυθροκυττάρων με σκοπό να τροποποιηθεί η σύσταση των μεμβρανών με σκοπό αυτές να προσαρμοστούν στις ανάγκες της άσκησης. Στην δική μας περίπτωση τουλάχιστον αυτό δεν παρατηρείται, είτε γιατί το οξειδωτικό στρες που δημιουργείται στο δικό μας πρωτόκολλο δεν είναι ικανό να τροποποιήσει τη σύσταση της μεμβράνης, είτε γιατί το ερυθροκύτταρο των αθλητών έχει αναπτύξει ομοιοστατικούς και αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς που αντιστέκονται σε οποιαδήποτε οξειδωτική και άλλη τροποποίηση μετά την άσκηση. Πρέπει επίσης να τονιστεί ότι πιθανές αλλαγές στις διατροφικές συνήθειες των αθλητών μετά την άσκηση (0-72 ώρες) δεν θα μπορούσαν να επηρεάσουν τη σύσταση των ερυθροκυττάρων, η οποία απαιτεί μέρες για να αντληφθεί αλλαγές στη ποιότητα της διατροφικής πρόσληψης λίπους.

Όσον αφορά το κύριο ζητούμενο της μελέτης, δηλαδή αν υπάρχουν συσχετίσεις μεταξύ της σύστασης επιμέρους ΛΟ ή ομάδων ΛΟ με δείκτες AMB μετά το πρωτόκολλο LIST δεν φαίνεται να εμφανίζονται ισχυρές και συνεπείς συσχετίσεις τόσο με εργομετρικούς όσο και βιοχημικούς δείκτες AMB. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στο ότι δεν υπήρχαν μεγάλες διακυμάνσεις στη σύσταση των ΛΟ των εθελοντών μας γεγονός που δυσχεραίνει τη διάκριση σημαντικών συσχετίσεων. Ωστόσο, μπορεί να διακριθεί μία ισχυρή αρνητική συσχέτιση μεταξύ 20:5 n-3 και καθυστερημένου μυϊκού πόνου στον απαγωγό μυ. Ωστόσο, πρέπει να διευκρινιστεί γιατί το EPA ασκεί αυτή την προστατευτική δράση έναντι του ΚΜΠ μόνο σε μια μυϊκή ομάδα και όχι και στις υπόλοιπες.

Η σχέση μεταξύ της πρόσληψης n-3 ΛΟ και AMB έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Το αυξημένο οξειδωτικό στρες και η φλεγμονή έχουν αναφερθεί σαν συνέπεια της έντονης άσκησης. Επιπλέον, είναι γνωστό ότι εξαντλητική ή ασυνήθιστη άσκηση μπορεί να οδηγήσει σε κόπωση των μυών, καθυστερημένη εμφάνιση μυϊκού πόνου, και μειωμένη απόδοση. Τα Ωμέγα-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs) φαίνεται να μειώνουν την παραγωγή φλεγμονωδών εικοσανοειδών, κυτοκινών [60] καθώς και να έχουν ανοσορυθμιστικές δράσεις που μετριάζουν τις φλεγμονώδεις παθήσεις. Παράλληλα μια σειρά από μελέτες έχουν αξιολογήσει την αποτελεσματικότητα των ωμέγα-3 PUFA στην αναμόρφωση των ερυθροκυττάρων του αίματος, τη μυϊκή βλάβη, τη φλεγμονή, και το μεταβολισμό κατά τη διάρκεια άσκησης, ενώ λίγες από αυτές έχουν αξιολογήσει την επίδραση των ω-3 PUFA συμπληρωμάτων στην αθλητική απόδοση.

Έχει προταθεί ότι η πρόσληψη EPA και DHA σε ποσότητες 1-2 g/d και σε αναλογίες EPA προς DHA από 2: 1 μπορεί να είναι ευεργετική στην αντιμετώπιση φλεγμονής που προκαλείται από άσκηση αλλά και τη γενικότερη υγεία του αθλητή. Ωστόσο, τα δεδομένα για τον άνθρωπο είναι ασαφή ως προς το αν τα ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα σε αυτή τη δόση είναι αποτελεσματικά στην εξασθένηση της φλεγμονής στην άσκηση και κατ'επέκταση τη βελτίωση των επιδόσεων της άσκησης. [62]

## BIBΛΙΟΓΡΦΙΑ

1. Goodall S, Howatson G. The effects of multiple cold water immersions on indices of muscle damage. *J Sports Sci Med*. 2008 Jun 1;7(2):235-41. eCollection 2008.
2. Kerksick CM<sup>1</sup>, Willoughby D, Kouretas D, Tsatsakis A. Intramuscular responses with muscle damaging exercise and the interplay between multiple intracellular networks: a human perspective. *Food Chem Toxicol*. 2013 Nov;61:136-43. doi: 10.1016/j.fct.2013.04.029. Epub 2013 Apr 26
3. Hyldahl RD, Hubal MJ. Lengthening our perspective: morphological, cellular, and molecular responses to eccentric exercise. *Muscle Nerve*. 2014 Feb;49(2):155-70. doi: 10.1002/mus.24077. Epub 2013 Dec 3.
4. Lewis PB<sup>1</sup>, Ruby D, Bush-Joseph CA. Muscle soreness and delayed-onset muscle soreness. *Clin Sports Med*. 2012 Apr;31(2):255-62. doi: 10.1016/j.csm.2011.09.009. Epub 2011 Nov
5. Loenneke JP<sup>1</sup>, Thiebaud RS, Fahs CA, Rossow LM, Abe T, Bemben MG. . *Eur J Appl Physiol*. Blood flow restriction does not result in prolonged decrements in torque. 2013 Apr;113(4):923-31. doi: 10.1007/s00421-012-2502-x. Epub 2012 Sep 27.
6. Lieber RL<sup>1</sup>, Fridén J. Mechanisms of muscle injury gleaned from animal models. *Am J Phys Med Rehabil*. 2002 Nov;81(11 Suppl):S70-9.
7. Pontén E<sup>1</sup>, Fridén J, Thornell LE, Lieber RL. Spastic wrist flexors are more severely affected than wrist extensors in children with cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol*. 2005 Jun;47(6):384-9.
8. Gissel H<sup>1</sup>. The role of Ca<sup>2+</sup> in muscle cell damage. *Ann N Y Acad Sci*. 2005 Dec;1066:166-80.
9. Slaughter BD, Unruh JR, Allen MW, Bieber Urbauer RJ, Johnson CK. Conformational substates of calmodulin revealed by single-pair fluorescence resonance energy transfer: influence of solution conditions and oxidative modification. *Biochemistry*. 2005 Mar 15;44(10):3694-707.
10. Tidball JG<sup>1</sup>. Inflammatory processes in muscle injury and repair. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2005 Feb;288(2):R345-53.
11. Peake J<sup>1</sup>, Nosaka K, Suzuki K. Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. *Exerc Immunol Rev*. 2005;11:64-85.
12. NF-κB activity functions in primary pericytes in a cell- and non-cell-autonomous manner to affect myotube formation.
13. Hyldahl RD, Schwartz LM, Clarkson PM. *Muscle Nerve*. 2013 Apr;47(4):522-31. doi: 10.1002/mus.23640. Epub 2013 Jan 31. PMID:23364895

14. Thiebaud, R.S., *Exercise-Induced Muscle Damage: Is it detrimental or beneficial?* Journal of Trainology, 2012. 1: p. 36-44.
15. McKune, A.J., Semple, S.J., Peters-Futre, E.M., *ACUTE EXERCISE-INDUCED MUSCLE INJURY*. Biol. Sport, 2012. 29: p. 3-10.
16. Packer, L., Cadenas, E., *Oxidants and antioxidants revisited. New concepts of oxidative stress*. Free Radic Res, 2007. 41(9): p. 951-2.
17. Galli, C., Calder, P.C., *Effects of fat and fatty acid intake on inflammatory and immune responses: a critical review*. Ann Nutr Metab., 2009. 55(1-3): p. 123-39.
18. Κοκκινίδη, Ε., Τοκμακίδη, Σ., *Η επίδραση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου στην αθλητική απόδοση* Εργαστήριο Φυσικής Αγωγής και Άθλησης, Τμήμα Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού, Δημοκριτείου Πανεπιστημίου Θράκης.

#### 19. Recovery in Soccer Part I—Post-Match Fatigue and Time Course of Recovery

Mathieu Ne de lec,<sup>1,2</sup> Alan McCall,<sup>1,2</sup> Chris Carling, <sup>2</sup> Franck Legall, <sup>2</sup> Serge Berthoin  
1 and Gregory Dupont<sup>1</sup>,

20. Bishop PA, Jones E, Woods AK. Recovery from training: a brief review. J Strength Cond Res 2008 May; 22 (3):1015-24
21. 1. Andersson H, Raastad T, Nilsson J, et al. Neuromuscular fatigue and recovery in elite female soccer: effects of active recovery. Med Sci Sports Exerc 2008 Feb; 40 (2): 372-80
22. Ascensãõ A, Rebelo A, Oliveira E, et al. Biochemical impact of a soccer match-analysis of oxidative stress and muscle damage markers throughout recovery. Clin Biochem 2008 Jul; 41 (10-11): 841-51
23. Magalha~ es J, Rebelo A, Oliveira E, et al. Impact of Loughborough Intermittent Shuttle Test versus soccer match on physiological, biochemical and neuromuscular parameters. Eur J Appl Physiol 2010 Jan; 108 (1): 39-48
24. Ispirlidis I, Fatouros IG, Jamurtas AZ, et al. Time-course of changes in inflammatory and performance responses following a soccer game. Clin J Sport Med 2008 Sep; 18 (5): 423-31
25. Fatouros IG, Chatzinikolaou A, Douroudos II, et al. Time course of changes in oxidative stress and antioxidant status responses following a soccer game. J Strength Cond Res 2010 Dec; 24 (12): 3278-86
26. Small K, McNaughton L, Greig M, et al. The effects of multidirectional soccer-specific fatigue on markers of hamstring injury risk. J Sci Med Sport 2010 Jan; 13 (1): 120-5
27. Ingram J, Dawson B, Goodman C, et al. Effect of water immersion methods on post-exercise recovery from simulated team sport exercise. J Sci Med Sport 2009 May;

12 (3): 417-21

28. Bailey DM, Erith SJ, Griffin PJ, et al. Influence of coldwaterimmersion on indices of muscle damage followingprolonged intermittent shuttle running. J Sports Sci 2007

Sep; 25 (11): 1163-70

29. Greig M. The influence of soccer-specific fatigue on peak isokinetic torque production of the knee flexors and extensors. Am J Sports Med 2008 Jul; 36 (7): 1403-9

30. Rahnama N, Reilly T, Lees A, et al. Muscle fatigue induced by exercise simulating the work rate of competitive soccer. J Sports Sci 2003 Nov; 21 (11): 933-42

31. Mathieu Ne'de'lec, Alan McCall , Chris Carling ,Franck Legall , Serge Berthoin, Gregory Dupont Recovery in Soccer Part II—Recovery Strategies Sports Med (2013) 43:9–22DOI 10.1007/s40279-012-0002-0

32. Houghton D, Onambele GL. Can a standard dose of eicosapentaenoic acid (EPA) supplementation reduce the symptoms of delayed onset of muscle soreness? J Int Soc Sports Nutr. 2012;9(1):2.

33. Lenn J, Uhl T, Mattacola C, et al. The effects of fish oil and isoflavones on delayed onset muscle soreness. Med Sci Sports Exerc. 2002;34(10):1605–13.

34. Vaile J, Halson S, Gill N, et al. Effect of hydrotherapy on the signs and symptoms of delayed onset muscle soreness [published erratum appears in Eur J Appl Physiol 2008 May, 103(1), pp. 121–2]. Eur J Appl Physiol. 2008;102(4):447–55.

35. Ascensã~o A, Leite M, Rebelo AN, et al. Effects of cold water immersion on the recovery of physical performance and muscle damage following a one-off soccer match. J Sports Sci. 2011; 29(3):217–25.

36. Dadebo B, White J, George KP. A survey of flexibility training protocols and hamstring strains in professional football clubs in England [published erratum appears in Br J Sports Med 2004 Dec; 38 (6): 793]. Br J Sports Med. 2004;38(4):388–94.

37. Bandy WD, Irion JM, Briggler M. The effect of time and frequency of static stretching on flexibility of the hamstring muscles. Phys Ther. 1997;77(10):1090–6.

38. Kay AD, Blazeovich AJ. Reductions in active plantarflexor moment are significantly correlated with static stretch duration. Eur J Sport Sci. 2008;8(1):41–6.

39. Witvrouw E, Danneels L, Asselman P, et al. Muscle flexibility as a risk factor for developing muscle injuries in male professional soccer players: a prospective study. *Am J Sports Med.* 2003;31(1):41–6.
40. McHugh MP, Cosgrave CH. To stretch or not to stretch: the role of stretching in injury prevention and performance. *Scand J Med Sci Sports.* 2010;20(2):169–81.
41. Dawson B, Cow S, Modra S, et al. Effects of immediate postgame recovery procedures on muscle soreness, power and flexibility levels over the next 48 hours. *J Sci Med Sport.* 2005; 8(2):210–21.
42. Robey E, Dawson B, Goodman C, et al. Effect of postexercise recovery procedures following strenuous stair-climb running. *Res Sports Med.* 2009;17(4):245–59
43. Moraska A. Sports massage: a comprehensive review. *J Sports Med Phys Fitness.* 2005;45(3):370–80.
44. Moraska A. Therapist education impacts the massage effect on posttrace muscle recovery. *Med Sci Sports Exerc.* 2007;39(1): 34–7.
45. Kaaks R<sup>1</sup>, Riboli E, Sinha R.. Biochemical markers of dietary intake. *ARC Sci Publ.* 1997;(142):103-26
46. Chris J. Bates, David I. Thurnham, Sheila A. Bingham, Barrie M. Margetts and Michael Nelson, , 1997, Oxford University Press),
47. (Kuhnle GGC, Biomarkers of Intake, in *Nutrition Research Methodologies*, Wiley Blackwell, 2015)
48. Baylin A<sup>1</sup>, Campos H The use of fatty acid biomarkers to reflect dietary intake. *Curr Opin Lipidol.* 2006 Feb;17(1):22-7.
49. Hodson L<sup>1</sup>, Skeaff CM, Fielding BA Fatty acid composition of adipose tissue and blood in humans and its use as a biomarker of dietary intake. *Prog Lipid Res.* 2008 Sep;47(5):348-80. doi: 10.1016/j.plipres.2008.03.003. Epub 2008 Apr 4.
50. *Br J Nutr.* 2012 Jun;107 Suppl 2:S53-63. doi: 10.1017/S0007114512001468.
- Novel methodologies for assessing omega-3 fatty acid status - a systematic review.Klingler M<sup>1</sup>, Koletzko B
51. Arab L, Akbar J .Biomarkers and the measurement of fatty acids. *Public Health Nutr.* 2002 Dec;5(6A):865-71.

52. Hodson L, Skeaff CM, Fielding BA (2008) Fatty acid composition of adipose tissue and blood in human and its use as a biomarker of dietary intake. *Prog Lipid Res* 47:348–380.
53. Poppitt SD, Kilmartin P, Butler P, Keogh GF. Assessment of erythrocyte phospholipid fatty acid composition as a biomarker for dietary MUFA, PUFA or saturated fatty acid intake in a controlled cross-over intervention trial. *Lipids Health Dis* 2005;4:30.
54. Nikolaidis MG, Effects of Exercise on the Fatty-Acid Composition of Blood and Tissue Lipids, *Sports Medicine*, 2004
55. Jasna Tepsic Z Vesna Vucic Z Aleksandra Arsic Z Vera Blazencic-Mladenovic Z Sanja Mazic Z Marija Glibetic Plasma and erythrocyte phospholipid fatty acid profile in professional basketball and football players Accepted: 7 July 2009 / Published online: 26 July 2009  
\_ Springer-Verlag 2009
56. Kontogianni MD<sup>1</sup>, Vlassopoulos A, Gatzieva A, Farmaki AE, Katsiogiannis S, Panagiotakos DB, Kalogeropoulos N, Skopouli FN. *Metabolism*. 2013 May;62(5):686-93. doi: 10.1016/j.metabol.2012.11.007. Epub 2013 Jan
57. Nikolaidis MG, Effects of Exercise on the Fatty-Acid Composition of Blood and Tissue Lipids, *Sports Medicine*, 2004], [Sumikawa K, *Eur J Appl Physiol* 1993
58. Sumikawa K, *Eur J Appl Physiol* 1993
59. Ceder O, *Int J Sports Med* 1988
60. Calder, 2007
62. Mickleborough TD<sup>1</sup> Omega-3 polyunsaturated fatty acids in physical performance optimization.. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2013 Feb;23(1):83-96.