



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

Νικόλαος Ντάφλος

(a) Α.Μ.: 20142

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣ ΤΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΣΤΟΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΤΟΥ ΚΑΘΥΣΤΕΡΗΜΕΝΟΥ ΜΥΪΚΟΥ ΠΟΝΟΥ



Επιβλέπουσα Καθηγήτρια : Σ. Αντωνοπούλου

Τριμελή Επιτροπή: Σ.Αντωνοπούλου

Τζ. Νομικός

Ε. Φραγκοπούλου

Αθήνα 2006

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣ ΤΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ
ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ΣΤΟΝ
ΜΗΧΑΝΙΣΜΟ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΤΟΥ ΚΑΘΥΣΤΕΡΗΜΕΝΟΥ
ΜΥΪΚΟΥ ΠΟΝΟΥ**

Περίληψη

Εισαγωγή: Όλοι κάποια στιγμή έχουν νιώσει τους μύες «πιασμένους». Είτε σε ερασιτεχνικό, είτε σε επαγγελματικό επίπεδο, η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη και ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος που την χαρακτηρίζει, είναι μία γνώριμη κατάσταση. Συνήθως είναι συνέπεια εφαρμογής μεγάλης δύναμης μυϊκού έργου στο οποίο ο ασκούμενος δεν είναι εξοικειωμένος, ενώ είναι εντονότερος όταν αυτό περιλαμβάνει μυϊκές συστολές εκκεντρικού τύπου. Η απώλεια μυϊκής δύναμης, ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος, η μυϊκή ευαισθησία, η μυϊκή δυσκαμψία, και το οίδημα είναι τυπικά συμπτώματα που σχετίζονται με την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη. Παρόλα αυτά, έως σήμερα δεν είναι απόλυτα γνωστός ο ακριβής μηχανισμός πρόκλησης του καθυστερημένου μυϊκού πόνου, ενώ επίσης δεν υπάρχουν απόλυτα τεκμηριωμένες μέθοδοι πρόληψης ή θεραπείας, πλην ορισμένων φαρμακευτικών παρεμβάσεων όπου ωστόσο ελλοχεύει ο κίνδυνος παρενεργειών. Η επιστήμη της διατροφής, μπορεί να δώσει λύσεις, δεδομένου ότι η φλεγμονή και το οξειδωτικό στρες που αποτελούν βασικές πτυχές του μηχανισμού της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από τις δράσεις θρεπτικών συστατικών στον οργανισμό.

Σκοπός: Η παρούσα ερευνητική προσπάθεια είχε ως κύριο στόχο την βαθύτερη κατανόηση του ρόλου του Παράγοντα Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων στον μηχανισμό πρόκλησης του Καθυστερημένου Μυϊκού Πόνου.

Μέθοδοι: Επτά νέοι αγύμναστοι υγιείς άνδρες (22-33 ετών) εκτέλεσαν, με την βοήθεια του μυϊκού δυναμομέτρου Myoforce, 48 κάμψεις (8 σετ των 6 επαναλήψεων) του αγκώνα του μη επιδέξιου χεριού, ώστε να προκληθεί στους εμπλεκόμενους μύες ασκησιογενής βλάβη.

Η μέτρηση της προκληθείσας βλάβης καθώς και η αξιολόγηση της εξέλιξης της βλάβης βασίστηκε σε αποδεκτούς βιβλιογραφικά δείκτες. Συγκεκριμένα μετρήθηκαν το προ- και μετασκησιακά (30 λεπτά, 6, 24, 48, 72 και 96h) επίπεδα της μέγιστης ισομετρικής ροπής (MIT), του εύρους κίνησης και των επιμέρους γωνιών της άρθρωσης του αγκώνα (ROM, FANG, RANG), της περιμέτρου του βραχιονίου (CIRC), της υποκειμενικής αντίληψης της έντασης του αισθανόμενου πόνου (VAS), καθώς και της κρεατινικής κινάσης (CK) στον ορό του αίματος. Επίσης αξιολογήθηκαν τα επίπεδα στο αίμα δεικτών φλεγμονής και μεταβολές του PAF μέσω του ενυζύμιου βιοσύνθεσης (PAF-ακετυλοτρανσφεράση, PAF-AT) και αποικοδόμησης (PAF-ακετυλοϋδρολάση, PAF-AH) καθώς και διάφοροι αιματολογικοί δείκτες από γενική ανάλυση αίματος. Η διατροφική αξιολόγηση των συμμετεχόντων βασίστηκε στην ανάλυση ερωτηματολογίων συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων.

Αποτελέσματα: Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το σύνολο σχεδόν των δεικτών μυϊκής βλάβης που αξιολογήθηκαν (MIT, ROM, FANG, RANG, CIRC, VAS), μεταβλήθηκαν στατιστικώς σημαντικά μετά την άσκηση. Η CK αν και δεν εμφανίζει στατιστική σημαντικότητα, φαίνεται ότι υπάρχει σαφές τάση αύξησης. Όσον αφορά τους φλεγμονώδεις δείκτες που αξιολογήθηκαν, ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων παρουσίασε στατιστικώς σημαντική αύξηση μετά την άσκηση, ενώ τα επίπεδα της PAF-AH παρέμειναν αμετάβλητα και τα επίπεδα της PAF-AT εμφάνισαν σαφή τάση αύξησης. Επίσης υπήρξε στατιστικά σημαντική μείωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων, αιμοσφαιρίνης και του αιματοκρίτη. Επίσης παρατηρήθηκε άμεση αύξηση των αιμοπεταλίων. Η διατροφική αξιολόγηση δεν εντόπισε ελλειπή πρόσληψη κάποιου θρεπτικού συστατικού για κανένα συμμετέχοντα.

Συμπεράσματα: Το επιλεγθέν πρωτόκολλο εκκεντρικής άσκησης, προκάλεσε μυϊκή βλάβη στους καμπτήρες μύες του αγκώνα κάτι το οποίο επιβεβαιώθηκε από τις στατιστικά σημαντικές διακυμάνσεις όλων σχεδόν των αποδεκτών δεικτών ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης που αξιολογήθηκαν. Τα ευρήματα της παρούσας έρευνας επιβεβαιώνουν την πιθανή

εμπλοκή του PAF στον μηχανισμό της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης που είχε προταθεί από την ερευνητική μας ομάδα στο παρελθόν. Από την βιβλιογραφία αλλά και από έρευνες της ερευνητικής μας ομάδας εμπλοκή διαφόρων διατροφικών θρεπτικών συστατικών όπως το σελήνιο, ψευδάργυρος και μαγγάνιο, καθώς και τροφίμων όπως χυμός από κεράσια ή συμπληρώματα (BCAA) στην πρόληψη αλλά και μετρίαση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου.

Ωστόσο, οι ακριβείς ρόλοι που διαδραματίζουν ο PAF, και οι διάφοροι διατροφικοί παράγοντες στον μηχανισμό της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης πρέπει να διερευνηθούν σε βάθος με μελλοντικές μελέτες, από τις οποίες τελικά θα προκύψει η αναγκαιότητα ή μη πραγματοποίησης συστάσεων για αυξημένη κατανάλωση τροφών ή συμπληρωμάτων διατροφής πλούσιων σε αναστολείς του PAF, και σε συγκεκριμένα θρεπτικά συστατικά.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η εκπόνηση της παρούσας Πτυχιακής Μελέτης μπόρεσε να πραγματοποιηθεί μόνο λόγω της προσφοράς των εθελοντών οι οποίοι δέχτηκαν να συμμετάσχουν σε αυτή. Θέλω να τους ευχαριστήσω θερμά, για την ανοχή που έδειξαν στην τήρηση του ομολογουμένως πολύ δύσκολου πρωτοκόλλου και την συμβολή τους με αυτόν τον τρόπο στην διεξαγωγή αυτής της έρευνας. Θέλω να τους πω ότι αποτελούν τη βάση της ερευνητικής αυτής προσπάθειας. Επίσης θα ήθελα να εκφράσω ένα μεγάλο ευχαριστώ στη Κυρία Σμαραγδή Αντωνοπούλου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βιοχημείας του Τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου, που μου έδωσε την δυνατότητα να πραγματοποιήσω την παρούσα έρευνα και τους υπόλοιπους συνεργάτες του εργαστηρίου βιοχημείας (Καραντώνη Χαράλαμπο, Φραγκοπούλου Ελισάβετ και Βίβιαν Ντετοπούλου) ιδίως στον Κύριο Τζώρτζη Νομικό Λέκτορα Βιοχημείας του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου, ο οποίος με τον καλύτερο τρόπο μου παρείχε την απαραίτητη καθοδήγηση αλλά και την κατάλληλη προετοιμασία και εφόδια που απαιτεί μια εργαστηριακή έρευνα. Τέλος θα ήθελα να τους ευχαριστήσω για την τιμή που είχα να συνεργαστώ με αυτούς τους εξαιρετικούς επιστήμονες και σπάνιους ανθρώπους.

Το παρόν έγγραφο το αφιερώνω στις φίλες και τους φίλους μου, οι οποίοι με βοήθησαν και στήριξαν σ' αυτή μου την προσπάθεια. Ιδιαίτερα θα ήθελα να το αφιερώσω στον αδερφό μου Αναστάσιο και κυρίως στους γονείς μου Ευάγγελο και Αρετή Ντάφλου, οι οποίοι αν και μακριά, με βοήθησαν και με στήριξαν με τον μοναδικό τρόπο που μόνο αυτοί μπορούν. Σε εκείνους οφείλω τις σπουδές και όλο μου το είναι, που με πολύ κόπο και στέρηση μου έδωσαν, με βάση, πάντα την αγάπη τους.

Λίστα πινάκων

α.α.	ΤΙΤΛΟΣ ΠΙΝΑΚΑ	σελ.
1.1.	Χαρακτηριστικά μυϊκών ινών σκελετικών μυών του ανθρώπου	13
1.2.	Φλεγμονώδη κύτταρα στην μυϊκή επιδιόρθωση και δράσεις τους	22
1.3.	Κυτταροκίνες που μπορούν να παραχθούν από κύτταρα σε μυ που αντιμετωπίζει ασκησιογενή μυϊκή βλάβη	23
1.4.	Επιλεγμένοι δείκτες αξιολόγησης της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης	24
1.5.	Επιδράσεις χορήγησης συμπληρωμάτων διατροφής σε δείκτες της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης	31
1.6.	Δράσεις του PAF σε κύτταρα και απομονωμένους ιστούς	35
1.7.	Δράσεις του PAF in vivo	36
1.8.	Μηχανισμοί μεταγωγής σήματος που επάγονται από τον PAF	37
3.1.	Ηλικία και ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων στην έρευνα (N=7)	49
4.1.	Ηλικία και ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων της έρευνας (N=7)	69
4.2.	Επίπεδα δεικτών μυϊκής λειτουργίας πριν και μετά το πρωτόκολλο άσκησης	73
4.3.	Επίπεδα λευκών αιμοσφαιρίων των εθελοντών πριν και μετά το πρωτόκολλο πρόκλησης ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, εκφρασμένα ως Kcells/uL αίματος	75
4.4.	Επίπεδα μονοπύρηνων των εθελοντών στον ορό πριν και μετά το πρωτόκολλο πρόκλησης ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, εκφρασμένα σε Kcells/uL	77
4.5.	Επίπεδα κοκκιοκυττάρων των εθελοντών πριν και μετά το πρωτόκολλο πρόκλησης ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, εκφρασμένα σε Kcells/uL	78
4.6.	Μέση ημερήσια πρόσληψη μακροθρεπτικών συστατικών των συμμετεχόντων	87
4.7.	Μέση ημερήσια πρόσληψη βιταμινών των συμμετεχόντων	88
4.8.	Μέση ημερήσια πρόσληψη ιχνοστοιχείων των συμμετεχόντων	88
4.9.	Μέση ημερήσια πρόσληψη φλαβονοειδών και καροτενοειδών των συμμετεχόντων	88
5.1.	Ιχνοστοιχεία που συμμετέχουν στην αντιοξειδωτική προστασία	99

Λίστα σχημάτων

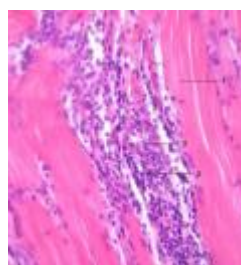
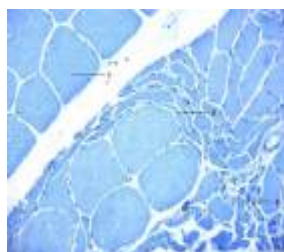
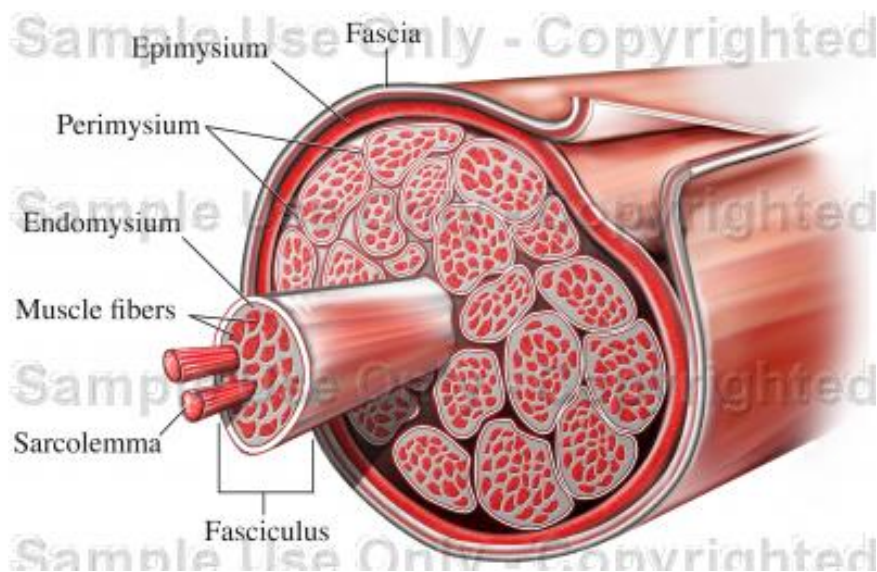
α.α.	ΤΙΤΛΟΣ ΣΧΗΜΑΤΟΣ	σελ.
1.1.	α) Διαγραμματική παρουσίαση του σαρκοπλασματικού δικτύου, των εγκάρσιων σωληναρίων και των μυοϊνιδίων. β) Τρισδιάστατη άποψη των εγκαρσίων σωληναρίων και του σαρκοπλασματικού δικτύου σε μια απλή μυοσκελετική ίνα	10
1.2.	Διαγραμματική απεικόνιση σκελετικού μυός του ανθρώπου	12
1.3.	Σχηματική παράσταση ενός σαρκομεριδίου κατά την χάλαση και την σύσπαση	13
1.4.	Χημική δομή του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF) 1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνη	34
1.5.	Πορεία σχηματισμού αιθερικού δεσμού στα γλυκεριναιθερικά λιποειδή	39
1.6.	De novo πορεία βιοσύνθεσης του PAF	39
1.7.	Σχηματισμός λυσο-PAF από AAGPC με την δράση PLA ₂	40
1.8.	Σχηματισμός λυσο-PAF με τη δράση τρανσακυλασών	41
1.9.	Ακετυλίωση λυσο-PAF προς PAF	41
1.10.	Υδρόλυση του PAF από την AH	42
1.11.	Υδρόλυση PAF από τρανσακετυλάσες	42
1.12.	Ακυλίωση του λυσο-PAF προς AAGPC	43
1.13.	Υδρόλυση λυσο-PAF προς αλκυλογλυκερόλη	43
1.14.	Υδρόλυση λυσο-PAF από PLD	44
3.1.	Αλληλουχία αντιδράσεων προσδιορισμού της CK	56
3.2.	Συνοπτική απεικόνιση του προσδιορισμού της PAF-AH	60
4.1.	Μεταβολές της μέγιστης ισομετρικής ροπής (MIT) στις 90°	70
4.2.	Μεταβολές στη γωνία μέγιστης κάμψης του αγκώνα (FANG)	71
4.3.	Μεταβολές στη γωνία ανάπαυσης του αγκώνα σε απουσία μυϊκής σύσπασης (RANG)	71
4.4.	Μεταβολές στο εύρος κίνησης της άρθρωσης του αγκώνα (ROM)	72
4.5.	Μεταβολές στην περίμετρο στο μέσον του βραχιονίου (CIRC)	72
4.6.	Μεταβολές στην ένταση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου (VAS)	73
4.7.	Μεταβολές στα λευκά αιμοσφαίρια (WBC) α) με N=7, β) με N=5	74
4.8.	α. Μεταβολές στα λεμφοκύτταρα (LYM), β. Μεταβολές λεμφοκυττάρων εκφρασμένα ως ποσοστό των συνολικών λευκών (LYM%)	75
4.9.	α. Μεταβολές στα μονοπύρρηνα, β. Μεταβολές στα μονοπύρρηνα εκφρασμένα ως ποσοστό των ολικών λευκών	76
4.10.	Μεταβολές στα κοκκιοκύτταρα (GRA) με N=7	78
4.11.	α. Μεταβολές στα κοκκιοκύτταρα (GRA) με N=5, β. Μεταβολές στα	79

	κοκκιοκύτταρα εκφρασμένα ως ποσοστό των ολικών λευκών (GRA%) με $N=5$	
α.α.	ΤΙΤΛΟΣ ΣΧΗΜΑΤΟΣ	Σελ.
4.12.	Μεταβολές στα ερυθρά αιμοσφαίρια (RBC)	80
4.13.	Μεταβολές στην αιμοσφαιρίνη (HGB)	80
4.14.	Μεταβολές στον αιματοκρίτη (HCT)	81
4.15.	Μεταβολές στον μέσο όγκο ερυθρών (MCV)	81
4.16.	Μεταβολές στην μέση συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης (MCH)	82
4.17.	Μεταβολές στην μέση συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης ανά ερυθρό (MCHC)	82
4.18.	Μεταβολές στο εύρος κατανομής μεγέθους ερυθροκυττάρων (RDW)	82
4.19.	Μεταβολές στα αιμοπετάλια (PLT)	83
4.20.	Μεταβολές στην κρεατινική φωσφοκινάση (CPK)	83
4.21.	Μεταβολές στην ακετυλοϋδρολάση ορού	84
4.22.	Μεταβολές στην ακετυλοτρανσφεράση ορού	85
4.23.	Γραφική απεικόνιση της κατανομής των μακροθρεπτικών συστατικών ως ποσοστό της συνολικής προσλαμβανόμενης ενέργειας	86
4.24..	Γραφική απεικόνιση της κατανομής των υποκατηγοριών λίπους ως ποσοστό του συνολικού προσλαμβανόμενου λίπους	86

Λίστα εικόνων

α.α.	ΤΙΤΛΟΣ ΕΙΚΟΝΑΣ	σελ.
3.1.	α) Το ισομετρικό δυναμόμετρο «Myoforce», β) Διάγραμμα ροπής-χρόνου μιας τυπικής ισομετρικής συστολής	52
3.2.	Παράδειγμα γωνιομέτρησης αγκώνα μέσω μεθόδου ψηφιακής φωτογράφισης	53

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ



1.1. Δομή και φυσιολογία των σκελετικών μυών

Ο σκελετικός μυς αποτελείται από επιμηκυσμένα κύτταρα τα οποία ονομάζονται **μυϊκές ίνες** και έχουν διάμετρο 10-100 μm ενώ το μήκος τους φτάνει τα 20 cm. Οι μυϊκές ίνες μπορεί να διατάσσονται είτε παράλληλα είτε λοξά ως προς τον επιμήκη άξονα του μυός. Η διάρθρωση των μυϊκών ινών στο εσωτερικό του μυός αλλά και η διάταξή τους ως προς τον άξονα των τενόντων καταφύσεως, καθορίζουν σε σημαντικό βαθμό τις λειτουργικές και συστατικές ιδιότητες του μυός [1]. Κάθε μυϊκή ίνα σχηματίζεται κατά την ανάπτυξη του εμβρύου με την συγχώνευση ενός αριθμού αδιαφοροποίητων, μονοπύρηνων κυττάρων, τα οποία ονομάζονται **μυοβλάστες**, σε μια απλή μυϊκή ίνα, κυλινδρικού σχήματος με πολλούς πυρήνες. Ο σχηματισμός των μυϊκών ινών συμπληρώνεται μέχρι την γέννηση ενώ συνεχίζουν να αυξάνουν σε μέγεθος με την ανάπτυξη του παιδιού [2].

Μετά την γέννηση δεν υπάρχει η δυνατότητα δημιουργίας μυϊκών ινών από διαίρεση είδη υπαρχόντων ινών π.χ. σε περίπτωση καταστροφής μυϊκών ινών λόγω τραυματισμού. Μόνο από αδιαφοροποίητα κύτταρα που ονομάζονται **δορυφορικά κύτταρα** και τα οποία βρίσκονται σε άμεση επαφή με τις μυϊκές ίνες, μπορούν να δημιουργηθούν νέες ίνες που όμως δεν είναι δυνατό να επαναφέρουν πλήρως την μέγιστη δύναμη ενός έντονα κατεστραμμένου μυός. Η αναπλήρωση χαμένου μυϊκού ιστού πραγματοποιείται με την αύξηση του μεγέθους των ινών που έχουν απομείνει. Τα δορυφορικά κύτταρα δεν εμπλέκονται στην αύξηση της δύναμης από την άσκηση [2].

Με τον όρο **μυ** νοείται ένας αριθμός μυϊκών ινών οι οποίες είναι δεμένες με συνδετικό ιστό [2]. Ο συνδετικός ιστός κάθε μυϊκής ίνας ξεχωριστά ονομάζεται **ενδομύιο**. Ομάδες μυϊκών ινών με τα αντίστοιχα ενδομύια τους διατάσσονται μαζί και συγκροτούν μυϊκές δεσμίδες. Το **περιμύιο** είναι ο συνδετικός ιστός που περιβάλλει τις μυϊκές δεσμίδες, ενώ **επιμύιο** ονομάζεται ο συνδετικός ιστός που αποτελεί το περίβλημα του συνόλου του μυός. Ο συνδετικός ιστός είναι πιο ανθεκτικός στην διάταση συγκριτικά με τις μυϊκές ίνες και για το λόγω αυτό καθορίζει το μέγιστο φυσιολογικό μήκος παραμόρφωσης του μυός [1]. Οι μύες συνδέονται (εκφύονται) συνήθως με οστά μέσω δεματίων ινών κολλαγόνου που βρίσκονται στις άκρες κάθε μυός και ονομάζονται **τένοντες** [2].

Σε κάποιους μυς οι μεμονωμένες ίνες εκτείνονται κατά μήκος ολόκληρου του μυός αλλά οι περισσότερες ίνες είναι κοντύτερες, συχνά προσανατολισμένες στον επιμήκη άξονα του μυός. Αυτές οι κοντές ίνες είναι προσδεμένες στο δίκτυο συνδετικού ιστού που περιβάλλει τις μυϊκές ίνες. Η μεταφορά της δύναμης από τον μυ στα οστά προσομοιάζει με έναν αριθμό

ατόμων που τραβούν ένα σχοινί όπου τα άτομα είναι οι μυϊκές ίνες και το σχοινί είναι ο συνδετικός ιστός και οι τένοντες [2].

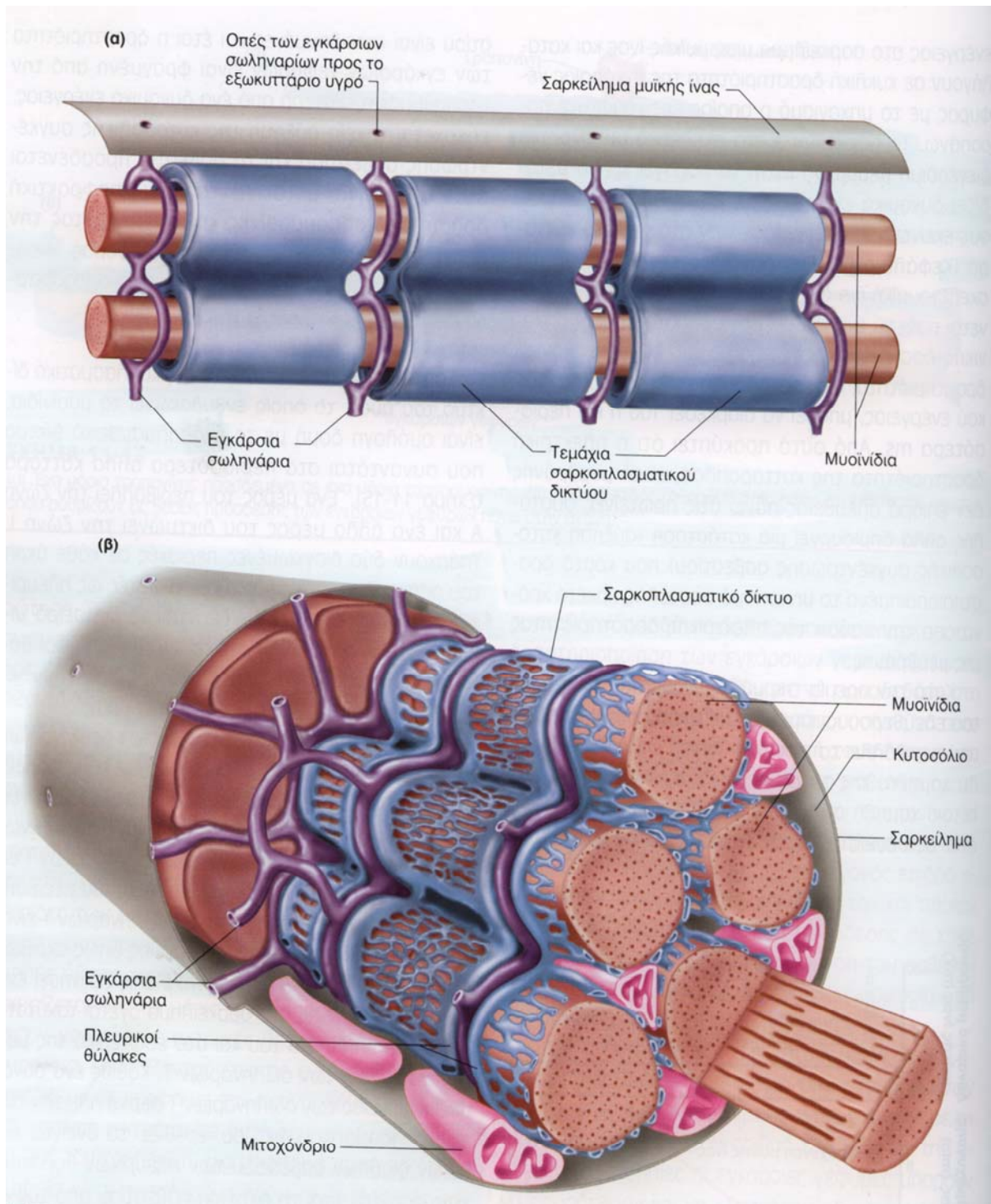
Ο **σκελετικός μυς** λοιπόν, αποτελείται από **μυϊκές δέσμες** και αυτές αποτελούνται από τις μυϊκές ίνες. Τα κύρια κυτταρικά τμήματα κάθε μυϊκής ίνας είναι το **σαρκείλημα**, τα μυοϊνίδια με τα νημάτια ακτίνης και μυοσίνης, το σαρκόπλασμα και το σαρκοπλασματικό δίκτυο [3]. Σαρκείλημα είναι η κυτταρική μεμβράνη της μυϊκής ίνας. Αποτελείται από μια πραγματική κυτταρική μεμβράνη, τη λεγόμενη πλασματική μεμβράνη, και από μια λεπτή στιβάδα πολυσακχαριδικού υλικού παρόμοιου με αυτό που περιβάλλει τα αιμοφόρα τριχοειδή. Στην εξωτερική στιβάδα του σαρκειλήματος υπάρχουν επίσης ινίδια κολλαγόνου. Στα άκρα των μυϊκών ινών, αυτές οι επιπολής στιβάδες του σαρκειλήματος συγχωνεύονται με τενόντιες ίνες που με τη σειρά τους συνενώνονται σε δέσμες για να σχηματίσουν τους τένοντες των μυών που εισδύουν στα οστά [3].

Κάθε μυϊκή ίνα κατά μήκος του άξονα σύσπασης της, περιέχει τα **μυοϊνίδια**. Αυτά περιβάλλονται από το κυτόπλασμα της μυϊκής ίνας, το **σαρκόπλασμα** [4]. Το σαρκόπλασμα περιέχει μεγάλες ποσότητες καλίου, μαγνησίου, φωσφορικών ριζών και πρωτεϊνικών ενζύμων. Υπάρχουν επίσης, σε μεγάλο αριθμό, μιτοχόνδρια που βρίσκονται ανάμεσα στα μυοϊνίδια και παράλληλα με αυτά [3]. Αυτό φανερώνει ότι τα μυοϊνίδια που συστέλλονται έχουν ανάγκη μεγάλες ποσότητες ATP, που σχηματίζεται στα μιτοχόνδρια. Μέσα στο σαρκόπλασμα υπάρχει και ένα μεγάλο ενδοπλασματικό δίκτυο, το οποίο ονομάζεται **σαρκοπλασματικό δίκτυο**. Το δίκτυο αυτό έχει ειδική οργάνωση, εξαιρετικής σημασίας για τον έλεγχο της μυϊκής συστολής. Οι τύποι των μυών που συστέλλονται πιο γρήγορα έχουν ιδιαίτερα αναπτυγμένο σαρκοπλασματικό δίκτυο, που δείχνει ότι το στοιχείο αυτό είναι σημαντικό για την πρόκληση ταχείας μυϊκής συστολής.

Η παρουσία και η οργάνωση των μυοϊνιδίων είναι σε κυλινδρικές δέσμες και προσδίδουν το ραβδωτό σχήμα στις μυϊκές ίνες. Σε μικροσκόπιο (φωτός) τα μυοϊνίδια έχουν εγκάρσιες γραμμώσεις που φαίνονται ως φωτεινές και σκοτεινές γραμμές και για το λόγω αυτό ονομάζονται και γραμμωτοί ή ραβδωτοί μύες [2].

Κάθε μυοϊνίδιο αποτελείται από **παχιά** και **λεπτά νημάτια** τοποθετημένα σε επαναλαμβανόμενο σχέδιο κατά μήκος του. Η βασική μονάδα αυτού του επαναλαμβανόμενου σχεδίου ονομάζεται **σαρκομερίδιο**. Τα παχιά νημάτια αποτελούνται σχεδόν εξολοκλήρου από **μυοσίνη** που είναι πρωτεΐνη συστολής. Τα λεπτά νημάτια, που έχουν περίπου την μισή διάμετρο από τα παχιά, αποτελούνται από μια δεύτερη πρωτεΐνη

συστολής την **ακτίνη** και από άλλες δυο πρωτεΐνες, την τροπονίνη και την τροπομυοσίνη οι οποίες παίζουν σημαντικό ρόλο στην μυϊκή συστολή.



Σχήμα 1.1. α) Διαγραμματική παρουσίαση του σαρκοπλάσματος δικτύου, των εγκάρσιων σωληναρίων και των μυοϊνιδίων. β) Τρισδιάστατη άποψη των εγκαρσίων σωληναρίων και του σαρκοπλάσματος δικτύου σε μια απλή μυοσκελετική ίνα..

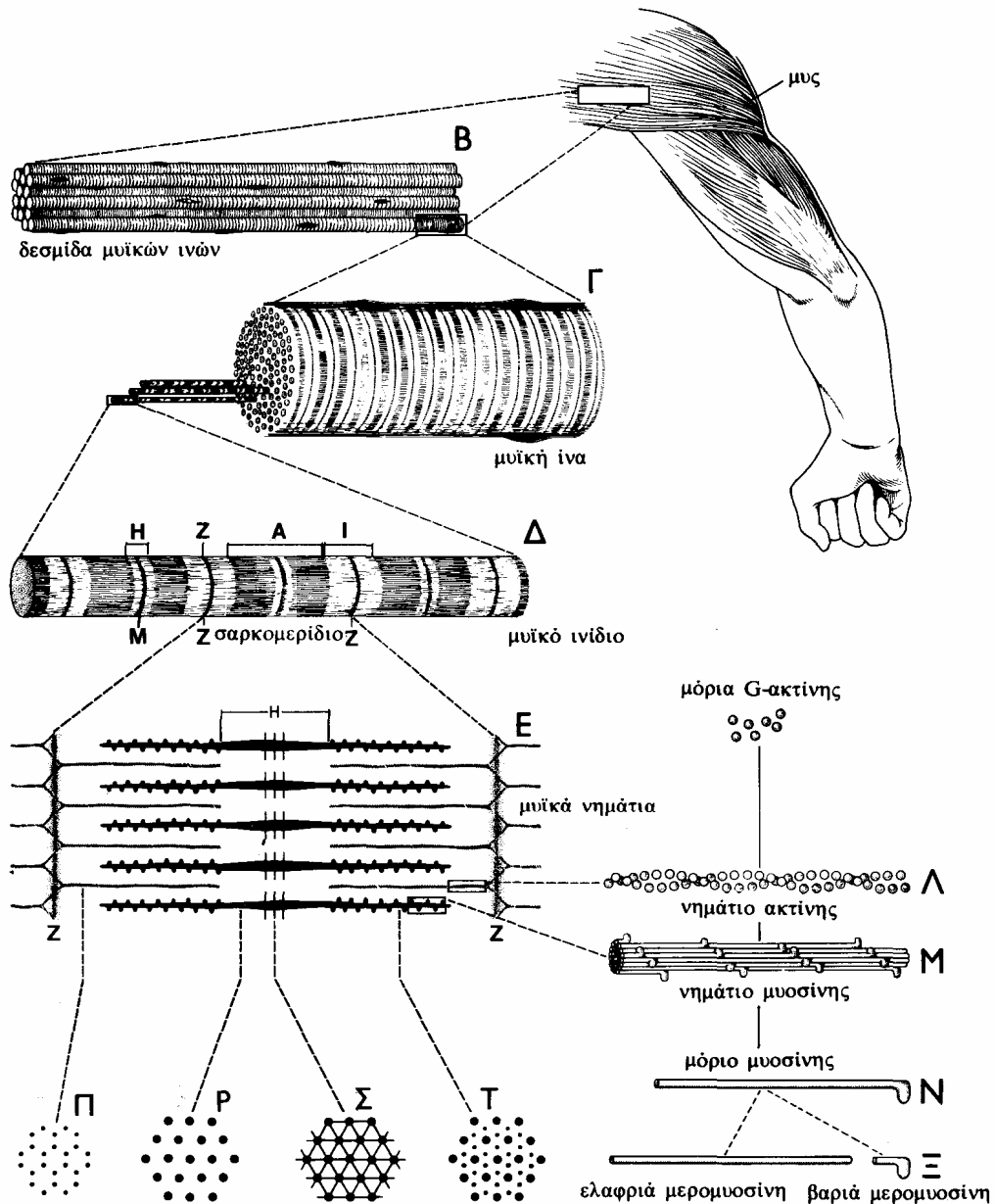
Τα παχιά νημάτια είναι τοποθετημένα στο μέσο κάθε σαρκομεριδίου, όπου η παράλληλη διευθέτησή τους παράγει μια πλατιά, σκούρα λωρίδα γνωστή ως **ζώνη Α**. Κάθε σαρκομερίδιο περιέχει δύο σειρές λεπτών νηματίων, μια σε κάθε άκρο. Η μια άκρη και των δυο σειρών των λεπτών νηματίων είναι **συνδεδεμένη** με σε ένα δίκτυο αλληλοσυνδεμένων πρωτεϊνών που ονομάζεται **γραμμή** ή **δίσκος Z** και η άλλη άκρη συμπλέκεται εν μέρει με τα παχιά νημάτια (όπως τα πλεγμένα δάκτυλα των δύο χεριών). Δυο επακόλουθες γραμμές Z οριοθετούν το σαρκομερίδιο. Σε κάθε γραμμή Z λοιπόν, συνδέονται λεπτά νημάτια από δυο γειτονικά σαρκομερίδια [2].

Μεταξύ δυο Α ζωνών από γειτονικά σαρκομέρια, σχηματίζεται η φωτεινή λωρίδα που ονομάζεται ζώνη I. Αυτή περιέχει το κομμάτι των λεπτών νηματίων τα οποία δεν συμπλέκονται με τα παχιά νημάτια. Η ζώνη I τέμνεται από την γραμμή Z [2].

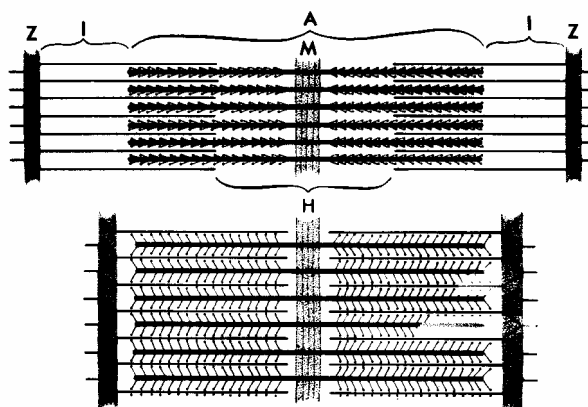
Σε κάθε ζώνη Α κάθε σαρκομεριδίου παρουσιάζονται ακόμα δύο λωρίδες. Η μια εμφανίζεται ως μια σχετικά φωτεινή λωρίδα στο κέντρο της ζώνης Α και αντιστοιχεί στο διάστημα που ορίζουν οι άκρες δύο σειρών λεπτών νηματίων σε κάθε σαρκομερίδιο, δηλαδή εμπεριέχονται μόνο παχιά νημάτια, ειδικά το κεντρικό μέρος και ονομάζεται **ζώνη Η**. Η δεύτερη, μια σκούρα στενή λωρίδα στο κέντρο της ζώνης Η ονομάζεται **γραμμή Μ** και αντιστοιχεί σε πρωτεΐνες οι οποίες συγκρατούν το κεντρικό μέρος των παχίων νηματίων μαζί. Υπάρχουν επίσης επιπρόσθετα νημάτια αποτελούμενα από την πρωτεΐνη **τιτίνη** και τα οποία εκτείνονται από τις γραμμές Z και είναι προσδεμένα στις άκρες των παχίων νηματίων. Αποτέλεσμα όλων των παραπάνω είναι να μην επιπλέουν ελεύθερα ούτε τα λεπτά αλλά ούτε τα παχιά νημάτια και αυτό διότι τα λεπτά νημάτια είναι συνδεδεμένα στις γραμμές Z και τα παχιά να είναι ενωμένα μεταξύ τους από τη γραμμή Μ και δεμένα με τη γραμμή Z μέσω των νηματίων τιτίνης [2].

Κάθε κινητική νευρική ίνα που φεύγει από το νωτιαίο μυελό νευρώνει συνήθως πολλές μυϊκές ίνες, σε αριθμό που εξαρτάται από τον τύπο του μυός. Όλες οι μυϊκές ίνες που νευρώνονται από την ίδια κινητική ίνα ονομάζονται κινητική μονάδα. [5, 6]. Όλες οι μυϊκές ίνες στην ίδια κινητική μονάδα έχουν τις ίδιες μεταβολικές και συσταλτικές ιδιότητες. Υπάρχει όμως μεγάλη ποικιλία στον αριθμό των μυϊκών ινών ανά κινητική μονάδα και στον αριθμό των κινητικών μονάδων που ανά μυ εμφανίζουν [7]. Οι μύες που απαιτούν ακριβή έλεγχο και συνδυασμένες κινήσεις έχουν μικρό αριθμό μυϊκών ινών ανά κινητική μονάδα, ενώ μύες που δεν το απαιτούν έχουν μεγάλο αριθμό μυϊκών ινών ανά κινητική μονάδα [7]. Επιπροσθέτως, το μέγεθος της κινητικής μονάδας είναι άμεσα σχετιζόμενο με τον τύπο των μυϊκών ινών του μυός.

Κατά τη συστολή, τα νημάτια της ακτίνης προωθούνται ανάμεσα στα νημάτια μυοσίνης με αποτέλεσμα να αλληλεπικαλύπτονται σε μεγαλύτερη έκταση. Τα νημάτια της ακτίνης έλκουν και τους υμένες Z ως τα άκρα των νηματίων της μυοσίνης. Τα νημάτια της ακτίνης μπορούν να έλκονται όλα μαζί τόσο σφιχτά ώστε τα άκρα των νηματίων της μυοσίνης να ακινητοποιούνται τελείως κατά τη διάρκεια της πολύ έντονης συστολής. Έτσι η μυϊκή συστολή γίνεται με ένα μηχανισμό ολίσθησης νηματίων [8, 9].



Σχήμα 1.2. Διαγραμματική απεικόνιση σκελετικού μυός του ανθρώπου.



Σχήμα 1.3. Σχηματική παράσταση ενός σαρκομεριδίου κατά την χάλαση (άνω) και την σύσπαση (κάτω).

Όταν ο μυς συστέλλεται αλλά δεν βραχύνεται ούτε επιμηκύνεται, η συστολή αυτή λέγεται ότι είναι στατική. Η αντίστοιχη συστολή μιας απομονωμένης μυϊκής ίνας ονομάζεται **ισομετρική** (σταθερό μήκος). Όταν γίνεται συστολή όπου πάνω στον μυ ασκείται σταθερό φορτίο (δύναμη που ασκείται στον μυ π.χ. βάρος ενός αντικειμένου) και ο μυς βραχύνεται λέγεται **δυναμική** ή **ισοτονική** ή **μειωμετρική** (σταθερή τάση, δηλαδή η δύναμη του μυός πάνω σε αντικείμενο). Τέλος ένα τρίτο είδος συστολής του μυός είναι η **επιμηκυνόμενη** ή **πλειομετρική** ή **έκκεντρη**. Αυτή συμβαίνει όταν το φορτίο είναι μεγαλύτερο από την τάση η οποία παράγεται από τον μυ [10].

Οι περισσότεροι μύες του ανθρώπου αποτελούνται από συνδυασμό μυϊκών ινών διαφορετικού τύπου. Οι διάφοροι τύποι μυϊκών ινών (I, ΙΙΑ, ΙΙΒ) διαφέρουν ως προς φυσιολογικές, δομικές και ιστοχημικές ιδιότητες. Τα διαφορετικά χαρακτηριστικά των διάφορων τύπων μυϊκών ινών, φαίνονται στον Πίνακας 1.1 [11].

Πίνακας 1.1. Χαρακτηριστικά μυϊκών ινών σκελετικών μυών του ανθρώπου.

Παράμετρος	Τύπου I	Τύπου ΙΙΑ	Τύπου ΙΙΒ
Ταχύτητα συστολής	Αργή	Ταχεία	Ταχεία
Δύναμη συστολής	Χαμηλή	Υψηλή	Υψηλή
Ανθεκτικότητα στην κόπωση	Υψηλή	Μέτρια	Ελάχιστη
Αερόβια ικανότητα	Υψηλή	Μέτρια	Χαμηλή
Αναερόβια ικανότητα	Χαμηλή	Μέτρια	Υψηλή
Μέγεθος κινητικής μονάδας	Μικρή	Μεγαλύτερη	Μέγιστη
Αγγειακή πυκνότητα	Υψηλή	Υψηλή	Χαμηλή

1.2. Μυϊκοί τραυματισμοί

Οι μυοσκελετικοί τραυματισμοί αποτελούν ένα σημαντικό ποσοστό των προβλημάτων για τα οποία οι ασθενείς επιδιώκουν την ιατρική βοήθεια [12], ενώ είναι περίπου οι μισοί στο σύνολο των αθλητικών τραυματισμών [13, 14].

Οι περισσότεροι μύες διαπερνούν μόνο μία άρθρωση, αν και υπάρχουν αρκετοί που διαπερνούν δύο. Οι μύες που συνηθέστερα υφίστανται κακώσεις είναι αυτοί που διαπερνούν δύο αρθρώσεις και εκτελούν κυρίως εκκεντρικές, παρά μειομετρικές συστολές. Άλλος ένας παράγοντας κινδύνου μυϊκών τραυματισμού είναι η αναλογία των δύο τύπων (I και II) μυϊκών ινών σε κάθε μυ. Έχει παρατηρηθεί ότι οι μύες που διαθέτουν μεγαλύτερο ποσοστό μυϊκών ινών τύπου II είναι πιο επιρρεπείς σε τραυματισμό [15]. Οι αιτίες μυϊκών τραυματισμών είναι:

1. η ανεπαρκής διαδικασία προθέρμανσης και διατάσεων προ της άσκησης,
2. η ελλιπής ευλυγισία,
3. η ανεπαρκής μυϊκή δύναμη και αντοχή,
4. το αδέξιο στυλ τρεξίματος και
5. η επιστροφή σε αθλητική δραστηριότητα πριν την ολοκλήρωση της ανάρρωσης μετά από έναν πρόσφατο τραυματισμό [16]

Στους παράγοντες κινδύνου μυϊκών τραυματισμών πρέπει να προστεθεί η ύπαρξη γενικότερα παλαιότερου τραυματισμού καθώς και η απότομη μετάβαση σε πιο ανταγωνιστικό επίπεδο άθλησης [16]. Η αθλητική προπόνηση έχει προστατευτική δράση μειώνοντας την ένταση και την συχνότητα των μυϊκών τραυματισμών [17].

Οι μυϊκοί τραυματισμοί διακρίνονται σε **άμεσους** και **έμμεσους**. Ο μώλωπας, η πληγή και το αιμάτωμα είναι αποτέλεσμα άμεσου τραυματισμού όπως ένα μη διαπεραστικό χτύπημα, ενώ στους έμμεσους τραυματισμούς ανήκει η έντονη μυϊκή διάταση που προκαλεί μυϊκή κάκωση ή ρήξη. Οι μυϊκές κακώσεις οφείλονται συνήθως σε έμμεσο διατασιογενή τραυματισμό. Αυτοί οι τραυματισμοί μπορεί να είναι αρκετά επώδυνοι και συχνά παρατηρούνται σε ασκούμενους σε αγωνίσματα που απαιτούν τρέξιμο υψηλής ταχύτητας όπως το ποδόσφαιρο και η καλαθοσφαίριση και μπορούν να τους κρατήσουν μακριά από την εργασία τους ή την άθληση για αρκετό χρονικό διάστημα [18].

Ανάλογα με το μέγεθος της βλάβης οι μυϊκές κακώσεις κατατάσσονται σε τρεις κύριες κατηγορίες [19]. Η **κάκωση 1^{ου} βαθμού**, **κάκωση 2^{ου} βαθμού** και **κάκωση 3^{ου} βαθμού**. Η

κάκωση 1^{ου} βαθμού. χαρακτηρίζεται από μικρό βαθμό μικροσκοπικών ρήξεων χωρίς μόνιμο ελάττωμα. Η κάκωση 2^{ου} βαθμού αντίστοιχα χαρακτηρίζεται από ατελή ρήξη μυϊκών ινών και συχνά αναφέρεται ως μερική θλάση. Οι κακώσεις 1^{ου} και 2^{ου} βαθμού έχουν ως αποτέλεσμα την μερική απώλεια της μυϊκής λειτουργίας. Τέλος με τον όρο «κάκωση 3^{ου} βαθμού» νοείται η πλήρης ρήξη (θλάση) του μυός, που συνοδεύεται από σχεδόν ολική ή ολική απώλεια της μυϊκής λειτουργίας. Οι κακώσεις 3^{ου} βαθμού συνήθως συνοδεύονται από συστολή, σπασμό και βράχυνση του μυός. Οι μυϊκές κακώσεις λαμβάνουν χώρα, σχεδόν αποκλειστικά στην περιοχή της μυοτενόντιας ένωσης η οποία είναι η ασθενέστερη σύνδεση στον μυ[15].

1.3. Ασκησιογενής μυϊκή βλάβη και ΚΜΠ

1.3.1. Γενικά

Η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη και ο καθυστεριμένος μυϊκός πόνος (ΚΜΠ) κατατάσσονται στις μυϊκές κακώσεις 1^{ου} βαθμού [20, 21]. Εμφανίζεται με ευαισθησία ή δυσκαμψία κατά την ψηλάφηση ή και κατά την κίνηση [20]. Κατά τον ΚΜΠ η αίσθηση που γίνεται αντιληπτή ποικίλει από ελαφριά μυϊκή δυσκαμψία, η οποία γρήγορα εξαφανίζεται κατά την διάρκεια των καθημερινών απλών δραστηριοτήτων, έως δυνατό πόνο ο οποίος περιορίζει την κίνηση.

Η ευαισθησία επικεντρώνεται στο ακραίο τμήμα του μυός [14, 15, 21, 23, 24, 25] και μετά από 24–48 ώρες μετά την άσκηση γίνεται διάχυτη [24]. Αυτός ο εντοπισμός του πόνου μπορεί να οφείλεται στην υψηλή συγκέντρωση υποδοχέων μυϊκού πόνου στο συνδετικό ιστό της μυοτενόντιας περιοχής [26]. Η μυοτενόντια σύνδεση έχει μια μεμβράνη η οποία είναι συνεχής, με πολλές πτυχώσεις και η οποία διαπλέκεται με μυϊκά κύτταρα [25]. Το συστατικό τμήμα των μυϊκών ινών στην μυοτενόντια σύνδεση είναι ευπαθές σε μικροσκοπικούς τραυματισμούς διότι οι μυϊκές ίνες ακριβώς πριν την μυοτενόντια σύνδεση έχουν λοξή διαρρύθμιση που μειώνει την ικανότητά τους να αντέχουν μεγάλες δυνάμεις [25, 37, 28].

Ο ΚΜΠ συνήθως προκαλείται από την εφαρμογή μεγάλης δύναμης μυϊκού έργου στο οποίο ο ασκούμενος δεν είναι εξοικειωμένος, και είναι πιο έντονος όταν προκαλείται από μυϊκές συστολές εκκεντρικού τύπου [21]. Με την εφαρμογή μεγαλύτερης από την μυϊκή τάση δύναμης, ορισμένες εγκάρσιες γέφυρες που δημιουργούνται κατά τις εκκεντρικές συστολές διασπώνται, λόγω της ρήξης των δεσμών ακτίνης–μυοσίνης πριν την διαδικασία της χάλασης της μυϊκής συστολής [29]. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να αναπτύσσεται μεγαλύτερη τάση ανά κινητική μονάδα και συνεπώς να υπάρχει αυξημένος κίνδυνος τραυματισμού στην ευπαθή μυοτενόντια σύνδεση.

1.3.2. Μηχανισμοί πρόκλησης ΚΜΠ

Υπάρχουν διάφορες θεωρίες οι οποίες εξηγούν τι προκαλεί τον ΚΜΠ. Οι θεωρίες αυτές ονομαστικά είναι οι εξής [20, 30]:

- Θεωρία του γαλακτικού οξέος
- Θεωρία του μυϊκού σπασμού
- Θεωρία της βλάβης του συνδετικού ιστού
- Θεωρία της μυϊκής βλάβης
- Θεωρία της φλεγμονής και
- Θεωρία της εκροής ενζύμων αλλά και άλλα προτεινόμενα μοντέλα.

Φαίνεται όμως πως ένας συνδυασμός δύο ή περισσότερων θεωριών είναι πιθανό να εξηγεί σωστότερα τον ΚΜΠ δηλαδή το κοινώς ονομαζόμενο «πιάσιμο». Στη συνέχεια ακολουθεί μια περιλυπτική αναφορά κάθε μίας θεωρίας.

1.3.2.1. Θεωρία του γαλακτικού οξέος

Η θεωρία αυτή βασίζεται στην παραδοχή ότι η παραγωγή γαλακτικού οξέος συνεχίζεται και μετά το τέλος της άσκησης. Η θεωρία αυτή έχει σαφώς απορριφθεί, μιας και τα υψηλότερα επίπεδα μεταβολισμού που λαμβάνουν χώρα κατά τις μειομετρικού τύπου μυϊκές συστολές δεν συνοδεύονται από παρόμοια επίπεδα ΚΜΠ [31]. Επίσης, τα επίπεδα του γαλακτικού οξέος επιστρέφουν στα πριν την άσκηση επίπεδα μέσα στην πρώτη κιόλας ώρα μετά από την άσκηση ενώ παράλληλα μετρήσεις του γαλακτικού οξέος στο αίμα είτε πριν την άσκηση είτε σε διάφορες χρονικές στιγμές μέχρι και τις 72 ώρες μετά την άσκηση (τρέξιμο σε κατηγορικό επίπεδο) δεν φανερώνουν καμία συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων του γαλακτικού οξέος στο αίμα με τα επίπεδα του αισθανόμενου πόνου [32]. Επομένως, το γαλακτικό οξύ μπορεί να συμβάλει στον οξύ πόνο που σχετίζεται με την κούραση που ακολουθεί έντονη άσκηση, αλλά όχι στον ΚΜΠ που γίνεται αντιληπτός 24–48 ώρες μετά από την άσκηση [33].

1.3.2.2 Θεωρία του «μυϊκού σπασμού»

Μετά την παρατήρηση αυξημένων επιπέδων μυϊκής διέγερσης σε κατάσταση ηρεμίας μετά από εκκεντρική άσκηση προτάθηκε η θεωρία του «μυϊκού σπασμού» [20, 34, 35, 36]. Προτάθηκε ότι η αυξημένη μυϊκή διέγερση σε κατάσταση ηρεμίας φανερώνει έναν έντονο, τοπικά εστιασμένο, σπασμό μυϊκών κινητικών μονάδων. Αυτό πιστευόταν πως οδηγεί σε συμπίεση των τοπικών αιμοφόρων αγγείων, ισχαιμία και τελικώς συσσώρευση ουσιών που προκαλούν την αίσθηση του πόνου. Αυτό το φαινόμενο με τη σειρά του εκκινεί έναν φαύλο κύκλο [37] όπου ο περαιτέρω ερεθισμός των νευρικών απολήξεων του πόνου προκαλεί περαιτέρω αντανεκλαστικούς μυϊκούς σπασμούς και παρατεταμένες συνθήκες ισχαιμίας [35]. Ωστόσο, τα αποτελέσματα ερευνών κατά τις οποίες εφαρμόσθηκε είτε διπολικού είτε μονοπολικού τύπου ηλεκτρομυογραφία δεν συμφωνούν μεταξύ τους (άλλες θετικά και άλλες αρνητικά αποτελέσματα [38, 39, 40] ενώ υπάρχει διαμάχη για την εγκυρότητα της μεθόδου [39, 41]).

1.3.2.3. Θεωρία της «βλάβης του συνδετικού ιστού»

Η θεωρία της «βλάβης του συνδετικού ιστού» εξετάζει τον ρόλο του συνδετικού ιστού ο οποίος περιβάλλει τις δεσμίδες μυϊκών ινών. Η ποσότητα και η σύσταση του συνδετικού ιστού διαφέρει ανάμεσα στους διαφορετικούς τύπους μυϊκών ινών. Έτσι οι μυϊκές ίνες τύπου I (αργής συστολής) εμφανίζουν μια πιο σφριγηλή δομή συγκριτικά με τις ίνες τύπου II

(ταχείας συστολής). Αυτό σημαίνει ότι είναι πιθανόν οι ταχείας συστολής ίνες να παρουσιάζουν μεγαλύτερη επιδεκτικότητα σε διατασιογενή τύπο τραυματισμού [29] με αποτέλεσμα υπερβολική διάταση του συνδετικού ιστού πιθανότατα να οδηγεί σε μυϊκό «πιάσιμο» [42]. Μετρήσεις αποβολής υδροξυπρολίνης (HP) και υδροξυλυσίνης (HL) στα ούρα μετά από άσκηση, ενισχύουν την θεωρία [43] αφού αποτελούν συστατικά του ώριμου κολλαγόνου και η παρουσία τους στα ούρα είναι αποτέλεσμα καταβολισμού του κολλαγόνου είτε λόγω υπερβολικής λειτουργίας είτε λόγω κάποιας κάκωσης [29]. Ωστόσο, η απέκκριση HP και HL μπορεί να αντανακλά είτε αυξημένη σύνθεση είτε καταβολισμό του κολλαγόνου. Άρα ο λόγος άυξης της απέκκρισης δεν είναι ξεκάθαρος.

1.3.2.4. Θεωρία της μυϊκής βλάβης

Η θεωρία της «μυϊκής βλάβης», [42], αναφέρεται στην αποδιοργάνωση του συσταλτού τμήματος του μυϊκού ιστού, συγκεκριμένα στο επίπεδο της Z-ζώνης, που είναι επακόλουθο της άσκησης εκκεντρικού τύπου [23, 33, 40, 45, 46, 47, 48]. Στο μικροσκόπιο, η βλάβη εμφανίζεται χαρακτηριστικά ως μία διεύρυνση, κηλίδωση είτε και ως πλήρη ρήξη της Z-ζώνης [49], που συνοδεύεται από ευρύτερη αποδιοργάνωση της αρχιτεκτονικής των σαρκομεριδίων [50]. Αυτό είναι αποτέλεσμα της αυξημένης τάσης που αντιστοιχεί σε κάθε κινητική μονάδα λόγω του γεγονότος ότι κατά τη διάρκεια των εκκεντρικών μυϊκών συστολών ο αριθμός των κινητικών μονάδων που ενεργοποιούνται είναι μικρότερος [23]. Η μηχανική ρήξη στα δομικά στοιχεία είναι αυξημένη, ιδιαίτερα στις μυϊκές ίνες τύπου II οι οποίες διαθέτουν τις στενότερες και πιο αδύναμες Z-ζώνες. Οι νευρικές απολήξεις στον μυϊκό συνδετικό ιστό και στην περιοχή των αρτηριδίων, των τριχοειδών αγγείων και την μυοτενόντια σύνδεση επίσης ενεργοποιούνται, προκαλώντας με αυτόν τον τρόπο το αίσθημα του πόνου. Η θεωρία της μυϊκής βλάβης μπορεί να γίνει αποδεκτή μόνο ως μερική εξήγηση της εκδήλωσης του ΚΜΠ.

1.3.2.5. Θεωρία της φλεγμονής

Η θεωρία αυτή βασίζεται στο ότι μετά από επαναλαμβανόμενες εκκεντρικές μυϊκές συστολές εμφανίζονται συμπτώματα φλεγμονώδους απάντησης όπως η εμφάνιση οιδήματος και η διήθηση φλεγμονωδών κυττάρων [51, 52, 53]. Οι μυϊκές ίνες περιέχουν πρωτεολυτικά ένζυμα τα οποία μετά τον τραυματισμό εκκινούν τον καταβολισμό λιπιδικών και πρωτεϊνικών δομών των κυττάρων. Αυτή η ταχεία διάσπαση των τραυματισμένων μυϊκών ινών και του συνδετικού ιστού μαζί με την συσσώρευση προσταγλανδινών, βραδυκινίνης και ισταμίνης προσελκύει μονοκύτταρα και ουδετερόφιλα στην περιοχή του τραυματισμού [54]. Αυτό ακολουθείται από εισροή πλούσιου σε πρωτεΐνη υγρού (εξίδρωμα) στον μυ διότι αυξάνεται

η διαπερατότητα των μικρών αγγείων [53]. Τελικά, αναπτύσσεται ωσμωτική πίεση και ο πόνος προκαλείται πιθανώς από ενεργοποίηση των αισθητικών νευρώνων τύπου IV [27]. Έχει υποστηριχθεί ότι μονοκύτταρα τα οποία μετατρέπονται σε μακροφάγα, συσσωρεύονται στο σημείο του τραυματισμού και παράγουν ουσίες που ευαισθητοποιούν νευρικές απολήξεις τύπου III και IV μεταξύ 24 και 48 ωρών [23, 53]. Το αν ο σχηματισμός του οιδήματος καθώς επίσης και η διήθηση φλεγμονωδών κυττάρων είναι μηχανισμοί υπεύθυνοι για τον ΚΜΠ παραμένει υπό αμφισβήτηση.

1.3.2.6. Θεωρία της εκροής ενζύμων

Η θεωρία αυτή βασίζεται στην υπόθεση ότι το ασβέστιο, που φυσιολογικά αποθηκεύεται στο σαρκοπλασματικό δίκτυο, συσσωρεύεται στους τραυματισμένους μύες μετά την βλάβη στο επίπεδο του σαρκειλήματος [15, 23]. Αυτό οφείλεται στον περιορισμό της κυτταρικής αναπνοής σε μιτοχονδριακό επίπεδο προκαλώντας καθυστέρηση στην διαδικασία αναγέννησης του ATP, απαραίτητο στοιχείο της ενεργητικής επαναφοράς του ασβεστίου στο σαρκοπλασματικό δίκτυο. Επιπλέον, η συσσώρευση ασβεστίου ενεργοποιεί πρωτεάσες και φωσφολιπάσες προκαλώντας με αυτόν τον τρόπο περαιτέρω βλάβη στο σαρκείλημα διαμέσου της παραγωγής λευκοτριενίων και προσταγλανδινών με αποτέλεσμα να αυξάνεται η διάσπαση των μυϊκών πρωτεϊνών στις ήδη εξασθενημένες Z – ζώνες ενώ παράλληλα λαμβάνει χώρα χημικής προέλευσης ενεργοποίηση νευρικών απολήξεων πόνου[23, 55].

1.3.2.7. Συνδυαστική θεωρία

Μία μεμονωμένη θεωρία δεν μπορεί να εξηγήσει την εμφάνιση του ΚΜΠ. Έτσι, ορισμένοι ερευνητές έχουν προτείνει συγκεκριμένες αλληλουχίες σταδίων προκειμένου να εξηγηθεί ο ΚΜΠ [23, 56]. Έτσι προτείνεται ότι ισχυρές διατατικές δυνάμεις, που συσχετίζονται με την εκκεντρική άσκηση, προκαλούν αρχικά βλάβη στον μυϊκό και στον συνδετικό ιστό, η οποία ακολουθείται από μία οξεία φλεγμονώδη απάντηση που περιλαμβάνει σχηματισμό οιδήματος και διήθηση φλεγμονωδών κυττάρων. Αυτό αποτελεί ενοποίηση των μοντέλων που προτάθηκαν από τον *Armstrong* [23, 55], την *Smith* [53] και τους *Smith & Jackson* [56] και αναλυτικά περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

i.Οι ισχυρές διατατικές δυνάμεις που αναπτύσσονται κατά την διάρκεια εκκεντρικής μυϊκής δραστηριότητας, προκαλούν ρήξη των δομικών πρωτεϊνών στις μυϊκές ίνες, συγκεκριμένα στις εξασθενημένες Z-ζώνες. Αυτό συνοδεύεται από εκτεταμένη κάκωση του συνδετικού ιστού που βρίσκεται στην περιοχή της μυοτενόντιας σύνδεσης αλλά και γύρω από τις μυϊκές ίνες (θεωρία της βλάβης του συνδετικού ιστού και θεωρία της μυϊκής βλάβης).

ii.Βλάβη στο σαρκείλημα έχει ως αποτέλεσμα την συσσώρευση ασβεστίου η οποία περιορίζει την κυτταρική αναπνοή. Η παραγωγή ATP δυσχεραίνεται ενώ η ομοιόσταση του ασβεστίου διαταράσσεται. Υψηλές συγκεντρώσεις ασβεστίου ενεργοποιούν ασβεστιο-εξαρτώμενα πρωτεολυτικά ένζυμα τα οποία διασπούν την Ζ-ζώνη του σαρκομεριδίου, την τροπονίνη και την τροπομυοσίνη (θεωρία της εκροής ενζύμων).

iii.Μέσα σε λίγες ώρες λαμβάνει χώρα σημαντική αύξηση των κυκλοφορούντων ουδετερόφιλων (θεωρία της φλεγμονής).

iv.Ενδοκυτταρικά συστατικά και δείκτες βλάβης του συνδετικού και μυϊκού ιστού (π.χ. HP και CK) διαχέονται στο πλάσμα και στο διάμεσο χώρο. Η ύπαρξη αυτών των ουσιών προκαλεί την προσέλκυση μονοκυττάρων 6–12 ώρες μετά την άσκηση, τα οποία εν συνεχεία μετατρέπονται σε μακροφάγα. Τα μαστοκύτταρα και η παραγωγή ισταμίνης ενεργοποιούνται. Μέσα σε μερικές ώρες λαμβάνει χώρα σημαντική αύξηση των κυκλοφορούντων ουδετερόφιλων στην περιοχή του τραυματισμού (θεωρία της φλεγμονής).

v.Ο αριθμός των μονοκυττάρων – μακροφάγων φτάνει την μέγιστη τιμή του στις 48 ώρες. Λόγω της έκθεσης τους σε φλεγμονώδες περιβάλλον, τα μακροφάγα παράγουν προσταγλανδίνη E_2 (PGE_2) η οποία ευαισθητοποιεί τις νευρικές απολήξεις τύπου III και IV σε μηχανικό, χημικό ή θερμικό ερεθισμό (θεωρία της φλεγμονής)

vi.Η συσσώρευση ισταμίνης, καλίου και κινίνων που προέρχονται από την ενεργητική φαγοκυττάρωση και την κυτταρική νέκρωση, σε συνδυασμό με την αυξημένη πίεση λόγω του ιστικού οιδήματος και την τοπικά αυξημένη θερμοκρασία, μπορούν να ενεργοποιήσουν νευρικές απολήξεις του πόνου που βρίσκονται στο εσωτερικό των μυϊκών ινών και στην περιοχή της μυοτενόντιας σύνδεσης (θεωρία της φλεγμονής).

vii.Αυτά τα γεγονότα οδηγούν στην αίσθηση του ΚΜΠ. Ο πόνος αυτός μπορεί να αυξάνεται με την κίνηση επειδή η αυξημένη ενδομυϊκή πίεση προκαλεί μηχανικό ερεθισμό στους ήδη ευαισθητοποιημένους από την PGE_2 υποδοχείς του πόνου.

Η αλληλουχία αυτή είναι υποθετική και απαιτείται περαιτέρω έρευνα προκειμένου να καθορισθούν τα βιοχημικά και κυτταρικά φαινόμενα που λαμβάνουν χώρα και προκαλούν την εμφάνιση του ΚΜΠ.

1.4. Φλεγμονή και μυϊκή βλάβη

1.4.1. Φλεγμονώδες αντίδραση στον μυϊκό τραυματισμό

Τρεις τουλάχιστον διαφορετικοί τύποι φλεγμονωδών κυττάρων εισέρχονται στην τραυματισμένη περιοχή μετά τον μυϊκό τραυματισμό (ουδετερόφιλα και μακροφάγα τύπου ED^{+1} και τύπου ED^{+2} , Πίνακας 4.1.), Τα ουδετερόφιλα είναι τα πρώτα κύτταρα που εμφανίζονται στην περιοχή μετά την μυϊκή βλάβη και εμφανίζονται ήδη από την πρώτη ώρα μετά την πρόκληση της ασκησιογενούς βλάβης [57]. Μία βασική δράση των ουδετερόφιλων είναι η φαγοκυττάρωση των νεκρωτικών μυϊκών ινών και των κυτταρικών «απομεινारीών» [58]. Επιπλέον, τα εισερχόμενα ουδετερόφιλα μπορούν να αποτελέσουν πηγή προ-φλεγμονωδών κυτοκινών όπως της ιντερλευκίνης IL-8 [59] και του TNF α (tumor necrosis factor) [60]. Αυτές οι κυτοκίνες ίσως προκαλούν χημειοταξία π.χ. διαδραματίζουν κάποιο ρόλο θετικής τροφοδότησης της φλεγμονής δίνοντας το σήμα για την έλευση μονοκυττάρων στον τραυματισμένο ιστό. Μόρια προσκόλλησης όπως η E-σελεκτίνη και η P-σελεκτίνη έχουν καθοριστικό ρόλο στην διαδικασία εισόδου των ουδετερόφιλων και μονοκυττάρων στον τραυματισμένο ιστό. Τα ουδετερόφιλα μπορούν να διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό των μόνιμων μακροφάγων, δηλαδή των ώριμων και διαφοροποιημένων μονοκυττάρων που εισέρχονται στη βλαφθείσα περιοχή. Απο αυτά δύο υποπληθυσμοί παίζουν ρόλο στον μυϊκό τραυματισμό και στην αποκατάσταση. Ο πρώτος είναι τα μακροφάγα τα οποία εκφράζουν το αντιγόνο ED^{+1} και εισέρχονται στην τραυματισμένη μυϊκή ίνα προκειμένου να φαγοκυτταρώσουν τα κυτταρικά «απομεινάρια» και κατεστραμένα μυοϊνίδια [61, 62].

Ο δεύτερος υποπληθυσμός είναι τα ED^{+2} μακροφάγα τα οποία είναι μόνιμα μακροφάγα. Αν και είναι παρόντα καθ' όλη την αναγεννητική διαδικασία, ο ακριβής τους ρόλος παραμένει άγνωστος. Τα μακροφάγα αυτού του τύπου δεν φαίνεται να εισβάλλουν στον τραυματισμένο ιστό. Πιθανότατα, κύρια λειτουργία τους να είναι η δράση τους ως πηγή αυξητικών παραγόντων και κυτταροκινών όπως ο IGF-1 (insulin-like growth factor) [63], η ιντερλευκίνη IL-6 [57] και ο PDGF (platelet-derived growth factor) [64] που μπορούν να ρυθμίσουν τον πολλαπλασιασμό και ίσως και την διαφοροποίηση των μυοβλαστών.

Έχει επίσης υποστηριχθεί πως τα εισερχόμενα ουδετερόφιλα μπορούν να προκαλούν την γένεση ελεύθερων ριζών οξυγόνου μετά από διατασιογενή μυϊκό τραυματισμό [65, 66], διότι περιέχουν διάφορα ένζυμα, όπως την μυελοϋπεροξειδάση και την ανηγμένη μορφή της οξειδάσης του NADPH, τα οποία είναι ικανά να δημιουργούν υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), καθώς και ελεύθερες ρίζες, όπως την υπεροξειδική ρίζα ($O_2^{\cdot-}$), το οξείδιο του αζώτου ($NO^{\cdot}$) και την ρίζα του υδροξυλίου ($HO^{\cdot}$). Τα μόρια αυτά μπορούν να προκαλούν άμεση

κυτταρική βλάβη τροποποιώντας νουκλεϊκά οξέα, πρωτεΐνες και λιπίδια, αναστέλλοντας την διαδικασία αποκατάστασης. Μέχρι σήμερα όμως, είναι άγνωστος ο ακριβής ρόλος που διαδραματίζουν οι ελεύθερες ρίζες στην μυϊκή φλεγμονή καθώς και στην φάση της ιστικής επιδιόρθωσης

Πίνακας 1.2. Φλεγμονώδη κύτταρα στην μυϊκή επιδιόρθωση και δράσεις τους..

Τύπος κυττάρου	Δράση
Ουδετερόφιλα	Φαγοκυττάρωση Παραγωγή κυτοκινών Γένεση ελευθέρων ριζών
ED ⁺¹ μακροφάγα	Φαγοκυττάρωση κυτταρικών απομεινariών του μυοϊνδιακού υλικού
ED ⁺² μακροφάγα	Παροχή αυξητικών παραγόντων και κυτοκινών

Στην περιοχή της βλάβης εμφανίζονται και ινοβλάστες. Αν και ο βασικός τους ρόλος είναι η αναγέννηση του κατεστραμμένου συνδετικού ιστού και η επιδιόρθωση του βλαφθέντος μυϊκού ιστού, μπορούν να συμβάλλουν και στην φλεγμονώδη απάντηση. Οι ινοβλάστες παράγουν τις ιντερλευκίνες IL-6 [67] και IL-1α [68], οι οποίες βοηθούν στην διατήρηση της φλεγμονώδους απάντησης. Επίσης, προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως η ιντερλευκίνη IL-1 και ο TNF διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών και την συνθεση κολλαγόνου από αυτούς [69].

1.4.2. Οι κυτταροκίνες στην μυϊκή βλάβη

Οι κυτταροκίνες είναι μία ευρεία οικογένεια διακυτταρικών σηματοδοτουσών πρωτεϊνών οι οποίες επηρεάζουν την κίνηση, τον πολλαπλασιασμό, την διαφοροποίηση και των μεταβολισμό των κυττάρων-στόχων [70]. Η μηχανική βλάβη, οι ελεύθερες ρίζες και οι ορμόνες του στρες, είναι ερεθίσματα που μπορούν να διαμορφώσουν ή να επάγουν την δραστηριότητα των κυτταροκινών.

Φαίνεται πως δύο συγκεκριμένες κυτταροκίνες, η IL-1β και ο TNFα, συχνά συσχετίζονται με την ενίσχυση της μυϊκής φλεγμονής. Αυτές δρουν διαμέσου επαγωγής ή θετικής ρύθμισης διάφορων μορίων προσκόλλησης [71], ενώ κυτταροκίνες όπως ο TGFβ (transforming growth factor-β), η IL-4 και η IL-10 συμβάλλουν στην αρνητική ρύθμιση της τοπικής φλεγμονής. Οι δράσεις γίνονται είτε διαμέσου της αλληλεπίδρασης της κυτταροκίνης με τον αντίστοιχο

υποδοχέα της, είτε διαμέσου της ικανότητας μιας κυτταροκίνης να επάγει την σύνθεση άλλων κυτταροκινών και ορμονών. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα όταν διεγερθούν μπορεί να εκκρίνουν κυτταροκίνες σχετιζόμενες με φλεγμονή όπως παράγοντες διέγερσης αποικισμού κοκκιοκυττάρων και μακροφάγων (granulocyte και macrophage colony stimulating factors), καθώς επίσης και τις ιντερλευκίνες IL-1α, IL-1β, IL-6 και IL-8 [70]. Οι κυτταροκίνες φαίνεται πως παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στην φάση της αποκατάστασης, διαμέσου της χημειοταξίας κυττάρων-δορυφόρων (satellite cells). Για παράδειγμα, ο FGF-2 (fibroblast growth factor) και ο TGF-β προάγουν την μετανάστευση πρόδρομων μορφών μυϊκών κυττάρων in vitro [72].

Πίνακας 1.3. Κυτταροκίνες που μπορούν να παραχθούν από κύτταρα σε μυ που αντιμετωπίζει ασκησιογενή μυϊκή βλάβη [70].

Τύπος κυττάρου	Κυτταροκίνη
Ενδοθηλιακά κύτταρα	G-CSF, GM-CSF, IL-1α, IL-1β, IL-6, IL-8
Ουδετερόφιλα	IL-1, IL-8, TGFβ-1, TNF
Μονοκύτταρα-μακροφάγα	FGF-2, IGF-1, IL-1β, IL-6, IL-15, PDGF-B chain, TGFβ, TNF
Ινωδοβλάστες	G-CSF, GM-CSF, M-CSF

Συμβολισμοί: FGF: fibroblast growth factor (αυξητικός παράγοντας ινωδοβλαστών), G-CSF: granulocyte colony stimulating factor (διεγερτικός παράγοντας αποικισμού κοκκιοκυττάρων), GM-CSF: granulocyte-macrophage colony stimulating factor (Διεγερτικός παράγοντας αποικισμού κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων), IL: ιντερλευκίνη, IGF: insulin-like growth factor («insulin-like» αυξητικός παράγοντας), M-CSF: macrophage colony stimulating factor (Διεγερτικός παράγοντας αποικισμού μακροφάγων), PDGF: platelet-derived growth factor (αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγοντας), TGF: transforming growth factor (αυξητικός παράγοντας μετατροπής), TNF: tumor necrosis factor (παράγοντας νέκρωσης όγκου)

1.5. Δείκτες αξιολόγησης ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης

Ο ΚΜΠ χαρακτηρίζεται από συμπτώματα όπως η απώλεια μυϊκής δύναμης, ο πόνος, η μυϊκή ευαισθησία, η δυσκαμψία και το οίδημα [73]. Πολλές μεταβλητές έχουν αναφερθεί στην προσπάθεια ποσοτικοποίησης της μυϊκής βλάβης. Οι ευρύτερα χρησιμοποιούμενοι δείκτες αξιολόγησης της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης φαίνονται στον Πίνακα 5.1.

Πίνακας 1.4. Επιλεγμένοι δείκτες αξιολόγησης της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης [74].

Δείκτης	Πληροφόρηση βλάβης	Δυσκολία μέτρησης	Αξιοπιστία	Σχόλιο
Βιοψία	Τοπική	Υψηλή	Υψηλή	Ο καλύτερος δείκτης
Δύναμη	Τοπική	Χαμηλή	Μέτρια	Υψηλή υποκειμενικότητα
Πόνος	Κεντρική	Χαμηλή	Μέτρια – Υψηλή	
Ευαισθησία	Τοπική	Χαμηλή	Μέτρια	
Δυσκαμψία	Τοπική	Χαμηλή	Μέτρια – Υψηλή	Υψηλή υποκειμενικότητα
Οίδημα	Τοπική	Χαμηλή	Μέτρια – Υψηλή	
Κρεατινική κινάση (CK)	Κεντρική	Χαμηλή	Χαμηλή	
Γαλακτική Αφυδρογονάση (LDH)	Κεντρική	Χαμηλή	Χαμηλή	Υψηλή διακύμανση μεταξύ ατόμων αλλά και στο ίδιο άτομο
Γλουταμινική οξαλοξική τρανσαμινάση (GOT)	Κεντρική	Χαμηλή	Χαμηλή	-/-

Η απώλεια δύναμης συνήθως παρουσιάζει την μεγαλύτερή της τιμή αμέσως μετά την άσκηση ή μέσα στις πρώτες 48 ώρες και επανέρχεται συνήθως σε περισσότερες από 5 ημέρες. Ο πόνος και η ευαισθησία παρουσιάζουν μέγιστες τιμές 1–3 ημέρες μετά την άσκηση και υποχωρούν μέσα σε περίπου 7 ημέρες. Η δυσκαμψία και το οίδημα συνήθως κορυφώνονται 3–4 ημέρες μετά την άσκηση και εξαφανίζονται μέσα σε 10 ημέρες. Τα διάφορα αυτά συμπτώματα μπορούν να εμφανίζονται ανεξάρτητα το ένα από το άλλο.

1.6. Πρόληψη και θεραπεία ΚΜΠ

Οι αθλητές ανταγωνιστικού επιπέδου και τα άτομα που δεν αθλούνται είναι τα άτομα που κατά κύριο λόγο εμφανίζουν ΚΜΠ. Οι αθλητές ανταγωνιστικού επιπέδου παρουσιάζουν ΚΜΠ κατά την επιστροφή στον κανονικό ρυθμό προπονήσεων μετά από κάποιον τραυματισμό ή στην αρχή μιας νέας αγωνιστικής περιόδου [75]. Άλλος ένας λόγος μπορεί να είναι αλλαγές στο είδος των προπονήσεων. Οι μη αθλητές, είναι πιο επιρρεπείς στον ασκησιογενή μυϊκό τραυματισμό στην έναρξη ενός προγράμματος άθλησης, ιδιαίτερα όταν αυτή η δραστηριότητα περιλαμβάνει εκκεντρικού τύπου μυϊκές συστολές.

Οι δομικές βλάβες στο μυϊκό και στο συνδετικό ιστό που λαμβάνουν χώρα κατά την διάρκεια της εκκεντρικού τύπου φυσικής δραστηριότητας μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα μεταβολές στην μυϊκή λειτουργία και στην μηχανική συμπεριφορά των αρθρώσεων [76]. Αυτό μαζί με τον πόνο που προκαλείται και σε συνδυασμό και με άλλους αντισταθμιστικούς μηχανισμούς για την ανακούφιση από την αίσθηση του «πιασίματος», σε αθλητές υψηλού επιπέδου, έχει ως αποτέλεσμα να προκαλέσουν σημαντική μείωση στην αθλητική απόδοση και μπορεί ακόμη και να εξαναγκάσουν να γίνει μείωση της έντασης της προπόνησης σε επίπεδα χαμηλότερα από αυτά που απαιτούνται.

Οι παρατηρούμενες παρενέργειες του ΚΜΠ από την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη αναφέρονται περιληπτικά στα άλλα υποκεφάλαια.

Η πρόληψη και στην θεραπεία του ΚΜΠ και των συνοδών συμπτωμάτωνέχει επιχειρηθεί με πολλούς τρόπους οι οποίοι μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις κύριες κατηγορίες:

- i. Φαρμακευτικές παρεμβάσεις με χορήγηση μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων (ΜΣΑΦ),
- ii. Παρεμβάσεις με εφαρμογή φυσιοθεραπευτικών μεθόδων και
- iii. Παρεμβάσεις με χορήγηση συμπληρωμάτων διατροφής.

Στις επόμενες ενότητες θα αναλυθούν οι δύο πρώτες κατηγορίες ενώ η τρίτη θα αναληθεί στο επόμενο κεφάλαιο που αναφέρεται στις διατροφικές παραμέτρους.

1.6.1. Φαρμακευτική αντιμετώπιση με χρήση ΜΣΑΦ

Υποστηρίζεται πως τα ΜΣΑΦ διευκολύνουν την επανάκτηση της μυϊκής λειτουργίας και βοηθούν στην ανακούφιση από τα συμπτώματα του ΚΜΠ. Η αποτελεσματικότητά τους όμως είναι αμφιλεγόμενη, με την πλειοψηφία των εργασιών να μην δείχνουν κάποια θετική επίδραση παρά το γεγονός της ισχυρής θεωρητικής βάσης.

Τα ΜΣΑΦ δρουν μετά από έντονη άσκηση αναστέλλοντας το ένζυμο κυκλοξυγονάση (COX) και κατά συνέπεια την σύνθεση της PGE₂. Τα ΜΣΑΦ μπορούν να ταξινομηθούν ως μονής ή διπλής δράσης. Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα όπως η ασπιρίνη, το ναπροξέν (naproxen), το φλουρμπιπροφέν (flurbiprofen) και το ιβουπροφέν (ibuprofen) είναι αποκλειστικά αναστολείς της COX και συγκαταλέγονται στα μονής δράσης φάρμακα. Άλλα ΜΣΑΦ όπως το ντικλοφενάκ (diclofenac) και το κετοπροφέν (ketoprofen) είναι διπλής δράσης φάρμακα και δρουν μπλοκάροντας τόσο την οδό της COX όσο και την οδό της λιποξυγονάσης (LIPOX) του μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος. Επομένως, τα διπλής δράσης φάρμακα μπορεί να έχουν μία ισχυρότερη αντιφλεγμονώδη δράση συγκρινόμενα με τα μονής δράσης ΜΣΑΦ. Τα διπλής δράσης ΜΣΑΦ ίσως είναι παρόμοια με τις στεροειδείς ορμόνες ως προς τις επιδράσεις τους στην φλεγμονή. Τα κορτικοστεροειδή, όπως για παράδειγμα τα γλυκοκορτικοειδή, αναστέλλουν την φωσφολιπάση A₂, και με αυτόν τον τρόπο εμποδίζουν την αρχική αποδέσμευση του αραχιδονικού οξέος από την κυτταρική μεμβράνη, έχοντας ως αποτέλεσμα μία πιο ολοκληρωμένη αντιφλεγμονώδη δράση σε σχέση με τα πολύ διαδεδομένα μονής δράσης ΜΣΑΦ. Ωστόσο, τα γλυκοκορτικοειδή παρουσιάζουν πολυάριθμες παρενέργειες στις οποίες περιέχονται η μείωση οστικής πυκνότητας, η απώλεια μυϊκής μάζας, το οίδημα και η υπέρταση [77] και για αυτό το λόγο η χρήση τους ως αντιφλεγμονώδεις παράγοντες θα πρέπει να είναι περιορισμένη. Τα ΜΣΑΦ έχουν επίσης ανεπιθύμητες ενέργειες όπως γαστρεντερικές ενοχλήσεις καθώς και νεφρικές και υπερτασικές επιδράσεις [78], ωστόσο αυτές οι παρενέργειες είναι πιο σπάνιες και μικρότερης σοβαρότητας από τις παρενέργειες των γλυκοκορτικοειδών. Σε μικρές δόσεις τα ΜΣΑΦ τείνουν να εμφανίζουν μία αναλγητική δράση, ενώ σε υψηλότερες δόσεις επιτυγχάνεται αντιφλεγμονώδη δράση [79]. Μία πιθανή εξήγηση για αυτό είναι ότι τα ΜΣΑΦ σε υψηλότερες δόσεις διακόπτουν την δράση συγκεκριμένων λευκών αιμοσφαιρίων όπως τα ουδετερόφιλα και τα μακροφάγα [80]. Έτσι, τα ΜΣΑΦ μπορεί να έχουν άμεση ανασταλτική δράση στην φλεγμονή ανεξαρτήτως της αναλγητικής δράσης διαμέσου της αναστολής της PGE₂.

Η πλειοψηφία των ερευνών δεν καταλήγει σε κάποιο συμπέρασμα εμφάνισης σημαντικής θετικής επίδρασης από την χρήση ΜΣΑΦ. Οι υποκειμενικές αξιολογήσεις του πόνου έδειξαν μόνο μικρή βελτίωση σε κάποιες εργασίες [54, 81], ενώ σε άλλες δεν επηρεάστηκαν [82, 83]. Σε ορισμένες μάλιστα εργασίες όχι μόνο δεν βρέθηκε βελτίωση αλλά αναφέρθηκε και αρνητική επίδραση σε ορισμένους από τους δείκτες μυϊκής βλάβης [83, 84]. Επίσης δεν φαίνεται να βελτιώνεται η μυϊκή απόδοση κατά την διάρκεια του ΚΜΠ. Τα αποτελέσματα

επιλεγμένων εργασιών που εξέτασαν την αποτελεσματικότητα της χρήσης ΜΣΑΦ στην αντιμετώπιση του ΚΜΠ φαίνονται στους πίνακες που ακολουθούν.

1.6.2. Φυσιοθεραπευτικές παρεμβάσεις

Για την θεραπεία του ΚΜΠ έχουν προταθεί διάφορες κλασικές φυσιοθεραπευτικές μέθοδοι όπως η κρυοθεραπεία, οι υπέρηχοι και η ηλεκτρική διέγερση [85, 86, 87, 88]. Επιπλέον, το μασάζ, οι διατάσεις, η ελαφριά άσκηση, η ακινητοποίηση και η απλή ξεκούραση έχουν επίσης εξετασθεί [89, 90, 91, 92, 93]. Εναλλακτικές θεραπείες περιλαμβάνουν την θεραπεία με υπερβαρικό οξυγόνο και την θεραπεία με χρήση ειδικών υφασμάτων που προστατεύουν από την δράση υψίσυχνων ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων [94, 95]. Ανάμεσα στους θεράποντες δεν υπάρχει ομοφωνία για το ποιά μέθοδος αποτελεί την πιο αποτελεσματική για την αντιμετώπιση των συμπτωμάτων της μυϊκής βλάβης.

1.7. Διατροφή-ΚΜΠ και μυϊκός τραυματισμός

Η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη είναι αποτέλεσμα μια μηχανικής υπερδιάτασης. Μετά την βλάβη όπως αναφέρθηκε λαμβάνουν χώρα, διάφορες αντιδράσεις όπως παραγωγή ελευθέρων ριζών, διαδικασίες φλεγμονώδους απάντησης κ.α. στα οποία οφείλεται το μυϊκό «πιάσιμο» δηλαδή ο ΚΜΠ. Θεωρητικά λοιπόν συστατικά της διατροφής καθώς και διάφορα συμπληρώματα μεμονωμένων συστατικών θα μπορούσαν να δράσουν μειώνοντας την δευτερογενή ή «καθυστερημένη εμφάνιση» βλάβης (όχι την αρχική βλάβη η οποία πιστεύεται ότι είναι μηχανικής αιτιολογίας) και λόγω των πιθανών σταδίων που λαμβάνουν χώρα στο εσωτερικό του μυός και οδηγούν σε αυτήν την δευτερογενή βλάβη, είναι απίθανο π.χ. η χορήγηση ενός μόνο θρεπτικού συστατικού, αφενός να μειώνει το συνολικό βαθμό βλάβης και αφετέρου να συμβάλλει σε ταχύτερη ανάρρωση. Ο ρόλος διάφορων διατροφικών θεραπειών, μεμονωμένα ή σε συνδυασμούς, στην μείωση της μυϊκής βλάβης και των συνοδών συμπτωμάτων έχει εξεταστεί σε διάφορες μελέτες όμως τα αποτελέσματα εμφανίζονται απογοητευτικά (Πίνακας 7.1.).

1.7.1. Αντιοξειδωτικοί παράγοντες

Όπως αναφέρθηκε, ο πολλαπλασιασμός των ελευθέρων ριζών είναι ένας από τους πιθανούς και προτεινόμενους μηχανισμούς στην ασκησιογενή βλάβη, ο οποίος κυρίως λαμβάνει χώρα διαμέσου της φαγοκυττάρωσης και της ενεργοποίησης της «αναπνευστικής έκρηξης» από τα ουδετερόφιλα που προκαλείται κατά την διάρκεια της φλεγμονώδους απάντησης [96]. Φαίνεται λοιπόν ότι η συμπληρωματική λήψη αντιοξειδωτικών ουσιών πριν από την άσκηση θα μπορούσε να μειώσει την μετέπειτα βλάβη. Η χρήση των αντιοξειδωτικών βιταμινών C και E στη θεραπεία του ΚΜΠ εμφανίζει αντιφάσεις. Περισσότερο ενδιαφέρον εμφανίζει η υδατοδιαλυτή βιταμίνη C η οποία φαίνεται να εμφανίζει αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, ενώ είναι γνωστό ότι συμμετέχει στην σύνθεση κολλαγόνου. Η βιταμίνη E έχει υποστηριχθεί ότι σταθεροποιεί την κυτταρική μεμβράνη, γεγονός το οποίο οδηγεί σε μικρότερες απώλειες ενδοκυτταρικών πρωτεϊνών (π.χ. CK). Ωστόσο, παραμένει προς διερεύνηση η συνολική εκτίμηση της αποτελεσματικότητας αυτών των βιταμινών, καθώς επίσης και ο ακριβής μηχανισμός δράσης τους.

Ενώ άλλες έρευνες έδειξαν θετικές δράσεις άλλες πάλι δεν έδειξαν ενώ σε μερικές χρησιμοποιήθηκαν έμμεσοι δείκτες εκτίμησης της δράσης του ασκορβικού οξέως [97, 98, 99, 100]. Φάνηκε η χρήση βιταμίνης C πιθανότατα να έχει μεγαλύτερες προστατευτικές ιδιότητες συγκριτικά με την πρόσληψη μετά την πρόκληση τραυματισμού συγκρίνοντας τις εργασία του Childs et al. [99] με την εργασία των Kaminski & Boal [98].

Σε μία πρόσφατη έρευνα του *Bryer et al.* [101], αγύμναστοι άνδρες πήραν μία παρόμοια δόση βιταμίνης C (3 γραμ. ημερησίως) για δύο εβδομάδες πριν από την εκτέλεση 60 εκκεντρικών συστολών των καμπτήρων μυών του αγκώνα. Σε σύγκριση με τα άτομα στα οποία χορηγήθηκε placebo, παρουσίασαν χαμηλότερα επίπεδα ΚΜΠ, δραστικότητας CK και οξειδωσης πρωτεϊνών κατά την διάρκεια των 4 ημερών μετά από την άσκηση. Ωστόσο, τα επίπεδα της γλουταθειόνης στο αίμα, ενός ενδογενούς αντιοξειδωτικού, έμειναν ανεπηρέαστα από την χορήγηση βιταμίνης C. Αυτά τα δεδομένα, σε συνδυασμό με αυτά των *Kaminski & Boal* [98], δείχνουν ότι ίσως είναι απαραίτητη μια υψηλότερη δόση βιταμίνης C προκειμένου να μειωθεί ο ΚΜΠ, να μειωθεί η δραστικότητα της CK και να παρασχεθεί προστασία έναντι στην πρωτεϊνική βλάβη που ακολουθεί τις εκκεντρικές ασκήσεις υψηλών δυνάμεων. Βέβαια, παραμένει να καθορισθεί εάν αυτή η πρακτική θα είχε επίδραση σε περισσότερους άμεσους δείκτες μυϊκής βλάβης όπως περιγράφηκε από τον *Hortobagyi et al.* [100].

Σε μία άλλη πρόσφατη εργασία με αντιοξειδωτικές βιταμίνες χρησιμοποιήθηκε χορήγηση συμπληρώματος της λιποδιαλυτής βιταμίνης E [102] όμως η χορήγηση του συμπληρώματος δεν είχε καμία στατιστικά σημαντική επίδραση σε καμία παράμετρο που αξιολογήθηκε, συμπεριλαμβανομένης της άμεσης αξιολόγησης της ιστικής βλάβης και της κυτταροσκελετικής αποδιοργάνωσης. Επιπροσθέτως, η βιταμίνη E δεν είχε κάποια σημαντική επίδραση στην μυϊκή δύναμη, δείχνοντας με αυτόν τον τρόπο ότι η χορήγηση βιταμίνης E σε ανθρώπους που κάνουν κάποιο πρόγραμμα ασκήσεων αντίστασης, δεν μειώνει την βλάβη που ακολουθεί ένα πρόγραμμα εκκεντρικών ασκήσεων. Ωστόσο, είναι αρκετά πιθανό το πρωτόκολλο που χρησιμοποιήθηκε σε αυτήν την έρευνα να προξένησε τόσο μεγάλου βαθμού τραυματισμό, ώστε τυχούσα θετική επίδραση της βιταμίνης E να υπερκαλύφθηκε από τον τραυματισμό.

Λόγω όμως της δυσκολίας να διατυπωθούν αδιαμφισβήτητα συμπεράσματα σχετικά με την αποτελεσματικότητα αυτών των βιταμινών είναι αναγκαία η περαιτέρω έρευνα στο συγκεκριμένο πεδίο, προτού να δίδονται συμβουλές χρήσης συγκεκριμένων αντιοξειδωτικών ουσιών προκειμένου να επιτευχθεί μειωμένη μυϊκή βλάβη και ταχύτερη αποκατάσταση.

1.7.2. Παράγωγα αμινοξέων

Διάφορα παράγωγα αμινοξέων φαίνεται να αποτελούν την επόμενη περισσότερο ευρέως προτεινόμενη και μελετώμενη κατηγορία διατροφικών συμπληρωμάτων σε σχέση με την μυϊκή βλάβη. Ο *Nissen et al.* [103] μελέτησαν αγύμναστους άνδρες στους οποίους δόθηκαν 0 ή 1,5 ή 3 γραμ./ημέρα του μεταβολίτη της λευκίνης β-υδροξύ-β-μεθυλοβουτυρικό οξύ (HMB) για 3 εβδομάδες, παράλληλα με πρόγραμμα προπόνησης αντίστασης για ολόκληρο το

σώμα. Πιστευόταν ότι η χορήγηση του HMB θα είχε ως αποτέλεσμα την μείωση του πρωτεϊνικού καταβολισμού μειώνοντας έτσι και την μυϊκή βλάβη. Ωστόσο, η χορήγηση του συμπληρώματος είχε ως μοναδικό αποτέλεσμα μία μέτρια μείωση των επιπέδων της 3-μεθυλιστιδίνης στα ούρα που αποτελεί γενικό δείκτη του πρωτεϊνικού καταβολισμού και της δραστηριότητας της CK, όταν μετρήθηκαν στο τέλος της 2^{ης} και της 3^{ης} εβδομάδας του προπονητικού προγράμματος. Επιπλέον, πρέπει να αναφερθεί ότι η συγκεκριμένη έρευνα περιλάμβανε και την χορήγηση ενός πρωτεϊνούχου ροφήματος σε συνδυασμό με την χορήγηση του HMB, γεγονός το οποίο ίσως επηρέασε τα αποτελέσματα (δείγματα καταναλώναν διάφορες δόσεις πρωτεΐνης μαζί με το HMB). Συνεπώς, είναι δύσκολο να καταλήξει κανείς στο συμπέρασμα ότι το HMB μεμονωμένα αποτελεί ένα αποτελεσματικό διατροφικό συμπλήρωμα ως προς την μείωση της μυϊκής βλάβης. Επιπλέον αυτές οι παράμετροι είναι μόνο έμμεσοι δείκτες που ίσως έχουν μικρή σχέση με την πραγματική κυτταροσκελετική αποδιοργάνωση ή τις αλλαγές της μυϊκής δύναμης και ταυτόχρονα εμφανίζουν υψηλή αναξιοπιστία εμφανίζοντας μεγάλη ποικιλομορφία από δείγμα σε δείγμα.

Αν και ίσως φαίνεται κάπως λογικό να είναι χρήσιμο το συγκεκριμένο θρεπτικό συστατικό κατά τα αρχικά στάδια ενός προπονητικού προγράμματος (μέτριο όφελος σε αθλητές [104]), οι συστηματικώς εκγυμναζόμενοι πιθανότατα δεν θα επωφελούνται αρκετά από την χρήση του [103].

1.7.3. Κρεατίνη, σκόνες πρωτεϊνών / υδατανανθράκων

Διατροφικά συμπληρώματα που χρησιμοποιούνται ευρέως είναι η μονοϋδατική κρεατίνη και οι σκόνες πρωτεϊνών και υδατανθράκων. Αν και η χρήση αυτών των προϊόντων συστήνεται για βελτίωση της αθλητικής απόδοσης, αύξηση της μυϊκής μάζας και αύξησης της επανασύνθεσης γλυκογόνου, λίγες πληροφορίες είναι γνωστές σχετικά με τον ρόλο τους στην μείωση της βλάβης του μυϊκού ιστού που προκαλείται από την προπόνηση αντίστασης.

Η χρήση της κρεατίνης δεν έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές [105]. Όμως οι συγγραφείς αυτής της έρευνας υποστήριξαν πως ίσως το πρωτόκολλο της άσκησης ήταν ιδιαίτερα έντονο με αποτέλεσμα οποιαδήποτε δράση σταθεροποίησης των κυτταρικών μεμβρανών από την κρεατίνη να υπερκεράστηκε από τις υπέρμετρες διατακτικές τάσεις που αναπτύχθηκαν στο σαρκείλημμα κατά την διάρκεια του εκκεντρικού πρωτοκόλλου.

Σε μία άλλη έρευνα όπου μελετήθηκε η δράση υδατανθρακούχου ή πρωτεϊνούχου και υδατανθρακούχου ροφήματος και πάλι δεν εντοπίστηκαν διαφορές κάτι που δείχνει πως δεν

υπάρχει καμία επίδραση της κατανάλωσης των συγκεκριμένων συμπληρωμάτων αμέσως μετά την άσκηση ως προς την μείωση της μυϊκής βλάβης [106].

1.7.4. Άρνικα (30X), ουβικινόνη (συνένζυμο Q) και L-καρνιτίνη

Επιπλέον συμπληρώματα διατροφής που έχουν εξετασθεί, περιλαμβάνουν την ομοιοπαθητική άρνικα (30X), την ουβικινόνη (συνένζυμο Q) και την L-καρνιτίνη. Σε όπου χρησιμοποιήθηκε ομοιοπαθητική άρνικα δεν αναφέρθηκαν θετικές επιδράσεις [107, 108, 109].

Αντίθετα σε έρευνα όπου χορήγησαν 3 g L-καρνιτίνης ημερησίως σε 6 αγύμναστα άτομα για 3 εβδομάδες πριν από την εκκεντρική άσκηση αναφέρθηκε, μείωση στον πόνο, στην ευαισθησία και στη CK στην ομάδα θεραπείας σε σύγκριση με την ομάδα του placebo [110]. Οι συγγραφείς υποθέτουν πως οι αγγειοδιασταλτική δράση της L-καρνιτίνης πιθανώς βελτιώνουν την διαδικασία της ανάρρωσης.

Θολό παραμένει το τοπίο όσον αφορά την ουβικινόνη όπου από την μία δεν παρατηρήθηκε καμία επίδραση στην αντιοξειδωτική ικανότητα [111], και από την άλλη όχι απλώς δεν βρέθηκε θετική δράση αλλά φάνηκε ότι η χορήγηση ουβικινόνης για 6 εβδομάδες πριν από την άσκηση προκάλεσε αύξηση της κυτταρικής βλάβης [112].

1.7.5. Συμπέρασμα

Τα διαθέσιμα δεδομένα δείχνουν ότι ελάχιστες είναι οι επιδράσεις επιλεκτικών θρεπτικών συστατικών στην μείωση του τραυματισμού που προκαλείται μετά από υψηλής έντασης προπόνηση αντίστασης καθώς και στην επίτευξη μιας ταχύτερης ανακούφισης από τα συμπτώματα αυτής της μυϊκής βλάβης. Αν και φαίνεται πως υπάρχει θετική δράση τουλάχιστον των βιταμινών C και E και του HMB, είναι αβέβαιο εάν αυτά τα δεδομένα θα βρίσκουν αξιόπιστη εφαρμογή στο σύνολο του πληθυσμού και ειδικότερα στο σύνολο του πληθυσμού των αγύμναστων ανθρώπων. Επίσης δεν είναι ξεκάθαρο, ποια είναι η ιδανικότερη δοσολογία αυτών των θρεπτικών συστατικών ή ποιος είναι ο ιδανικότερος συνδυασμός τους, προκειμένου να μεγιστοποιηθεί η αποτελεσματικότητά τους.

Ο αριθμός των εργασιών που ασχολούνται με τον επίδραση της διατροφής στον ΚΜΠ και γενικότερα στην ασκησιογενή μυϊκή βλάβη είναι σχετικά μικρός.. Είναι λοιπόν ξεκάθαρο, πως χρειάζεται περισσότερη έρευνα με μεγαλύτερα μεγέθη δείγματος προτού να συγκεκριμενοποιηθούν διατροφικές συστάσεις, προκειμένου να μειώνεται η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη. Πιο συγκεκριμένα, χρειάζεται να διεξαχθούν μελέτες προκειμένου να αξιολογηθούν όχι μόνο οι οξείες δράσεις της χορήγησης ενός συμπληρώματος διατροφής

αλλά επίσης και οι μακροχρόνιες επιδράσεις για άτομα τα οποία ασκούνται σε συστηματική βάση.

Πίνακας 1.5.. Επιδράσεις χορήγησης συμπληρωμάτων διατροφής σε δείκτες της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης.

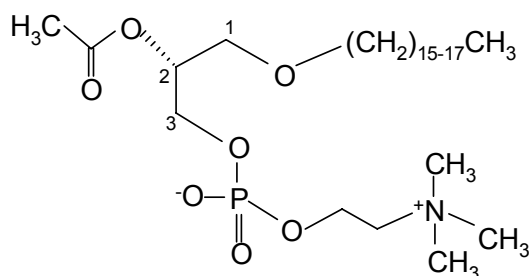
Εργ	Συμπλήρωμα	Δείγμα	Είδος Άσκησης	Παράμετρος	Επίδραση
[149]	Βιτ.Ε (1200IU/ημ) για 30 ημέρες πριν την άσκηση	Αγύμναστοι άνδρες	240 εκκεντρικές κάμψεις-εκτάσεις του γονάτου	ΜΙΑ CK ΚΜΠ Φλεγμονώδη κύτταρα Ρήξη κυτταροσκελετού	— ↓ — — —
[148]	Βιτ. C (3g/ημ) για 2 εβδομάδες πριν την άσκηση και για 4 ημέρες μετά την άσκηση	Αγύμναστοι άνδρες	60 εκκεντρικές κάμψεις του αγκώνα	ΚΜΠ Πρωτεΐν. καρβονύλια CK Γλουταθειόνη	↓ ↓ ↓ —
[146]	Βιτ. C (12.5mg/kg/ημ) και NAK (10mg/kg/ημ) για 7 ημέρες μετά την άσκηση	Αγύμναστοι άνδρες	30 εκκεντρικές κάμψεις του αγκώνα	CK LDH Μυελοϋπεροξειδάση IL-6 ΚΜΠ ROM	↑ ↑ ↓ — — —
[145]	Βιτ. C (3g/ημ) για 3 ημέρες πριν την άσκηση και για 4 ημέρες μετά την άσκηση	Αγύμναστοι άνδρες	15 λεπτά κυκλικές κάμψεις-εκτάσεις του πέλματος	ΚΜΠ	↓
[153]	HMB (3 ή 6g/ημ) για 4 εβδ παράλληλα με την άσκηση	Γυμνασμένοι άνδρες	Πρόγραμμα προπονήσεων αντίστασης για όλο το σώμα διάρκειας 4 εβδομάδων (~7ώρες/εβδ)	CK LDH	— —
[150]	Βιτ.Ε (1200IU/ημ) για 2 εβδομάδες πριν την άσκηση	Γυμνασμένοι άνδρες	Προπόνηση αντίστασης για όλο το σώμα (Συνολικά: 24 σετ επαναλ.)	CK ΚΜΠ Μαλονδιαλδεύδη	↓ — —
[152]	HMB (1.5 ή 3g/ημ) για 3 εβδομάδες παράλληλα με την άσκηση	Αγύμναστοι άνδρες	Πρόγραμμα προπονήσεων αντίστασης για όλο το σώμα διάρκειας 4 εβδομάδων (~7ώρες/εβδ)	CK LDH 3-MH	↓ — ↓
[154]	Μονοϋδρική κρεατίνη (20g/ημ) για 5 ημ πριν την άσκηση	Αγύμναστοι άνδρες	50 εκκεντρικές κάμψεις του αγκώνα	ΜΙΑ ROM Περίμετρος CK LDH ΚΜΠ	— — — — — —
[155]	Υδ/κες (1.25 g/kg) ή μίγμα υδ/κών –πρωτεϊνών (υδ/κες: 0.875 g/kg, πρωτ.: 0.375g/kg) αμέσως και 2 ώρες μετά την άσκηση	Αγύμναστοι άνδρες	100 εκκεντρικές κάμψεις του γονάτου	ΜΙΑ ΚΜΠ CK IL-1 IL-6 3-MH	— — — — — —

Συμβολισμοί : NAK: Ν-ακέτυλο κυστεΐνη, **ΜΙΑ:** μέγιστη ισομετρική δύναμη, **ROM:** εύρος κίνησης, **CK:** κρεατινική κινάση, **LDH:** γαλακτική αφυδρογονάση, **ΚΜΠ:** καθυστερημένος μυϊκός πόνος, **3-MH:** 3-μέθυλο ιστιδίνη, **IL-1:** ιντερλευκίνη-1, **IL-6:** Ιντερλευκίνη-6, **HMB:** β-υδρόξυ-β-μέθυλο βουτυρικό οξύ, —: καμία επίδραση, ↓: μείωση, ↑: αύξηση

1.8. Παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων-PAF

1.8.1. Χημική δομή PAF

Ο Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (Platelet Activating Factor, PAF) είναι ένα γλυκεριναιθερικό φωσφολιποειδές (1-Ο-αλκυλο-2-ακετυλο-*sn*-γλύκερο-3-φωσφοχολίνη). Στην πρώτη θέση του γλυκερινικού σκελετού συνδέεται, με αιθερικό δεσμό, μια λιπαρή αλυσίδα που περιλαμβάνει συνήθως 16 ή 18 άτομα άνθρακα και είναι κορεσμένη ή ακόρεστη με έναν ή δύο διπλούς δεσμούς, στη δεύτερη θέση βρίσκεται εστεροποιημένο ένα οξικό οξύ και στην τρίτη θέση υπάρχει μια ομάδα φωσφορυλοχολίνης (Σχήμα 1.4.). Στην φύση έχουν βρεθεί πολλά είδη και ανάλογα του PAF με παρόμοιες βιολογικές δράσεις. Η ύπαρξη όλων αυτών των μοριακών ειδών και αναλόγων του PAF οφείλεται κυρίως στην σχετικά ευρεία εξειδίκευση των ενζύμων βιοσύνθεσης και αποικοδόμησης του. Κάθε είδος κυττάρου δίνει ένα διαφορετικό μίγμα μοριακών ειδών PAF, το οποίο εξαρτάται από την σύσταση των φωσφολιποειδών στις μεμβράνες του κυττάρου, την κατανομή του αραχιδονικού οξέος στις διάφορες τάξεις των φωσφολιποειδών καθώς και από την σχετική ταχύτητα βιοσύνθεσης και αποικοδόμησης αυτών των ενώσεων. Τα ανάλογα του PAF έχει βρεθεί ότι έχουν βιολογικές δράσεις ενδογενών ρυθμιστών της δραστηριότητας του PAF.



Σχήμα 1.4.: Χημική δομή του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF) 1-Ο-αλκυλο-2-ακετυλο-*sn*-γλύκερο-3-φωσφοχολίνη.

Ο PAF είναι διαλυτός σε μεθανόλη, αιθανόλη και σε μίγματα χλωροφορμίου:μεθανόλης ενώ είναι αδιάλυτος σε χλωροφόρμιο, αιθέρα, βενζόλιο και ακετόνη [113, 114]. Στα υδατικά διαλύματα, σε χαμηλές συγκεντρώσεις, βρίσκεται υπό τη μορφή μονομερούς αλλά σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σχηματίζει μικκύλια. Η κρίσιμη μικκυλιακή συγκέντρωσή του έχει βρεθεί από 0,2 έως 3 μM , ανάλογα το μοριακό είδος και την τεχνική που έχει χρησιμοποιηθεί [115, 116, 117]. Οι συγκεντρώσεις αυτές είναι πολύ χαμηλότερες από τις συνήθεις συγκεντρώσεις του PAF στα βιολογικά δείγματα (10^{-7} M - 10^{-11} M) γεγονός που δείχνει ότι ο PAF εκδηλώνει τις βιολογικές του δράσεις ως μονομερές. Η διαλυτοποίησή του

σε υδατικά διαλύματα επιτυγχάνεται συνήθως με αναδιάλυσή του σε υδατικό διάλυμα βόειου αλβουμίνης ορού (BSA) με την οποία συνδέεται ισχυρά [118].

1.8.2. Δράσεις PAF

Ο PAF που παράγεται από τα κύτταρα μπορεί:

- 1 Να εκκριθεί από και να δράσει, είτε αυτοκρινώς πάνω στα κύτταρα από τα οποία παράχθηκε, είτε παρακρινικά ενεργοποιώντας γειτονικά κύτταρα του.
- 2 Να ενσωματωθεί στην πλασματική μεμβράνη του κυττάρου από το οποίο προήλθε και να δράσει από εκεί ως διακυτταρικός μεσολαβητής ενεργοποιώντας γειτονικά κύτταρα. Αυτός είναι ο τρόπος με τον οποίο δρα ο PAF κατά την φλεγμονή ενεργοποιώντας και προσκολλώντας τα ουδετερόφιλα στα ενδοθηλιακά κύτταρα.
- 3 Να παραμείνει στα κύτταρα και να δράσει ως ενδοκυτταρικός μεσολαβητής [119, 120].

Πίνακας 1.6. Δράσεις του PAF σε κύτταρα και απομονωμένους ιστούς.

Είδος κυττάρου/ιστού	Δράσεις
Αιμοπετάλια	Αποκοκκίωση, αλλαγή σχήματος, συσώρευση, έκκριση εικοσανοειδών [121, 122]
Ουδετερόφιλα	Αποκοκκίωση, συσώρευση, χημειοταξία, παραγωγή υπεροξειδίων, αύξηση προσκολλητικής ικανότητας, έκκριση εικοσανοειδών [122, 123]
Μονοκύτταρα/Μακροφάγα	Συσώρευση, σύνθεση εικοσανοειδών, παραγωγή υπεροξειδίων, παραγωγή IL-1, έκκριση λυσοσωμιακών ενζύμων [122, 123]
Ηωσινόφιλα	Χημειοταξία, έκκριση κατιοντικών πρωτεϊνών, αύξηση κυτταροτοξικότητας, σύνθεση LTC ₄ , παραγωγή υπεροξειδίων, μετανάστευση διαμέσου των επιθηλιακών κυττάρων, σύνθεση IL-8, πολυμερισμός ακτίνης [122, 123]
Λεμφοκύτταρα	Βλαστική τροποποίηση, καταστολή παραγωγής IL-2 [122]
Ενδοθηλιακά	Ανακατανομή κυτταροσκελετού και αλλαγή σχήματος, σύνθεση εικοσανοειδών, μετανάστευση, αύξηση της προσκολλητικής τους ικανότητα με τα ουδετερόφιλα [122, 124, 125]
Νευρώνες	Αύξηση ενδοκυτταρικού Ca ²⁺ , ενεργοποίηση του κύκλου της φωσφατιδυλινοσιτόλης, ενεργοποίηση της έκφρασης των πρωτοογκογονιδίων c-fos και c-jun, έκκριση προλακτίνης [126, 127]
Σπερματοζωάρια	Αύξηση κινητικότητας, αύξηση της διεισδυτικότητας τους στον τράχηλο της μήτρας [128, 129]
Πρωτόζωα	Σύνθεση εικοσανοειδών, αύξηση γλυκογονόλυσης, μεταβολή στην σύσταση των

	λιποειδών [130, 131]
Φυτικά κύτταρα	Ρύθμιση δραστηριότητας H^+ ΑΤΡασών, επίδραση στο φωτοσύστημα II των θυλακοειδών [132]
Ήπαρ	Αύξηση γλυκογονόλυσης, μεταβατική αύξηση στην πίεση της πυλαίας φλέβας, αύξηση έκκρισης γαλακτικού και οξαλοξικού οξέος [133, 134]
Πνεύμονας	Μείωση της επιφάνειας των τριχοειδών, σύσπαση απομονωμένου πνευμονικού ιστού και μείωση της διατασιμότητας του, αγγειοσύσπαση, πνευμονικό οίδημα [133, 135, 136]
Καρδιά	Μείωση της συσταλτικής ικανότητας της κοιλίας, σύσπαση των στεφανιαίων, μείωση της ροής αίματος, πρόκληση αρρυθμιών [137, 138]
Έντερο	Σύσπαση, ισχαιμική νέκρωση [139]

Πίνακας 1.7.. Δράσεις του PAF in vivo.

Βρογχόσπασμος [122]
Θρομβοπενία, ουδετεροπενία, βασεοφιλοπενία [122]
Σηπτικό σοκ [122, 140]
Μεσολαβητής του σηπτικού σοκ που επάγεται από βακτηριακές λοιμώξεις και χορήγηση ενδοτοξίνης
Αναφυλακτικές αντιδράσεις
α) <i>Στον αναπνευστικό</i> [122, 135]: Μείωση αναπνευστικής συχνότητας, βρογχόσπασμο, αύξηση πνευμονικών αντιστάσεων, αύξηση της ενδοτοκτικότητας του πνεύμονα, αύξηση της πίεσης στις πνευμονικές αρτηρίες με αποτέλεσμα πρόκληση πνευμονικού οιδήματος. Μεσολαβητής του άσθματος
β) <i>Στο κυκλοφοριακό</i> [122, 137]: Μείωση της συστολικής και διαστολικής πίεσης, αύξηση της κεντρικής φλεβικής πίεσης, αύξηση της πίεσης στο δεξιό κόλπο, μείωση της τελοδιαστολικής πίεσης
Επίδραση στο καρδιαγγειακό σύστημα [137]
Αρνητική ινότροπη δράση, μείωση της μέσης αρτηριακής πίεσης (υπόταση), μείωση του κατά λεπτό όγκου αίματος, μείωση των περιφερειακών αντιστάσεων Καρδιακή ισχαιμία και κοιλιακές αρρυθμίες Συμμετέχει στην παθογένεια της αρτηριοσκλήρυνσης
Επίδραση στο πεπτικό σύστημα [133, 139]
Βλάβη γαστρικού βλεννογόνου, ισχαιμική νέκρωση εντέρου, μορφολογικές αλλοιώσεις στην άνω παγκρεατοδωδεκαδακτυλική αρτηρία Συμμετοχή στην παθογένεια του πεπτικού έλκους και της παγκρεατίτιδας
Επίδραση στο σύστημα αναπαραγωγής [128, 129]
Συμμετοχή στην κινητοποίηση του σπέρματος, στην ωορρηξία, στην εμφύτευση του ωαρίου στη μήτρα και στην υπέρταση της εγκυμοσύνης Συμμετοχή στην έναρξη και διατήρηση του τοκετού

Επίδραση στην εγκεφαλική λειτουργία [127, 133, 141]

Μεσολαβητής της εγκεφαλικής ισχαιμίας και του τραυματισμού των νευρώνων σε ισχαιμικές καταστάσεις
Ενεργοποίηση του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια και έκκριση ορμονών, ρυθμίζει τα επίπεδα των νευροπεπτιδίων

Συμμετέχει στο LTP και θεωρείται ανάδρομος (retrograde) μεσολαβητής

Επίδραση στο ανοσολογικό [122, 140]

Συμμετέχει στην ανοσολογική κυτταρική απόκριση, είτε άμεσα ρυθμίζοντας τα επίπεδα και τον πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων και την παραγωγή κυτταροκινών από αυτά, είτε έμμεσα ενεργοποιώντας τα λευκοκύτταρα και την παραγωγή εικοσανοειδών από αυτά.

Μεσολαβητής της οξείας απόρριψης των μοσχευμάτων

1.8.3. Πορείες μεταγωγής σήματος που ενεργοποιούνται από τον PAF

Ο PAF ασκεί τις δράσεις του μέσω υποδοχέων. Η σύνδεση του PAF με τους υποδοχείς του έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση πολλών ενδοκυττάρων πορειών μεταγωγής σήματος στο εσωτερικό του κυττάρου που οδηγούν στον σχηματισμό ή στην αύξηση της συγκέντρωσης ενδοκυτταρικών μηνυματοφόρων μορίων όπως Ca^{2+} , cAMP, 1,4,5-τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP_3), διακυλογλυκερόλη (DAG), αραχιδονικό οξύ, τα οποία προκαλούν την τελική απόκριση του κυττάρου. Στην ενεργοποίηση αυτών των μηχανισμών μεσολαβούν G πρωτεΐνες, οι οποίες είναι συζευγμένες με τον υποδοχέα του PAF. Το είδος του μηχανισμού μεταγωγής σήματος εξαρτάται από το είδος του κυττάρου και βρίσκεται υπό αυστηρή ρύθμιση ενώ πολλές φορές η σύνδεση του PAF στον υποδοχέα του ενεργοποιεί παραπάνω από ένα μηχανισμούς που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους [142, 143, 144, 145, 146, 147, 148].

Πίνακας 1.8. Μηχανισμοί μεταγωγής σήματος που επάγονται από τον PAF.

Μηχανισμοί μεταγωγής σήματος που επάγονται από τον PAF
Ενεργοποίηση G πρωτεϊνών
Αναστολή της ενεργοποίησης της αδενυλικής κυκλάσης
Αύξηση του ενδοκυτταρικού ασβεστίου
Ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης C (PLC) και του κύκλου της φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης (PI)
Ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης A2 (PLA_2) και του σχηματισμού εικοσανοειδών
Ενεργοποίηση της κινάσης της φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης (PI_3K)
Ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης D (PLD)
Ενεργοποίηση των τυροσινικών κινασών (PTK)
Ενεργοποίηση MAP κινασών (MAPK)
Ενεργοποίηση γονιδιακής έκφρασης

1.8.4. Μεταβολισμός PAF [149, 150]

Τα αποτελέσματα των ερευνών πάνω στον μεταβολισμό του PAF έχουν δείξει ότι ο PAF μπορεί να βιοσυντίθεται και να αποικοδομείται με περισσότερο από μία πορείες στα κύτταρα, ανάλογα το είδος και το περιβάλλον του κυττάρου. Οι πορείες αυτές βιοσύνθεσης και αποικοδόμησης βρίσκονται κάτω από αυστηρό έλεγχο και ρυθμίζονται από εξωκυτταρικά σήματα οδηγώντας είτε στην βιοσύνθεση ή απενεργοποίηση του PAF ανάλογα με την παθοφυσιολογική κατάσταση του οργανισμού. Έχει βρεθεί και άμεση συσχέτιση του μεταβολισμού του PAF με το μεταβολισμό και άλλων, βιολογικά δραστικών, λιποειδών, κυρίως εικοσανοειδών, ενώ έχουν βρεθεί και αντιδράσεις και ένζυμα που καθορίζουν το είδος των δομικών αναλόγων του PAF σε κάθε κύτταρο.

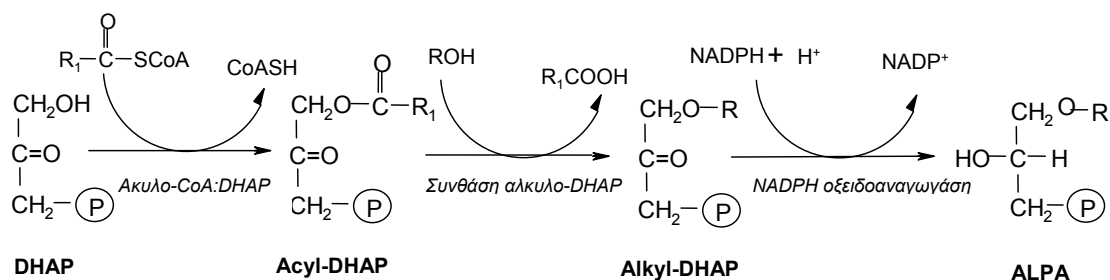
1.8.4.1. Μεταβολικές πορείες βιοσύνθεσης PAF

Σχηματισμός αιθερικού δεσμού στα γλυκερινούχα φωσφολιποειδή

Ο σχηματισμός του αιθερικού δεσμού στα γλυκερινούχα φωσφολιποειδή γίνεται σε τρία στάδια. Αρχικά μετατρέπεται η φωσφοδιϋδροξυακετόνη (DHAP), η οποία προέρχεται από την γλυκολυτική πορεία, σε 1-ακυλοφωσφοδιϋδροξυακετόνη (ακυλο-DHAP) με την δράση του ενζύμου ακυλο-CoA:DHAP ακυλοτρανσφεράση.

Στην συνέχεια, η ακυλο- ομάδα της ακυλο-DHAP αντικαθίσταται από μία αλειφατική ανθρακική αλυσίδα μίας λιπαρής αλκοόλης, η οποία ενώνεται με αιθερικό δεσμό στην DHAP, προς σχηματισμό της 1-ακυλο-φωσφοδιϋδροξυακετόνης (αλκυλο-DHAP). Η αντίδραση καταλύεται από την συνθάση της αλκυλο-DHAP.

Η αλκυλο-DHAP ανάγεται στην συνέχεια από μία NADPH εξαρτώμενη οξειδοαναγωγή προς 1-O-αλκυλο-2-λυσσο-sn-γλυκερυλο-3-φωσφορικό οξύ (ALPA) (Σχήμα 1.5.). Το ALPA είναι το ενδιάμεσο προϊόν από το οποίο μπορούν να σχηματιστούν, είτε τα κλασσικά γλυκεριναιθερικά φωσφολιποειδή των μεμβρανών, είτε ο PAF.

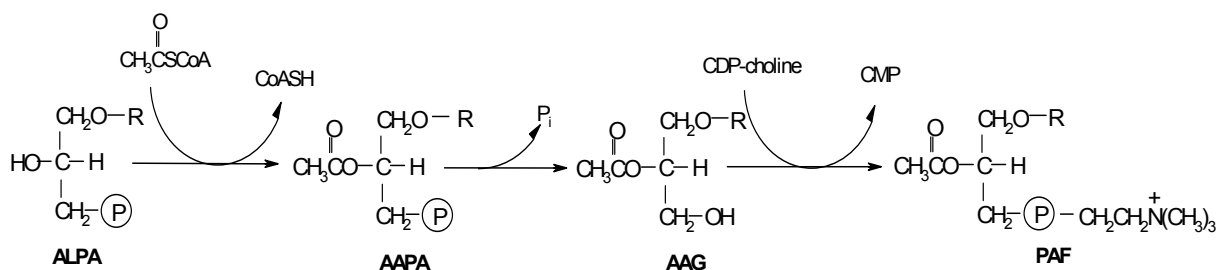


Σχήμα 1.5. Πορεία σχηματισμού αιθερικού δεσμού στα γλυκεριναιθερικά λιποειδή .

De novo (εξ' υπαρχής) πορεία βιοσύνθεσης του PAF

Το πρώτο στάδιο της *de novo* πορείας είναι η μεταφορά μίας ακετυλομάδας από το ακετυλο-CoA στο ALPA προς σχηματισμό του 1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-sn-γλυκερυλο-3-φωσφορικού οξέος (AAPA). Η αντίδραση καταλύεται από το ένζυμο ακετυλο-CoA:ALPA ακετυλοτρανσφεράση (*de novo AT*).

Στην συνέχεια η φωσφορική ομάδα του AAPA αντικαθίσταται από φωσφορυλοχολίνη με την διαδοχική δράση μίας φωσφοϋδρολάσης, που υδρολύει την φωσφορική ομάδα και μίας DTT ανεξάρτητης φωσφοχολινοτρανσφεράσης (CPT) που μεταφέρει την ομάδα της φωσφορυλοχολίνης, ενεργοποιημένης υπό την μορφή κιτυδιλο-διφωσφορικής χολίνης (CDP-χολίνης), στην sn-3 θέση του γλυκερινικού σκελετού (Σχήμα 1.6.).



Σχήμα.1.6.. De novo πορεία βιοσύνθεσης του PAF.

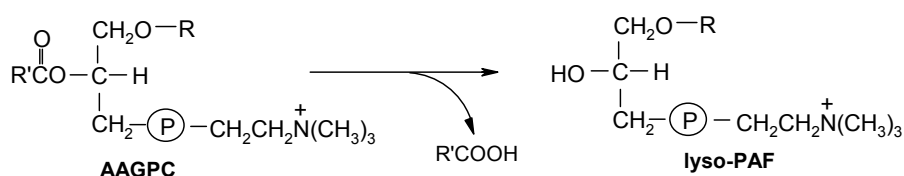
Τα ένζυμα της *de novo* πορείας είναι μεμβρανικά και διαφέρουν στα βιοχημικά χαρακτηριστικά τους από τα αντίστοιχα ένζυμα της *de novo* σύνθεσης των άλλων μεμβρανικών γλυκεριναιθερικών φωσφολιποειδών.

Η *de novo* πορεία βιοσύνθεσης του PAF δεν ενεργοποιείται από φλεγμονώδη ερεθίσματα και είναι υπεύθυνη για την συνεχή, σταθερή παραγωγή PAF από τα κύτταρα ώστε να διατηρούνται τα φυσιολογικά επάπεδα του στο αίμα και στους ιστούς.

Βιοσύνθεση του PAF μέσω της πορείας ανασχηματισμού (remodeling πορεία)

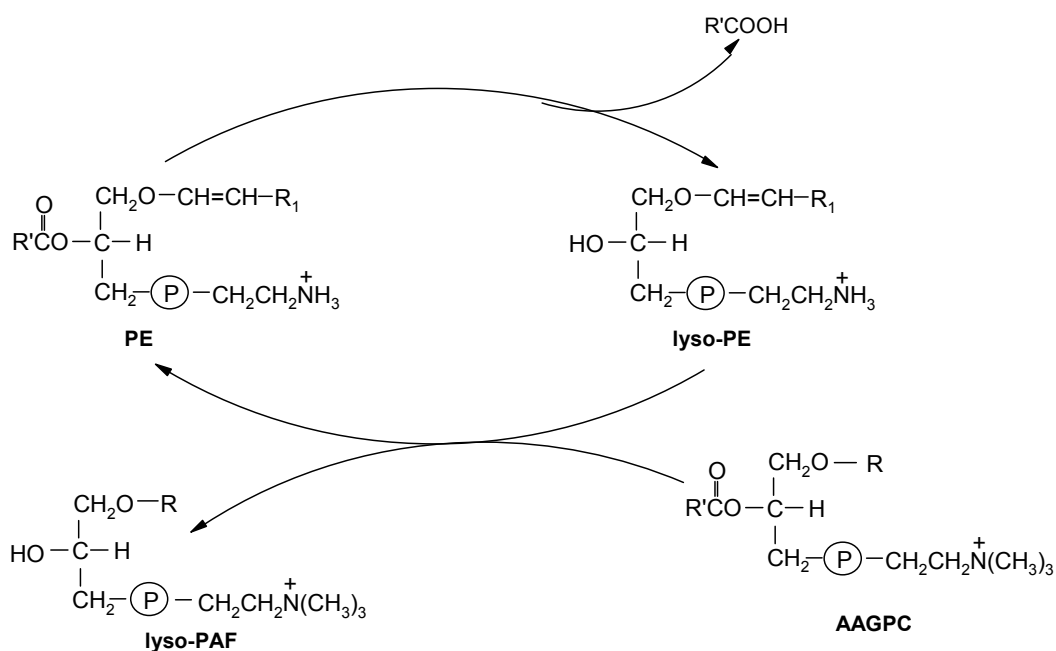
Με την πορεία ανασχηματισμού (remodeling πορεία) τα γλυκεριναιθερικά φωσφολιποειδή, που υπάρχουν στις μεμβράνες των κυττάρων, μετατρέπονται σε PAF. Η πορεία αυτή ενεργοποιείται σε απόκριση φλεγμονωδών και αλλεργικών ερεθισμάτων με σκοπό την άμεση παραγωγή PAF από τα κύτταρα.

Πρόδρομη ένωση του PAF στην *remodeling* πορεία είναι το μεμβρανικό γλυκεριναιθερικό φωσφολιποειδές 1-O-αλκυλο-2-ακυλο-sn-γλυκερυλο-3-φωσφοχολίνη (AAGPC). Στην sn-2 θέση του φωσφολιποειδούς βρίσκονται εστεροποιημένα κυρίως αραχιδονικό οξύ και λιγότερο άλλα μονοακόρεστα και πολυακόρεστα οξέα. Το πρώτο στάδιο της πορείας περιλαμβάνει την υδρόλυση της AAGPC προς 1-O-αλκυλο-2-λυσο-sn-γλυκερυλο-3-φωσφοχολίνη (λυσο-PAF). Η αντίδραση μπορεί να γίνει με δύο διαφορετικές πορείες ανάλογα με το είδος του κυττάρου. Η πρώτη πορεία περιλαμβάνει την δράση μιας φωσφολιπάσης A₂ (PLA₂), η οποία έχει εξειδίκευση για πολυακόρεστες αλυσίδες στην sn-2 θέση του γλυκερινικού σκελετού της AAGPC αλλά δεν φαίνεται να δείχνει ιδιαίτερη εξειδίκευση για το είδος του δεσμού στην sn-1 θέση (Σχήμα 1.7.).



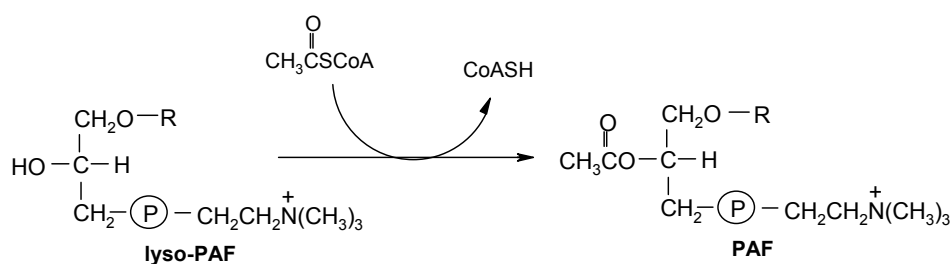
Σχήμα 1.7. Σχηματισμός λυσο-PAF από AAGPC με την δράση PLA₂.

Στη δεύτερη πορεία σχηματισμού του λυσο-PAF, μια CoA-ανεξάρτητη τρανσακυλάση (CoA-IT) μεταφέρει την ακυλο- ομάδα (κυρίως αραχιδονόυλο-) από την sn-2 θέση της AAGPC σε λυσο- πλασμαλογόνα αιθανολαμίνης (λυσο-PE). Η λυσο-PE σχηματίζεται από PE με την δράση μιας PLA₂ ειδικής για τα πλασμαλογόνα αιθανολαμίνης και για αραχιδονοϋλο-ομάδες στην sn-2 θέση των πλασμαλογόνων (Σχήμα 1.8.). Και στις δύο πορείες σχηματισμού του λυσο-PAF ελευθερώνεται παράλληλα αραχιδονικό οξύ. Το γεγονός αυτό αποτελεί χαρακτηριστικό της *remodeling* πορείας. Το αραχιδονικό οξύ στη συνέχεια μπορεί να μετατραπεί σε βιολογικά δραστικά εικοσανοειδή όπως προσταγλανδίνες, λευκοτριένια, κ.α.



Σχήμα 1.8. Σχηματισμός λυσο-PAF με τη δράση τρανσακυλασών

Το δεύτερο στάδιο της *remodeling* πορείας περιλαμβάνει την ακετυλίωση του λυσο-PAF προς PAF από το ένζυμο ακετυλο-CoA:λυσο-PAF ακετυλοτρανσφεράση (rem AT). Η *rem AT* δείχνει εξειδίκευση για αιθερικό δεσμό στην sn-1 θέση και μεταφέρει μικρού Mr άκυλο-ομάδες (2 ή 3 ατόμων C) στην sn-2 θέση (Σχήμα 1.9.).

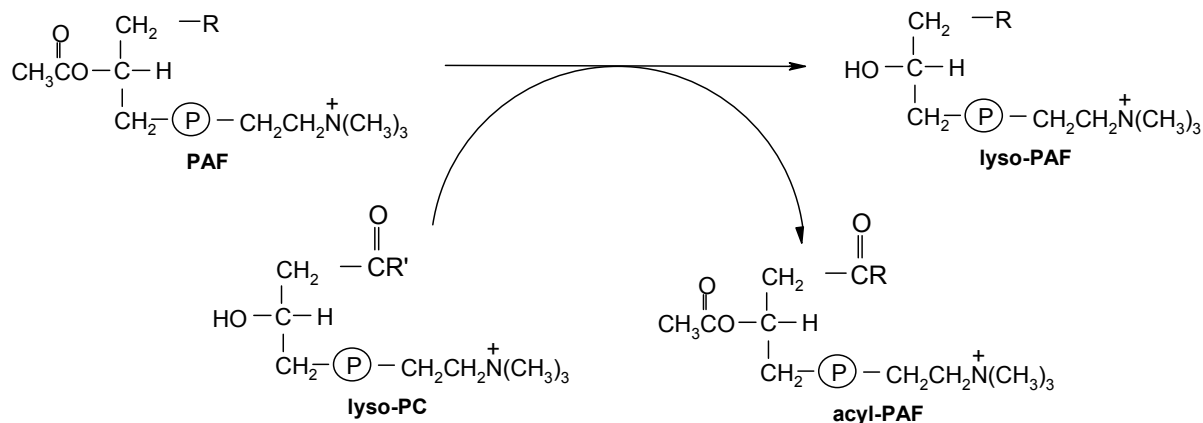


Σχήμα 1.9. Ακετυλίωση λυσο-PAF προς PAF.

1.8.4.2. Μεταβολικές πορείες αποικοδόμησης PAF

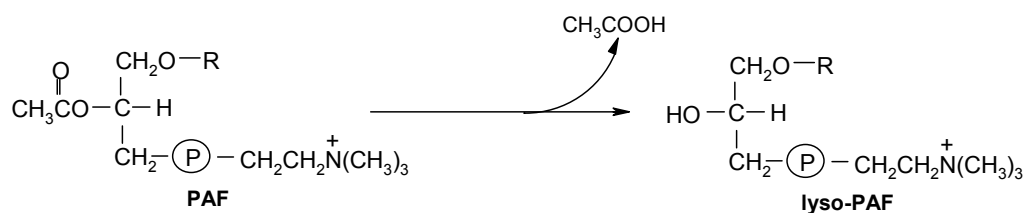
Το πρώτο στάδιο αποικοδόμησης του PAF είναι η υδρόλυση της ακετυλομάδας από την sn-2 θέση του γλυκερινικού σκελετού, η οποία οδηγεί στον σχηματισμό του βιολογικά ανενεργού λυσο-PAF. Αυτό αποτελεί το σημαντικότερο στάδιο της αποικοδόμησης. Η αντίδραση υδρόλυσης της ακετυλομάδας μπορεί να επιτευχθεί με τους εξής τρεις τρόπους:

α) Με την δράση της PAF ακετυλοϋδρολάση (PAF-AH), μίας Ca^{2+} -ανεξάρτητης PLA_2 που δείχνει εξειδίκευση για μικρού M_r (2 ή 3 ατόμων C) και οξειδωμένα λιπαρά οξέα στην sn-2 θέση του γλυκερινικού σκελετού (Σχήμα 1.10.). Έχουν βρεθεί τόσο εξωκυτταρικές όσο και ενδοκυτταρικές ισομορφές του ενζύμου που παίζουν σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της βιολογικής δραστηριότητας του PAF.



Σχήμα 1.10. Υδρόλυση του PAF από την AH.

β) Με τη δράση τρανσακετυλασών που μεταφέρουν την ακετυλομάδα σε άλλα λιποειδικά υποστρώματα με ελεύθερο υδροξύλιο όπως λυσο-πλασμαλογόνα, λυσο-φωσφατιδυλοχολίνη (Σχήμα 1.11.), λιπαρές αλκοόλες, σφιγγοσίνη κ.α. Μέσω αυτής της αντίδρασης σχηματίζονται ακετυλιωμένα μόρια στα οποία έχουν αποδοθεί σημαντικές βιολογικές δράσεις. Ενζυμική δραστηριότητα τρανσακετυλάσης έχει βρεθεί σε HL-60 κύτταρα, σε ενδοθηλιακά κύτταρα καθώς και σε κλάσματα LDL ανθρώπινου πλάσματος.

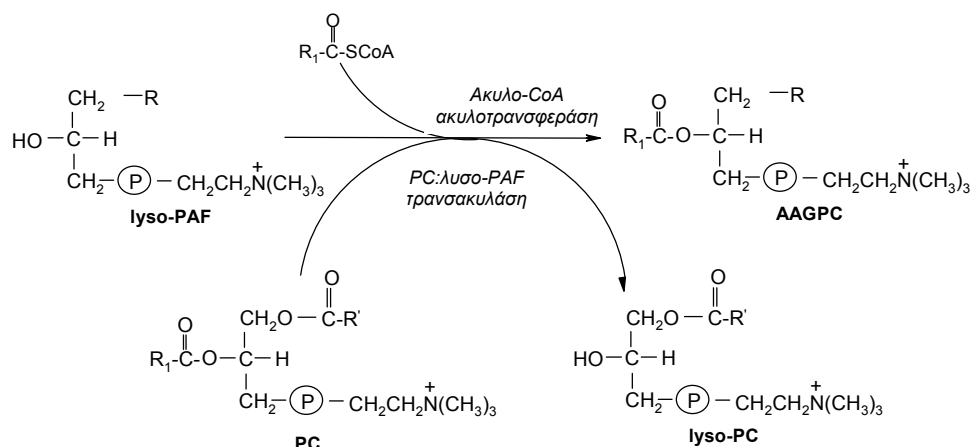


Σχήμα 1.11. Υδρόλυση PAF από τρανσακετυλάσες.

γ) Με τη δράση της λεκιθίνη:χοληστερόλη ακυλοτρανσφεράσης (LCAT), η οποία μπορεί να μεταφέρει την ακετυλομάδα σε λυσο-PC στο πλάσμα ανθρώπου. Βιοχημικές μελέτες έχουν δείξει ότι η τρανσακετυλάση και η LCAT αποτελούν διαφορετικά ένζυμα.

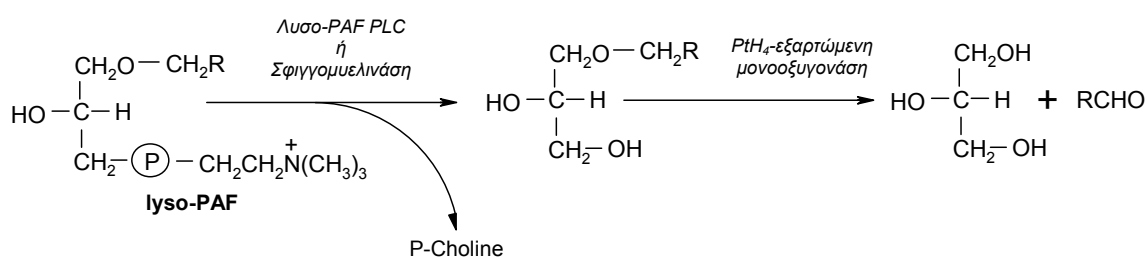
Η μεταβολική τύχη του λυσο-PAF εξαρτάται από το είδος του κυττάρου και μπορεί να είναι η εξής :

α) Μπορεί να επανακυλιωθεί προς AAGPC, είτε από ακυλο-CoA ακυλοτρανσφεράσες, είτε από τρανσακυλάσες που μεταφέρουν ακόρεστα λιπαρά οξέα, κυρίως αραχιδονικό οξύ, από την PC στον λυσο-PAF (Σχήμα 1.12.) και στη συνέχεια αυτό ενσωματώνεται στις μεμβράνες των κυττάρων. Η μετατροπή του PAF σε AAGPC είναι ο συνηθέστερος τρόπος αποικοδόμησης του στα περισσότερα κύτταρα, κυρίως στα λευκοκύτταρα και στα αιμοπετάλια.



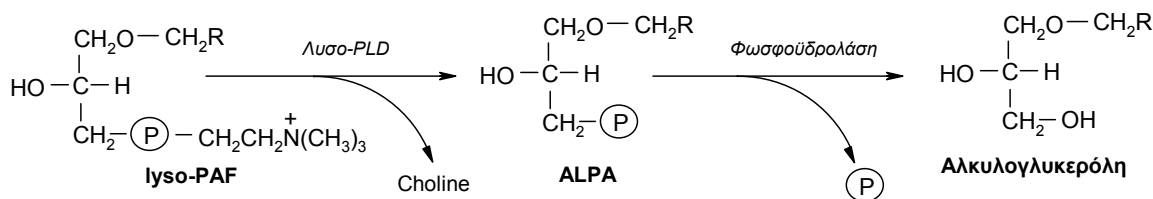
Σχήμα 1.12. Ακυλίωση του λυσο-PAF προς AAGPC.

β) Μπορεί να μεταβολιστεί από λυσο-φωσfolιπάση C σε αλκυλογλυκερόλη, η οποία είναι δυνατόν στη συνέχεια να διασπαστεί περαιτέρω σε γλυκερόλη και λιπαρή αλδεΐδη από την τετραϋδροπτερίδινη-εξαρτώμενη μονοοξυγονάση (Σχήμα 1.13).



Σχήμα 1.13. Υδρόλυση λυσο-PAF προς αλκυλογλυκερόλη.

γ) Μπορεί να υδρολυθεί από μία λυσο-PLD σε ALPA, το οποίο στη συνέχεια μπορεί να μετατραπεί σε AAG με την δράση μίας φωσφοϋδρολάσης (Σχήμα 1.14.).



Σχήμα 1.14. Υδρόλυση λυσο-PAF από PLD.

δ) Ο αιθερικός δεσμός του λυσο-PAF μπορεί να διασπαστεί από την τετραϋδροπερίδιν-εξαρτώμενη μονοοξυγονάση προς λιπαρές αλδεϋδες. Η μονοοξυγονάση διασπά τον αιθερικό δεσμό στα γλυκεριναιθερικά λιποειδή και για να δράσει απαιτεί τουλάχιστον ένα ελεύθερο υδροξύλιο.

1.8.5. Μηχανισμοί έκκρισης PAF από τα κύτταρα

Ο νεοσυντιθέμενος PAF μπορεί είτε να μεταβολιστεί άμεσα είτε να δράσει στο εσωτερικό του κυττάρου και ύστερα να μεταβολιστεί ή να εκκριθεί στον εξωκυτταρικό χώρο και να δράσει σε γειτονικά κύτταρα. Για παράδειγμα στα ενδοθηλιακά κύτταρα ο PAF δεν εκκρίνεται αλλά μετά την σύνθεση του μπορεί να βρεθεί στην εξωτερική πλευρά της πλασματικής μεμβράνης και από εκεί να δράσει ως διακυτταρικός μεσολαβητής. Με αυτόν τον τρόπο ο παραγόμενος από τα ενδοθηλιακά κύτταρα PAF μπορεί να ενεργοποιήσει τα ουδετερόφιλα, ενώ με παρόμοιο μηχανισμό ο PAF των ουδετεροφύλων μπορεί να ενεργοποιήσει την προσκόλληση αιμοπεταλίων σε αυτά δρώντας από την επιφάνειά τους¹³¹. Το ποσό του εκκρινόμενου από τα κύτταρα PAF εξαρτάται από το είδος του κυττάρου και από τις συνθήκες ενεργοποίησης του. Τα ανθρώπινα λευκοκύτταρα μπορούν να εκκρίνουν 0 έως 60% του νεοσυντιθέμενου PAF ανάλογα το εξωτερικό ερέθισμα και τις συνθήκες ενεργοποίησης [151, 152, 153, 154]. Αντίθετα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα εκκρίνουν από λίγο έως καθόλου PAF ανεξαρτήτως ερεθίσματος [155, 156].

1.8.6. Αναστολείς του PAF

Οι αναστολείς του PAF διακρίνονται σε **μη ειδικούς** και **ειδικούς**:

α) Μη ειδικοί αναστολείς PAF: Οι μη ειδικοί αναστολείς του PAF δρουν συνήθως αναστέλλοντας τις δευτερογενείς του δράσεις, μετά την σύνδεση του με τον υποδοχέα του. Στους μη ειδικούς αναστολείς ανήκουν, μεταξύ άλλων, ενώσεις που επιδρούν στα επίπεδα του ενδοκυτταρικού ασβεστίου, είτε δρώντας ως ανταγωνιστές καναλιών Ca^{2+} , είτε αναστέλλοντας την καλμοδουλίνη, είτε συμπλοκοποιώντας το ασβέστιο.

β) Ειδικοί αναστολείς PAF: Οι ειδικοί αναστολείς του PAF δρουν ανταγωνιζόμενοι την σύνδεση του PAF με τον υποδοχέα του. Διακρίνονται σε φυσικούς και συνθετικούς. Οι ευρύτερα μελετημένη ομάδα φυσικών αναστολέων του PAF είναι τα γκινγκολίδια (ginkgolides) και ειδικότερα τα γκινγκολίδια της σειράς B με κύριο εκπρόσωπό τους το BN-52021. Οι αναστολείς αυτοί, οι οποίοι είναι τριτερπένια, έχουν απομονωθεί το 1967 από τα φύλλα του φυτού *Ginkgo biloba*, ενός ιερού για τους Κινέζους δέντρου αφού είχε θεραπευτικές ιδιότητες. Τα τελευταία χρόνια ενώσεις με σημαντική ανασταλτική δράση εναντίον του PAF έχουν βρεθεί και σε ζωικά και φυτικά τρόφιμα [157, 158, 159, 160]. Η ύπαρξη τέτοιων αναστολέων σε τρόφιμα της Μεσογειακής Δίαιτας εξηγεί εν μέρει την σημαντική διατροφική τους αξία όσον αφορά την σημασία τους στην πρόληψη των καρδιοπαθειών.

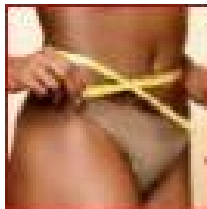
Τα αποτελέσματα κλινικών μελετών όπου χορηγήθηκαν αναστολείς του PAF σε ανθρώπους [161, 162, 163, 164] ποικίλουν. Υπάρχουν μελέτες όπου δεν εμφανίζονται θετικά αποτελέσματα όπως στην αλλεργία και το άσθμα άλλες έδωσαν αισιόδοξα αποτελέσματα αλλά απαιτούν περαιτέρω διερεύνηση όπως σε περιπτώσεις χρόνιας φλεγμονής π.χ. ρευματοειδή αρθρίτιδα, σκλήρυνση κατά πλάκας και φλεγμονές του στομάχου και τέλος άλλες έδωσαν θετικά αποτελέσματα όπου εμφανίστηκε μείωση της απόρριψης του μοσχεύματος σε μεταμοσχεύσεις νεφρού και την μείωση της θνησιμότητας σε σηψαιμικές καταστάσεις ύστερα από χορήγηση BN-52021.

2. ΣΚΟΠΟΣ



Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να μελετηθεί ο μηχανισμός πρόκλησης της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης. Γνωρίζοντας από την βιβλιογραφία ότι στην ασκησιογενή μυϊκή βλάβη συμμετέχει καθοριστικά το φαινόμενο της φλεγμονής, κρίθηκε σκόπιμο να μελετηθεί η συμμετοχή του Παράγοντα Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (PAF) στην προκαλούμενη βλάβη. Προηγούμενη μελέτη στο εργαστήριο μας έδειξε την ανάμιξη του PAF στην εξέλιξη της βλάβης. Στη συγκεκριμένη μελέτη σκοπός ήταν να εξετασθούν τα ένζυμα βιοσύνθεσης και αποικοδόμησης του PAF στον μηχανισμό ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης και του καθυστερημένου μυϊκού πόνου. Η προσεκτική διατροφική αξιολόγηση των συμμετεχόντων στην έρευνα αποτέλεσε πρωτεύουσας σημασίας στόχο, μιας και η εν συνεχεία κατάλληλη εφαρμογή στατιστικών μεθόδων πιθανότατα θα μας βοηθούσε στην εξαγωγή χρήσιμων συμπερασμάτων σχετικά με τον ρόλο συγκεκριμένων θρεπτικών συστατικών.

3. ΜΕΘΟΔΟΙ & ΥΛΙΚΑ



3.1. Δοκιμαζόμενοι της έρευνας

Το δείγμα της έρευνας αποτέλεσαν 7 νέοι ενήλικες άνδρες ύστερα από πρόσκληση για εθελοντική συμμετοχή. Τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων παρουσιάζονται στον πίνακα 1.1. Προϋποθέσεις για την συμμετοχή τους στην έρευνα ήταν:

α) Να μην εμπλέκονται σε προπόνηση αντίστασης (βάρη) ή άλλη μορφή έντονης άσκησης με τα άνω άκρα και ειδικότερα τους καμπτήρες μύες του αγκώνα, για ένα διάστημα τουλάχιστον 6 μηνών πριν από την έναρξη της έρευνας και,

β) Να μην αντιμετωπίζουν κάποιο ορθοπεδικό πρόβλημα ή τραυματισμό άλλα ούτε κάποια ασθένεια, ή λοίμωξη, ή φλεγμονή τις τελευταίες τουλάχιστον εβδομάδες πριν την έναρξη της έρευνας.

Πίνακας 3.1.: Ηλικία και ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων στην έρευνα (N=7).

	M.o.±S.d.	Εύρος
Ηλικία (έτη)	27,6±4,3	22-33
Ύψος (εκ.ατ.)	176,6±6,5	164-185
Βάρος (κιλά)	82,2±8,4	73-95

Από όλους τους δοκιμαζόμενους ζητήθηκε, κατά την διάρκεια της συμμετοχής τους στην έρευνα, να αποφύγουν να χρησιμοποιήσουν οποιοδήποτε αντιφλεγμονώδες ή αναλγητικό φάρμακο, να μην κάνουν υδροθεραπεία, μασάζ ή διατάσεις προκειμένου να ανακουφιστούν από το μυϊκό «πιάσιμο» που θα αντιμετώπιζαν, και να μην συμμετάσχουν σε κανένα πρόγραμμα σωματικής άσκησης. Επιπλέον, σε όλους τους συμμετέχοντες δόθηκε η οδηγία να διατηρήσουν τις διατροφικές τους συνήθειες, αλλά ωστόσο να μην καταναλώσουν οινόπνευματώδη ποτά ούτε κάποιο συμπλήρωμα διατροφής κατά το χρονικό διάστημα της συμμετοχής τους στην έρευνα. Επιπροσθέτως τους ζητήθηκε μόνο πριν από την πρώτη αιμοληψία να έχει προηγηθεί ένα 12ώρο νηστείας. Έχοντας λάβει όλες τις απαραίτητες πληροφορίες, προφορικά και γραπτώς, σχετικά με τους σκοπούς και τις διαδικασίες της έρευνας, οι δοκιμαζόμενοι υπέγραψαν ειδικό έντυπο συγκατάθεσης. Επισημάνθηκε ότι η μη συνεπής τήρηση των οδηγιών και των περιορισμών που τους δόθηκαν συνιστούσε αιτία αποκλεισμού από τις διαδικασίες της έρευνας και έγινε παράκληση για τη συνεπή τήρηση των συστάσεων που τους έγιναν.

3.2. Πρωτόκολλο άσκησης πρόκλησης ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης

Προκειμένου να προκληθεί στους δοκιμαζόμενους ασκησιογενής μυϊκή βλάβη στους καμπτήρες μύες του αγκώνα του μη επιδέξιου χεριού, τους ζητήθηκε, μετά από ολιγόλεπτη προθέρμανση και ορισμένες διατάσεις, να ακολουθήσουν συγκεκριμένο πρωτόκολλο άσκησης [165], με τη βοήθεια του δυναμομέτρου Myoforce (αναλυτική περιγραφή της λειτουργίας του δυναμομέτρου παρουσιάζεται στην παράγραφο 3.3.1.). Το πρωτόκολλο περιλάμβανε 48 μέγιστες εκκεντρικές μυϊκές συστολές (8 σετ των 6 επαναλήψεων) των καμπτήρων μυών του αγκώνα του μη επιδέξιου χεριού. Κατά την εκκεντρική μυϊκή συστολή, ο μυς ενώ προσπαθεί να συσταλεί, επιμηκύνεται λόγω κάποιας μεγαλύτερης εξωτερικής αντίρροπης δύναμης. Στην δικιά μας περίπτωση ο δοκιμαζόμενος καλούνταν να αντισταθεί με όλη του τη δύναμη στην κίνηση του βραχίονα του δυναμομέτρου το οποίο εξανάγκαζε τελικά το «άνοιγμα» της άρθρωσης του αγκώνα μεταξύ των προεπιλεγμένων θέσεων. Συγκεκριμένα, σε κάθε εκκεντρική συστολή, το εύρος της κίνησης ήταν 90° με αρχική γωνία του αγκώνα τις 110° και τελική τις 20°, ενώ η γωνιακή ταχύτητα του ήταν 30°/sec. Μεταξύ δύο διαδοχικών επαναλήψεων του ιδίου σετ παρείχετο στον δοκιμαζόμενο μικρό χρονικό διάστημα ξεκούρασης (~ 10 sec). Κατά τη διάρκεια αυτού του χρονικού διαστήματος ο βραχίονας του δυναμομέτρου επέστρεφε από την τελική θέση (160°) στην αρχική του θέση (70°) μετά από κατάλληλη εντολή από τον ερευνητή μέσω του λογισμικού, χωρίς να απαιτείται καμία ενεργητική προσπάθεια από τον δοκιμαζόμενο («γυρίζει μόνο του»). Μετά την ολοκλήρωση κάθε σετ των 6 επαναλήψεων, παρείχετο στον δοκιμαζόμενο 1 λεπτό ξεκούρασης.

Πρέπει να σημειωθεί πως προκειμένου να αποφευχθούν ανεπιθύμητοι τραυματισμοί λόγω μη έγκαιρης ετοιμότητας του δοκιμαζόμενου, η έναρξη κάθε εκκεντρικής συστολής γινόταν, μετά βέβαια από ένα ενημερωτικό σήμα από τον ερευνητή αλλά, πάντοτε με την τελική απόφαση να ανήκει στον δοκιμαζόμενο. Συγκεκριμένα, η κίνηση του ηλεκτρικού κινητήρα (άρα και του βραχίονα) ξεκινούσε μόλις ο αισθητήρας ροπής «αντιλαμβανόταν» προσπάθεια κάμψης του αγκώνα (μεγαλύτερη από κάποιο κατώφλι ροπής), ενώ αντίθετα σταματούσε σε οποιοδήποτε σημείο της τροχιάς, εάν «αντιλαμβανόταν» απουσία ιδιαίτερης προσπάθειας (μικρότερη από το ίδιο κατώφλι ροπής). Με αυτόν τον τρόπο παράλληλα, εξασφαλιζόταν σε μεγάλο βαθμό ότι ο δοκιμαζόμενος θα ασκούσε την μέγιστη δυνατή προσπάθεια σε όλη την τροχιά της κίνησης.

3.3. Μετρήσεις

Οι ακόλουθοι δείκτες χρησιμοποιήθηκαν προκειμένου να αξιολογηθεί η προκαλούμενη μυϊκή βλάβη καθώς και η φλεγμονώδης απάντηση:

- μέγιστη ισομετρική ροπή (MIT) των καμπτήρων μυών του αγκώνα υπό γωνία άρθρωσης 90°,
- το εύρος κίνησης της άρθρωσης του αγκώνα (range of motion - ROM), η ικανότητα μέγιστης βράχυνσης των καμπτήρων μυών του αγκώνα (γωνία μέγιστης κάμψης του αγκώνα, Flexed Angle – FANG) και η αυτόματη μυϊκή βράχυνση (γωνία ανάπαυσης του αγκώνα σε απουσία μυϊκής σύσπασης, Relaxed Angle – RANG)
- η περίμετρος του βραχιονίου στο μέσον του (CIRC)
- η αντίληψη της έντασης του καθυστερημένου μυϊκού πόνου (VAS)
- τα επίπεδα της PAF-ακετυλοτρασφεράσης (PAF-AT) της remodelling πορείας, της PAF-ακετυλοϋδρολάσης (PAF-AH), της κρεατινικής κινάσης (CK), προσδιορισμό πρωτεΐνης ορού με τη μέθοδο Lowry, τη μέθοδο Bradford, γενική αίματος, των λευκών αιμοσφαιρίων και των υποομάδων τους.

Όλες οι ανωτέρω παράμετροι μετρήθηκαν αμέσως πριν την πρόκληση της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης (0h) και σε έξι μεταγενέστερες χρονικές στιγμές οι οποίες ήταν 30 λεπτά, 6, 24, 48, 72 και 96 ώρες μετά την πρόκληση της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης. Μετά την πρώτη αιμοληψία (χρόνος 0) οι εθελοντές έμεναν σε ηρεμία για τουλάχιστον 10 λεπτά πριν ξεκινήσουν το πρωτόκολλο άσκησης. Να σημειωθεί πως οι μετρήσεις για όλους τους δοκιμαζόμενους γίνονταν πρωινές ώρες (9 με 10.00π.μ.). Εκτός των προαναφερθεισών παραμέτρων που μετρήθηκαν σε 7 διαφορετικά χρονικά σημεία, εκτιμήθηκε η διατροφική πρόσληψη μέσω ερωτηματολογίου για διάφορα θρεπτικά συστατικά. Στην συνέχεια ακολουθεί λεπτομερειακή περιγραφή όλων των μεθόδων μέτρησης που εφαρμόστηκαν.

3.3.1. Προσδιορισμός μυϊκής δύναμης

α) Περιγραφή δυναμομέτρου

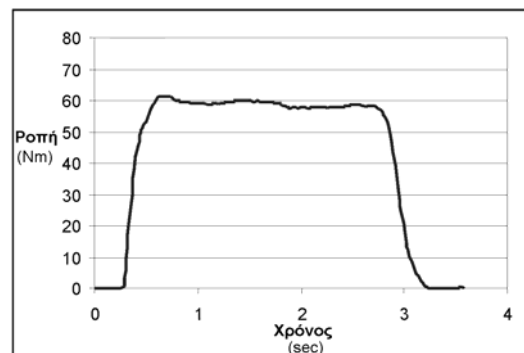
Η μέτρηση της μέγιστης ισομετρικής ροπής, πραγματοποιήθηκε με την βοήθεια του ισομετρικού δυναμομέτρου Myoforce (Εικόνα 3.1.) το οποίο είχε αναπτυχθεί σε προηγούμενη έρευνα με παρόμοιες ανάγκες [166]. Το δυναμόμετρο αυτό αποτελείται από ένα ειδικά τροποποιημένο κρεβάτι, την δυναμομετρική μονάδα, την ηλεκτρονική μονάδα, και ένα φορητό ηλεκτρονικό υπολογιστή με το απαραίτητο λογισμικό εγκατεστημένο (Εικ.3.1.α.). Στη δική μας περίπτωση το δυναμόμετρο είχε τροποποιηθεί και αντί του ειδικού κρεβατιού οι εθελοντές καθόταν σε ενσωματωμένο πάγκο. Τα κύρια εξαρτήματα που απαρτίζουν την

δυναμομετρική μονάδα είναι: ένας ηλεκτρικός κινητήρας συνεχούς ρεύματος (ισχύος 1HP, τάσης 24V και μέγιστης ταχύτητας 3000 rpm), ένας μειωτήρας στροφών γωνιακού τύπου (με λόγο μείωσης 1:280), ένας βραχίονας με χειρολαβή, αισθητήρες ροπής και γωνίας (load cell και ποτενσιόμετρο ακριβείας αντίστοιχα), ειδικό κύκλωμα ενίσχυσης σήματος αισθητήρα ροπής και ένας λαμπτήρας τύπου φλας. Το σημαντικότερο κομμάτι της ηλεκτρονικής μονάδας είναι ο κατάλληλα προγραμματισμένος μικροεπεξεργαστής ο οποίος επεξεργάζεται τα σήματα των αισθητήρων, επικοινωνεί αμφίδρομα με τον ηλεκτρονικό υπολογιστή (μέσω σειριακού πρωτοκόλλου RS-232) και ελέγχει την λειτουργία του κινητήρα διαμέσου της συνεργασίας του με το κύκλωμα οδήγησης του τελευταίου (drive). Το λογισμικό που αναπτύχθηκε σε γλώσσα προγραμματισμού Visual Basic 6 παρέχει στον χρήστη την δυνατότητα αφενός της επιλογής ρυθμίσεων λειτουργίας του δυναμομέτρου (π.χ. Τύπος συστολής: εκκεντρικός, γωνιακή ταχύτητα: 30°/sec, χέρι: αριστερό, εύρος κίνησης: 110° έως 30°) και αφετέρου της εμφάνισης (σε πραγματικό χρόνο), καταγραφής και αποθήκευσης των μετρήσεων ροπής και θέσης. (π.χ. διάγραμμα ροπής – χρόνου, Εικόνα 3.1.β.). Η συχνότητα δειγματοληψίας (ροπή και γωνία) ρυθμίστηκε στα 1000Hz.

α)



β)



Εικόνα 3.1. α) Το ισομετρικό δυναμόμετρο «Myoforce», **β)** Διάγραμμα ροπής-χρόνου μιας τυπικής ισομετρικής συστολής.

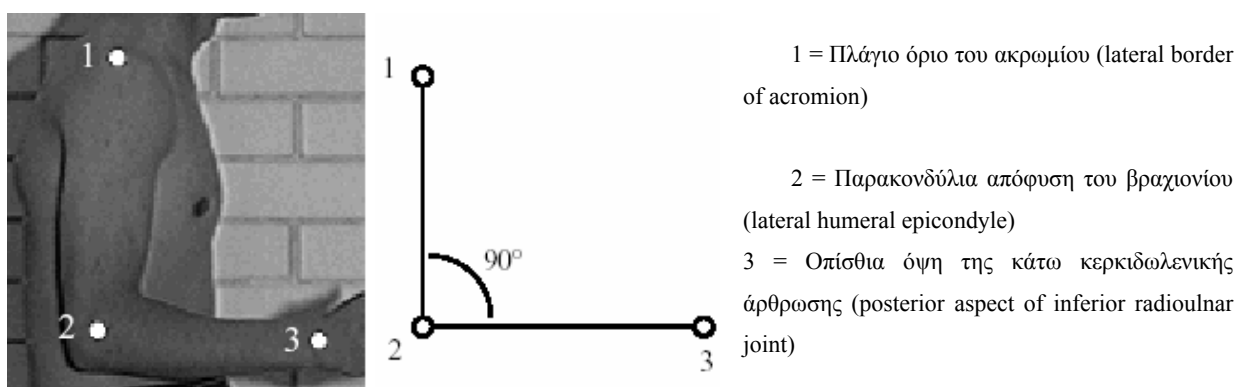
β) Περιγραφή μέτρησης μέγιστης ισομετρικής ροπής

Κάθε άτομο πριν τη διαδικασία μέτρησης έκανε προθέρμανση περίπου διάρκειας 5 λεπτών με απλές ασκήσεις και ελαφριές διατάσεις. Στη συνέχεια καθόταν στον πενσωματωμένο πάγκο και έφερνε το σώμα του σε κατάλληλη θέση ώστε να ευθυγραμμιστούν ο άξονας περιστροφής του αγκώνα με τον άξονα περιστροφής του βραχίονα του μηχανήματος και έπιανε την ειδική χειρολαβή. Ο βραχίονας με την βοήθεια του ηλεκτρικού κινητήρα οδηγείτο στην επιθυμητή θέση ισομετρικής αξιολόγησης (γωνία άρθρωσης του αγκώνα = 90°) και σταθεροποιείτο.

Κατά την διαδικασία της ισομετρικής αξιολόγησης (κάμψη του αγκώνα), κάθε εξεταζόμενο άτομο συμβουλευόταν να αναπτύξει μέγιστη δύναμη με τον ταχύτερο δυνατό ρυθμό και να προσπαθήσει να διατηρήσει μέγιστα επίπεδα δύναμης για χρονικό διάστημα 3 sec. Η διαδικασία εξοικείωσης με το μηχάνημα περιλάμβανε 5-10 ήπιες επαναλήψεις και 1-2 μέγιστες προσπάθειες πριν από την έναρξη της καταγραφής των δεδομένων της ισομετρικής αξιολόγησης. Λεκτική ενθάρρυνση παρείχεται σε κάθε εξεταζόμενο άτομο κατά την διάρκεια κάθε μυϊκής προσπάθειας, με τις ίδιες πάντα εκφράσεις (π.χ. «Πάμε, πάμε»). Ανάμεσα σε διαδοχικές ισομετρικές συστολές, παρέχονταν πάντοτε δύο λεπτά ξεκούρασης. Συνολικά γινόταν 3 προσπάθειες οι οποίες καταγράφονταν και για τους μετέπειτα υπολογισμούς χρησιμοποιήθηκε η μέγιστη τιμή ροπής εκ των τριών προσπαθειών.

3.3.2. Προσδιορισμός γωνιών άρθρωσης του αγκώνα

Το εύρος κίνησης της άρθρωσης του αγκώνα (range of motion, ROM) εκτιμήθηκε μετρώντας την γωνία μέγιστης κάμψης του αγκώνα (Flexed Angle, FANG) και την γωνία ανάπαυσης του αγκώνα σε απουσία μυϊκής σύσπασης (Relaxed Angle, RANG), εφαρμόζοντας μία μέθοδο γωνιομέτρησης που βασίζεται σε ψηφιακή φωτογράφιση [167]. Με την βοήθεια ενός ημι-μόνιμου μαρκαδóρου σημαδεύονταν συγκεκριμένα ανατομικά σημεία (Εικ.3.2.) στα οποία τοποθετούνταν κάθε φορά για τις ανάγκες της φωτογράφισης στρογγυλά αυτοκόλλητα έντονου χρώματος (διαμέτρου ~ 1 εκατ.). Αυτό μας εξασφάλιζε σταθερότητα στην τοποθέτηση των αυτοκόλλητων στις διαφορετικές χρονικές στιγμές εξέτασης.



Εικόνα. 3.2. Παράδειγμα γωνιομέτρησης αγκώνα μέσω μεθόδου ψηφιακής φωτογράφισης.

Στη συνέχεια, οι ληφθείσες ψηφιακές φωτογραφίες εισάγονταν σε λογισμικό επεξεργασίας εικόνας, όπου με την χρήση κατάλληλου «εργαλείου» υπολογιζόταν η γωνία που σχημάτιζαν μεταξύ τους τα τρία αυτοκόλλητα έντονου χρώματος. Η μέτρηση της FANG γινόταν καθώς ο δοκιμαζόμενος προσπαθούσε να κάμψει τον αγκώνα όσο το δυνατόν

περισσότερο, με στόχο να ακουμπήσει τον ώμο του με την παλάμη του, κρατώντας όμως τον αγκώνα πλάι στο σώμα του. Η μέτρηση της RANG γινόταν καθώς ο δοκιμαζόμενος άφηνε τελείως χαλαρό το χέρι του στο πλάι του σώματός του. Το ROM υπολογιζόταν αφαιρώντας από την τιμή της FANG την τιμή της RANG. Κάθε γωνία του αγκώνα μετριόταν τρεις φορές και ο μέσος όρος των τριών τιμών χρησιμοποιήθηκε στους μετέπειτα υπολογισμούς.

Η κάθε φωτογράφιση γινόταν από μικρή απόσταση (~ 2 μέτρα), με χρήση τρίποδα στήριξης της μηχανής και προσέχοντας πάντοτε το επίπεδο που όριζε το εξεταζόμενο χέρι να είναι κάθετο ως προς την νοητή ευθεία του φακού της φωτογραφικής μηχανής, ώστε η μέτρηση να είναι όσο το δυνατόν πιο έγκυρη. Για τις ανάγκες τις μεθόδου χρησιμοποιήθηκε ψηφιακή κάμερα SONY Cyber-shot DSC-S90 με 4,1 Mpixels και κατάλληλο λογισμικό επεξεργασίας εικόνας (CorelDraw v8).

3.3.3. Μέτρηση περιμέτρου βραχιονίου

Η περίμετρος του βραχιονίου στο μέσον του προσδιορίστηκε με την χρήση μεζούρας ακριβείας στο μέσον της ευθείας που ορίζουν το πλάγιο όριο του ακρωμίου και η παρακονδύλια απόφυση του βραχιονίου. Το σημείο μέτρησης της περιμέτρου επίσης «σημαδευόταν» με την χρήση του μαρκαδόρου, προκειμένου να γίνεται στο ίδιο ύψος η μέτρηση της περιμέτρου στα διάφορα χρονικά σημεία εξέτασης.

3.3.4. Αντίληψη καθυστερημένου μυϊκού πόνου

Για την αξιολόγηση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου χρησιμοποιήθηκε μία κλίμακα υποκειμενικής αξιολόγησης (Visual Analog Scale – VAS), η οποία συνίσταται σε μία ευθεία γραμμή μήκους 10 εκατ. όπου η μία της άκρη αντιστοιχεί στην ένδειξη «καθόλου πόνος» και η άλλη της στην ένδειξη «ανυπόφορος πόνος» [168]. Οι δοκιμαζόμενοι καλούνταν να σημειώνουν το σημείο της κλίμακας που καλύτερα αντανακλούσε τον πόνο που αισθανόταν, όταν ο ερευνητής ψηλαφούσε την περιοχή της κατάφυσης του βραχιονίου μυός. Η κλίμακα αυτή έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως σε ανάλογες έρευνες και έχει δειχθεί ότι αποτελεί έγκυρη και αξιόπιστη κλίμακα λόγου (αριθμητική) για την αξιολόγηση του πόνου σε κλινικές ή πειραματικές συνθήκες. Παρέχει δε την δυνατότητα παραμετρικής στατιστικής ανάλυσης των δεδομένων.

3.3.5. Προσδιορισμοί στο αίμα

Σε κάθε αιμοληψία λαμβάνονταν ~20 ml αίματος από την μέση (λοξή) φλέβα του πήχη του άκρου που δεν υποβαλλόταν σε άσκηση (επιδέξιο). Από το συνολικό λαμβανόμενο όγκο αίματος, 2 ml προορίζονταν για προσδιορισμό γενικής αίματος, 5 ml για τον προσδιορισμό

του ενζύμου βιοσύνθεσης του PAF (PAF-AT) στο ομογενοποίημα των λευκοκυττάρων, 5 ml για προσδιορισμό του PAF στο μέλλον και 8 ml για προσδιορισμό CPK, PAF-AH στον ορό. Τα δείγματα ορού φυλάσσονται σε βαθιά κατάψυξη (-80°C) μέχρι να αναλυθούν. Στην συνέχεια ακολουθεί αναλυτική περιγραφή όλων των μεθόδων προσδιορισμού στο αίμα που εφαρμόστηκαν για τις ανάγκες της έρευνας.

3.3.5.1. Γενική αίματος

Μετά τη συλλογή αίματος από τους εθελοντές, μέρος του (2 ml) συλλέγεται σε σωληνάκια με αντιπηκτικό διάλυμα EDTA. Το συλλεγμένο αίμα αναλύεται σε αυτόματο αναλυτή γενικής αίματος CELL DYN 1200 όπου λαμβάνονται τυπωμένες οι εξής αναλύσεις:

- ✓ Ολικά Λευκά (WBC)
- ✓ Λεμφοκύτταρα (LYM) και το % τους επί των λευκών
- ✓ Μονοπύρηνια (MID) και το % τους επί των λευκών
- ✓ Κοκκιοκύτταρα (GRA) και το % τους επί των λευκών
- ✓ Ερυθρά (RBC)
- ✓ Αιμοσφαιρίνη (HGB)
- ✓ Αιματοκρίτης (HCT)
- ✓ Μέσος όγκος ερυθρών (MCV)
- ✓ Μέση συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης (MCH)
- ✓ Μέση συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης ανά ερυθρό (MCHC)
- ✓ Εύρος κατανομής μεγέθους ερυθροκυττάρων (RDW)
- ✓ Αιμοπετάλια (PLT)
- ✓ Μέσος όγκος αιμοπεταλίων (MPV)

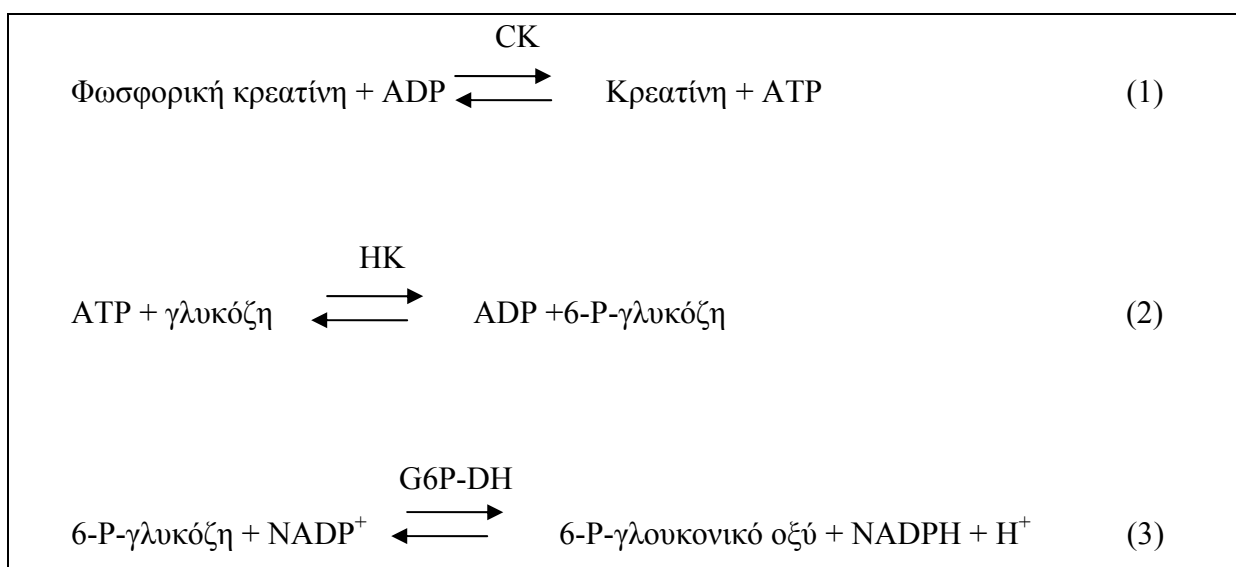
3.3.5.2. Προσδιορισμός δραστηριότητας κρεατινικής κινάσης (CK) σε ορό αίματος

Αντιδραστήρια - Όργανα

- Προκατασκευασμένα αντιδραστήρια (SGMIItalia):
- R1: Οξικό μαγνήσιο 10 mM σε ρυθμιστικό δ/μα ιμιδαζόλης 100 mM, pH 7,1
- R2: ADP 2 mM, AMP 5 mM, πενταφωσφορική διαδενοσίνη 10 μ M, NADP 2mM, εξοκινάση (HK) ≥ 3500 U/L, αφυδρογονάση της 6-P-γλυκόζης (G6P-DH) ≥ 2000 U/L, N-ακέτυλο-κυστεΐνη 20 mM, φωσφορική κρεατίνη 30 mM, D-γλυκόζη 20 mM, EDTA 2 mM.
- Φωτόμετρο Novaspec II (Pharmacia Biotech, Cambridge, England)
- Υδατόλουτρο για ρύθμιση θερμοκρασίας στους 37°C

Αρχή μεθόδου [169]

Η CK καταλύει την αντίδραση μεταξύ φωσφορικής κρεατίνης και ADP προς κρεατίνη και ATP. Το ATP, παρουσία γλυκόζης και εξοκινάσης (HK), δίνει ADP και 6-P γλυκόζη η οποία με την επίδραση της αφυδρογονάσης της 6-P-γλυκόζης (G6P-DH) δίνει 6-φωσφογλουκονικό οξύ ενώ ταυτόχρονα το NADP^+ ανάγεται προς NADPH. Ο ρυθμός παραγωγής του NADPH καθορίζεται φωτομετρικά (340 nm) και είναι ευθέως ανάλογος με την δραστητικότητα της CK στο δείγμα.



Σχήμα 3.1. Αλληλουχία αντιδράσεων προσδιορισμού της CK.

Αναλυτική πορεία

Ο προσδιορισμός της δραστητικότητας CK γίνεται με προκατασκευασμένα αντιδραστήρια της εταιρίας SGMItalia (R1 και R2) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή ως εξής : Διαλύεται το περιεχόμενο του φιαλιδίου που περιέχει το αντιδραστήριο R1 με το περιεχόμενο του φιαλιδίου που περιέχει το αντιδραστήριο R2 NADH, προκειμένου να δημιουργηθεί το διάλυμα «εργασίας», το οποίο παραμένει για 10 min στους 37°C (στο υδατόλουτρο) πριν χρησιμοποιηθεί. Παράλληλα, θερμοστατούνται στους 37°C οι κυψελίδες του φωτομέτρου που θα χρησιμοποιηθούν. Στην συνέχεια, σε κυψελίδα φωτομέτρου αναμιγνύεται 1,5 ml από το διάλυμα «εργασίας» με ορισμένη ποσότητα (50 μL) από το δείγμα ορού που πρόκειται να ελεγχθεί ως προς την δραστητικότητα της CK. Ύστερα από ανακίνηση και παραμονή για 2 min στους 37°C, μετρίεται η απορρόφηση στα 340 nm. Παίρνονται ακόμα τρεις μετρήσεις, μία ανά λεπτό και υπολογίζεται ο μέσος όρος της διαφοράς απορρόφησης ο οποίος πολλαπλασιαζόμενος με κατάλληλο συντελεστή, που δίνεται από την εταιρεία ($\text{CK} = \Delta A / \text{min} \times 4921$), μας δίνει την ενζυμική δραστητικότητα της CK σε U/L.

3.3.5.3. Προσδιορισμός συνολικής πρωτεΐνης σε ορό αίματος με τη μέθοδο Lowry

Αντιδραστήρια - Όργανα

- Αντιδραστήριο Folin Ciocalteu (περιέχει άλατα Mo, W και φωσφορικό οξύ), Merck
- Αλβουμίνη βοείου ορού (BSA) 3,3 mg/10 ml : Διαλύονται 33 mg BSA σε 100 ml νερό ή ρυθμιστικό διάλυμα
- 2 % Na_2CO_3 σε 0,1N NaOH (Διάλυμα Α)
- 0,5 % $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ σε 1% τρυγικό καλιονάτριο (Διάλυμα Β)
- Διάλυμα Α + Διάλυμα Β σε αναλογία 50:1 (Διάλυμα Γ)
- Φωτόμετρο 4040-LKB Biochrom, Novaspec

Αρχή μεθόδου [170]

Ο Cu^{2+} , σε αλκαλικό περιβάλλον, σχηματίζει σύμπλοκο με τους πεπτιδικούς δεσμούς, με αποτέλεσμα να εμφανίζει ελαφρά ιώδες χρώμα, με προσθήκη του διαλύματος Γ. Στη συνέχεια με προσθήκη του αντιδραστήριου Folin Ciocalteu προκαλείται ελεγχόμενη αναγωγή των μολυβδαινικών και των βολφραμικών, που περιέχονται στο αντιδραστήριο αυτό, με σύγχρονη ανάπτυξη του χρώματος, που τελικά φωτομετρείται.

Αναλυτική πορεία

Σε ορισμένο όγκο δείγματος (μέχρι 50 μL) προστίθενται νερό και ρυθμιστικό διάλυμα, στο οποίο είναι διαλυμένο το δείγμα, έτσι ώστε ο συνολικός όγκος του ρυθμιστικού να είναι 50 μL και ο τελικός όγκος 600 μL . Στο διάλυμα αυτό προστίθενται 3 ml διαλύματος Γ και το μίγμα αφήνεται για 10 min σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια προστίθενται 0,3 ml διαλύματος Folin Ciocalteu με σύγχρονη ανάδευση και αφήνονται τα δείγματα για 30 min σε ηρεμία για να αναπτυχθεί το τελικό χρώμα. Παράλληλα, κατασκευάζεται πρότυπη καμπύλη αναφοράς με προσδιορισμό BSA σε διάφορες συγκεντρώσεις (0,6 ml, 0,2 ml και 0,1 ml από το διάλυμα 3,3 mg/10ml) και γίνεται τυφλός προσδιορισμός. Επειδή τα ρυθμιστικά διαλύματα ομογενοποίησης και αναδιάλυσης επηρεάζουν την ανάπτυξη του χρώματος, τόσο στα δείγματα όσο και στα πρότυπα διαλύματα BSA προστίθεται κατάλληλη ποσότητα από το ρυθμιστικό διάλυμα, στο οποίο είναι διαλυμένο το δείγμα, ώστε ο συνολικός του όγκος να είναι 50 μL . Τα διαλύματα φωτομετρούνται στα 750 nm. Ο υπολογισμός της περιεκτικότητας του δείγματος σε πρωτεΐνη γίνεται με βάση την πρότυπη καμπύλη αναφοράς.

3.3.5.4. Προσδιορισμός συνολικής πρωτεΐνης σε ορό αίματος με τη μέθοδο Bradford

Αντιδραστήρια - Όργανα

- Διάλυμα αποθήκευσης: αλβουμίνη βοδινού ορού (BSA) 100 $\mu\text{g/ml}$: αραιώνεται σε νερό με αναλογία $\frac{1}{4}$, οπότε προκύπτει διάλυμα 25 $\mu\text{g/ml}$ BSA
- Προκατασκευασμένο αντιδραστήριο Bradford (Sigma) το οποίο είναι διάλυμα Brilliant Blue G και φωσφορικού οξέος σε μεθανόλη.
- Απεσταγμένο νερό
- Κυκλοαναδευτήρας (vortex)
- Πλάκα (plate) 96 πηγαδιών για φωτομέτρηση των δειγμάτων
- Φωτόμετρο Elisa Reader Tecan Sunrise Remote F039300

Αρχή μεθόδου

Η μέθοδος Bradford περιλαμβάνει την τοποθέτηση της όξινης χρωστικής Coomassie Brilliant Blue G στο διάλυμα των πρωτεϊνών. Η χρωστική συμπλέκεται με τα βασικά και αρωματικά αμινοξέα των πρωτεϊνών προκαλώντας μια μετατόπιση της μέγιστης απορρόφησης της χρωστικής από 465, καφέ χρώμα, σε 595 nm, μπλε χρώμα. Το σύμπλοκο της πρωτεΐνης-χρωστικής σταθεροποιείται σε 5 λεπτά και είναι σταθερό για 45 λεπτά. Η απορρόφηση είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης. Η γραμμικότητα της ανάλυσης κυμαίνεται από 1 μg σε 10 μg πρωτεΐνης, ως προς BSA.

Αναλυτική πορεία

Παρασκευάζονται πρότυπα διαλύματα BSA των οποίων οι συγκεντρώσεις κυμαίνονται από 2,5-25 $\mu\text{g} / \text{mL}$. Παρασκευάζεται διάλυμα του άγνωστου δείγματος σε νερό, με προσθήκη 10 μl δείγματος (προηγείται έντονη ανάδευση στον κυκλοαναδευτήρα) σε 190 μl απεσταγμένου νερού ανά πηγάδι. Τα διαλύματα των προτύπων και των αγνώστων δειγμάτων πρέπει να έχουν τελικό όγκο 0,2 mL. Οι ποσότητες των αντιδραστηρίων για την πρότυπη καμπύλη αναγράφονται παρακάτω:

$\mu\text{g/ml}$	μl (25 $\mu\text{g/ml}$)	H_2O
0	-	200
2,5	20	180
5	40	160
7,5	60	140
10	80	120
15	120	80
20	160	40
25	200	-

Προστίθεται 50 μl ανά πηγάδι αντιδραστηρίου Bradford και μετά από παραμονή 10 λεπτών σε θερμοκρασία δωματίου, μετράται η απορρόφηση των προτύπων και των

δειγμάτων στα 630 nm. Ο υπολογισμός της περιεκτικότητας του δείγματος σε πρωτεΐνη γίνεται με βάση την πρότυπη καμπύλη αναφοράς

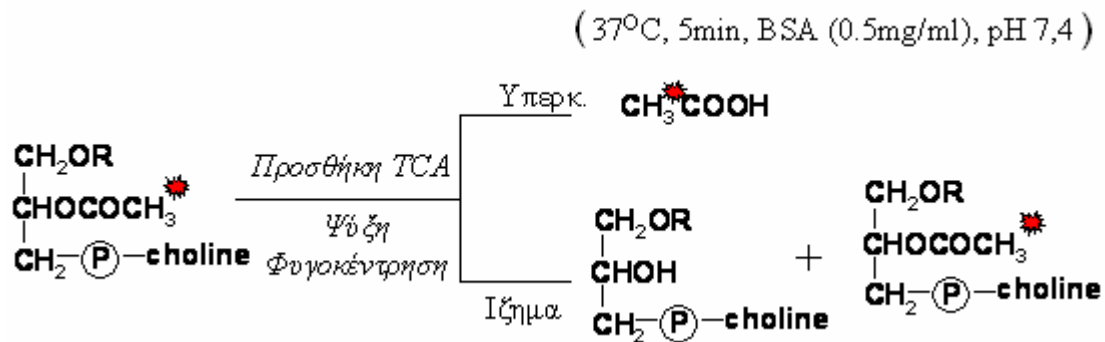
3.3.5.5. Προσδιορισμός δραστηριότητας PAF ακετυλοϋδρολάσης (PAF-AH) σε ορό αίματος

Αντιδραστήρια - Όργανα

- PAF (C_{16:0}), Sigma
- BSA ελεύθερης λιπαρών οξέων, Sigma
- Ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCl (50 mM-pH 7,4) : Διαλύονται 0,605 g Tris σε νερό, ρυθμίζεται το pH με HCl 1 M στο 7,4 και αραιώνεται το διάλυμα στα 100 ml νερό.
- Διάλυμα φύλαξης (stock) PAF σε CHCl₃/MeOH (1:1), 10⁻⁴ M
- Διάλυμα BSA 100 mg/ml : Διαλύονται 1000 mg BSA ελεύθερης λιπαρών οξέων (Sigma) σε 10 ml ρυθμιστικού διαλύματος Tris-HCl (50 mM-pH 7,4)
- Διάλυμα BSA 10 mg/ml : Διαλύονται 100 mg BSA ελεύθερης λιπαρών οξέων (Sigma) σε 10 ml ρυθμιστικού διαλύματος Tris-HCl (50 mM-pH 7,4)
- Διάλυμα PAF σε BSA (10 mg/ml) συγκέντρωσης 800 μM και ειδικής δραστηριότητας 1000 cpm/nmol (διάλυμα εργασίας) : Φέρεται κατάλληλη ποσότητα διαλύματος PAF 10⁻⁴ M σε βιδωτό σωλήνα, εξατμίζεται ο διαλύτης σε ρεύμα αζώτου και το ίζημα αναδιαλύεται σε κατάλληλη ποσότητα διαλύματος BSA 10 mg/ml έτσι ώστε να προκύψει συγκέντρωση PAF 800 μM. Παρασκευάζεται καινούριο διάλυμα κάθε φορά. Προσθήκη 5 μL από το διάλυμα αυτό στον ενζυμικό προσδιορισμό δίνουν τελική συγκέντρωση PAF 20 μM (20.000 cpm) και τελική συγκέντρωση BSA 0,25 mg/ml.
- Διάλυμα TCA 40%
- Μικροφυγόκεντρος
- Ανακινούμενο υδρόλουτρο
- Σωλήνες eppendorf

Αρχή μεθόδου [171]

Ο προσδιορισμός της δραστηριότητας της PAF-AH βασίζεται στη μέτρηση της ραδιενέργειας του ραδιενεργού προϊόντος ([H³]-CH₃COOH) που απελευθερώνεται στο υπερκείμενο διάλυμα μετά την επώαση του ενζυμικού παρασκευάσματος με [H³]-PAF, παρουσία BSA και την καταβύθιση των πρωτεϊνών με TCA. Το επισημασμένο οξικό οξύ διαχωρίζεται από τον μη αντιδρών [H³]-PAF αφού αυτός καταβυθίζεται ως σύμπλοκο με την BSA. Διαγραμματική αναπαράσταση του προσδιορισμού φαίνεται στο σχήμα 3.1.



Σχήμα 3.2. Συνοπτική απεικόνιση του προσδιορισμού της PAF-AH.

Αναλυτική πορεία

Σε σωλήνα erppendorf φέρονται το ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCl (50 mM-pH 7,4), 5 μ L διαλύματος εργασίας λυσο-PAF (τελική συγκέντρωση 20 μ M), , το ρυθμιστικό διάλυμα αναδιάλυσης και η αντίδραση ξεκινά με την προσθήκη του ενζυμικού παρασκευάσματος. Επειδή η προστιθέμενη ποσότητα του ενζυμικού παρασκευάσματος, το οποίο είναι διαλυμένο σε ρυθμιστικό διάλυμα αναδιάλυσης, μπορεί να κυμαίνεται από 10-50 μ L προστίθεται κατάλληλη ποσότητα ρυθμιστικού διαλύματος ώστε όλοι οι προσδιορισμοί να περιέχουν 50 μ L ρυθμιστικού διαλύματος αναδιάλυσης. Ο τελικός όγκος του μίγματος επώασης είναι 200 μ L. Η επώαση της αντίδρασης γίνεται σε θερμοστατούμενο υδρόλουτρο υπό ανάδευση στους 37°C για 15-30 min. Μετά το τέλος της αντίδρασης προσθέτονται 2 μ L διαλύματος BSA 100 mg/ml για να εξασφαλιστεί η ποσοτική δέσμευση του μη αντιδρώντος PAF και μετά από 1 min προστίθενται 64 μ L ψυχρού διαλύματος TCA 40 % (τελικός όγκος TCA 10 %). Το διάλυμα αφήνεται σε πάγο για 30 min ώστε να καταβυθιστούν οι πρωτεΐνες και στην συνέχεια φυγοκεντρείται σε μικροφυγόκεντρο για 2 min. Παραλαμβάνονται 50-100 μ L από το υπερκείμενο και μεταφέρονται, με την βοήθεια του υγρού σπινθηρισμού (dioxane base), σε vials για την μέτρηση της ραδιενέργειας. Γίνεται επίσης και δείγμα αναφοράς, το οποίο δεν περιέχει ενζυμικό παρασκεύασμα. Η ειδική δραστηριότητα της PAF-AH υπολογίζεται από τον τύπο :

$\frac{\text{Ειδική δραστηριότητα PAF-AH (nmol/min/mg πρωτεΐνης)}}{[RA_{\text{δείγματος}} (\text{cpm}) - RA_{\text{τυφλού}} (\text{cpm})] \times \text{ειδική δραστηριότητα } [H^3]\text{-PAF (nmol/cpm)}} = \frac{\text{Χρόνος επώασης (min)} \times \text{Ποσότητα ενζυμικού παρασκευάσματος (mg πρωτεΐνης)}}{}$
--

3.3.5.6. Παραλαβή λευκοκυττάρων απο αίμα ανθρώπου

Αντιδραστήρια - Όργανα

- Διάλυμα δεξτράνης 3% (μέσο Mr = 510.000): Διλύονται 3 g δεξτράνης σε 100 ml NaCl 0,15 M
- Διάλυμα αναδιάλυσης Tris (50 mM-pH 7,4)-Suc 0,25 M-DTT 1 mM : Διαλύονται 0,605 g Tris, 8,55 g σακχαρόζης και 0,0154 g DTT σε 100 ml νερό. Το pH του διαλύματος ρυθμίζεται με HCl 1 N
- Ρυθμιστικό διάλυμα λύσης των ερυθροκυττάρων (lysis buffer) : Διαλύονται 8,29 g NH₄Cl, 1,0012 g KHCO₃ και 0,038 g EDTA σε 1 L απιονισμένο νερό
- Φυγόκεντρος
- Sonicator

Αναλυτική πορεία

Λαμβάνονται 5 ml αίματος σε ηπαρισμένο σωλήνα, Προσθέτουμε 1,7 ml διάλυμα δεξτράνης 3% διαλυμένης σε NaCl 0,15 M. Το μίγμα αφήνεται για καταβύθιση σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα. Λαμβάνεται το υπερκείμενο, πλάσμα πλούσιο σε λευκοκύτταρα (LRP), και φυγοκεντρείται 500 g x 10 min στους 20 °C. Αποχύνεται το υπερκείμενο και το ίζημα των κυττάρων αναδιαλύεται σε 5 ml ρυθμιστικό διάλυμα λύσης των ερυθροκυττάρων. Παραμονή για 5 min. Φυγοκέντρωση στα 300 g x 10 min στους 20 °C. Το υπερκείμενο απορρίπτεται και το ίζημα των κυττάρων αναδιασπείρεται σε 1ml ρυθμιστικό διάλυμα αναδιάλυσης. Φυλάσσεται στους – 80 °C μέχρι την μέτρηση της δραστηρότητας της PAF-AT. Την ημέρα της μέτρησης πραγματοποιήθηκε λύση των κυττάρων με υπέρυχους, φυγοκέντρωση στα 500 g x 10 min στους 4 °C και στο υπερκείμενο (ομογενοποίηση των κυττάρων) πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός πρωτεΐνης με τη μέθοδο Bradford.

3.3.5.7. Προσδιορισμός δραστηρότητας PAF ακετυλοτρασφεράσης της remodelling πορείας (remPAF-AT) σε ομογενοποίηση λευκοκυττάρων με TLC

Αντιδραστήρια-Όργανα

- Πιπέτες 1-10, 10-100, 100-1000 µL
- Tips 10-100µl και 100-1000µl
- Φυγόκεντρος
- Υδρόλουτρο
- Σωλήνες πολυπροπυλενίου

Διαλύματα

- Διάλυμα φύλαξης (stock) λυσο-PAF 2,5 mg/ml : Διαλύονται 10 mg λυσο-PAF σε 4 ml MeOH. Το διάλυμα φυλάσσεται σε βιδωτό σωλήνα στους -20 °C.
- Διάλυμα ακετυλο-CoA 20 mM σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCl (50mM-pH 7,4) : Διαλύονται 25 mg σε 1540 ml ρυθμιστικού διαλύματος
- Διάλυμα BSA 10 mg/ml : Διαλύονται 100 mg BSA ελεύθερης λιπαρών οξέων (Sigma) σε 10 ml ρυθμιστικού διαλύματος Tris-HCl (50 mM-pH 7,4)
- Διάλυμα λυσο-PAF σε BSA (10mg/ml) συγκέντρωσης 800 μM (διάλυμα εργασίας): Φέρονται 40 μL διαλύματος λυσο-PAF 2,5 mg/ml σε βιδωτό σωλήνα, εξατμίζεται ο διαλύτης σε ρεύμα αζώτου και το ίζημα αναδιαλύεται σε 259 μL BSA 10 mg/ml. Παρασκευάζεται καινούριο διάλυμα κάθε φορά. Προσθήκη 5 μL από το διάλυμα αυτό στον ενζυμικό προσδιορισμό δίνουν τελική συγκέντρωση λυσο-PAF 20 μM και τελική συγκέντρωση BSA 0,25 mg/ml.
- Ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCl (50 mM-pH 7,4) : Διαλύονται 0,605 g Tris σε νερό, ρυθμίζεται το pH με HCl 1 M στο 7,4 και αραιώνεται το διάλυμα στα 100 ml νερό.
- Διάλυμα αναδιάλυσης Tris (50 mM-pH 7,4)-Suc 0,25 M-DTT 1 mM : Διαλύονται 0,605 g Tris, 8,55 g σακχαρόζης και 0,0154 g DTT σε 100 ml νερό. Το pH του διαλύματος ρυθμίζεται με HCl 1 N

Αρχή μεθόδου

Ο προσδιορισμός της δραστηριότητας της *rem AT* βασίζεται στη μέτρηση του παραγόμενου μετά την επώαση του ενζυμικού παρασκευάσματος με λυσο-PAF και ακετυλο-CoA, παρουσία BSA. Ο παραγόμενος PAF εκχυλίζεται από το μίγμα της αντίδρασης με όξινη εκχύλιση Bligh-Dyer, διαχωρίζεται από τα υπόλοιπα συστατικά με TLC και προσδιορίζεται με βιολογικό πείραμα.

Αναλυτική πορεία

Σε σωλήνα πολυπροπυλενίου φέρονται το ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCl (50 mM-pH 7,4), 5 μL διαλύματος εργασίας λυσο-PAF (τελική συγκέντρωση 20 μM), 2 μL διαλύματος ακετυλο-CoA (τελική συγκέντρωση 200 μM) και το ρυθμιστικό διάλυμα αναδιάλυσης. Επειδή η προστιθέμενη ποσότητα του ενζυμικού παρασκευάσματος, το οποίο είναι διαλυμένο σε ρυθμιστικό διάλυμα αναδιάλυσης, μπορεί να κυμαίνεται από 10-50 μL προστίθεται κατάλληλη ποσότητα ρυθμιστικού διαλύματος ώστε όλοι οι προσδιορισμοί να περιέχουν 50 μL ρυθμιστικού διαλύματος αναδιάλυσης. Ο τελικός όγκος του μίγματος επώασης είναι 200 μL. Γίνεται προεπώαση για 5 min στους 37 °C. Η αντίδραση ξεκινά με την προσθήκη του

ενζυμικού παρασκευάσματος. Η επώαση της αντίδρασης γίνεται σε θερμοστατούμενο υδρόλουτρο υπό ανάδευση στους 37 °C για 30 min. Μετά το τέλος της αντίδρασης προστίθενται 300 μ L παγωμένου H₂O και 1111 μ L μίγματος CHCl₃/MeOH (2 % AcOH). Μετά από έντονη ανάδευση φυγοκεντρείται το μίγμα ώστε να διαχωριστούν οι δύο φάσεις και παραλαμβάνεται η χλωροφορμική φάση, η οποία εξατμίζεται μέχρι ξηρού, αναδιαλύεται σε μικρό όγκο και φέρεται σε πλάκα TLC επιστρωμένη με Silica gel H. Η πλάκα αναπτύσσεται σε προεξισορροπημένο θάλαμο με σύστημα ανάπτυξης C:M:AcOH:W (100:57:16:8). Μετά το τέλος της ανάπτυξης, εξατμίζεται ο διαλύτης και εμφανίζεται η πλάκα σε ατμούς I₂. Εντοπίζεται η περιοχή του PAF (μεταξύ Sm και λυσο-PC) και ξύνεται με γυάλινη αντικειμενοφόρο πλάκα. Το ξύσμα φέρεται σε γυάλινο σωλήνα και ο PAF εκχυλίζεται με 2 ml μίγματος C:M:W (1:2:0,8) (x 2). Προστίθεται κατάλληλη ποσότητα C και W ώστε το σύστημα να γίνει διφασικό και παραλαμβάνεται η χλωροφορμική φάση που περιέχει τον PAF, η οποία φυλάσσεται στους -20°C, μέχρι να πραγματοποιηθεί η βιολογική δοκιμασία.

3.3.5.8. Μέτρηση της συγκέντρωσης του PAF με βιολογική δοκιμασία σε πλυμένα αιμοπετάλια κουνελιού.

Αντιδραστήρια - Όργανα

- Διάλυμα 10x Tyrodes stock : Σε 1 lt νερού διαλύονται 80 g NaCl, 1,95 g MgCl₂.6H₂O και 10 g γλυκόζης
- Διάλυμα 100x CaCl₂ stock : Σε 100 ml νερού διαλύονται 1,911 g CaCl₂
- Διάλυμα 0,2 M EGTA stock : Ποσότητα 0,76 g EGTA διαλύεται σε 10 ml νερό. Ρυθμίζεται το pH του διαλύματος στο 7,5 με NaOH 5 M
- Διάλυμα ζελατίνης 10% σε νερό
- Διαλύματα Tyrodes-Gelatin pH 6,5 (Tg pH 6,5), Tyrodes-Gelatin-EGTA pH 6,5 (Tg EGTA pH 6,5) : Σε 80 ml νερό προσθέτονται 10 ml Tyrodes 10x stock. Χρησιμοποιώντας μαγνητικό αναδευτήρα κατά τη διάρκεια της προσθήκης, προσθέτονται 2,5 ml ζελατίνης 10% (λιωμένης στο σημείο βρασμού). Κατόπιν, προσθέτονται 5 ml διαλύματος NaHCO₃ (0,203 g NaHCO₃ σε 10 ml νερό) που πρέπει να χρησιμοποιείται αμέσως μετά την παρασκευή του. Συμπληρώνεται ο όγκος στα 100 ml με νερό και χωρίζεται σε δύο τμήματα των 50 ml. Στο ένα από τα δύο προσθέτονται 25 μ L EGTA 0,2 M. Ρυθμίζεται το pH και των δύο κλασμάτων στο 6,46 με HCl 1 N. Αμέσως γεμίζονται γυάλινοι σωλήνες των 16 ml μέχρι επάνω (χωρίς φυσαλίδες αέρα) και σκεπάζονται με παραφίλμ. Φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου.

- Διάλυμα Tyrodes-ασβεστίου pH 7,2 (Tg-Ca pH 7,2) : Σε 5 ml Tyrodes 10x προστίθενται 40 ml νερό. Χρησιμοποιώντας μαγνητικό αναδευτήρα προστίθενται 1,25 ml διαλύματος ζελατίνης 10%. Στη συνέχεια προσθέτονται 0,5 ml διαλύματος CaCl_2 100x. Κατόπιν, προστίθενται 2,5 ml διαλύματος NaHCO_3 (παρασκευάζεται όπως παραπάνω). Συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τα 50 ml με νερό και ρυθμίζεται το pH στο 7,16 με HCl 1 N. Διατηρείται στους 37°C σε ερμητικά κλειστούς σωλήνες.
- Αντιπηκτικό διάλυμα ACD : Σε 1000 ml νερού διαλύονται 13,65 g κιτρικού οξέος, 25 g κιτρικού νατρίου και 20 g δεξτρόζης.
- Διάλυμα βόειας αλβουμίνης ορού (BSA) 100 mg/ml : Ποσότητα 100 mg BSA ελεύθερης λιπαρών οξέων (Sigma) διαλύεται σε 1 ml φυσιολογικού ορού. Φυλάσσεται στους -20°C
- Διάλυμα BSA 2,5 mg/ml : Από 10 ml φυσιολογικού ορού αφαιρούνται 250 μL και προστίθενται 250 μL BSA stock
- Ficoll-Paque (Pharmacia)
- Υγρό επίστρωσης σιλικόνης (Serva)
- Πλαστικοί σωλήνες των 50 ml
- Πλαστικά σιφώνια των 20 ml
- Συσσωρευματομέτρο, Chrono-log
- pHμετρο ORION 410A
- Φωτόμετρο Bausch-Lomb
- Υδρόλουτρο 37°C
- Φυγόκεντρος Sorvall RC-5B Refrigerated, DuPont

Αναλυτική πορεία [172]

✓ Απομόνωση πλυμένων αιμοπεταλίων από αίμα κουνελιού

Σε πλαστικούς σωλήνες των 50 ml προστίθενται 7 ml ACD. Το αίμα συλλέγεται από την κεντρική αρτηρία του αυτιού του κουνελιού, ο σωλήνας γεμίζεται με αίμα μέχρι τα 50 ml και αναμιγνύεται ήπια με αναστροφή. Ακολουθεί φυγοκέντρωση για 15 min στους 24°C στα 500g (~ 1800 στροφές ανά λεπτό, rpm). Κατά την διάρκεια της φυγοκέντρωσης μεταφέρουμε 2 ml Ficoll-Paque σε πλαστικούς σωλήνες των 14 ml. Αναρροφώνται τα 2/3 του υπερκείμενου πλάσματος (πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια, PRP) με πλαστικό σιφώνιο των 20 ml και μεταφέρονται σε άλλο πλαστικό σωλήνα των 50 ml. Τοποθετείται το πλάσμα πάνω στο στρώμα του Ficoll, με μέγιστο ποσοστό πλάσματος τα 9 ml για κάθε 2 ml Ficoll, χρησιμοποιώντας πλαστικά σιφώνια. Μεταφέρονται ίσοι όγκοι πλάσματος σε 2 ή 3 σωλήνες ανάλογα με το συνολικό όγκο του πλάσματος. Σκεπάζουμε με παραφίλμ και οι σωλήνες

φυγοκεντρούνται για 20 min στους 24°C στα 750g (2200 rpm). Μετά την φυγοκέντρωση τα αιμοπετάλια εμφανίζονται σαν ταινία μεταξύ της στιβάδας του πλάσματος και του στρώματος του Ficoll. Το υπερκείμενο πλάσμα (φτωχό σε αιμοπετάλια) αναρροφάται και απορρίπτεται με πλαστική σύριγγα των 20 ml. Το στρώμα των αιμοπεταλίων διαπερνάται με σιλικοναρισμένη πιπέττα Pausteur, αναρροφάται το Ficoll και απορρίπτεται. Αν υπάρχουν 2 σωλήνες προστίθενται 7 ml Tg EGTA pH 6,5 σε κάθε σωλήνα. Το διάλυμα αφήνεται να τρέξει ήπια στα τοιχώματα του σωλήνα και χωρίς ανάμιξη αποχύνεται το αιώρημα σε άλλο πλαστικό σωλήνα των 14 ml, αφήνοντας έτσι τα ερυθρά αιμοσφαίρια στον αρχικό σωλήνα. Αν υπάρχουν 3 σωλήνες προστίθενται 3 ml Tg EGTA pH 6,5 σε κάθε σωλήνα. Το διάλυμα αφήνεται να τρέξει ήπια στα τοιχώματα του σωλήνα και χωρίς ανάμιξη αποχύνεται το αιώρημα σε άλλο πλαστικό σωλήνα των 14 ml του οποίου το περιεχόμενο χωρίζεται σε 2 ίσα μέρη που μεταφέρονται σε δύο ξεχωριστούς σωλήνες και προστίθενται περίπου 3 ml Tg EGTA pH 6,5. Το περιεχόμενο του κάθε σωλήνα μεταφέρεται σε 2 ml Ficoll (8 ml αιμοπεταλίων σε κάθε σωλήνα) και καλύπτεται με παραφίλμ. Ακολουθεί φυγοκέντρωση για 15 min στους 24°C στα 2400 rpm. Το υπερκείμενο ρυθμιστικό διάλυμα απορροφάται και απορρίπτεται. Διαπερνάται το στρώμα αιμοπεταλίων με πιπέττα pasteur, αναρροφάται το Ficoll και απορρίπτεται. Στην συνέχεια προστίθενται ίσοι όγκοι (~ 8 ml) Tg pH 6,5 σε κάθε σωλήνα αφήνοντας το διάλυμα να τρέξει στα τοιχώματα του σωλήνα και χωρίς ανάμιξη μεταφέρεται το ελαιώδη σε καθαρό πλαστικό σωλήνα των 14 ml και καλύπτεται με παραφίλμ. Ακολουθεί φυγοκέντρωση για 15 min στους 24°C στα 2350 rpm. Το υπερκείμενο ρυθμιστικό διάλυμα απορροφάται και απορρίπτεται μέχρι και την τελευταία σταγόνα. Προστίθενται 0,8 ml Tg pH 6,5 σε κάθε συσσωμάτωμα αιμοπεταλίων αναδιασπείροντας τα κύτταρα με προσοχή. Το περιεχόμενο των σωλήνων ενώνεται με πλαστικό σωλήνα.

Ετοιμάζεται εναιώρημα αιμοπεταλίων σε Tg pH 6,5 που να περιέχει $1,25 \times 10^8$ κύτταρα/ml. Από το πυκνό διάλυμα αιμοπεταλίων λαμβάνονται 10 μL τα οποία αραιώνονται με 990 μL Tg pH 6,5 και το διάλυμα φωτομετρείται στα 530 nm. Ο αριθμός των κυττάρων στα 10 μL δίνεται από τον τύπο : $\text{κύτταρα}/10 \mu\text{L} = A \times 1,25 \cdot 10^8$ όπου A είναι η απορρόφηση. Με βάση πρότυπη καμπύλη της οπτικής απορρόφησης συναρτήσει του αριθμού αιμοπεταλίων, υπολογίζεται ο αριθμός αιμοπεταλίων και ετοιμάζεται το επιθυμητό εναιώρημα αιμοπεταλίων.

✓ Συσσωρευση πλυμένων αιμοπεταλίων κουνελιού

Σε γυάλινες κυψελίδες συσσωρευματομέτρου προστίθενται 100 μL από το εναιώρημα αιμοπεταλίων και 400 μL Tg Ca pH 7,2 καθώς και μικρός μαγνητικός αναδευτήρας που

περιστρέφεται με 1200 rpm. Επωάζονται για 15 min σε υδατόλουτρο στους 37°C. Ρυθμίζεται το 100 της κλίμακας του συσσωρευματομέτρου με Tg Ca pH 7,2 και το 0 με το εναιώρημα αιμοπεταλίων. Στην συνέχεια η κυψελίδα με το εναιώρημα των αιμοπεταλίων τοποθετείται στην ειδική θερμοστατούμενη κυψελίδα του συσσωρευματομέτρου και προστίθενται διάφορες ποσότητες PAF ή του εκάστοτε δείγματος το οποίο είναι διαλυτοποιημένο σε BSA 2,5 mg/ml και καταγράφεται η καμπύλη συσσώρευσης, ως αύξηση της διαπερατότητας. Η αύξηση της διαπερατότητας στηρίζεται στο γεγονός ότι κατά την συσσώρευση των αιμοπεταλίων διαυγάζεται το περιεχόμενο της κυψελίδας μέσα από την οποία διέρχεται η δέσμη ακτινοβολίας. Το ύψος και η μορφή της καμπύλης είναι ανάλογα με την συσσώρευση, το δε φαινόμενο της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων εξαρτάται από τη συγκέντρωση του συσσωρευτικού παράγοντα.

Με βάση γνωστής συγκέντρωσης διαλύματα συνθετικού PAF σχεδιάζεται η καμπύλη της επί τοις εκατό συσσώρευσης συναρτήσει της συγκέντρωσης του PAF. Ως 100 % συσσώρευση ορίζεται η μέγιστη αντιστρεπτή συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Βάση της πρότυπης αυτής καμπύλης και το ύψος της καμπύλης συσσώρευσης που προκαλεί το εξεταζόμενο δείγμα, γίνεται ο υπολογισμός της συγκέντρωσης του δείγματος, ως συγκέντρωση ανάλογη της συγκέντρωσης του PAF στην κυψελίδα του συσσωρευματομέτρου (τελική συγκέντρωση) που έχει την ίδια βιολογική δραστηριότητα. Εξετάζεται επίσης, αν η μορφή της καμπύλης συσσώρευσης που δίνει το δείγμα ομοιάζει με εκείνη της καμπύλης συσσώρευσης του PAF (γρήγορη συσσώρευση με αντιστρεπτή μορφή σε μικρές συγκεντρώσεις και μη αντιστρεπτή σε μεγάλες συγκεντρώσεις).

3.3.6. Διατροφική αξιολόγηση

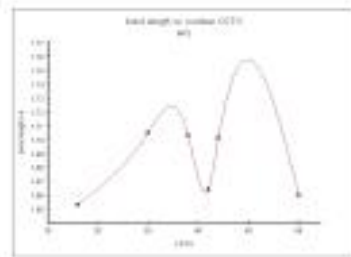
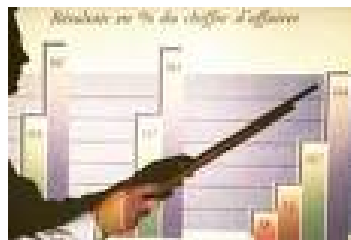
Όλοι οι δοκιμαζόμενοι συμπλήρωσαν, μετά από λεπτομερή καθοδήγηση, ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων της έρευνας ΕΠΙΚ (Ευρωπαϊκό Πρόγραμμα συνεργασίας Ιατρικής και Κοινωνίας), του οποίου η εγκυρότητα έχει ελεγχθεί [173]. Για την ανάλυση των ερωτηματολογίων δημιουργήθηκε κατάλληλη διατροφική βάση με την οποία υπολογίστηκε η ημερήσια πρόσληψη θρεπτικών συστατικών. Αναλυτικότερα, η ανάλυση των διαιτητικά προσλαμβανόμενων μακροθρεπτικών και μικροθρεπτικών συστατικών βασίστηκε σε στοιχεία από τους «Πίνακες συνθέσεως τροφίμων και ελληνικών φαγητών» [174]. Τα ελλιπή στοιχεία της συγκεκριμένης βάσης καλύφθηκαν από την αντίστοιχη βάση για ελληνικά τρόφιμα που έχει δημιουργηθεί από το Τμήμα Κοινωνικής Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης [175] καθώς και από τη βάση δεδομένων του Αμερικανικού Υπουργείου Γεωργίας [176]. Για την περιεκτικότητα των τροφίμων σε καροτενοειδή και φλαβονοειδή χρησιμοποιήθηκαν η ευρωπαϊκή βάση δεδομένων για καροτενοειδή [177] και η βάση δεδομένων του

Αμερικανικού Υπουργείου Γεωργίας για φλαβονοειδή [178] αντίστοιχα. Σε όλες τις περιπτώσεις δόθηκε προτεραιότητα σε χημικές αναλύσεις ελληνικών ή ευρωπαϊκών τροφίμων.

3.3.7. Στατιστική ανάλυση

Όλες οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσος όρος $\pm$ SE (standard error of the mean, σταθερό σφάλμα του μέσου). Η κανονικότητα των συνεχών μεταβλητών εξετάσθηκε με εφαρμογή του ελέγχου Kolmogorov-Smirnov. Η μέθοδος της ανάλυσης διακύμανσης επαναλαμβανομένων μετρήσεων (repeated measures ANOVA) εφαρμόσθηκε προκειμένου να εντοπιστούν τα χρονικά σημεία όπου εμφανίζεται η εκάστοτε στατιστικώς σημαντική διαφορά καθ'όλη την φάση αξιολόγησης. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε σε $p < 0,05$. Όλες οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν μέσω του λογισμικού στατιστικής SPSS 11.5 (SPSS, Inc., Chicago, IL).

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ



4.1. Περιγραφή ανθρωπομετρικών στοιχείων των εθελοντών και πειραματικής διαδικασίας

Στην έρευνα συμμετείχαν μετά από πρόσκληση 7 νέοι ενήλικες άνδρες. Όλοι οι εθελοντές ήταν υγιείς και δεν ακολουθούσαν κάποιο είδος συστηματικής άσκησης. Κατά μέσω όρο η ηλικία των εθελοντών ήταν 27,6 ετών με τον νεότερο να είναι 22 ετών και τον μεγαλύτερο 33. Το ύψος τους ήταν 176,6 εκατοστά με τον κοντότερο να είναι 164 εκατοστά ενώ ο ψηλότερος ήταν 185 εκατοστά. Η ζυγαριά κατά μέσω όρο έδειχνε τα 82,2 κιλά με τον ελαφρύτερο εθελοντή να ζυγίζει 73 και τον βαρύτερο 95. κιλά. Η φυσική δραστηριότητα των εθελοντών υπολογίστηκε ότι ήταν 1,38 PAL με τον πιο δραστήριο να έχει PAL 1,45 ενώ 1,3 ήταν το χαμηλότερο PAL. Τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων παρουσιάζονται συγκεντρωμένα στον πίνακα 4.1.

Πίνακας 4.1.: Ηλικία και ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων της έρευνας (N=7).

	M.o.±S.d.	Εύρος
Ηλικία (έτη)	27,6±4,3	22-33
Ύψος (εκατ.)	176,6±6,5	164-185
Βάρος (κιλά)	82,2±8,4	73-95

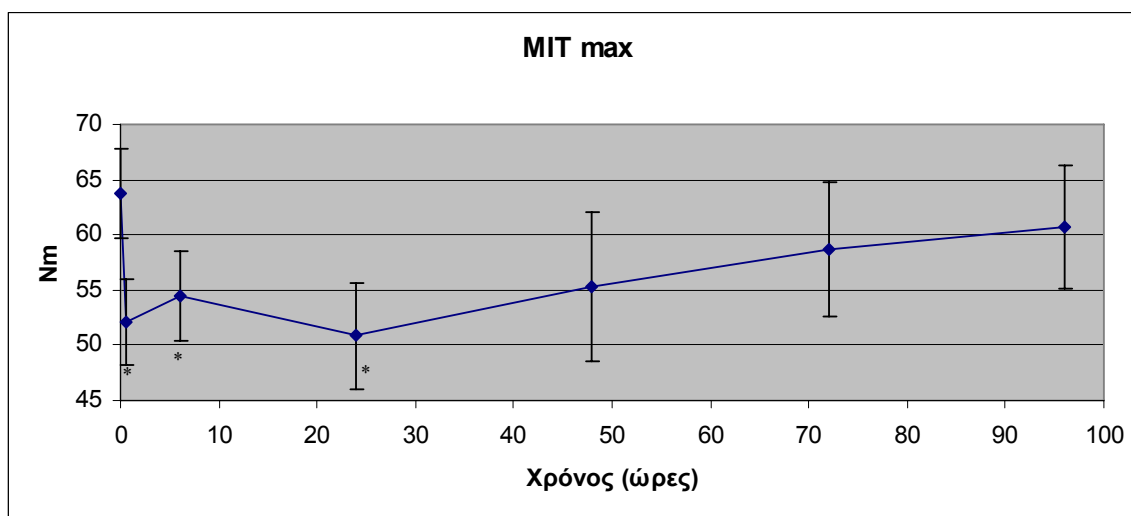
Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε χώρους του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου και περιελάμβανε εκτός των άλλων, μετρήσεις ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών, αιμοληψίες και το πρωτόκολλο άσκησης.

4.2. Επίδραση της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης και του καθυστερημένου μυϊκού πόνου

Η πρόκληση μυϊκής βλάβης, η οποία ήταν αναμενόμενη μετά την εκτέλεση από τους δοκιμαζόμενους του επιλεγμένου πρωτοκόλλου εκκεντρικών μυϊκών συστολών, συνοδεύτηκε από σημαντικές αλλαγές σε πολλές από τις μετρηθείσες παραμέτρους. Ακολουθεί αναλυτική παρουσίαση του συνόλου των μετρήσεων υπό μορφή πινάκων αλλά και γραφημάτων.

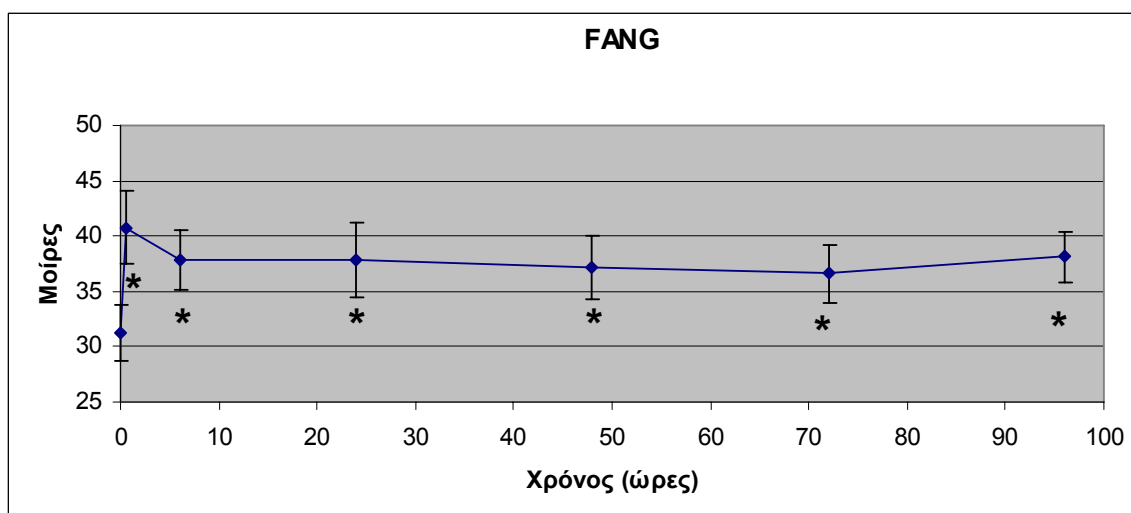
4.2.1. Επίδραση σε εργοφυσιολογικούς δείκτες

Οι τιμές που παρατηρούνται στους εξεταζόμενους δείκτες μυϊκής βλάβης μετά την εφαρμογή του πρωτοκόλλου άσκησης παρουσιάζονται συνοπτικά στον πίνακα 4.2. Η μέγιστη ισομετρική ροπή σε γωνία αγκώνα 90° (MIT- 90°) παρουσίασε μία σημαντική ($p < 0,05$) πτώση στα 30 λεπτά, στις 6 και 24h μετά την άσκηση (Σχήμα 4.1). Η μεγαλύτερη μείωση της δύναμης παρατηρείται στο 24ωρο όπου πέφτει στο 80,3% σε σχέση με τα πριν την άσκηση επίπεδα. Πλήρης ανάκαμψη της MIT (90°) δεν παρατηρήθηκε μέχρι το πέρας του πειράματος όπου έφτασε στο 97,2% του αρχικού επιπέδου.



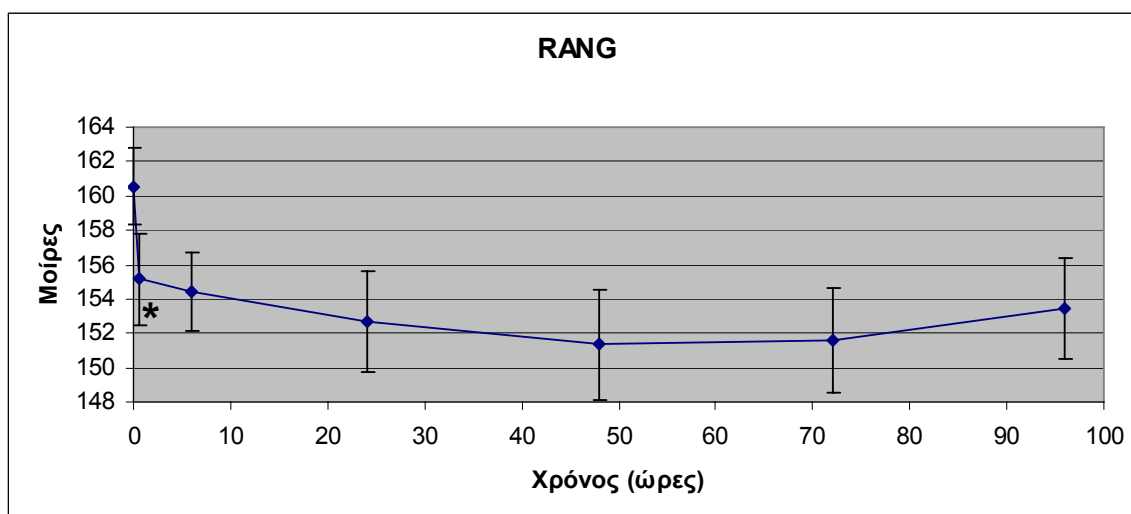
Σχήμα 4.1. Μεταβολές της μέγιστης ισομετρικής ροπής (MIT) στις 90° . Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±SEM. Συμβολισμοί: **MIT** (μέγιστη ισομετρική ροπή). * $p < 0,05$ στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή $t=0h$.

Η γωνία μέγιστης κάμψης του αγκώνα (FANG) αυξάνεται στατιστικώς σημαντικά και μάλιστα σε όλες τις χρονικές στιγμές (Σχήμα 4.2). Το μέγιστο της αύξησης παρατηρείται στο μισάωρο όπου φτάνει της τάξεως του 31,8%.



Σχήμα 4.2. Μεταβολές στη γωνία μέγιστης κάμψης του αγκώνα (FANG). Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±SEM. * $p < 0,05$ στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή $t=0h$.

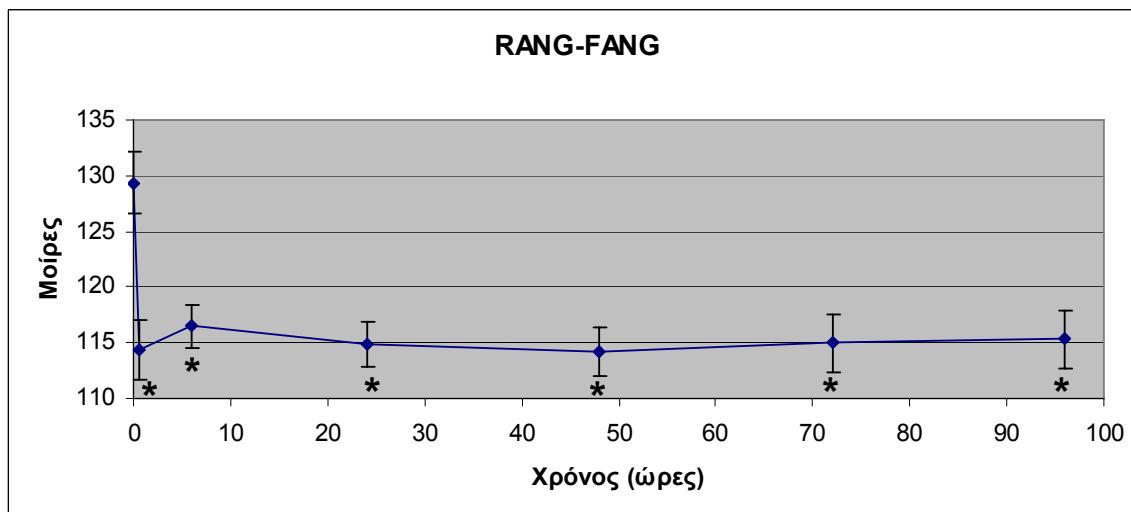
Η γωνία ανάπαυσης του αγκώνα σε απουσία μυϊκής σύσπασης (RANG) αν και μειώνεται όπως φαίνεται ξεκάθαρα στο γράφημα (Σχήμα 4.3.), μόνο στο μισάωρο εμφανίζεται στατιστικά σημαντική η μείωση αυτή.



Σχήμα 4.3. Μεταβολές στη γωνία ανάπαυσης του αγκώνα σε απουσία μυϊκής σύσπασης (RANG). Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±SEM. * $p < 0,05$ στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή $t=0h$.

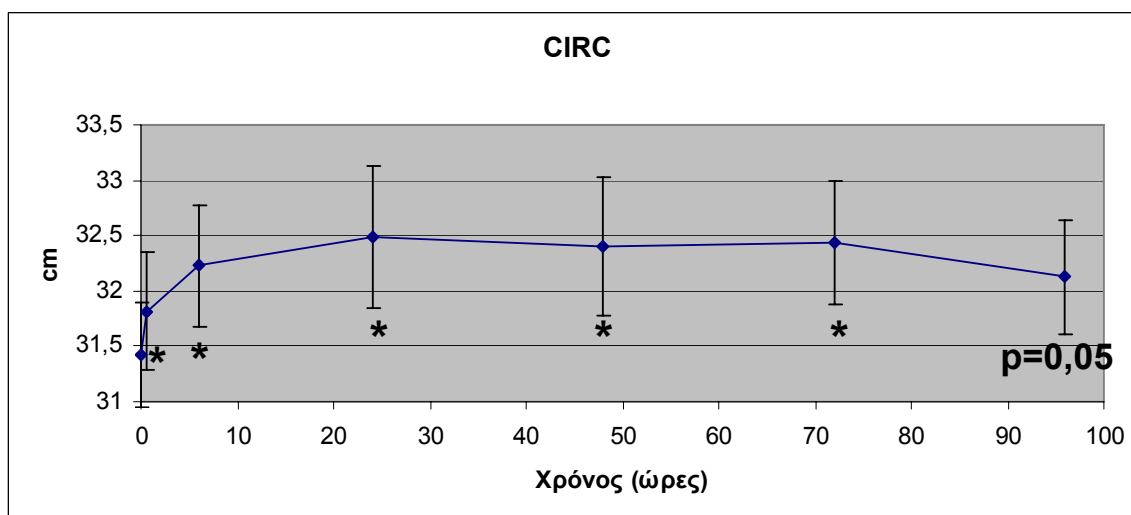
Το εύρος κίνησης της άρθρωσης του αγκώνα (ROM) εμφάνισε επίσης σημαντική πτώση (Σχήμα 4.4.), και αυτό σε όλες τις χρονικές στιγμές, με την ελάχιστη τιμή να παρατηρείται στην χρονική στιγμή $t=0,5h$ (~88,5% του αρχικού επιπέδου). Από τα παραπάνω μπορούμε να πούμε ότι η μείωση αυτή στο εύρος κίνησης του αγκώνα οφειλόταν σε μεγαλύτερο βαθμό στην αύξηση της FANG, η οποία εκφράζει την ικανότητα μέγιστης βράχυνσης των

ασκηθέντων μυών και λιγότερο στην μείωση της RANG που εκφράζει την αυτόματη μυϊκή βράχυνση.



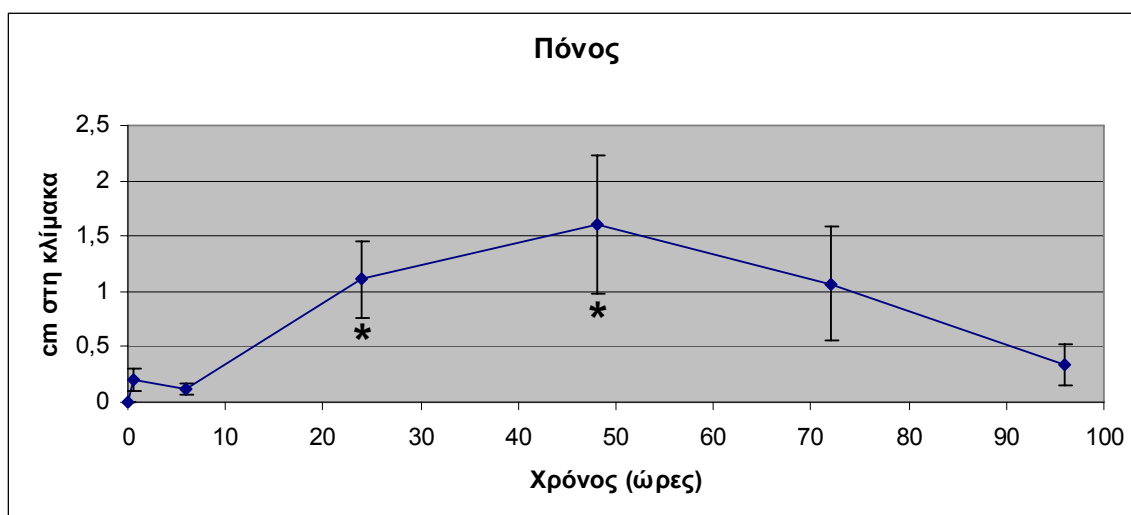
Σχήμα 4.4. Μεταβολές στο εύρος κίνησης της άρθρωσης του αγκώνα (ROM). Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±SEM. * $p < 0,05$ στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή $t=0h$.

Η περίμετρος του βραχιονίου (CIRC) εμφάνισε σταδιακή αύξηση η οποία άρχισε ήδη από τα πρώτα 30 λεπτά μετά την άσκηση και μεγιστοποιήθηκε 24 ώρες μετά (Σχήμα 4.5).



Σχήμα 4.5. Μεταβολές στην περίμετρο στο μέσον του βραχιονίου (CIRC). Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±SEM. * $p < 0,05$ στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή $t=0h$.

Ο μυϊκός πόνος (VAS), όπως αυτός καταγράφηκε, εμφάνισε αύξηση στα 30 πρώτα λεπτά, όπου σχεδόν διατηρήθηκε μέχρι τις 6 ώρες και στη συνέχεια σταδιακή αύξηση μέχρι τις 48h η οποία ακολουθήθηκε από σταδιακή μείωση (Σχήμα 4.6.). Αξίζει να σημειωθεί ότι όλες οι προαναφερθείσες παράμετροι εμφάνισαν σημεία αποκατάστασης κυρίως μετά τις 48h.



Σχήμα 4.6. Μεταβολές στην ένταση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου (VAS). Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±SEM. $p<0,05$ στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή $t=0h$.

Πίνακας 4.2. Επίπεδα δεικτών μυϊκής λειτουργίας πριν και μετά το πρωτόκολλο άσκησης

	0h	0,5h	6h	24h	48h	72h	96h
MIT (Nm)	63,7±4,0	52,1±4,0*	54,5±4,1*	50,9±4,8*	55,3±6,8	58,7±6,0	60,7±5,5
ROM (μοίρες)	129,3±2,8	114,4±2,6*	116,5±1,9*	114,9±2,0*	114,1±2,2*	115,0±2,6*	115,3±2,6*
FANG (μοίρες)	31,2±2,5	40,8±3,3*	37,9±2,7*	37,9±3,3*	37,2±2,9*	36,6±2,6*	38,1±2,3*
RANG (μοίρες)	160,6±2,2	155,1±2,6*	154,4±2,3	152,7±2,9	151,4±3,2	151,6±3,1	153,4±2,9
CIRC (εκατ.)	31,4±0,5	31,8±0,5*	32,2±0,6*	32,5±0,6*	32,4±0,6*	32,4±0,6*	32,1±0,5 [#]
VAS (εκατ.)	0,0±0,0	0,2±0,1	0,1±0,1	1,1±0,4*	1,6±0,6*	1,1±0,5	0,3±0,2

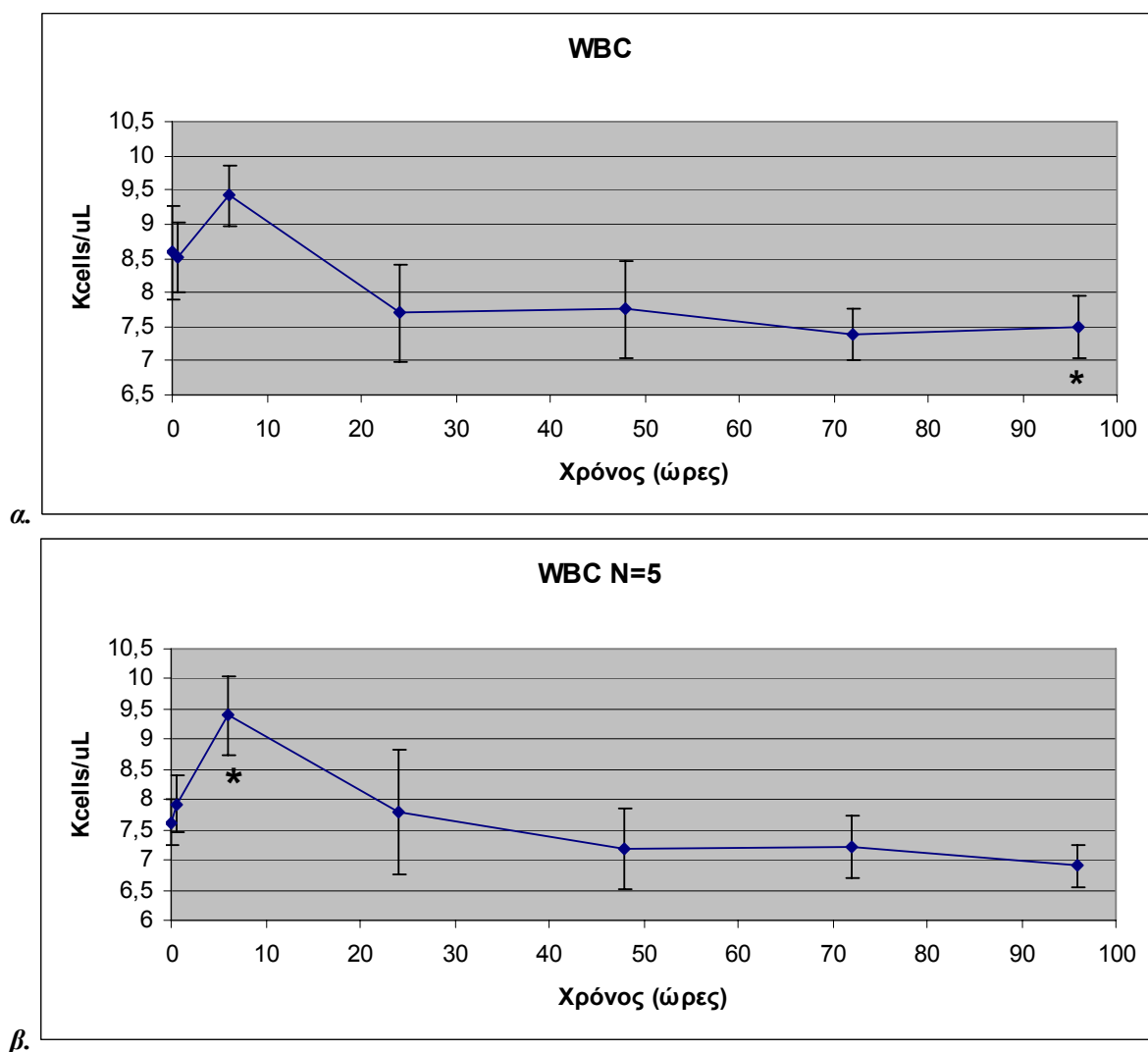
* $p<0,05$ στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή $t=0h$.
[#] $p=0,056$. Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±SEM. Συμβολισμοί: **MIT** (μέγιστη ισομετρική ροπή), **ROM** (εύρος κίνησης της άρθρωσης του αγκώνα), **FANG** (γωνία μέγιστης κάμψης του αγκώνα), **RANG** (γωνία ανάπαυσης του αγκώνα σε απουσία μυϊκής σύσπασης), **CIRC** (η περίμετρος του βραχιονίου στο μέσον του), **VAS** (ένταση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου)

4.2.2. Επίδραση σε αιματολογικούς δείκτες

Από την γενική ανάλυση αίματος φάνηκε ότι εμφανίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα λευκά (Σχήμα 4.7.), στα κοκκιοκύτταρα (Σχήμα 4.11.), στα ερυθρά (Σχήμα 4.13.), την αιμοσφαιρίνη (Σχήμα 4.14.), τον αιματοκρίτη (Σχήμα 4.15.), στον μέσο όγκο ερυθρών (Σχήμα 4.16.), μέση συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης (Σχήμα 4.17.) και τα αιμοπετάλια (Σχήμα 4.20.). Αντιθέτως για τους υπόλοιπους δείκτες (λεμφοκύτταρα [Σχήμα 4.8.], μονοκύτταρα [Σχήματα 4.9. και 4.10.], μέση συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης ανά ερυθρό [Σχήμα

4.18] και εύρος κατανομής μεγέθους ερυθροκυττάρων [Σχήμα 4.19.]) δεν φάνηκαν οι μεταβολές να είναι στατιστικά σημαντικές.

Τα λευκά αιμοσφαίρια (WBC) εμφάνισαν μείωση στο μισάωρο και από εκεί ακολουθείται μία ραγδαία αύξηση στο 6ωρο ενώ στη συνέχεια μειώνονται και φτάνουν στο τέλος ακόμη και σε μικρότερα των αρχικών επίπεδα (Σχήμα 4.7.α.). Φάνηκε όμως κάποιοι από τους εθελοντές να είχαν πολύ υψηλά αρχικά επίπεδα που οδήγησε στην αλλοίωση των αποτελεσμάτων (Πίνακας 4.2). Μετά από την απομάκρυνση αυτών των εθελοντών φάνηκε ότι είδη από το μισάωρο παρατηρείται αύξηση των λευκών με την τιμή στις 6 ώρες ($t=3$ στο σχήμα) να είναι η μέγιστη και να εμφανίζεται στατιστικά σημαντική (Σχήμα 4.7.β.). Στη συνέχεια ακολουθεί σταδιακή μείωση η οποία και εδώ εμφανίζεται να πέφτει κάτω από τα αρχικά επίπεδα.

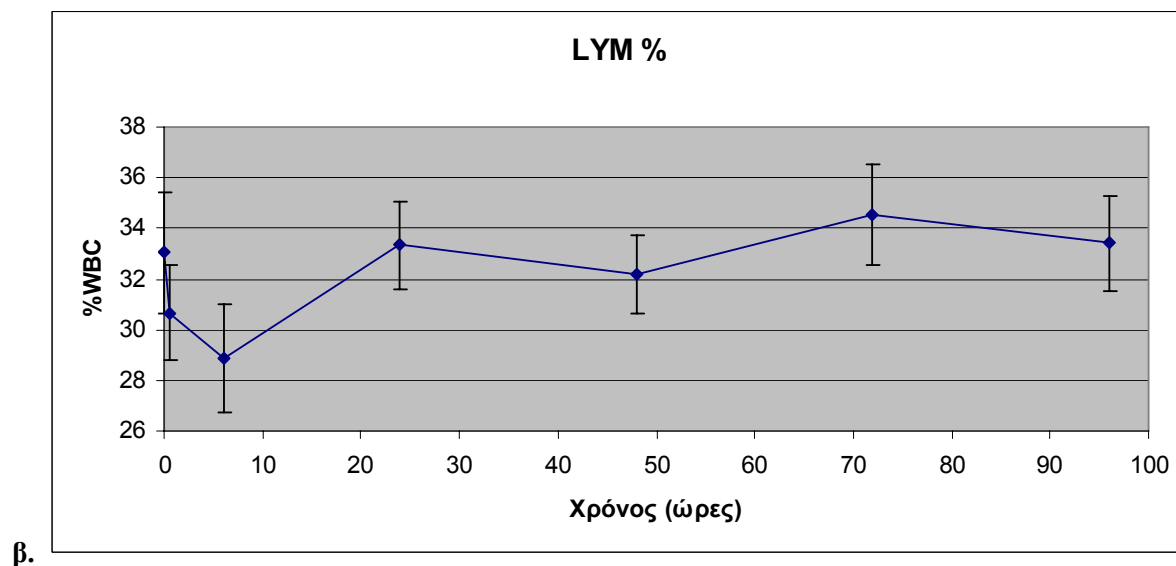
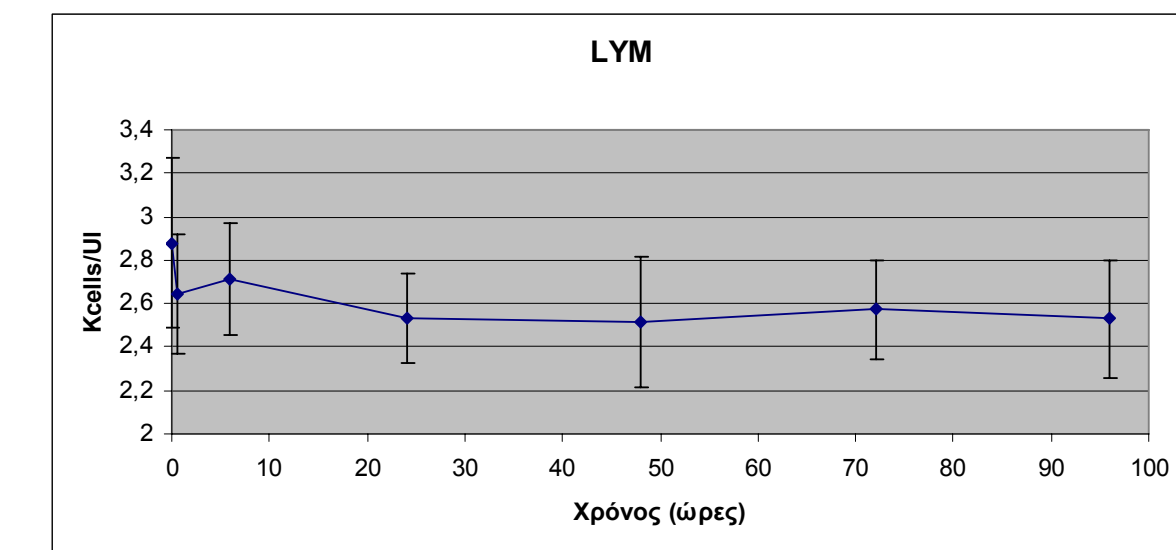


Σχήμα 4.7. Μεταβολές στα λευκά αιμοσφαίρια (WBC) **α)** με $N=7$, **β)** με $N=5$. Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±SEM. * $p<0,05$ στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή $t=0h$.

Πίνακας 4.3. Επίπεδα λευκών αιμοσφαιρίων των εθελοντών πριν και μετά το πρωτόκολλο πρόκλησης ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, εκφρασμένα ως Kcells/uL αίματος

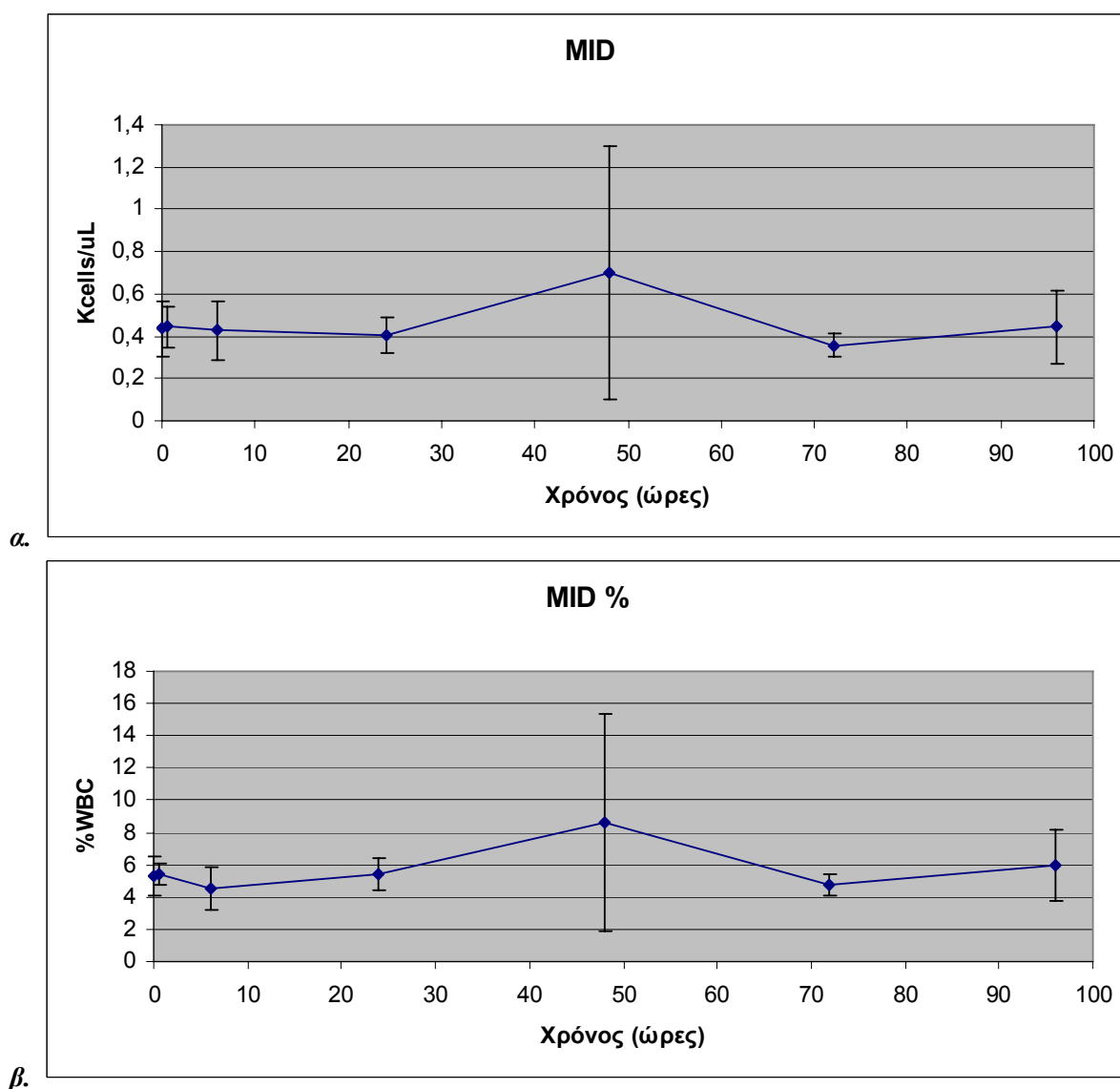
Χρόνος	0	0,5	6	24	48	72	96
Εθελοντής							
1	8,1	8,5	9,4	6,8	6,3	7,2	7
2	11,6	10,2	9,4	7,6	11	7,5	9,4
3	6,6	6,5	8,8	5,8	5,9	5,9	6,2
4	7	7,6	7,3	6,7	6,1	6,4	6,1
5	7,7	7,7	10,8	7,9	8,6	7,8	7,9
6	10,4	9,8	9,5	7,4	7,4	8,1	8,5
7	8,7	9,3	10,7	11,7	9	8,8	7,3

Με κόκκινο είναι οι τιμές των εθελοντών που είχαν αυξημένα αρχικά επίπεδα λευκών αιμοσφαιρίων



Σχήμα 4.8. α. Μεταβολές στα λεμφοκύτταρα (LYM), β. Μεταβολές λεμφοκυττάρων εκφρασμένα ως ποσοστό των συνολικών λευκών (LYM%). Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±SEM.

Για τις επιμέρους κατηγορίες των λευκών παρατηρούμε ότι τα λεμφοκύτταρα (LYM) φαίνεται στη μισή ώρα να μειώνονται, στη συνέχεια αυξάνουν στις 6 ώρες και στο 24ωρο έχουν επιστρέψει στα αρχικά επίπεδα όπου και παραμένουν (Σχήμα 4.8.α.). Αν εκφράσουμε τα λεμφοκύτταρα ως ποσοστό των συνολικών λευκών παρατηρούμε ότι ακολουθείται μείωση ήδη από το μισάωρο, κορυφώνεται στις 6 ώρες φτάνοντας στο 88,9 % της αρχικής τιμής και στο 24ωρο επιστρέφει στα αρχικά περίπου επίπεδα ακολουθούμενα από μικρές αυξομειώσεις (Σχήμα 4.8.β.). Ωστόσο κανένα από αυτά τα ευρήματα δεν παρουσιάζουν στατιστική σημαντικότητα.



Σχήμα 4.9. α. Μεταβολές στα μονοπύρρηνα, **β.** Μεταβολές στα μονοπύρρηνα εκφρασμένα ως ποσοστό των ολικών λευκών. Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±SEM.

Τα μονοπύρηνια (MID), στο μισάωρο αυξάνονται, μειώνονται ελαφρώς αλλά παραμένουν πάνω από τα αρχικά επίπεδα στις 6 ώρες, εν συνεχεία στο 24ωρο επιστρέφουν στα αρχικά επίπεδα και στις 48 ώρες παρατηρείται μια τεράστια αύξηση η οποία ακολουθείται από ραγδαία μείωση στις (από 165,6% στο 89,2% των αρχικών επιπέδων, Σχήμα 4.9.α.). Εκφρασμένα ως ποσοστό των συνολικών λευκών βλέπουμε ότι τα μονοπύρηνια μειώνονται στις 6 ώρες και στη συνέχεια αυξάνονται στο 24ωρο ακολουθώντας αυξομειώσεις με την μέγιστη τιμή να εμφανίζεται στις 72 ώρες (Σχήμα 4.9.β.).

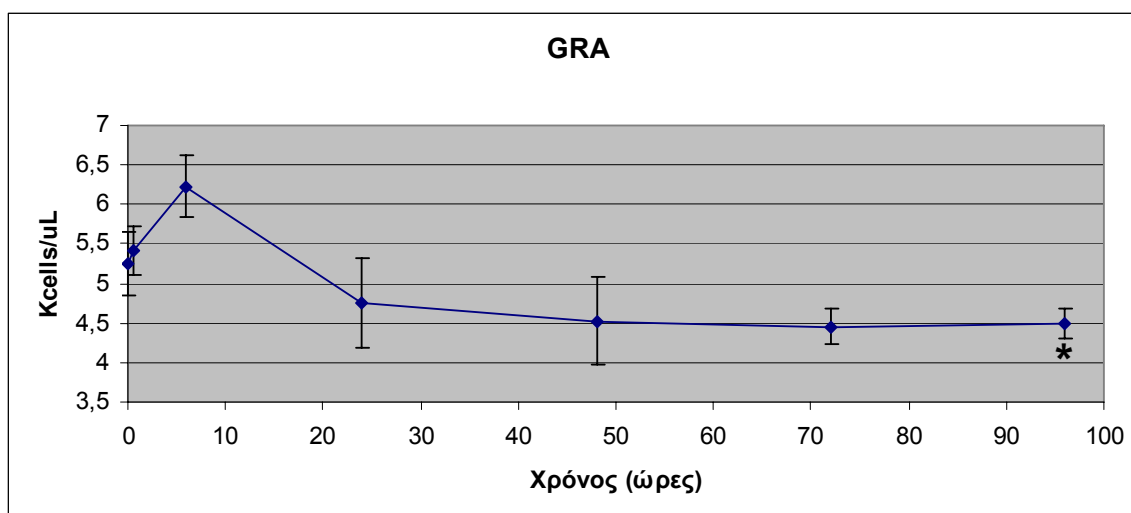
Όμως φαίνεται ότι τα αποτελέσματα αυτά αλλοιώνονται από την ασυνήθιστα μεγάλη αύξηση σε σχέση με τους υπόλοιπους εθελοντές στις 48 ώρες που εμφανίζεται στον εθελοντή 6 και 7 (Πίνακας 4.4.). Κάνοντας τις απαραίτητες τροποποιήσεις (N=5) φαίνεται ότι τα μονοπύρηνια αυξάνονται ελαφρώς στο μισάωρο και στη συνέχεια σταδιακά μειώνονται, με την μικρότερη τιμή να εμφανίζεται στις 72 ώρες και επιστρέφει περίπου στις αρχικές τιμές στις 96 ώρες. Ως ποσοστό επί των ολικών λευκών φαίνεται ότι υπάρχει μια συνεχή αυξομείωση. Και αυτά τα αποτελέσματα όμως δεν εμφανίζουν στατιστική σημαντικότητα.

Πίνακας 4.4. Επίπεδα μονοπύρηνων των εθελοντών στον ορό πριν και μετά το πρωτόκολλο πρόκλησης ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, εκφρασμένα σε Kcells/uL

Χρόνος	0	0,5	6	24	48	72	96
Εθελοντής							
1	0,4	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3
2	0,55	0,6	0,7	0,45	0,5	0,4	0,6
3	0,2	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2
4	0,5	0,4	0,3	0,4	0,3	0,3	0,5
5	0,4	0,4	0,4	0,5	0,5	0,4	0,7
6	0,6	0,5	0,4	0,4	1,1	0,4	0,4
7	0,4	0,5	0,5	0,5	1,9	0,4	0,4

Με κόκκινο είναι οι τιμές των εθελοντών που είχαν αυξημένη αύξηση των επιπέδων των μονοπύρηνων σε σχέση με τους υπόλοιπους εθελοντές.

Στα κοκκιοκύτταρα (GRA) εμφανίζεται αύξηση των επιπέδων που ξεκινάει από τα πρώτα 30 λεπτά, ενώ στις 6 ώρες έχει φτάσει στο 122% των αρχικών επιπέδων (Σχήμα 4.10.). Στο 24ωρο υπάρχει μεγάλη μείωση των επιπέδων (από το 122% στο 92,8% των αρχικών επιπέδων). Η μείωση αυτή συνεχίζεται και στις 96 ώρες υπάρχει μάλιστα στατιστικά σημαντική μείωση σε σχέση με τα αρχικά επίπεδα (86,8% των αρχικών επιπέδων).

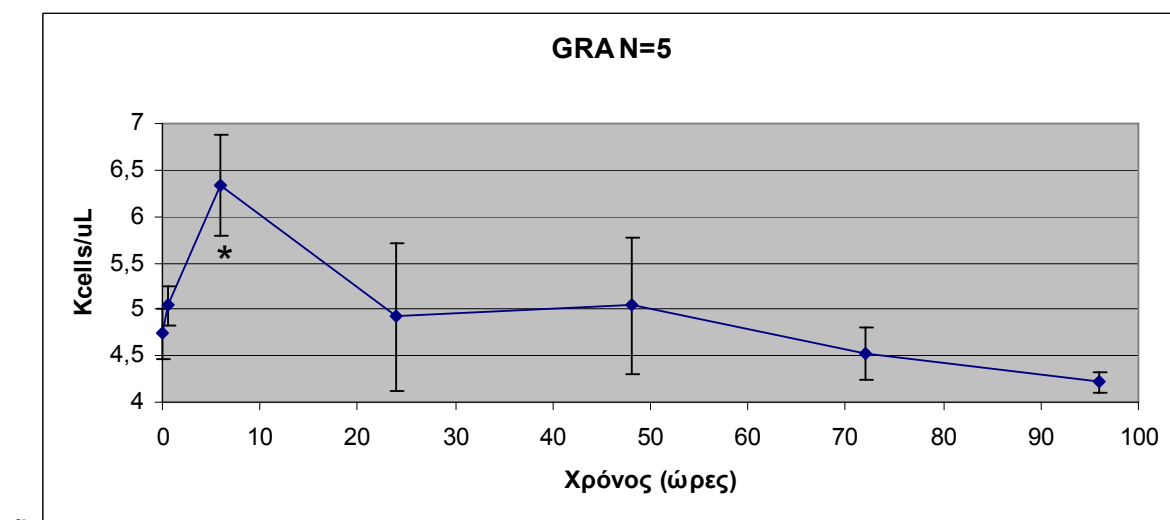


Σχήμα 4.10. Μεταβολές στα κοκκιοκύτταρα (GRA) με $N=7$. Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±SEM. * $p<0,05$ στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή $t=0h$.

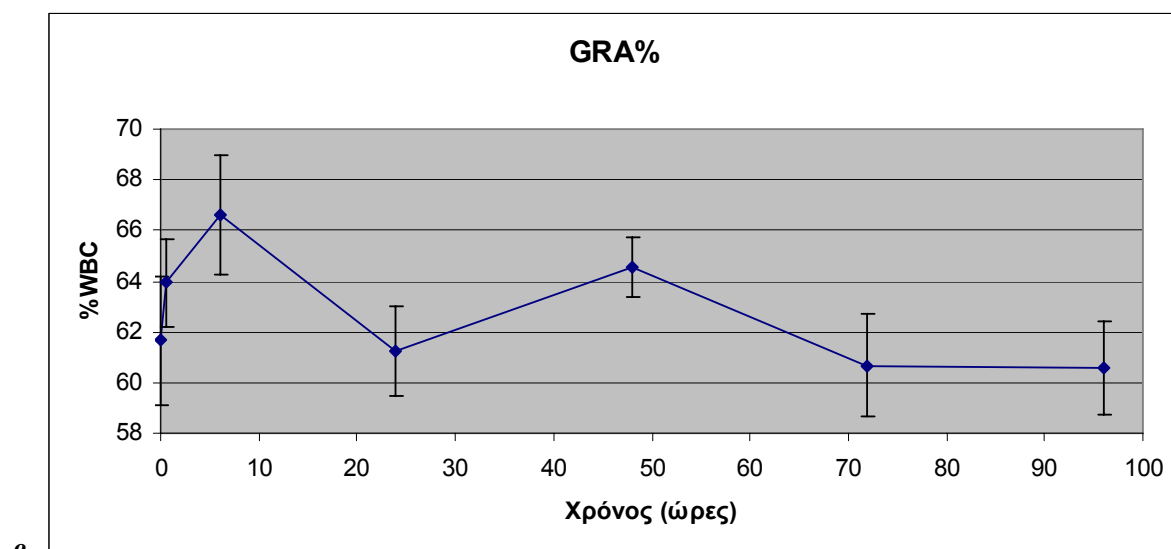
Όπως μπορούμε να παρατηρήσουμε και στον πίνακα 4.5. στον εθελοντή 6 και 7 παρατηρείται μια πολύ μεγάλη μείωση των επιπέδων σε σχέση με τους υπόλοιπους εθελοντές οπότε θα πρέπει να μη ληφθούν υπ' όψη. Μετά από την διόρθωση παρατηρούμε ακριβώς την ίδια πορεία, αλλά η αύξηση στις 6 ώρες είναι στατιστικά σημαντική ενώ μείωση στις 96 ώρες δεν είναι στατιστικά σημαντική (Σχήμα 4.11.α.). Η έκφραση των κοκκιοκυττάρων ως ποσοστό των λευκών δείχνει πάλι αύξηση η οποία ξεκινάει από το μισάωρο, φτάνει στο μέγιστο στις 6 ώρες επανέρχεται στα αρχικά επίπεδα στο 24ωρο αυξάνεται πάλι στις 48 ώρες και επιστρέφει σε λίγο ψηλότερα από τα αρχικά επίπεδα στις επόμενες μετρήσεις ($t=76h$ και $t=92h$, Σχήμα 4.11.β.)

Πίνακας 4.5. Επίπεδα κοκκιοκυττάρων των εθελοντών πριν και μετά το πρωτόκολλο πρόκλησης ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, εκφρασμένα σε Kcells/uL

Χρόνος	0	0,5	6	24	48	72	96
Εθελοντής							
1	5,3	5,1	5,9	4	4,1	4,5	4,2
2	6	5,8	5,7	4,05	6,7	3,8	5
3	4,5	4,4	6,3	3,7	4	3,7	4,2
4	3,8	4,9	5	4,1	3,7	4,1	3,9
5	4,9	5,1	8,3	4,8	5,8	5,1	4,6
6	7,1	6,9	6,2	4,6	3,7	4,8	5,3
7	5,2	5,7	6,2	8	3,7	5,2	4,2



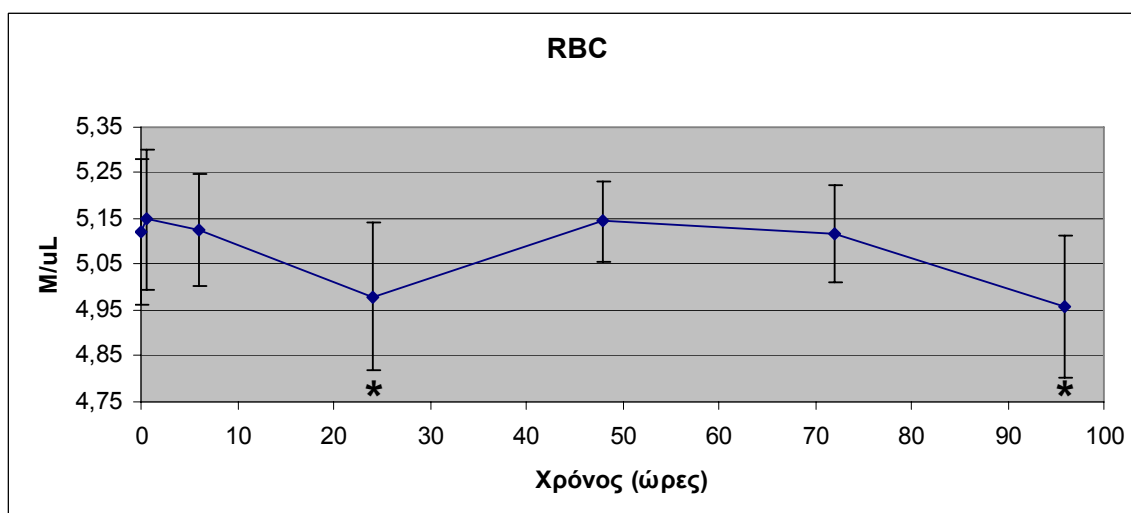
α.



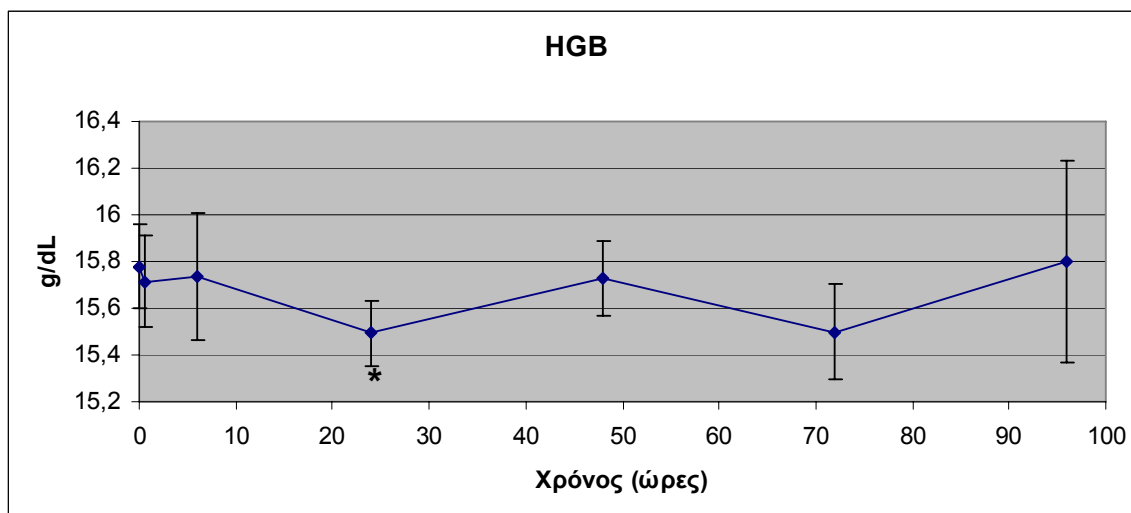
β.

Σχήμα 4.11. α. Μεταβολές στα κοκκιοκύτταρα (GRA) με $N=5$, **β.** Μεταβολές στα κοκκιοκύτταρα εκφρασμένα ως ποσοστό των ολικών λευκών (GRA%) με $N=5$. Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως $\mu.o. \pm SEM$. * $p < 0,05$ στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή $t=0h$.

Τα ερυθρά (RBC) εμφανίζουν σταθερότητα για τις πρώτες ώρες και στις 24 ώρες εμφανίζεται στατιστικά σημαντική πτώση των επιπέδων (Σχήμα 4.12.). Στη συνέχεια τα επίπεδα επανέρχονται περίπου στα αρχικά και στις 96 ώρες εμφανίζεται 2^η μείωση η οποία επίσης είναι στατιστικά σημαντική. Η αιμοσφαιρίνη (HGB) παρουσιάζει αυξομειώσεις στις τιμές της, με την μείωση στο 24ωρο να είναι στατιστικά σημαντική και φαίνεται ότι μέχρι τις 96 ώρες επανέρχεται στα φυσιολογικά επίπεδα (Σχήμα 4.13.).

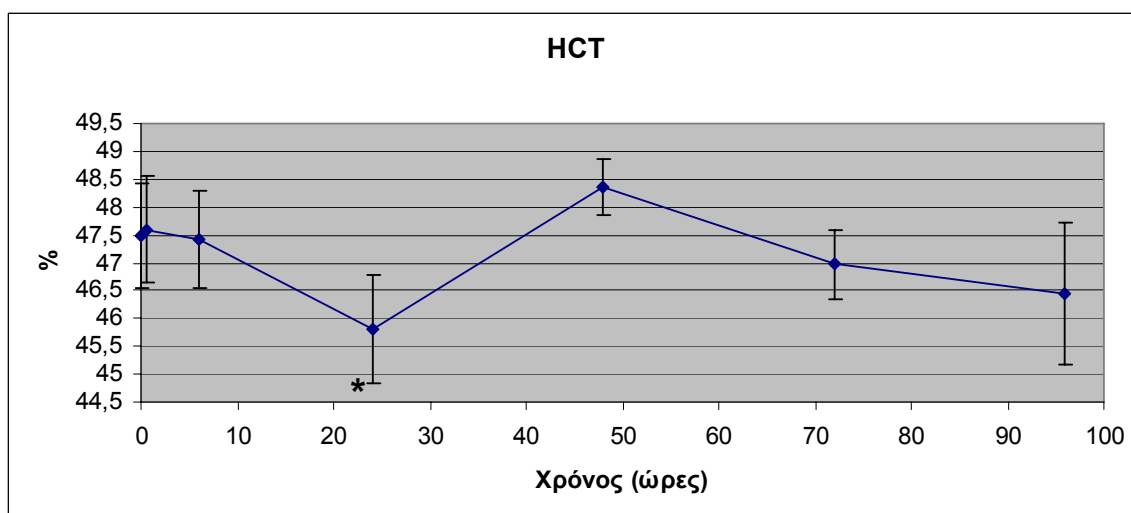


Σχήμα 4.12. Μεταβολές στα ερυθρά αιμοσφαίρια (RBC). Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±SEM. * $p<0,05$ στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή $t=0h$.

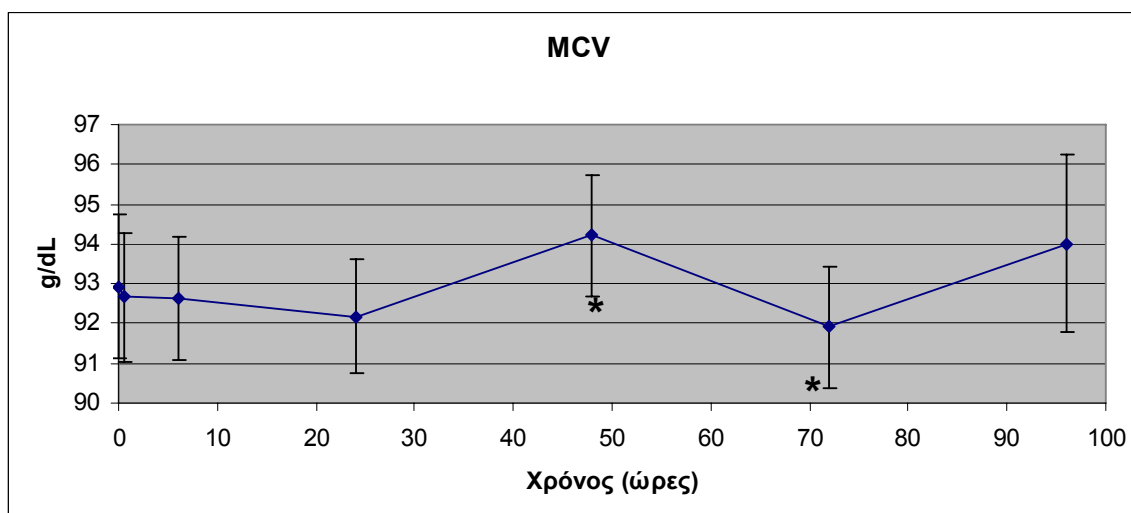


Σχήμα 4.13. Μεταβολές στην αιμοσφαιρίνη (HGB). Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±SEM. * $p<0,05$ στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή $t=0h$.

Ο αιματοκρίτης (HCT) φαίνεται να μειώνεται στο δωρο. Η μείωση αυτή συνεχίζεται και εμφανίζεται στατιστικά σημαντική στο 24ωρο (Σχήμα 4.14.). Στις 48 ώρες αυξάνεται και μέχρι τις 96 ώρες έχει επανέλθει στα αρχικά του επίπεδα. Ο μέσος όγκος ερυθρών (MCV) μειώνεται σταδιακά μέχρι το 24ωρο όπου και εμφανίζεται αύξηση η οποία είναι στατιστικά σημαντική, σε σχέση πάντα με τα αρχικά επίπεδα (Σχήμα 4.15.). Αυτή η αύξηση συνοδεύεται από στατιστικά σημαντική μείωση στις 72 ώρες. Όπου είναι και η μικρότερη παρατηρούμενη τιμή του MCV. Μετά τις 72 ώρες παρατηρείται σταδιακή αύξηση.

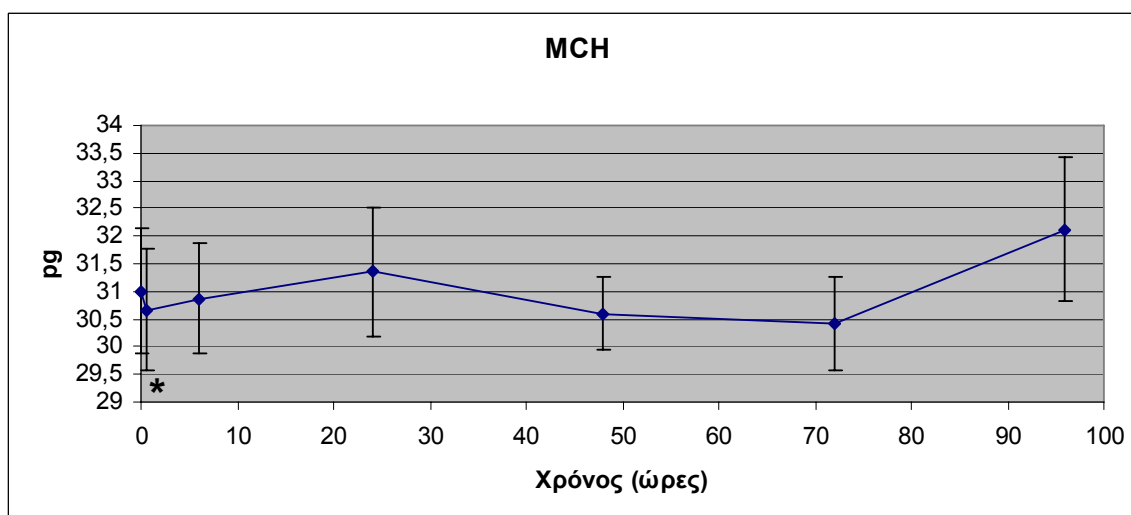


Σχήμα 4.14. Μεταβολές στον αιματοκρίτη (HCT). Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±SEM. * $p < 0,05$ στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή $t=0h$.

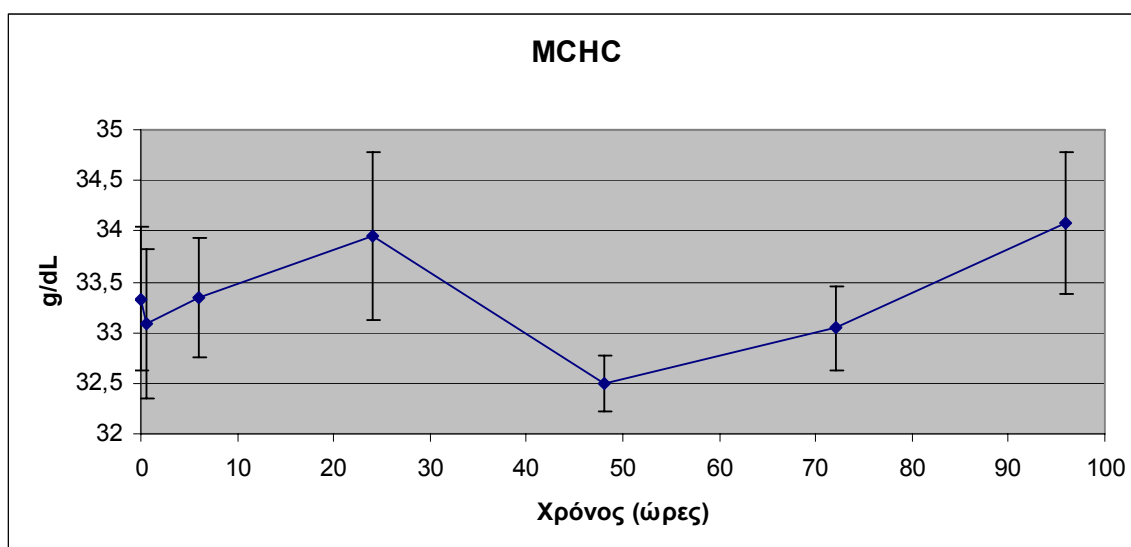


Σχήμα 4.15. Μεταβολές στον μέσο όγκο ερυθρών (MCV). Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±SEM. * $p < 0,05$ στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή $t=0h$.

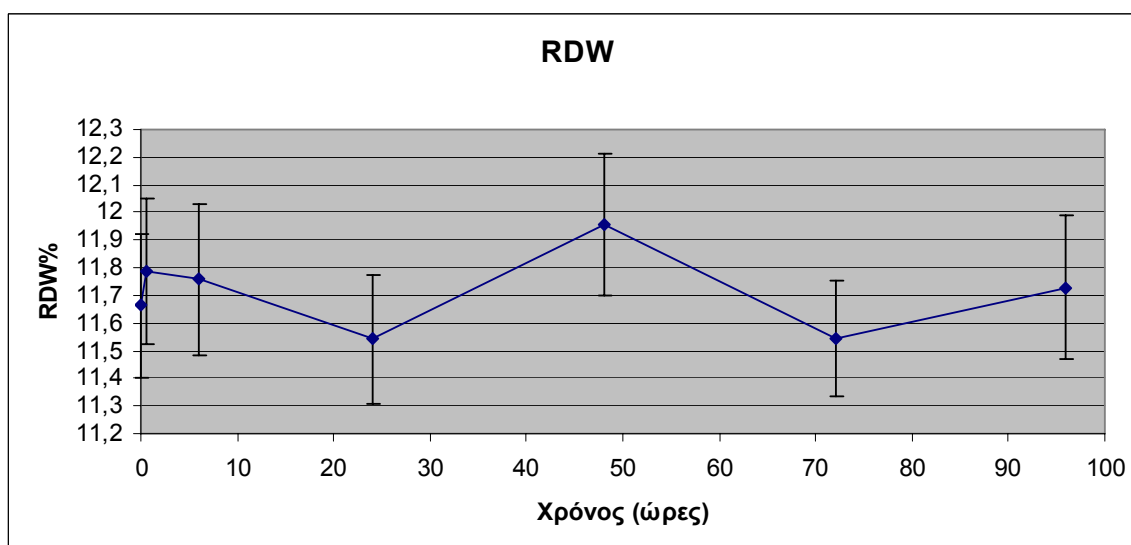
Η Μέση συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης (MCH) παρουσιάζει στατιστικά σημαντική μείωση στα πρώτα 30 λεπτά (Σχήμα 4.16.). Στη συνέχεια αυξάνεται αυξανόμενα σταδιακά μέχρι το 24ωρο. Από εκεί μειώνεται σταδιακά έως τις 72 ώρες που παρατηρείται και η μικρότερη τιμή, ενώ στις 96 ώρες υπάρχει μεγάλη αύξηση των επιπέδων που φτάνει να είναι και πάνω από τα αρχικά επίπεδα. Η μέση συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης ανά ερυθρό (MCHC) παρουσιάζει όπως φαίνεται και στο σχήμα 4.17. αυξομειώσεις. Τα αποτελέσματα όμως δεν είναι στατιστικά σημαντικά. Τα ίδια ισχύουν και για το εύρος κατανομής μεγέθους ερυθροκυττάρων (RDW, Σχήμα 4.18).



Σχήμα 4.16. Μεταβολές στην μέση συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης (MCH). Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±SEM. * $p<0,05$ στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή $t=0h$.

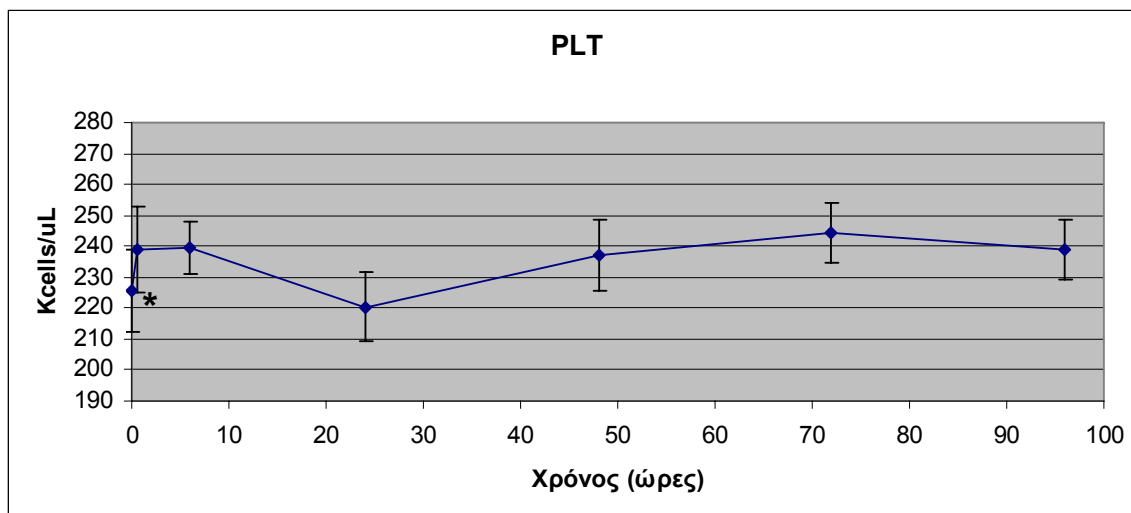


Σχήμα 4.17. Μεταβολές στην μέση συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης ανά ερυθρό (MCHC). Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±SEM. * $p<0,05$ στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή $t=0h$.



Σχήμα 4.18. Μεταβολές στο εύρος κατανομής μεγέθους ερυθροκυττάρων (RDW). Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±SEM. * $p<0,05$ στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή $t=0h$.

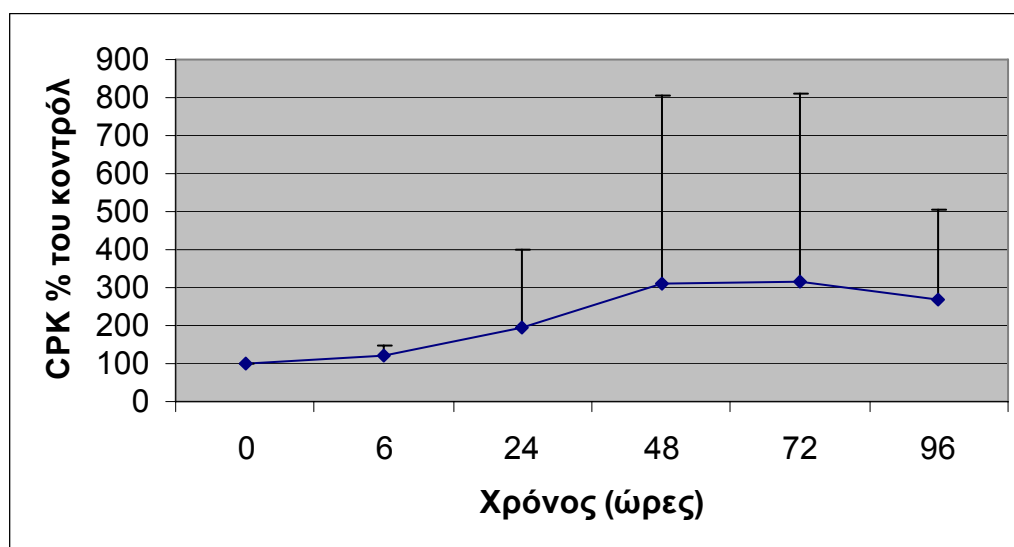
Τα αιμοπετάλια (PLT) αυξάνονται στατιστικά σημαντικά στην μισή ώρα και συνεχίζουν να αυξάνονται λίγο ακόμα μέχρι το 6ωρο (Σχήμα 4.19). Στις 24 ώρες μειώνονται πολύ φτάνοντας στο ελάχιστο των τιμών τους και ξανά αυξάνουν σταδιακά μέχρι και τις 72 ώρες όπου φτάνουν στο μέγιστο. Στη συνέχεια αρχίζουν να μειώνονται εκ νέου αλλά μέχρι το πέρας και των 96 ωρών δεν έχουν επανέλθει στα αρχικά επίπεδα.



Σχήμα 4.19. Μεταβολές στα αιμοπετάλια (PLT). Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±SEM. * $p<0,05$ στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή $t=0h$.

4.2.3. Επίδραση στην κρεατινική φωσφοκινάση (CPK)

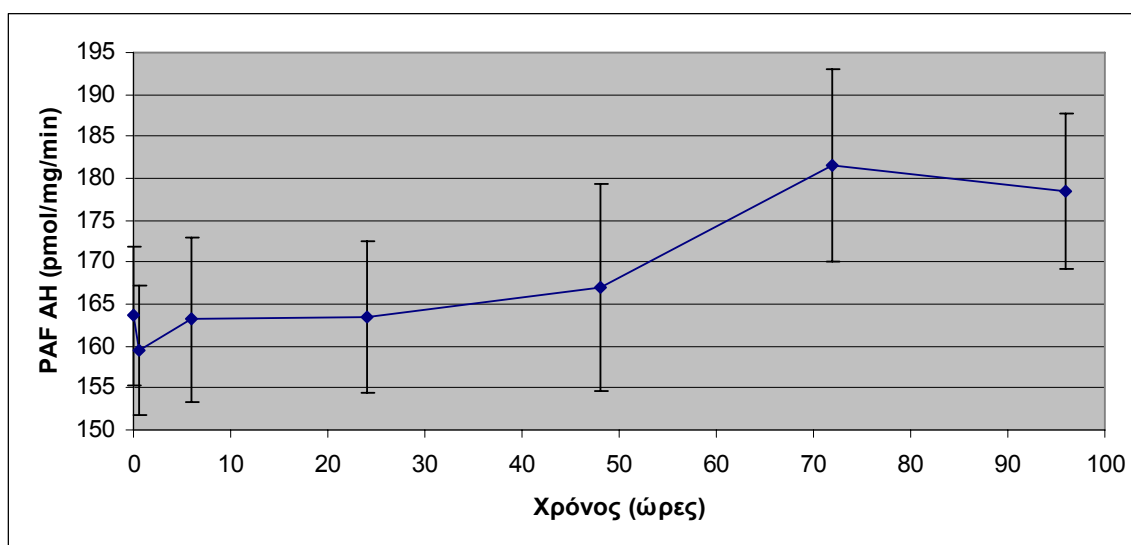
Η CPK φαίνεται ότι αυξάνει σταδιακά από το μισάωρο (Σχήμα 4.20.). Στις 48 ώρες η άύξηση φτάνει το $\approx 312,3\%$ ενώ η μέγιστη τιμή παρατηρείται στις 72 ώρες ($\approx 315,3\%$). Στις 96 ώρες παρατηρείται τάση επαναφοράς, όμως τα επίπεδα CPK παραμένουν πολύ αυξημένα ($\approx 266,3\%$ των αρχικών).



Σχήμα 4.20. Μεταβολές στην κρεατινική φωσφοκινάση (CPK). Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±StDev.

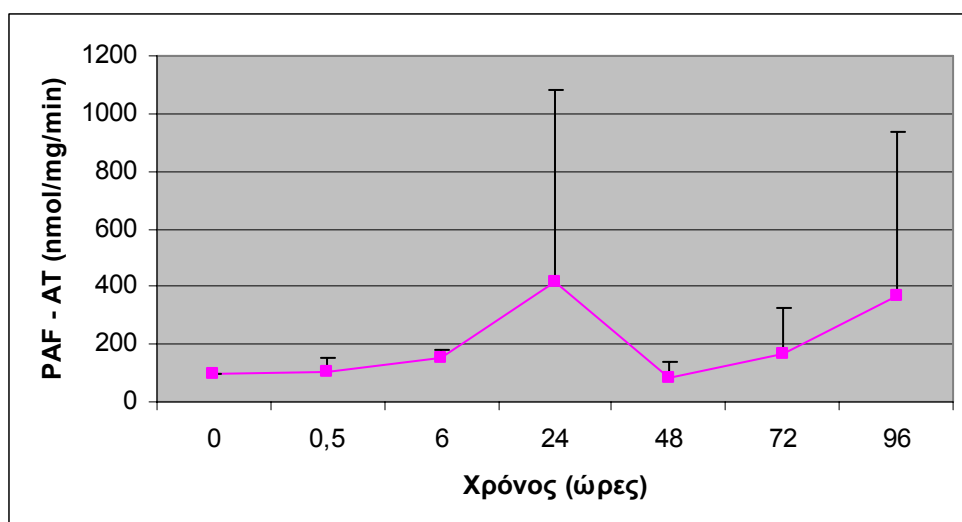
4.2.4. Επίδραση στα ένζυμα μεταβολισμού του PAF

Η ακετυλοϋδρολάση ορού φαίνεται ότι μειώνεται στα πρώτα 30 λεπτά και επανέρχεται στα αρχικά επίπεδα στις 6 ώρες και παραμένει έως το πρώτο 24ωρο (Σχήμα 4.21.). Όμως εμφανίζει σαφή αύξηση που ξεκινά περίπου στις 48 ώρες, φτάνοντας την μέγιστη τιμή στις 72 ώρες (181,54). Από εκεί εμφανίζεται τάση επαναφοράς στις αρχικές τιμές, όμως μέχρι και τις 96 ώρες οι τιμές παραμένουν αρκετά πάνω από τις αρχικές (178,5 έναντι $\approx 163,6$). Όμως τα ευρήματα δεν εμφανίζουν στατιστική σημαντικότητα.



Σχήμα 4.21. Μεταβολές στην ακετυλοϋδρολάση ορού. Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±SEM

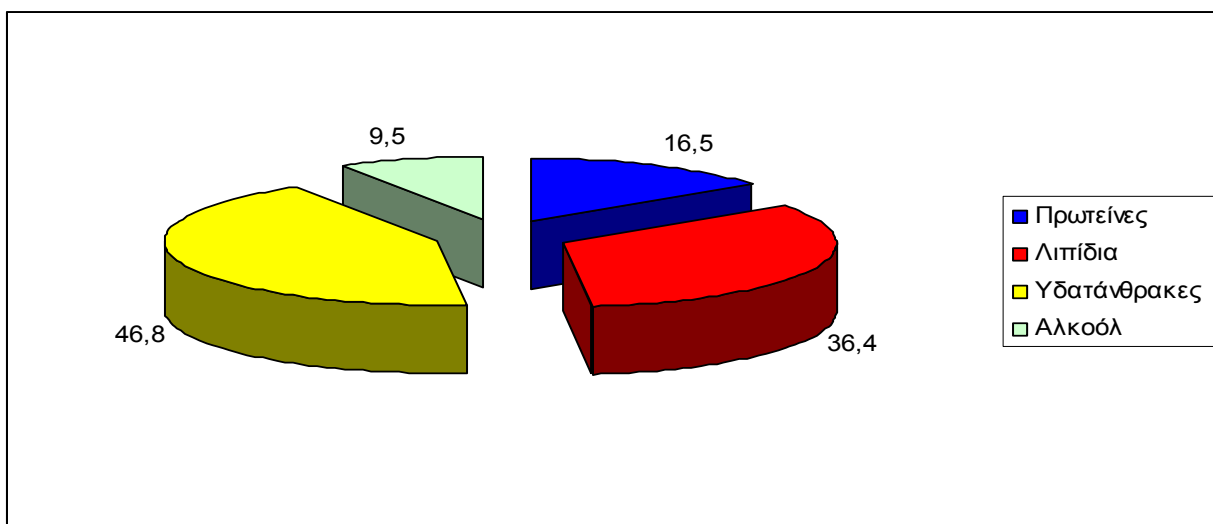
Η ακετυλοτρανσφεράση φαίνεται ότι ξεκινά να αυξάνεται είδη από τα 30 πρώτα λεπτά, αλλά σε πολύ μικρό ποσοστό (Σχήμα 4.22.). Συνεχίζει να αυξάνεται αλλά σε μεγαλύτερο επίπεδο από ότι στο μισάωρο και στις 24 ώρες πραγματοποιείται μια μεγάλη αύξηση της ακετυλοτρανσφεράσης με αποτέλεσμα να φτάνουμε στο μέγιστο επίπεδο PAF-AT (414,2 % των αρχικών επιπέδων). Στις 48 ώρες τα επίπεδα PAF-AT μειώνονται στο περίπου στο 85,9% των αρχικών επιπέδων. Στις 72 ώρες ξεκινά μια εκ νέου αύξηση φτάνοντας στις 96 ώρες στο 369,9% των αρχικών επιπέδων. Αν και εδώ δεν έχουμε στατιστικώς σημαντικά αποτελέσματα, φαίνεται να υπάρχει μια σαφέστατη τάση αύξησης της ακετυλοτρανσφεράσης, πράγμα που αποδεικνύεται από τις πολύ μεγάλες ποσοστιαίες αυξήσεις των επιπέδων της.



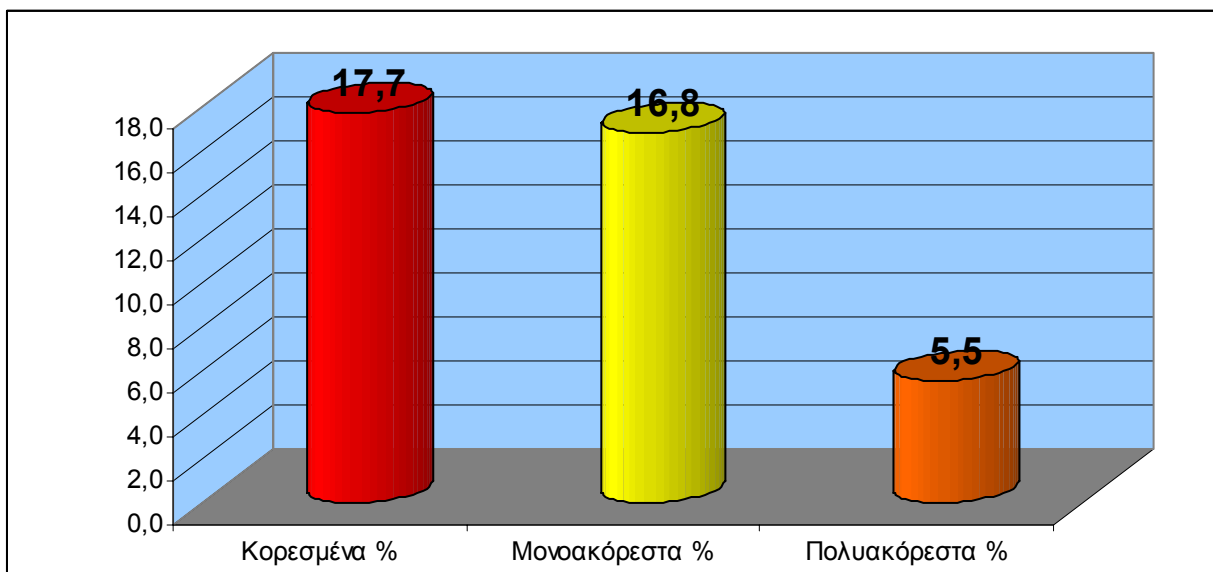
Σχήμα 4.22. Μεταβολές στην ακετυλοτρανσφεράση ομογενοποίημα λευκοκυττάρων. Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±StDev

4.3. Διατροφική αξιολόγηση

Η εκτίμηση της μέσης ημερήσιας διατροφικής πρόσληψης των μακροθρεπτικών συστατικών καθώς και βιταμινών και ιχνοστοιχείων, όσο και των φλαβονοειδών και καροτενοειδών η οποία προέκυψε μετά την ανάλυση των ερωτηματολογίων συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων, παρουσιάζεται συγκεντρωτικά στους πίνακες 4.6, 4.7, 4.8 και 4.9. Στο σχήμα 4.21 εμφανίζεται η μέση ποσοστιαία συνεισφορά των επιμέρους μακροθρεπτικών συστατικών στην συνολική ενεργειακή πρόσληψη και στο σχήμα 4.22 εμφανίζεται η μέση πρόσληψη επιμέρους κατηγοριών των λιπών ως ποσοστό της συνολικής ενεργειακής πρόσληψης.



Σχήμα 4.23. Γραφική απεικόνιση της κατανομής των μακροθρεπτικών συστατικών ως ποσοστό της συνολικής προσλαμβανόμενης ενέργειας.



Σχήμα 4.24. Γραφική απεικόνιση της κατανομής των υποκατηγοριών λίπους ως ποσοστό της συνολικής προσλαμβανόμενης ενέργειας.

Όπως φαίνεται και από το σχήμα 4.21. σε συνδυασμό με τον πίνακα 4.6. το δείγμα της έρευνας εμφανίζει πρόσληψη η οποία στα μακροθρεπτικά συστατικά συμφωνεί με τις διεθνείς συστάσεις [179]. Η μέση ενεργειακή πρόσληψη εμφανίζεται ελαφρώς αυξημένη σε σχέση με την ενεργειακή απαίτηση και έχει σχετικά υψηλά επίπεδα πρόσληψης συνολικού λίπους ξεπερνώντας τα ανώτατα όρια πρόσληψης που συστήνονται, ενώ ταυτόχρονα εμφανίζει πρόσληψη υδατανθράκων κοντά στα χαμηλότερα όρια που συστήνονται. Επίσης τα άτομα του δείγματός μας εμφανίζουν μια πολύ μεγάλη πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών (17,7%). Παράλληλα, φαίνεται (Πίνακας 4.6) πως υπερκαλύπτονται οι πρωτεϊνικές ανάγκες των συγκεκριμένων ατόμων, δεδομένου ότι η σύσταση για την συγκεκριμένη ομάδα ατόμων είναι 0,8 g πρωτ./Kg Σ.Β. ενώ η πρόσληψη κατά μέσο όρο εκτιμήθηκε ότι είναι περίπου 1,43 g/Kg Σ.Β. Η πρόσληψη φυτικών ινών είναι αρκετά χαμηλότερη από τις συστάσεις. Όσον αφορά τις βιταμίνες και τα ιχνοστοιχεία, η σύγκριση (πίνακες 4.7 και 4.8.) των εκτιμώμενων διατροφικών προσλήψεων με τις αντίστοιχες διεθνείς συστάσεις (RDAs) έδειξε πως οι συμμετέχοντες κατά μέσο όρο καλύπτουν τις ανάγκες τους για όλες σχεδόν τις βιταμίνες (εκτός της Βιτ. Α) και όλα τα ιχνοστοιχεία για τα οποία έγινε εκτίμηση της διατροφικής πρόσληψης. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι το 9,5% της προσλαμβανόμενης ενέργειας (Πίνακας 4.6.) προέρχεται από το αλκοόλ.

Επιπροσθέτως, σχετικά με τα φλαβονοειδή και καροτενοειδή, δεν μπορούν να αξιολογηθούν, καθώς δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία για όλα τα τρόφιμα του ερωτηματολογίου ενώ δεν υπάρχουν και συστάσεις για την πρόσληψή τους.

Πίνακας 4.6. Μέση ημερήσια πρόσληψη μακροθρεπτικών συστατικών των συμμετεχόντων.

	M.o ± S.d.		Σύσταση [179]
Ενέργεια	2820 ± 699 Kcal		~ 2721,4 Kcal ^β
Πρωτεΐνες g/kg ΣΒ	1,4		> 0,8gr/Kg Σ.Β. ^γ
	(g)	(%)^α	
Πρωτεΐνες	116,2 ± 30,5	16,5 ± 2,4	
Υδ/κες	334,9 ± 144,5	46,8 ± 13,8	45 - 65% ^{α,γ}
Λίπος	109,4 ± 30,2	36,4 ± 10,5	20 - 35% ^{α,γ}
Κορ.Λίπος	54,9 ± 11,6	17,7 ± 1,9	<10% ^{α,γ}
Μονοακ.Λίπος	52,4 ± 12,2	16,8 ± 1,7	10-20% ^{α,γ}
Πολυακ.Λίπος	17,4 ± 5	5,5 ± 0,9	Μέχρι 10% ^{α,γ}
Οιόνπνευμα	36 ± 14,1	9,5 ± 4,8	Περίπου 12g ^{α,γ}
Φυτικές Ίνες	27,1 ± 11,5		38g ^{γ,δ}

^α ποσοστό επί της συνολικής προσλαμβανόμενης ενέργειας

^β προκύπτει εφαρμόζοντας τούς μέσους όρους ηλικίας, ύψους, βάρους, επιπέδου φυσικής δραστηριότητας του δείγματος στην προτεινόμενη μαθηματική εξίσωση (εξίσωση Mifflin-St. Jeor 1990)

^γ διεθνής συστάσεις

^δ για άτομα 19-50 ετών

Πίνακας 4.7. Μέση ημερήσια πρόσληψη βιταμινών των συμμετεχόντων.

Βιταμίνη	M.o ± S.d.	RDA [179]
Βιτ. A (RAE)	757,1 ± 384,7	900
Θειαμίνη (mg)	3,7 ± 2,2	1,2
Ριβοφλαβίνη (mg)	4,2 ± 3	1,3
Νιασίνη (mg)	58,3 ± 9,6	1,6
Παντοθενικό οξύ (mg)	7,6 ± 3,8	5
Βιταμίνη Β6 (mg)	3,3 ± 2,1	1,3
Φυλλικό οξύ (μg)	466,8 ± 222,3	400
Βιτ. Β12 (μg)	9,0 ± 5,4	2,4
Βιτ. C (mg)	213,4 ± 154,9	90
Βιτ. D (μg)	40 ± 25,3	5
Βιτ. E (α-τοκοφερόλη) (mg)	15,5 ± 9	15
Βιτ K (μg)	168,1 ± 118	120

Πίνακας 4.8. Μέση ημερήσια πρόσληψη ιχνοστοιχείων των συμμετεχόντων.

Ιχνοστοιχείο	M.o ± S.d.	RDA [179]
Na (mg)	3339,5 ± 1621,9	1500
K (mg)	4968,2 ± 1535,7	4700
Ca (mg)	1591,8 ± 726,3	1000
Mg (mg)	843,5 ± 112,3	400 ^α , 420 ^β
P (mg)	1997,3 ± 635,1	700
Fe (mg)	19,6 ± 8,7	8
Zn (mg)	112,2 ± 57,8	11
Cu (mg)	5 ± 3,9	0,9
Mn (mg)	13,22 ± 11,3	2,3
Se (μg)	255,1 ± 36,9	55

^α Για άτομα 19-30 ετών

^β Για άτομα 31-50 ετών

Πίνακας 4.9. Μέση ημερήσια πρόσληψη φλαβονοειδών και καροτενοειδών των συμμετεχόντων.

	M.o ± S.d.
Φλαβονοειδή (mg)	115,7 ± 93,1
α-καροτένιο (mg)*	67,1 ± 23,4
β-καροτένιο (mg)*	28,7 ± 13,3
Λουτεΐνη (mg)*	9,3 ± 6,9
Λυκοπένιο (mg)*	15,3 ± 5,1
β-κρυπτοξανθίνη (mg)*	7,6 ± 6,4

*Ανήκουν στα καροτενοειδή

Στο σημείο αυτό αξίζει να σημειωθεί ότι παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον να γίνει μελέτη της συσχέτισης της διατροφικής πρόσληψης των διάφορων θρεπτικών συστατικών με τα αποτελέσματα των υπόλοιπων μετρήσεων καθώς ηεπισήμανση τυχών διαφορών στις προσλήψεις ανάμεσα στους εθελοντές και τα αποτελέσματα που βρήκαμε. Ιδιαίτερη προσοχή αξίζει να δοθεί στις διάφορες αντιοξειδωτικές ουσίες όπως την βιταμίνη C, το σελήνιο, τα φλαβονοειδή και καροτενοειδή. Μελλοντικά λοιπόν θα πρέπει να διερευνηθεί αυτό το σημαντικό κομμάτι της έρευνας αυτής, το οποίο δεν μπόρεσε να ολοκληρωθεί στην παρούσα έρευνα.

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ



Στην ενότητα αυτή πραγματοποιείται ανάλυση των αποτελεσμάτων του συνόλου των μετρήσεων καθώς και της στατιστικής τους επεξεργασίας (συσχετίσεις), με οδηγό τεκμηριωμένα ευρήματα από την διεθνή αρθρογραφεί, προκειμένου στη συνέχεια να εξαχθούν χρήσιμα συμπεράσματα..

5.1. Μυϊκή δύναμη, γωνίες άρθρωσης, περίμετρος βραχιονίου, μυϊκός πόνος

Το πρωτόκολλο εκκεντρικής άσκησης το οποίο εφαρμόστηκε στους συμμετέχοντες της έρευνας με την βοήθεια του δυναμόμετρου (Myoforce), μολονότι κρίνεται χαμηλής επιβάρυνσης [181], προκάλεσε μυϊκή βλάβη στους καμπτήρες μύες του αγκώνα. Αυτό επιβεβαιώθηκε από τις στατιστικά σημαντικές διακυμάνσεις σε όλους τους αποδεκτούς δείκτες ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης που αξιολογήθηκαν. Ειδικότερα, ευρήματα όπως η μείωση της μέγιστης ισομετρικής ροπής των εμπλεκόμενων μυών (Σχήμα 4.1.), η μείωση του εύρους κίνησης της άρθρωσης του αγκώνα (Σχήμα 4.4.), η εμφάνιση οιδήματος στην εμπλεκόμενη περιοχή (αύξηση περιμέτρου στο μέσον του βραχίονα Σχήμα 4.5), ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος (Σχήμα 4.6.) και η αύξηση των επιπέδων του μυϊκού ενζύμου CK στην αιματική κυκλοφορία (Σχήμα 4.20.), μαρτυρούν την πρόκληση μυϊκής βλάβης, όντας σε συμφωνία με αποτελέσματα παρόμοιων ερευνών [181, 182,183,184, 185]. Παρά το γεγονός ότι τα αποτελέσματα της CK δεν εμφάνισαν στατιστική σημαντικότητα, πιθανότατα λόγω του μικρού αριθμού εθελοντών και των μεταβολών σε διαφορετικά χρονικά σημεία μεταξύ των εθελοντών, φαίνεται η τάση αύξησης αφού τα επίπεδα τριπλασιάζονται.

5.2. Βιοχημικοί, αιματολογικοί και φλεγμονώδεις δείκτες στο αίμα

Η πρόκληση του συγκεκριμένου τύπου μυϊκού τραυματισμού, έχει ως αποτέλεσμα να ακολουθεί οξεία φλεγμονώδης απάντηση, προκειμένου να συμβάλει στην αποκατάσταση των τραυματισμένων ιστών [53, 186, 187]. Τα αποτελέσματα της αξιολόγησης του μυϊκού πόνου και της περιμέτρου του βραχιονίου στο μέσον του έδειξαν πως κλασικά σημεία της οξείας φλεγμονής όπως πόνος και το οίδημα, εμφανίστηκαν στους εμπλεκόμενους μύες. Όπως ήδη αναφέρθηκε και στην εισαγωγή, προγενέστερες έρευνες υποστηρίζουν επίσης την άποψη ότι η φλεγμονή του μυϊκού ή/και του συνδετικού ιστού είναι «τμήμα» του φαινομένου του ΚΜΠ. Δηλαδή ότι ένα από τα επακόλουθα της εκκεντρικού τύπου άσκησης από μη εξοικειωμένα άτομα είναι η μυϊκή φλεγμονή [53, 188, 189, 190] και ότι υπάρχει εμπλοκή του ανοσοποιητικού συστήματος στην διαδικασία επιδιόρθωσης της μυϊκής βλάβης λόγω άσκησης [189, 190, 191]. Στην διαδικασία αυτή περιλαμβάνονται ποικίλα στάδια αυτής της πολύπλοκης και πολυδιάστατης διεργασίας που αποτελεί την φλεγμονή, μεταξύ των οποίων η χημειοταξία, η ενεργοποίηση, η προσκόλληση και η μετανάστευση κυττάρων και κρίνεται απαραίτητη η εκτίμηση ευρείας γκάμας παραμέτρων προκειμένου να περιγραφούν καλύτερα τα συγκεκριμένα στάδια.

5.2.1. Λευκά αιμοσφαίρια και υποομάδες

Η μετασκησιακή λευκοκυττάρωση που παρατηρήθηκε στην παρούσα ερευνητική εργασία αποδίδεται κυρίως στην αύξηση του αριθμού των πολυμορφοπύρηνων κοκκιοκυττάρων (Σχήμα 4.12.α), εύρημα το οποίο είναι σε συμφωνία με συμπεράσματα προγενέστερων μελετών όπου χρησιμοποιήθηκε άσκηση εκκεντρικού τύπου ή αντιστάσεων [184, 185, 192, 193, 194]. Ωστόσο, στατιστικώς σημαντική αύξηση του συνολικού αριθμού των λευκοκυττάρων εντοπίστηκε μόνο 6 ώρες μετά την άσκηση (Σχήμα 4.7.β). Η λευκοκυττάρωση έχει προταθεί ως δείκτης ηπατικής και μυϊκής βλάβης τουλάχιστον μετά από εξοντωτικού βαθμού άσκηση αντοχής [195].

Πρέπει να σημειωθεί ότι λόγω αυξημένων αρχικών επιπέδων λευκοκυττάρων σε 2 από τους εθελοντές και λόγω μια ασυνήθιστα μεγάλη μείωση, σε σχέση με τους υπόλοιπους εθελοντές στα κοκκιοκύτταρα αυτοί εξαιρέθηκαν από τα προηγούμενα αποτελέσματα.

5.2.2. Ερυθρά αιμοσφαίρια

Το επόμενο εύρημα παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια εμφάνισαν μια στατιστικώς σημαντική μείωση σε 2 χρονικές στιγμές, στις 24 και 96 ώρες (Σχήμα 4.13.) Τα ευρήματα αυτά της μείωσης των ερυθρών είναι ακόμη πιο ενδιαφέροντα σε

συνδυασμό με την ταυτόχρονη στατιστικώς σημαντική μείωση στις 24 ώρες της αιμοσφαιρίνης (Σχήμα 4.14.) και του αιματοκρίτη (Σχήμα 4.14.). Αυτό υποδηλώνει ότι υπάρχει αδιαμφισβήτητη μείωση των ερυθρών.

5.2.3. Μέσος όγκος ερυθρών και αιμοπετάλια

Στο σχήμα 4.16. παρατηρούμε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική αύξηση του μέσου όγκου ερυθρών (MCV) στις 48 ώρες που ακολουθεί μια μικρή αρχική μείωση. Την αμέσως επόμενη χρονική στιγμή που μετρήσαμε (72 ώρες) παρατηρείται στατιστικώς σημαντική μείωση του MCV

Ταυτόχρονα παρατηρείται στατιστικώς σημαντική αύξηση των αιμοπεταλίων στα 30 λεπτά (Σχήμα 4.20.).

5.2.4. Παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (PAF), PAF-ακευλοϋδρολάση (PAF-AH) και PAF-ακευλοτρανσφεράση (PAF-AT).

Στην έρευνά μας δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές σε κανένα χρονικό σημείο, στις μεταβολές του ενζύμου PAF-AH στον ορό (Σχήμα 4.22.) αν και φαίνεται να αυξάνεται μετά τις 24 και κυρίως κατά τις 48-72 ώρες. Το εύρημα αυτό έρχεται σε συμφωνία με προηγούμενη μελέτη της ερευνητικής μας ομάδας [184, 185], η οποία περιλάμβανε το ίδιο πρωτόκολλο άσκησης και βάση της οποίας σχεδιάστηκε το δυναμόμετρο Myoforce. Στην έρευνα αυτή παρατηρήθηκε αύξηση στα επίπεδα του PAF στο αίμα αντικρούοντας τα αποτελέσματα της έρευνας του Γκουντέβενου και των συνεργατών του [196], οι οποίοι δεν παρατήρησαν μεταβολές στη συγκέντρωση στο αίμα του PAF σε ομάδα υγιών ατόμων μετά από φυσική άσκηση, ως προς τα αντίστοιχα επίπεδα πριν από την άσκηση. Πρέπει να σημειωθεί ότι υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο ερευνών. Συγκεκριμένα, ο μειομετρικός τύπος του πρωτοκόλλου άσκησης που επιλέχθηκε από τον Γκουντέβενο και τους συνεργάτες του είναι γνωστό ότι προκαλεί πολύ μικρότερης έντασης μυϊκή βλάβη και καθυστερημένο μυϊκό πόνο συγκριτικά με τον εκκεντρικό τύπο [197, 198]. Επιπλέον, τα χρονικά σημεία αξιολόγησης του PAF διαφέρουν αρκετά ανάμεσα στις δύο εργασίες. Τέλος, ο Γκουντέβενο και οι συνεργάτες του επέλεξαν ως μέθοδο καθαρισμού για τον PAF την TLC χρωματογραφία όπου ο PAF εκλύεται μαζί με μικρές ποσότητες και άλλων φωσφολιποειδών στα οποία συμπεριλαμβάνονται και ενδογενείς αναστολείς του PAF [199].

Η παρατήρηση ότι η δραστηριότητα, στον ορό του αίματος, του ενζύμου αποικοδόμησης του PAF (PAF-AH) δεν μεταβλήθηκε στατιστικώς σημαντικά σε κανένα από τα μετασκησιακά χρονικά σημεία αξιολόγησης, δεν αποκλείει τα επίπεδα του PAF στο αίμα να

είναι αυξημένα. Είναι πιθανό μια αύξηση του PAF να οφείλεται σε αυξημένο ρυθμό βιοσύνθεσής του PAF και όχι σε μειωμένο ρυθμό αποικοδόμησης του από την PAF-AH, είτε λόγω τυχόν μεταβολών στην δραστικότητα του ενζύμου σε χρονική φάση ενδιάμεση των επιλεγμένων χρονικών σημείων αξιολόγησης, με αποτέλεσμα να μην γίνουν αντιληπτές. Στην προηγούμενη μελέτη της ερευνητικής μας ομάδας [184, 185] φάνηκε συσχέτιση του PAF (%) στις 48h συσχετίζεται με την CK και την MIT στις 48, 72 και 96h καθώς και με την CIRC στις 48h, γεγονός το οποίο δείχνει ότι ο βαθμός αύξησης του PAF μετά από εκκεντρική άσκηση πιθανώς επηρεάζει με κάποιο τρόπο την ένταση της προκαλούμενης μυϊκής βλάβης.

Στη μελέτη μας, τα αποτελέσματα έδειξαν μια τάση αύξησης της δραστικότητας της PAF-AT στις χρονικές στιγμές των 24 και 96 ωρών. Η αύξηση αυτή όμως δεν ήταν στατιστικώς σημαντική πιθανός λόγω του μικρού αριθμού των εθελοντών (N=5) και των μεταβολών σε διαφορετικά χρονικά σημεία μεταξύ των εθελοντών. Είναι όμως πιθανό η αύξηση του ολικού PAF στις 24, 48, 72, ώρες που παρατηρήθηκε στην προηγούμενη μελέτη της ερευνητικής μας ομάδας [184, 185], όπου ακολουθήθηκε το ίδιο πρωτόκολλο άσκησης, να οφείλεται σε αύξηση της δραστικότητας του βιοσυνθετικού του ενζύμου PAF-AT.

Από τα αποτελέσματά μας λοιπόν μπορούμε να επιβεβαιώσουμε των υποτιθέμενο μηχανισμό πρόκλησης ΚΜΠ που εξηγεί τον ρόλο του PAF στο συγκεκριμένο φαινόμενο και διατυπώθηκε από την ερευνητική μας ομάδα [184, 185]. Η πρόταση της ερευνητικής μας ομάδας έχει ως εξής:

Κατά το αρχικό στάδιο του ασκησιογενούς (εκκεντρικού τύπου) μυϊκού τραυματισμού η βλάβη σε επίπεδο μεμβράνης των μυϊκών κυττάρων έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων του ενδοκυτταρικού ασβεστίου [200]. Η συγκεκριμένη αύξηση, ενεργοποιεί, εκτός των ασβεστιο-εξαρτώμενων ενζύμων, την φωσφολιπάση A_2 [55] η οποία με την σειρά της μπορεί να επάγει την βιοσύνθεση του PAF [201]. Ο PAF είτε κυκλοφορεί ως ελεύθερος PAF (free PAF) ο οποίος μπορεί να απενεργοποιηθεί άμεσα από το ένζυμο PAF-ακετυλοϋδρολάση (PAF-AH), είτε βρίσκεται με την μορφή του δεσμευμένου PAF (bound PAF) ο οποίος εκφράζεται στην επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης. Αυξημένη επιφανειακή έκφραση του δεσμευμένου PAF θα μπορούσε να συμβάλλει στην έναρξη της τοπικά εστιασμένης φλεγμονής προκαλώντας αγγειοδιαστολή, αύξηση αγγειακής διαπερατότητας, αύξηση της χημειοταξίας πολυμορφοπύρηνων και μονοκυττάρων καθώς και αυξημένη έκφραση των μορίων διακυτταρικής προσκόλλησης από τα ουδετερόφιλα, οι οποίες είναι ορισμένες από τις πλήρως τεκμηριωμένες δράσεις του PAF σε άλλες φλεγμονώδεις καταστάσεις [202].

Επίσης φαίνεται να υπάρχει δεύτερο «κύμα» αύξησης του ελεύθερου PAF που ίσως έχει κάποιον θετικό ρόλο στις διεργασίες αναγέννησης των μυϊκών κυττάρων. Ο ελεύθερος PAF ίσως αλληλεπιδρά με τα μονοκύτταρα/μακροφάγα διαμέσου του υποδοχέα του [203] οδηγώντας σε ενεργοποίηση και απελευθέρωση διάφορων κυτοκινών και παραγόντων ανάπτυξης [204, 205] που έχουν κυρίαρχο ρόλο κατά τις διεργασίες της αναγέννησης μυϊκών ινών. Σε οποιαδήποτε περίπτωση, μία λεπτή ισορροπία διάφορων παραγόντων φαίνεται πως υπάρχει στην περιοχή του τραυματισμού η οποία τελικώς καθορίζει την ταχύτητα και την έκταση της μυοϊνιδιακής αναγέννησης.

Αναμένονται με μεγάλο ενδιαφέρον τα αποτελέσματα των επιπέδων PAF από το δικό μας δείγμα, τα οποία θα συσχετισθούν με τα έξνυμα του μεταβολισμού του και τα οποία πιθανό θα ενισχύσουν την παραπάνω θεωρία. Παρόλα αυτά θα πρέπει να γίνουν κι άλλες έρευνες προκειμένου να διαλευκανθούν πλήρως οι δράσεις του PAF στο συγκεκριμένο φαινόμενο και να απαντηθεί το εάν αυτός ο φλεγμονώδης μεσολαβητής θα μπορούσε να αξιοποιηθεί ως ένας νέος αξιόπιστος δείκτης της προκαλούμενης μυϊκής βλάβης.

5.3. Διατροφική Αξιολόγηση

Η αξιολόγηση της διατροφικής πρόσληψης εμπεριείχε διάφορα προβλήματα. Αυτά τα προβλήματα αφορούν το ίδιο το ερωτηματολόγιο το οποίο σε πολλές περιπτώσεις υπερεκτιμά τις προσλήψεις (κυρίως σε μικροθρεπτικά συστατικά). Επιπλέον για τα καροτενοειδή το ερωτηματολόγιο φάνηκε να μην έχει καλή συσχέτιση με τα επίπεδα στο πλάσμα [173]. Επίσης οι πιο πρόσφατοι ελληνικοί πίνακες συνθέσεως τροφίμων [206] δεν παρέχουν δεδομένα σχετικά με την περιεκτικότητα των τροφών σε ορισμένα θρεπτικά συστατικά. Κατά συνέπεια, η εκτίμηση της διατροφικά προσλαμβανόμενης ποσότητας τους διαμέσου της ανάλυσης των ερωτηματολογίων διατροφής έπρεπε να βασιστεί σε πληρέστερους πίνακες που παρέχει το Υπουργείο Γεωργίας των Η.Π.Α., και της ευρωπαϊκής βάσης για καροτενοειδή, ενώ είναι πλήρως τεκμηριωμένο ότι, η περιεκτικότητα των τροφών σε συστατικά όπως το σελήνιο του χαλκού και του μαγγανίου είναι συνάρτηση της περιεκτικότητας σεληνίου κτλ. του αντίστοιχου εδάφους, το οποίο εμφανίζει μεγάλες γεωγραφικές διακυμάνσεις. Για τον λόγο αυτό χρειάστηκε να δημιουργηθεί μια πιο πλήρης βάση δεδομένων με συνδυασμό των βάσεων όπως αναφέρεται και στην παράγραφο 3.3.8. Δυστυχώς για μερικά τρόφιμα δεν υπάρχουν καθόλου στοιχεία όπως για την Βιταμίνη D, τα καροτενοειδή και φλαβονοειδή. Παρόλα αυτά η βάση που δημιουργήθηκε μπορεί να θεωρηθεί πιο αξιόπιστη καθώς είναι πιο ολοκληρωμένη από τις κάθε μια από μόνες τους.

Όπως αναφέρεται και στην παράγραφο 4.2.4. οι δοκιμαζόμενοι τις έρευνάς μας είχαν μια ελαφρώς αυξημένη από την απαιτούμενη πρόσληψη ενέργειας (Πίνακα 4.6.)⁴. Αυτό μπορεί να οφείλεται λόγω της πολύ μεγάλης πρόσληψης του ενός εκ των εθελοντών ο οποίος εμφάνισε πολύ μεγαλύτερη πρόσληψη από αυτή που δικαιολογείται βάση και των ανθρωπομετρικών του χαρακτηριστικών. Σε αυτό πιθανώς να συντέλεσε και μια υπερεκτίμηση της πρόσληψης και έτσι λανθασμένη συμπλήρωση του ερωτηματολογίου.

Παρατηρήθηκε μια μεγάλη πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών (Σχήμα 4.24.). Αυτή πιθανώς οφείλεται στην συχνή κατανάλωση κρέατος και τυριών. Τα μονοακόρεστα εμφανίζουν υψηλή τιμή (Σχήμα 4.24.). Αυτό οφείλεται πιθανώς λόγω του μεσογειακού τύπου διατροφής που ακολουθούν οι εθελοντές της έρευνας σε συνδυασμό με το υψηλό ποσοστό ολικού λίπους (36,4%) και το ότι το κύριο λίπος που χρησιμοποιούν από ότι δήλωσαν αλλά και στους πίνακες τροφίμων για τα σύνθετα τρόφιμα είναι το ελαιόλαδο.

Οι υδατάνθρακες βρίσκονται κοντά στα χαμηλότερα επίπεδα προτεινόμενης πρόσληψης. Όπως ήταν αναμενόμενο, οι εθελοντές υπερκαλύπτουν τις ανάγκες τους σε προτεΐνες. Και εδώ ως αιτία μπορεί να ειπωθεί η συχνή και αυξημένη κατανάλωση κρέατος και τυριών.

Όσον αφορά τις βιταμίνες και τα ιχνοστοιχεία, η σύγκριση (πίνακες 4.7 και 4.8.) των εκτιμώμενων διατροφικών προσλήψεων με τις αντίστοιχες διεθνείς συστάσεις (RDAs) έδειξε πως οι συμμετέχοντες κατά μέσο όρο καλύπτουν τις ανάγκες τους για όλες σχεδόν τις βιταμίνες (εκτός της Βιτ. Α) και όλα τα ιχνοστοιχεία για τα οποία έγινε εκτίμηση της διατροφικής πρόσληψης. Αυτή η έλλειψη κατά πάσα πιθανότητα οφείλεται λόγω τις έλλειψης στοιχείων για το συγκεκριμένο θρεπτικό στοιχείο σε μερικά από τα τρόφιμα που αναλύθηκαν. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι το 9,5% της προσλαμβανόμενης ενέργειας (Πίνακας 4.6.) προέρχεται από το αλκοόλ. Αυτό προέκυψε διότι όλοι οι εθελοντές είχαν μια σχετική συχνή κατανάλωση αλκοόλ.

Τέλος παρουσιάζεται να υπάρχει πολύ αυξημένη πρόσληψη σεληνίου. Αυτό οφείλεται πιθανός λόγω της αυξημένης πρόσληψης κρέατος που παρατηρείται ή πιθανής υπερεκτίμησης της καταναλισκόμενης ποσότητας.

5.4. Ο ρόλος της Διατροφής στον ΚΜΠ

Η συμμετοχή της διατροφής στην πρόληψη του ΚΜΠ τόσο με την φυσιολογική πρόσληψη τροφής όσο και με την συμπληρωματική χορήγηση αποδεικνύεται ολοένα και περισσότερο. Πρόσφατη έρευνα όπου χρησιμοποιήθηκε χυμός από κεράσια ανέδειξε προστατευτική δράση του χυμού από κεράσια σε κάποια από τα συμπτώματα ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης και ΚΜΠ [207]. Ο χυμός λήφθηκε 3 ημέρες πριν την άσκηση και συνεχίστηκε η λήψη του για 4 ημέρες μετά την άσκηση. Η ποσότητα που λαμβάνονταν ήταν 1 μπουκαλάκι την ημέρα που αντιστοιχούσε σε ποσότητα 50-60 ξινοκέρασων και λαμβάνονταν σε δύο δόσεις ανά ημέρα. Τα πιο αξιολογικά αποτελέσματα είναι ότι η απώλεια δύναμης κατά μέσο όρο την 4^η ημέρα μετά την άσκηση ήταν 22% στην ομάδα ελέγχου με μόνο 4% στην ομάδα που πήρε τον χυμό ενώ ο μέσος ΚΜΠ ήταν 2,4 στην κλίμακα από 0-10 με κορυφή στις 24 ώρες ενώ η ομάδα ελέγχου που δεν πήρε τον χυμό ήταν κατά μέσο όρο 3,4 με κορυφή τις 48 ώρες. Άλλη πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι η συμπληρωματική χορήγηση με αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσού (BCAA) [208] ίσως να είναι χρήσιμη αφού βρέθηκε να μειώνει τα επίπεδα των ενδομυϊκών ενζύμων CK και LDH στον ορό σε άτομα τα οποία πήραν συμπληρωματικά με την κανονική τους διατροφή BCAA για 14 μέρες και έκαναν ποδήλατο στο 70% VO₂ max την 7^η ημέρα.

Τα αποτελέσματα εργασίας από την ερευνητική μας ομάδα [184] υποστηρίζουν ότι το σελήνιο εμπλέκεται στον μηχανισμό της ασκησιογενούς (εκκεντρικού τύπου) μυϊκής βλάβης. Σε αυτό το πλαίσιο πιθανώς να συμμετέχουν σεληνοπρωτεΐνες με αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές δράσεις. Ωστόσο κρίθηκε ότι χρειάζεται να επιβεβαιωθεί και από μελλοντικές έρευνες, οι οποίες θα φανερώσουν τον ακριβή ρόλο που διαδραματίζει το σελήνιο στην αποκατάσταση της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης και τον βαθμό αναγκαιότητας χορήγησης συμπληρωμάτων σεληνίου σε ασκούμενους προκειμένου να αντιμετωπίζουν ελαφρύτερα συμπτώματα του συγκεκριμένου είδους μυϊκού τραυματισμού. Επίσης βρέθηκαν συσχετίσεις που αφορούν τον χαλκό (Cu), τον ψευδάργυρο (Zn) και το μαγγάνιο (Mn).

Είναι γνωστό ότι διάφορα ιχνοστοιχεία παίζουν σημαντικούς αλλά έμμεσους ρόλους στην παροχή αντιοξειδωτικής προστασίας στα κύτταρα (Πίνακας 5.1). Στα ιχνοστοιχεία που εμπλέκονται σε αντιοξειδωτικές λειτουργίες ανήκουν ο χαλκός (Cu), ο ψευδάργυρος (Zn), ο σίδηρος (Fe), το σελήνιο (Se) και το μαγγάνιο (Mn). Αυτά τα στοιχεία συμβάλλουν στον αντιοξειδωτικό αμυντικό μηχανισμό του οργανισμού δρώντας ως συμπαράγοντες σε αντιοξειδωτικά ένζυμα [209].

Πίνακας 5.1. Ιχνοστοιχεία που συμμετέχουν στην αντιοξειδωτική προστασία.

Ιχνοστοιχείο	Ένζυμο στο οποίο αποτελεί συμπαράγοντα	Ελεύθερη ρίζα
Χαλκός (Cu)	CuZn-SOD	υπεροξειδική ρίζα
Ψευδάργυρος (Zn)	CuZn-SOD	υπεροξειδική ρίζα
Μαγγάνιο (Mn)	Mn-SOD	υπεροξειδική ρίζα
Σελήνιο (Se)	Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης	υπεροξείδιο του υδρογόνου
Σίδηρος (Fe)	Καταλάση	υπεροξείδιο του υδρογόνου

Συμβολισμοί: SOD (Superoxide Dismutase – Υπεροξειδική δισμουτάση)

Ο χαλκός συμβάλλει στην κυτταρική αντιοξειδωτική προστασία ως συμπαράγοντας ενός αντιοξειδωτικού ενζύμου, της CuZn-υπεροξειδικής δισμουτάσης (CuZn-SOD). Αυτό το ένζυμο βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων και είναι υπεύθυνο για τον περιορισμό των υπεροξειδικών ριζών. Μολονότι η έλλειψη χαλκού στις δυτικές κοινωνίες είναι σπάνιες, ελλιπής πρόσληψη χαλκού θα μπορούσε να έχει ως αποτέλεσμα την μειωμένη δραστηριότητα της CuZn-SOD και κατ' επέκταση την αρνητική επίδραση στο αντιοξειδωτικό κυτταρικό μηχανισμό.

Ο ψευδάργυρος έχει αναγνωρισθεί ως απαραίτητο θρεπτικό συστατικό ήδη από το 1900 και αποτελεί συμπαράγοντα για περισσότερα από 300 διαφορετικά ένζυμα [210]. Όσον αφορά την αντιοξειδωτική δράση του ψευδαργύρου, πρέπει να αναφερθεί ότι αποτελεί απαραίτητο συμπαράγοντα της CuZn-SOD. Όπως ήδη αναφέρθηκε, το συγκεκριμένο ένζυμο είναι υπεύθυνο για την απομάκρυνση των υπεροξειδικών ριζών από το κυτταρόπλασμα των κυττάρων. Κατά συνέπεια, έλλειψη ψευδαργύρου θα ήταν λογικό να οδηγήσει σε μειωμένη δραστηριότητα της CuZn-SOD και κατ' επέκταση σε μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα.

Το μαγγάνιο είναι συμπαράγοντας σε διάφορα ένζυμα, στα οποία ανήκει το σημαντικό αντιοξειδωτικό ένζυμο, η Mn-υπεροξειδική δισμουτάση (Mn-SOD). Αυτό το αντιοξειδωτικό ένζυμο «κλειδί» βρίσκεται στα μιτοχόνδρια και είναι υπεύθυνο για τον περιορισμό των υπεροξειδικών ριζών που παράγονται κατά την οξειδωτική φωσφορυλίωση [211].

Επιπλέον των δεδομένων που προαναφέρθηκαν και δείχνουν ότι τα συγκεκριμένα μέταλλα (Cu, Zn, Mn) έχουν αντιοξειδωτικό ρόλο στον ανθρώπινο οργανισμό, πρόσφατες έρευνες [212, 213, 214, 215] υποστηρίζουν ότι οι υπεροξειδικές δισμουτάσες (SOD) συμμετέχουν προστατευτικά κατά την διάρκεια αποκατάστασης της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης. Πιο αναλυτικά, έχει παρατηρηθεί τόσο σε ανθρώπους [212] όσο και σε πειραματόζωα [213, 214] ότι μετά από πρόκληση ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης αυξάνουν τα

επίπεδα δραστηριότητας της SOD στο πλάσμα, εύρημα το οποίο φανερώνει την εμπλοκή της στον συνολικό μηχανισμό. Επιπρόσθετα, σύμφωνα με αποτελέσματα πρόσφατης έρευνας [215], η καθημερινή (ξεκινώντας μετά την πρόκληση του τραυματισμού) χορήγηση (με ενδοπεριτοναϊκή ένεση), CuZn-SOD (10.000 U/Kg σ.β.) σε πειραματόζωα είχε ως αποτέλεσμα την μειωμένη μετασκησιακή αύξηση της CK αλλά και της μαλονδιαλδεϋδης (MDA, δείκτης οξειδωτικού στρες) στο πλάσμα, μετά από πρόκληση ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης στους γαστροκνήμιους μύες.

Λαμβάνοντας υπόψη την αντιοξειδωτική ικανότητα των συγκεκριμένων στοιχείων, που εκφράζεται κυρίως διαμέσου της συμμετοχής τους ως συμπαράγοντες σε υπεροξειδικές δισμουτάσες (SOD), θα μπορούσε κανείς να υποθέσει ότι άτομα που έχουν μακροχρόνια υψηλότερες διατροφικές προσλήψεις Zn, Cu και Mn, έχουν υψηλότερα επίπεδα των αντίστοιχων υπεροξειδικών δισμουτασών και κατά συνέπεια υψηλότερη αντιοξειδωτική «δύναμη», η οποία συμβάλλει στην αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης.

Τέλος φαίνεται ότι ο όσο υψηλότερη είναι η πρόσληψη του Zn, τόσο ανθεκτικότερη είναι η μεμβρανική ακεραιότητα των μυϊκών τους κυττάρων [184, 185, 216]. Είναι λοιπόν πολύ πιθανόν ο ψευδάργυρος να συμβάλλει στην προστασία των μυϊκών κυττάρων κατά την πρόκληση ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης όχι μόνο δρώντας αντιοξειδωτικά ως συμπαράγοντας στην CuZn-SOD αλλά και με πολλαπλούς άλλους ρόλους.

Στο σημείο αυτό αξίζει να σημειωθεί ότι παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον να γίνει μελέτη της συσχέτισης της διατροφικής πρόσληψης των διάφορων θρεπτικών συστατικών με τα αποτελέσματα των υπόλοιπων μετρήσεων καθώς και η επισήμανση τυχών διαφορών στις προσλήψεις ανάμεσα στους εθελοντές και τα αποτελέσματα που βρήκαμε. Ιδιαίτερη προσοχή αξίζει να δοθεί στις διάφορες αντιοξειδωτικές ουσίες όπως την βιταμίνη C, το σελήνιο, χαλκό κ.α. καθώς και τα φλαβονοειδή και καροτενοειδή. Μελλοντικά λοιπόν θα πρέπει να διερευνηθεί αυτό το σημαντικό κομμάτι της έρευνας αυτής, το οποίο δεν μπόρεσε να ολοκληρωθεί στην παρούσα έρευνα.

5.5. Συμπεράσματα

Η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη και ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος είναι μία κατάσταση γνωστή σε όλους μας. Παρά τον μεγάλο αριθμό μελετών στο συγκεκριμένο πεδίο έρευνας, παραμένουν πολλά αναπάντητα ερωτηματικά σχετικά με τον μηχανισμό καθώς και με την εύρεση αποτελεσματικών παρεμβάσεων (χωρίς να ενέχουν κίνδυνο εμφάνισης παρενεργειών).

Η επιμονή σε διεθνές επίπεδο στην μελέτη στο συγκεκριμένο ερευνητικό πεδίο εξηγείται επειδή η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη:

- ✓ αφορά μεγάλες πληθυσμιακές ομάδες
 - αθλητίζοντα άτομα, που ξεκινούν κάποιο πρόγραμμα φυσικής άσκησης
 - αθλητές, που επιστρέφουν στο κανονικό πρόγραμμα προπονήσεων μετά από κάποιον τραυματισμό ή μετά από κάποια περίοδο ανάπαυσης, επηρεάζοντας σοβαρά την απόδοσή τους
- ✓ αποτελεί ένα μοντέλο έμμεσης μελέτης μιας μεγάλης κατηγορίας μυοσκελετικών τραυματισμών, των θλάσεων που παρουσιάζει αρκετά κοινά σημεία.

Η διατροφική υποστήριξη των ασκούμενων δεν στοχεύει μόνο στην βελτιστοποίηση της αθλητικής απόδοσης, αλλά και στην αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση των διάφορων μυοσκελετικών τραυματισμών.

- Το επιλεγθέν πρωτόκολλο εκκεντρικής άσκησης, το οποίο εφαρμόστηκε στους συμμετέχοντες της έρευνας με την βοήθεια του δυναμόμετρου, μολονότι κρίνεται χαμηλής επιβάρυνσης, πράγματι προκάλεσε μυϊκή βλάβη στους καμπτήρες μύες του αγκώνα κάτι το οποίο επιβεβαιώθηκε από τις στατιστικά σημαντικές διακυμάνσεις σε όλους τους αποδεκτούς δείκτων ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης που αξιολογήθηκαν.

Τα ευρήματα όπως:

- η μείωση της μέγιστης ισομετρικής ροπής των εμπλεκόμενων μυών,
 - η μείωση του εύρους κίνησης της άρθρωσης του αγκώνα,
 - η εμφάνιση οιδήματος στην εμπλεκόμενη περιοχή,
 - ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος και
 - η αύξηση των επιπέδων μυϊκού ενζύμου CK στην αιματική κυκλοφορία
- υποδεικνύουν την πρόκληση μυϊκής βλάβης, όντας σε συμφωνία με αποτελέσματα παρόμοιων ερευνών.

- Παρατηρήθηκε μετασκησιακή λευκοκυττάρωση που οφείλονταν κυρίως στην αύξηση του αριθμού των πολυμορφοπύρηνων κοκκιοκυττάρων στην αιματική κυκλοφορία, εύρημα το οποίο είναι σε συμφωνία με συμπεράσματα προγενέστερων μελετών όπου χρησιμοποιήθηκε άσκηση εκκεντρικού τύπου ή αντιστάσεων.
- Δεν εμφανίζονται σημαντικές μεταβολές στη δραστικότητα του ενζύμου αποικοδόμησης του PAF, της PAF-AH, αν και παρατηρείται μια μικρή τάση αύξησης της στις χρονικές στιγμές των 24 και 48-72 ωρών. Η έλλειψη στατιστικώς σημαντικής αύξησης δεν αποκλείει την αύξηση του PAF διότι μπορεί να αυξηθεί μέσω βιοσύνθεσης ή η δραστικότητα του ενζύμου να διαφοροποιείται σε χρονική στιγμή εκτός αυτών που μελετήθηκαν και έτσι να μη γίνει αντιληπτό.
- Παρατηρείται τάση αύξησης του βιοσυνθετικού ενζύμου του PAF, της PAF-AT, στις 24 και 96 ώρες. Αν και δεν ήταν στατιστικώς σημαντική (πιθανός λόγω του μικρού αριθμού των εθελοντών όπου N=5) πιθανός να εξηγεί την αύξηση του ολικού PAF στις 24, 48, 72, που παρατηρήθηκε στην προηγούμενη μελέτη της ερευνητικής μας ομάδας [185], όπου ακολουθήθηκε το ίδιο πρωτόκολλο άσκησης. Δηλαδή η πιθανότητα να οφείλεται σε αύξηση της δραστικότητας του βιοσυνθετικού ενζύμου PAF-AT.

Ωστόσο, οι ακριβείς ρόλοι που διαδραματίζουν ο PAF, το σελήνιο, ο ψευδάργυρος, ο χαλκός το μαγγάνιο καροτενοειδή, φλαβονοειδή και άλλα αντιοξειδοτικά συστατικά στον μηχανισμό της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης πρέπει να διερευνηθούν σε βάθος με μελλοντικές μελέτες, με επαρκές δείγμα συμμετεχόντων, από τις οποίες μελέτες τελικά θα προκύψει η αναγκαιότητα ή μη πραγματοποίησης συστάσεων για αυξημένη κατανάλωση τροφών ή συμπληρωμάτων διατροφής πλούσιων σε αναστολείς του PAF, σελήνιο, ψευδάργυρο ή μαγγάνιο κ.α. θρεπτικών συστατικών ή κάποιον συνδυασμό τους. Η διατροφική αξιολόγηση είναι αναμφισβήτητα ένα πολύτιμο εργαλείο στον σχεδιασμό κάθε εργασίας αυτής της κατηγορίας. Συνεπώς, όσον αφορά την διατροφική αξιολόγηση Ελλήνων, κρίνεται αποφασιστικής σημασίας η συμπλήρωση των ελληνικών πινάκων συνθέσεως τροφίμων με δεδομένα που αφορούν τουλάχιστον το σελήνιο, το μαγγάνιο και τον χαλκό, μιας και αυτό θα συμβάλλει στην εγκυρότερη εκτίμηση της διατροφικά προσλαμβανόμενης ποσότητας των αντίστοιχων ιχνοστοιχείων.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ – ΑΡΘΡΟΓΡΑΦΙΑ



1. Henneman E, Olson CB: **Relations Between Structure And Function In The Design Of Skeletal Muscles.** *J Neurophysiol* 1965, **28**:581-598.
2. Vander, Sherman, Luciano, Τσακόπουλος Μ, **Φυσιολογία του Ανθρώπου, Μηχανισμοί Λειτουργίας του Οργανισμού**, Επειμέλια Ελληνικής Έκδοσης: Γελαδάς Ν, Τσακόπουλος Μ, Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδης, 8^η Έκδοση, 2001, Τόμος 1, σελ. 406-443.
3. Bloom W, Fawcett DW: **A Textbook of Histology.** Philadelphia: WB Saunders;1975.
4. Δημόπουλος ΚΑ, Αντωνοπούλου Σ, **Βασική Βιοχημεία**, Εκτύπωση Τεχνογράμμα, 2000, σελ. 33-35.
5. Simon SR, Riggins RS, Wirth CR, Fox ML: **Orthopaedic Science.** Chicago: AAOS Press; 1986.
6. Feinstein B, Lindegard B, Nyman E, Wohlfart G: **Morphologic studies of motor units in normal human muscles.** *Acta Anat (Basel)* 1955, **23**(2):127-142.
7. Burke RE: **Motor unit properties and selective involvement in movement.** *Exerc Sport Sci Rev* 1975, **3**:31-81.
8. Huxley AF, Simmons RM: **Proposed mechanism of force generation in striated muscle.** *Nature* 1971, **233**(5321):533-538.
9. Huxley HE: **The mechanism of muscular contraction.** *Science* 1969, **164**(886):1356-1365.
10. Raven PB: **"Contraction," a definition of muscle action.** *Med Sci Sports Exerc* 1991, **23**(7):777-778.
11. Gollnick PD, Matoba H: **The muscle fiber composition of skeletal muscle as a predictor of athletic success. An overview.** *Am J Sports Med* 1984, **12**(3):212-217.
12. Ehman RL, Berquist TH: **Magnetic resonance imaging of musculoskeletal trauma.** *Radiol Clin North Am* 1986, **24**(2):291-319.
13. Canale ST, Cantler ED, Jr., Sisk TD, Freeman BL, 3rd: **A chronicle of injuries of an American intercollegiate football team.** *Am J Sports Med* 1981, **9**(6):384-389.
14. Garrett WE, Jr.: **Muscle strain injuries: clinical and basic aspects.** *Med Sci Sports Exerc* 1990, **22**(4):436-443.
15. Garrett WE, Jr.: **Muscle strain injuries.** *Am J Sports Med* 1996, **24**(6 Suppl):S2-8.
16. Verrall GM, Slavotinek JP, Barnes PG, Fon GT, Spriggins AJ: **Clinical risk factors for hamstring muscle strain injury: a prospective study with correlation of injury by magnetic resonance imaging.** *Br J Sports Med* 2001, **35**(6):435-439; discussion 440.

- 17 Fleckenstein JL, Weatherall PT, Parkey RW, Payne JA, Peshock RM: **Sports-related muscle injuries: evaluation with MR imaging.** *Radiology* 1989, **172**(3):793-798.
- 18 Nguyen B, Brandser E, Rubin DA: **Pains, strains, and fasciculations: lower extremity muscle disorders.** *Magn Reson Imaging Clin N Am* 2000, **8**(2):391-408.
- 19 Fleckenstein JL, Shellock FG: **Exertional muscle injuries: magnetic resonance imaging evaluation.** *Top Magn Reson Imaging* 1991, **3**(4):50-70.
- 20 Gulick DT, Kimura IF: **Delayed onset muscle soreness: What is it and how do we treat it?** *J Sport Rehab* 1996, **5**(3):234-243.
- 21 Safran MR, Seaber AV, Garrett WE, Jr.: **Warm-up and muscular injury prevention. An update.** *Sports Med* 1989, **8**(4):239-249.
- 22 Armstrong RB, Warren GL: **Strain-induced skeletal muscle fibre injury.** London: E & FN Spon; 1993.
- 23 Armstrong RB: **Mechanisms of exercise-induced delayed onset muscular soreness: a brief review.** *Med Sci Sports Exerc* 1984, **16**(6):529-538.
- 24 MacIntyre DL, Reid WD, McKenzie DC: **Delayed muscle soreness. The inflammatory response to muscle injury and its clinical implications.** *Sports Med* 1995, **20**(1):24-40.
- 25 Noonan TJ, Garrett WE, Jr.: **Injuries at the myotendinous junction.** *Clin Sports Med* 1992, **11**(4):783-806.
- 26 Newham DJ, Mills KR, Quigley BM, Edwards RH: **Pain and fatigue after concentric and eccentric muscle contractions.** *Clin Sci (Lond)* 1983, **64**(1):55-62.
- 27 Friden J, Sfikianos PN, Hargens AR: **Muscle soreness and intramuscular fluid pressure: comparison between eccentric and concentric load.** *J Appl Physiol* 1986, **61**(6):2175-2179.
- 28 Tidball JG: **Myotendinous junction injury in relation to junction structure and molecular composition.** *Exerc Sport Sci Rev* 1991, **19**:419-445.
- 29 Stauber WT: **Eccentric action of muscles: physiology, injury, and adaptation.** *Exerc Sport Sci Rev* 1989, **17**:157-185.
- 30 Cleak MJ, Eston RG: **Delayed onset muscle soreness: mechanisms and management.** *J Sports Sci* 1992, **10**(4):325-341.
- 31 Asmussen E: **Observations on experimental muscular soreness.** *Acta Rheumatol Scand* 1956, **2**(2):109-116.
- 32 Schwane JA, Hatrous BG, Johnson SR, Armstrong RB: **Is lactic acid related to delayed-onset muscle soreness?** *Physiol Sportsmed* 1983, **11**:124-131.

- 33 Cazorla G, Petibois C, Bosquet L: **Lactate at exercise: mythes et realites.** *Rev Sci Tech Activ Phys Sport (Grenoble)* 2001, **22**(54):63-76.
- 34 De Vries HA: **Electromyographic observations of the effects of static stretching upon muscular distress.** *Res Q* 1961, **32**:468-479.
- 35 Bobbert MF, Hollander AP, Huijing PA: **Factors in delayed onset muscular soreness of man.** *Med Sci Sports Exerc* 1986, **18**(1):75-81.
- 36 Cleak MJ, Eston RG: **Muscle soreness, swelling, stiffness and strength loss after intense eccentric exercise.** *Br J Sports Med* 1992, **26**(4):267-272.
- 37 De Vries HA: **Quantitative electromyographic investigation of the spasm theory of muscle pain.** *Am J Phys Med* 1966, **45**(3):119-134.
- 38 Talag TS: **Residual muscular soreness as influenced by concentric, eccentric, and static contractions.** *Res Q* 1973, **44**(4):458-469
- 39 Abraham WM: **Factors in delayed muscle soreness.** *Med Sci Sports* 1977, **9**(1):11-20.
- 40 Newham DJ, Jones DA, Edwards RH: **Large delayed plasma creatine kinase changes after stepping exercise.** *Muscle Nerve* 1983, **6**(5):380-385.
- 41 De Vries HA: **Prevention of muscular distress after exercise.** *Res Q* 1960, **32**(2):177-185.
- 42 Hough T: **Ergographic studies in muscular soreness.** *Am J Physiol* 1902, **7**:76-92.
- 43 Sydney-Smith M, Quigley BM: **Delayed onset muscle soreness: evidence of connective tissue damage, liquid peroxidation and altered renal function after exercise.** *Report to the Australian Sports Commission's Applied Sport Research Canberra: Australian Sports Commission* 1992:77.
- 44 Friden J, Sjostrom M, Ekblom B: **A morphological study of delayed muscle soreness.** *Experientia* 1981, **37**(5):506-507.
- 45 Friden J, Sjostrom M, Ekblom B: **Myofibrillar damage following intense eccentric exercise in man.** *Int J Sports Med* 1983, **4**(3):170-176. Jones DA, Newham DJ, Round JM, Tolfree SE: **Experimental human muscle damage: morphological changes in relation to other indices of damage.** *J Physiol* 1986, **375**:435-448.
- 47 Friden J, Kjorell U, Thornell LE: **Delayed muscle soreness and cytoskeletal alterations: an immunocytological study in man.** *Int J Sports Med* 1984, **5**(1):15-18. Friden J, Seger J, Ekblom B: **Sublethal muscle fibre injuries after high-tension anaerobic exercise.** *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1988, **57**(3):360-368.
- 49 Friden J, Lieber RL: **Structural and mechanical basis of exercise-induced muscle injury.** *Med Sci Sports Exerc* 1992, **24**(5):521-530. Newham DJ, Jones DA, Edwards RH: **Plasma creatine kinase changes after eccentric and**

- concentric contractions.** *Muscle Nerve* 1986, **9**(1):59-63. Francis KT, Hoobler T: **Effects of aspirin on delayed muscle soreness.** *J Sports Med Phys Fitness* 1987, **27**(3):333-337. Evans WJ, Meredith CN, Cannon JG, Dinarello CA, Frontera WR, Hughes VA, Jones BH, Knuttgen HG: **Metabolic changes following eccentric exercise in trained and untrained men.** *J Appl Physiol* 1986, **61**(5):1864-1868.
- 53 Smith LL: **Acute inflammation: the underlying mechanism in delayed onset muscle soreness?** *Med Sci Sports Exerc* 1991, **23**(5):542-551.
- 54 Hansson SM, Daniels JC, Divine JG, Niebuhr BR, Richmond S, Stein PG, Williams JH: **Effect of ibuprofen use on muscle soreness, damage, and performance: a preliminary investigation.** *Med Sci Sports Exerc* 1993, **25**(1):9-17.
- 55 Armstrong RB: **Initial events in exercise-induced muscular injury.** *Med Sci Sports Exerc* 1990, **22**(4):429-435. Smith ME, Jackson CGR: **Delayed onset muscle soreness (DOMS), serum creatine kinase (SCK) and creatine kinase-MB (%CK-MB) related to performance measurements in football [abstract].** *Med Sci Sports Exerc* 1990, **Suppl 2**:S34.
- 57 Fielding RA, Manfredi TJ, Ding W, Fiatarone MA, Evans WJ, Cannon JG: **Acute phase response in exercise. III. Neutrophil and IL-1 beta accumulation in skeletal muscle.** *Am J Physiol* 1993, **265**(1 Pt 2):R166-172.
- 58 Kuipers H, Drukker J, Frederik PM, Geurten P, van Kranenburg G: **Muscle degeneration after exercise in rats.** *Int J Sports Med* 1983, **4**(1):45-51.
- 59 Altstaedt J, Kirchner H, Rink L: **Cytokine production of neutrophils is limited to interleukin-8.** *Immunology* 1996, **89**(4):563-568.
- 60 Dubravec DB, Spriggs DR, Mannick JA, Rodrick ML: **Circulating human peripheral blood granulocytes synthesize and secrete tumor necrosis factor alpha.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990, **87**(17):6758-6761. Honda H, Kimura H, Rostami A: **Isolation and characterization of macrophages from rat embryonic muscle culture.** *J Leukoc Biol* 1992, **52**(5):537-544.
- 62 Honda H, Kimura H, Rostami A: **Demonstration and phenotypic characterization of resident macrophages in rat skeletal muscle.** *Immunology* 1990, **70**(2):272-277.
- 63 Arkins S, Rebeiz N, Biragyn A, Reese DL, Kelley KW: **Murine macrophages express abundant insulin-like growth factor-I class I Ea and Eb transcripts.** *Endocrinology* 1993, **133**(5):2334-2343.
- 64 Le JM, Weinstein D, Gubler U, Vilcek J: **Induction of membrane-associated interleukin 1 by tumor necrosis factor in human fibroblasts.** *J Immunol* 1987, **138**(7):2137-2142.
- 65 Best TM, Fiebig R, Corr DT, Brickson S, Ji L: **Free radical activity, antioxidant enzyme, and glutathione changes with muscle stretch injury in rabbits.** *J Appl Physiol* 1999, **87**(1):74-82.

- 66 Best TM, McElhaney JH, Garrett WE, Jr., Myers BS: **Axial strain measurements in skeletal muscle at various strain rates.** *J Biomech Eng* 1995, **117**(3):262-265.
- 67 Walther Z, May LT, Sehgal PB: **Transcriptional regulation of the interferon-beta 2/B cell differentiation factor BSF-2/hepatocyte-stimulating factor gene in human fibroblasts by other cytokines.** *J Immunol* 1988, **140**(3):974-977.
- 68 King JB: **Post-traumatic ectopic calcification in the muscles of athletes: a review.** *Br J Sports Med* 1998, **32**(4):287-290.
- 69 Kovacs EJ, DiPietro LA: **Fibrogenic cytokines and connective tissue production.** *Faseb J* 1994, **8**(11):854-861.
- 70 Cannon JG, St Pierre BA: **Cytokines in exertion-induced skeletal muscle injury.** *Mol Cell Biochem* 1998, **179**(1-2):159-167.
- 71 Pober JS, Gimbrone MA, Jr., Lapierre LA, Mendrick DL, Fiers W, Rothlein R, Springer TA: **Overlapping patterns of activation of human endothelial cells by interleukin 1, tumor necrosis factor, and immune interferon.** *J Immunol* 1986, **137**(6):1893-1896. Hershko A: **Ubiquitin-mediated protein degradation.** *J Biol Chem* 1988, **263**(30):15237-15240. McHugh MP, Connolly DA, Eston RG, Gleim GW: **Exercise-induced muscle damage and potential mechanisms for the repeated bout effect.** *Sports Med* 1999, **27**(3):157-170.
- 74 Connolly DA, Sayers SP, McHugh MP: **Treatment and prevention of delayed onset muscle soreness.** *J Strength Cond Res* 2003, **17**(1):197-208.
- 75 McHugh MP: **Can exercise-induced muscle damage be avoided?** *West J Med* 2000, **172**(4):265-266.
- 76 Rowlands AV, Eston RG, Tilzey C: **Effect of stride length manipulation on symptoms of exercise-induced muscle damage and the repeated bout effect.** *J Sports Sci* 2001, **19**(5):333-340.
- 77 Marieb E: **Human anatomy and physiology**, 2nd edn. Redwood City, CA: Benjamin/Cummings Publishing Co; 1992.
- 78 Brooks PM, Day RO: **Nonsteroidal antiinflammatory drugs--differences and similarities.** *N Engl J Med* 1991, **324**(24):1716-1725.
- 79 Hertel J: **The role of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the treatment of acute soft tissue injuries.** *J Athl Train* 1997, **32**:350-357.
- 80 Abramson SB, Weissmann G: **The mechanisms of action of nonsteroidal antiinflammatory drugs.** *Arthritis Rheum* 1989, **32**(1):1-9.
- 81 Dudley GA, Czerkawski J, Meinrod A, Gillis G, Baldwin A, Scarpone M: **Efficacy of naproxen sodium for exercise-induced dysfunction muscle injury and soreness.** *Clin J Sport Med* 1997, **7**(1):3-10.
- 82 Bourgeois J, MacDougall D, MacDonald J, Tarnopolsky M: **Naproxen does not alter indices of muscle damage in resistance-exercise trained men.** *Med Sci Sports Exerc* 1999, **31**(1):4-9. Donnelly AE, Maughan RJ, Whiting PH: **Effects of**

- ibuprofen on exercise-induced muscle soreness and indices of muscle damage.** *Br J Sports Med* 1990, **24**(3):191-195.
- 84 Mishra DK, Friden J, Schmitz MC, Lieber RL: **Anti-inflammatory medication after muscle injury. A treatment resulting in short-term improvement but subsequent loss of muscle function.** *J Bone Joint Surg Am* 1995, **77**(10):1510-1519.
 - 85 Chleboun GS, Howell JN, Baker HL, Ballard TN, Graham JL, Hallman HL, Perkins LE, Schauss JH, Conatser RR: **Intermittent pneumatic compression effect on eccentric exercise-induced swelling, stiffness, and strength loss.** *Arch Phys Med Rehabil* 1995, **76**(8):744-749.
 - 86 Craig JA, Bradley J, Walsh DM, Baxter GD, Allen JM: **Delayed onset muscle soreness: lack of effect of therapeutic ultrasound in humans.** *Arch Phys Med Rehabil* 1999, **80**(3):318-323.
 - 87 Eston R, Peters D: **Effects of cold water immersion on the symptoms of exercise-induced muscle damage.** *J Sports Sci* 1999, **17**(3):231-238.
 - 88 Tiidus PM: **Massage and ultrasound as therapeutic modalities in exercise-induced muscle damage.** *Can J Appl Physiol* 1999, **24**(3):267-278.
 - 89 Lund H, Vestergaard-Poulsen P, Kanstrup IL, Sejrsen P: **The effect of passive stretching on delayed onset muscle soreness, and other detrimental effects following eccentric exercise.** *Scand J Med Sci Sports* 1998, **8**(4):216-221.
 - 90 Rodenburg JB, Steenbeek D, Schiereck P, Bar PR: **Warm-up, stretching and massage diminish harmful effects of eccentric exercise.** *Int J Sports Med* 1994, **15**(7):414-419.
 - 91 Sayers SP, Clarkson PM, Lee J: **Activity and immobilization after eccentric exercise: I. Recovery of muscle function.** *Med Sci Sports Exerc* 2000, **32**(9):1587-1592.
 - 92 Tiidus PM, Shoemaker JK: **Effleurage massage, muscle blood flow and long-term post-exercise strength recovery.** *Int J Sports Med* 1995, **16**(7):478-483.
 - 93 Viitasalo JT, Niemela K, Kaappola R, Korjus T, Levola M, Mononen HV, Rusko HK, Takala TE: **Warm underwater water-jet massage improves recovery from intense physical exercise.** *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1995, **71**(5):431-438.
 - 94 Mekjavic IB, Exner JA, Tesch PA, Eiken O: **Hyperbaric oxygen therapy does not affect recovery from delayed onset muscle soreness.** *Med Sci Sports Exerc* 2000, **32**(3):558-563.
 - 95 Zhang J, Clement D, Taunton J: **The efficacy of Farabloc, an electromagnetic shield, in attenuating delayed-onset muscle soreness.** *Clin J Sport Med* 2000, **10**(1):15-21.
 - 96 Pyne DB: **Regulation of neutrophil function during exercise.** *Sports Med* 1994, **17**(4):245-258.

- 97 Warren GL, Lowe DA, Armstrong RB: **Measurement tools used in the study of eccentric contraction-induced injury.** *Sports Med* 1999, **27**(1):43-59.
- 98 Kaminski M, Boal R: **An effect of ascorbic acid on delayed-onset muscle soreness.** *Pain* 1992, **50**(3):317-321.
- 99 Childs A, Jacobs C, Kaminski T, Halliwell B, Leeuwenburgh C: **Supplementation with vitamin C and N-acetyl-cysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise.** *Free Radic Biol Med* 2001, **31**(6):745-753.
- 100 Hortobagyi T, Houmard J, Fraser D, Dudek R, Lambert J, Tracy J: **Normal forces and myofibrillar disruption after repeated eccentric exercise.** *J Appl Physiol* 1998, **84**(2):492-498.
- 101 Bryer SC, Goldfarb AH: **The effect of Vitamin C supplementation on blood glutathione status, DOMS, and creatine kinase.** *Med Sci Sports Exerc* 2001, **33**(5):S122.
- 102 Beaton LJ, Allan DA, Tarnopolsky MA, Tiidus PM, Phillips SM: **Contraction-induced muscle damage is unaffected by vitamin E supplementation.** *Med Sci Sports Exerc* 2002, **34**(5):798-805.
- 103 Nissen S, Sharp R, Ray M, Rathmacher JA, Rice D, Fuller JC, Jr., Connelly AS, Abumrad N: **Effect of leucine metabolite beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on muscle metabolism during resistance-exercise training.** *J Appl Physiol* 1996, **81**(5):2095-2104.
- 104 Kreider RB, Ferreira M, Wilson M, Almada AL: **Effects of calcium beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation during resistance-training on markers of catabolism, body composition and strength.** *Int J Sports Med* 1999, **20**(8):503-509.
- 105 Rawson ES, Gunn B, Clarkson PM: **The effects of creatine supplementation on exercise-induced muscle damage.** *J Strength Cond Res* 2001, **15**(2):178-184.
- 106 Wojcik JR, Walber-Rankin J, Smith LL, Gwazdauskas FC: **Comparison of carbohydrate and milk-based beverages on muscle damage and glycogen following exercise.** *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2001, **11**(4):406-419.
- 107 Tveiten D, Bruset S, Borchgrevink CF, Norseth J: **Effect of Arnica D 30 during hard physical exertion: A double-blind randomized trial during the 1995 Oslo Marathon.** *Ther Med (complement)* 1998, **6**:71-74.
- 108 Vickers AJ, Fisher P, Smith C, Wyllie SE, Rees R: **Homeopathic Arnica 30x is ineffective for muscle soreness after long-distance running: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial.** *Clin J Pain* 1998, **14**(3):227-231.
- 109 Vickers AJ, Fisher P, Smith C, Wyllie SE, Lewith GT: **Homoeopathy for delayed onset muscle soreness: a randomised double blind placebo controlled trial.** *Br J Sports Med* 1997, **31**(4):304-307.

- 110 Giamberardino MA, Dragani L, Valente R, Di Lisa F, Saggini R, Vecchiet L: **Effects of prolonged L-carnitine administration on delayed muscle pain and CK release after eccentric effort.** *Int J Sports Med* 1996, **17**(5):320-324.
- 111 Laaksonen R, Fogelholm M, Himberg JJ, Laakso J, Salorinne Y: **Ubiquinone supplementation and exercise capacity in trained young and older men.** *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1995, **72**(1-2):95-100.
- 112 Malm C, Svensson M, Sjoberg B, Ekblom B, Sjodin B: **Supplementation with ubiquinone-10 causes cellular damage during intense exercise.** *Acta Physiol Scand* 1996, **157**(4):511-512.
- 113 Pinckard RN, Farr RS, Hanahan DJ, **Physicochemical and functional identity of rabbit platelet-activating factor (PAF) released in vivo during IgE anaphylaxis with PAF released in vitro from IgE sensitized basophils.** *J.Immunol.*, 1979, **123**, 1847-1857.
- 114 McManus LM, Hanahan DJ, Demopoulos CA, Pinckard RN, **Pathobiology of the intravenous infusion of acetyl glyceryl ether phosphorylcholine (AGEPC), a synthetic platelet-activating factor (PAF), in the rabbit.** *J.Immunol.*, 1980, **124**, 2919-2924.
- 115 Asai Y, Nomura T, Murahashi N, Iwamoto K, **Characterization of the physicochemical properties of the micelles of platelet-activating factor (C_{18:0}).** *Drug.Dev.Ind.Pharm.*, 2000, **26**, 671-674.
- 116 Kramp W, Pieroni G, Pinckard RN, Hanahan DJ, **Observations on the critical micellar concentration of 1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine and a series of its homologs and analogs.** *Chem. Phys.Lipids*, 1984, **35**, 49-62.
- 117 Blank ML, Cress EA, Whittle T, Snyder F, **In vivo metabolism of a new class of biologically active phospholipids, 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine, a platelet activating hypotensive phospholipid.** *Life Sci.*, 1981, **29**, 769-775.
- 118 Clay KL, Johnson C, Henson PM, **Binding of platelet activating factor to albumin.** *Biochim.Biophys.Acta*, 1990, **1046**, 309-314.
- 119 Venable ME, Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM, **Platelet-activating factor, a phospholipid autacoid with diverse actions.** *J.Lipid.Res.*, 1993, **34**, 691-702.
- 120 Prescott SM, Zimmerman GA, McIntyre TM. **Platelet-activating factor.** *J.Biol.Chem.*, 1990, **265**, 17381-17384.
- 121 Hanahan DJ: **Platelet activating factor: a biologically active phosphoglyceride.** *Annu Rev Biochem* 1986, **55**:483-509.
- 122 Koltai M, Hosford D, Guinot P, Esanu A, Braquet P: **Platelet activating factor (PAF). A review of its effects, antagonists and possible future clinical implications (Part I).** *Drugs* 1991, **42**(1):9-29.

- 123 Snyder F: **Platelet-activating factor and related acetylated lipids as potent biologically active cellular mediators.** *Am J Physiol* 1990, **259**(5 Pt 1):C697-708.
- 124 Prescott SM, Zimmerman GA, McIntyre TM: **Platelet-activating factor.** *J Biol Chem* 1990, **265**(29):17381-17384.
- 125 Bussolino F, Camussi G: **Platelet-activating factor produced by endothelial cells. A molecule with autocrine and paracrine properties.** *Eur J Biochem* 1995, **229**(2):327-337.
- 126 MacLennan KM, Smith PF, Darlington CL: **Platelet-activating factor in the CNS.** *Prog Neurobiol* 1996, **50**(5-6):585-596.
- 127 Feuerstein GZ: **Platelet-activating factor: a case for its role in CNS function and brain injury.** *J Lipid Mediat Cell Signal* 1996, **14**(1-3):109-114.
- 128 Frenkel RA, Muguruma K, Johnston JM: **The biochemical role of platelet-activating factor in reproduction.** *Prog Lipid Res* 1996, **35**(2):155-168.
- 129 Minhas BS, Ripps BA, Zhu YP, Kim HN, Burwinkel TH, Gleicher N: **Platelet activating factor and conception.** *Am J Reprod Immunol* 1996, **35**(3):267-271.
- 130 Tsangaris GT, Demopoulos CA, Tsoukatos DC, Kapoulas VM: **Study of the glycogenolytic action of platelet activating factor in Tetrahymena pyriformis.** *Comp Biochem Physiol C* 1992, **102**(3):495-502.
- 131 Tselepis A, Tsoukatos D, Demopoulos CA, Kapoulas VM: **Effects of AGEPC on the intracellular levels of ions in Tetrahymena pyriformis.** *Biochem Int* 1986, **13**(6):999-1008.
- 132 Kulikov VI, Muzya GI: **Ether lipids and platelet-activating factor: evolution and cellular function.** *Biochemistry (Mosc)* 1997, **62**(10):1103-1108.
- 133 Koltai M, Hosford D, Guinot P, Esanu A, Braquet P: **PAF. A review of its effects, antagonists and possible future clinical implications (Part II).** *Drugs* 1991, **42**(2):174-204.
- 134 Chao W, Olson MS: **Platelet-activating factor: receptors and signal transduction.** *Biochem J* 1993, **292** (Pt 3):617-629.
- 135 Barnes PJ, Chung KF, Page CP: **Platelet-activating factor as a mediator of allergic disease.** *J Allergy Clin Immunol* 1988, **81**(5 Pt 1):919-934.
- 136 Schellenberg RR: **Airway responses to platelet-activating factor.** *Am Rev Respir Dis* 1987, **136**(4 Pt 2):S28-32.
- 137 Montrucchio G, Alloatti G, Camussi G: **Role of platelet-activating factor in cardiovascular pathophysiology.** *Physiol Rev* 2000, **80**(4):1669-1699.
- 138 Goldstein RE, Feuerstein GZ, Bradley LM, Stambouly JJ, Laurindo FR, Davenport NJ: **Cardiovascular effects of platelet-activating factor.** *Lipids* 1991, **26**(12):1250-1256.

- 139 Izzo AA: **PAF and the digestive tract. A review.** *J Pharm Pharmacol* 1996, **48**(11):1103-1111.
- 140 Sturk A, ten Cate JW, Hosford D, Mencia-Huerta JM, Braquet P: **The synthesis, catabolism, and pathophysiological role of platelet-activating factor.** *Adv Lipid Res* 1989, **23**:219-276.
- 141 MacLennan KM, Smith PF, Darlington CL: **Platelet-activating factor in the CNS.** *Prog Neurobiol* 1996, **50**(5-6):585-596.
- 142 Koltai M, Hosford D, Guinot P, Esanu A, Braquet P, **PAF - A review of its effects antagonists and possible future clinical implications - Part I.** *Drugs*, 1991, **42**, 9-29.
- 143 Koltai M, Hosford D, Guinot P, Esanu A, Braquet P. **PAF, a review of its effects, antagonists and possible future clinical implications (Part II).** *Drugs*, 1991, **42**, 174-204.
- 144 Chao W, Olson MS. **Platelet-Activating Factor, receptors and signal transduction.** *Biochem.J.*, 1993, **292** (Pt 3), 617-629.
- 145 Izumi T, Honda Z, Mutoh H, Kume K, Shimizu T, **Regulation and signal transduction of PAF receptor.** *Adv.Prostaglandin Thromboxane Leukot.Res.*, 1995, **23**, 461-466.
- 146 Shukla SD, **Inositol phospholipid turnover in PAF transmembrane signalling.** *Lipids*, 1991, **26**, 1028-1033.
- 147 Saunders RN, Handley DA, **Platelet-Activating Factor antagonists.** *Annu.Rev.Pharmacol.Toxicol.*, 1987, **27**, 237-255.
- 148 Ishii S, Shimizu T, **Platelet-Activating Factor (PAF) receptor and genetically engineered PAF receptor mutant mice.** *Prog.Lipid.Res.*, 2000, **39**, 41-82.
- 149 Snyder F, **Platelet-activating factor and its analogs, metabolic pathways and related intracellular processes.** *Biochim.Biophys.Acta*, 1995, **1254**, 231-249.
- 150 Snyder F, **Platelet-activating factor, the biosynthetic and catabolic enzymes.** *Biochem.J.*, 1995, **305**, 689-705.
- 151 Ludwig JC, Mcmanus LM, Clark PO, Hanahan DJ, Pinckard RN, **Modulation of platelet-activating factor (PAF) synthesis and release from human polymorphonuclear leukocytes (PMN), role of extracellular Ca²⁺.** *Arch.Biochem.Biophys.*, 1984, **232**, 102-110.
- 152 Jouvin-Marche E, Ninio E, Beaurain G, Tence M, Niaudet P, Benveniste J, **Biosynthesis of Paf-acether (platelet-activating factor). VII. Precursors of Paf-acether and acetyltransferase activity in human leukocytes.** *J.Immunol.*, 1984, **133**, 892-898.
- 153 Sisson JH, Prescott SM, McIntyre TM, Zimmerman GA, **Production of platelet-activating factor by stimulated human polymorphonuclear leukocytes.**

- Correlation of synthesis with release, functional events, and leukotriene B4 metabolism.** *J.Immunol.*, 1987, **138**, 3918-3926.
- 154 Denichilo MO, Stewart AG, Vadas MA, Lopez AF, **Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor is a stimulant of platelet-activating factor and superoxide anion generation by human neutrophils.** *J.Biol.Chem.*, 1991, **266**, 4896-4902.
 - 155 McIntyre TM, Zimmerman GA, Satoh K, Prescott SM, **Cultured endothelial cells synthesize both platelet-activating factor and prostacyclin in response to histamine, bradykinin, and adenosine triphosphate.** *J.Clin.Invest.*, 1985, **76**, 271-280.
 - 156 McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM, **Leukotrienes C4 and D4 stimulate human endothelial cells to synthesize platelet-activating factor and bind neutrophils.** *Proc.Natl.Acad.Sci USA*, 1986, **83**, 2204-2208.
 - 157 Fragopoulou E, Nomikos T, Antonopoulou S, Mitsopoulou CA, Demopoulos CA: **Separation of biologically active lipids from red wine.** *J Agric Food Chem* 2000, **48**(4):1234-1238.
 - 158 Koussissis S, Semidalas CE, Antonopoulou S, Kapoulas VM, Demopoulos CA, Kalyvas V: **PAF antagonists in food: isolation and identification of PAF antagonists in virgin olive oil.** *Revue Francaise Des Corps Gras* 1994, **9/10**:323.
 - 159 Koussissis S, Semidalas CE, Hadzistavrou EC, Kalyvas V, Antonopoulou S, Demopoulos CA: **PAF antagonists in food: isolation and identification of PAF antagonists in honey and wax.** *Revue Francaise Des Corps Gras* 1994, **5/6**:127.
 - 160 Rementzis J, Antonopoulou S, Demopoulos CA: **Identification and study of gangliosides from scomber-scombrus muscle.** *J Agr Food Chem* 1997, **45**(3):611-615.
 - 161 Saunders RN, Handley DA: **Platelet-activating factor antagonists.** *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1987, **27**:237-255.
 - 162 Koltai M, Guinot P, Hosford D, Braquet PG: **Platelet-activating factor antagonists: scientific background and possible clinical applications.** *Adv Pharmacol* 1994, **28**:81-167.
 - 163 Guinot P: **Clinical experience with platelet-activating factor antagonists. Past, present, and near future.** *Clin Rev Allergy* 1994, **12**(4):397-417.
 - 164 Summers JB, Albert DH: **Platelet activating factor antagonists.** *Adv Pharmacol* 1995, **32**:67-168.
 - 165 Paddon-Jones D, Abernethy PJ: **Acute adaptation to low volume eccentric exercise.** *Med Sci Sports Exerc* 2001, **33**(7):1213-1219.
 - 166 Miliadis GA, Antonopoulou S, Athanasopoulos S: **Development of a new motorized isometric dynamometer for measuring elbow flexor muscle strength's characteristics.** In: *Pre-Olympic 2004 Congress: Sport science*

through the ages: 6-11 Aug 2004 2004; Aristotle University Campus, Thessaloniki, Greece; 2004: 205-206.

- 167 Stillman BC: **An investigation of the clinical assessment of joint position sense.** *PhD Dissertation.* Victoria, Australia: University of Melbourne; 2000.
- 168 Melzack R: **The short-form McGill Pain Questionnaire.** *Pain* 1987, **30**(2):191-197.
- 169 **CK NAC activated, SGMItalia, Italy, Catalog Number 10195**
- 170 Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ: **Protein measurement with the Folin phenol reagent.** *J Biol Chem* 1951, **193**:265-275.
- 171 Pinckard RN, Ludwig JC: **Determination of PAF-2 acylhydrolase activity.** In: *Fed Proc (abstract): 1986 1986*; 1986: 856.
- 172 Demopoulos CA, Pinckard RN, Hanahan DJ: **Platelet-activating factor. Evidence for 1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol-3-phosphorylcholine as the active component (a new class of lipid chemical mediators).** *J Biol Chem* 1979, **254**(19):9355-9358.
- 173 Katsouyanni K, Rimm EB, Gnardellis C, Trichopoulos D, Polychronopoulos E, Trichopoulou A. **Reproducibility and relative validity of an extensive semi-quantitative food frequency questionnaire using dietary records and biochemical markers among Greek schoolteachers.** *Int J Epidemiol.* 1997;**26**, Suppl 1:S118-27.
- 174 Τριχοπούλου Α, Γεωργά Κ. **Πίνακες συνθέσεως τροφίμων και ελληνικών φαγητών 3^η Έκδοση.** Αθήνα; 1992.
- 175 http://www.nut.uoa.gr/english/Food_Comp_Tables/Food_Comp_Tables_EN.htm
- 176 **USDA National Nutrient Database for Standard Reference Release 18** (<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>) 2005.
- 177 O'Neill ME, Carroll Y, Corridan B, Olmedilla B, Granado F Blanco I, Van den Berg H, Hininger I, Rousell AM, Chopra M, Southon S, Thurnham DI. **A European carotenoid database to assess carotenoid intakes and its use in a five-country comparative study.** *Br J Nutr*, **85**(4):499-507, 2001
- 178 U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods, Release 1. 2003
- 179 **Dietary Reference Intakes (DRIs): Recommended Intakes for Individuals, Vitamins.** Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies
- 180 Paddon-Jones D, Abernethy PJ: **Acute adaptation to low volume eccentric exercise.** *Med Sci Sports Exerc* 2001, **33**(7):1213-1219.
- 181 Clarkson PM, Nosaka K, Braun B: **Muscle function after exercise-induced muscle damage and rapid adaptation.** *Med Sci Sports Exerc* 1992, **24**(5):512-520.

- 182 Nosaka K, Clarkson PM: **Variability in serum creatine kinase response after eccentric exercise of the elbow flexors.** *Int J Sports Med* 1996, **17**(2):120-127.
- 183 Nosaka K, Clarkson PM: **Changes in plasma zinc following high force eccentric exercise.** *Int J Sport Nutr* 1992, **2**(2):175-184.
- 184 Miliás GA, Nomikos T, Fragopoulou E, Athanasopoulos S, Antonopoulou S. **Effects of baseline serum levels of Se on markers of eccentric exercise-induced muscle injury.** *Biofactors*. 2006;26(3):161-70.
- 185 Miliás GA, Nomikos T, Fragopoulou E, Athanasopoulos S, Antonopoulou S. **Effects of eccentric exercise-induced muscle injury on blood levels of platelet activating factor (PAF) and other inflammatory markers.** *Eur J Appl Physiol*. 2005 Dec;95(5-6):504-13. Epub 2005 Sep 6.
- 186 Kushner I: **The phenomenon of the acute phase response.** *Ann N Y Acad Sci* 1982, **389**:39-48.
- 187 Camus G, Deby-Dupont G, Deby C, Juchmes-Ferir A, Pincemail J, Lamy M: **Inflammatory response to strenuous muscular exercise in man.** *Mediators Inflamm* 1993, **2**:335-342.
- 188 Hellsten Y, Frandsen U, Orthenblad N, Sjodin B, Richter EA: **Xanthine oxidase in human skeletal muscle following eccentric exercise: a role in inflammation.** *J Physiol* 1997, **498** (Pt 1):239-248.
- 189 Pyne DB: **Exercise-induced muscle damage and inflammation: a review.** *Aust J Sci Med Sport* 1994, **26**(3-4):49-58.
- 190 Tidball JG: **Inflammatory cell response to acute muscle injury.** *Med Sci Sports Exerc* 1995, **27**(7):1022-1032.
- 191 Evans WJ, Cannon JG: **The metabolic effects of exercise-induced muscle damage.** *Exerc Sport Sci Rev* 1991, **19**:99-125.
- 192 Pizza FX, Davis BH, Henrickson SD, Mitchell JB, Pace JF, Bigelow N, DiLauro P, Naglieri T: **Adaptation to eccentric exercise: effect on CD64 and CD11b/CD18 expression.** *J Appl Physiol* 1996, **80**(1):47-55.
- 193 Malm C, Lenkei R, Sjodin B: **Effects of eccentric exercise on the immune system in men.** *J Appl Physiol* 1999, **86**(2):461-468.
- 194 Nieman DC, Henson DA, Sampson CS, Herring JL, Suttles J, Conley M, Stone MH, Butterworth DE, Davis JM: **The acute immune response to exhaustive resistance exercise.** *Int J Sports Med* 1995, **16**(5):322-328.
- 195 Kayashima S, Ohno H, Fujioka T, Taniguchi N, Nagata N: **Leucocytosis as a marker of organ damage induced by chronic strenuous physical exercise.** *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1995, **70**(5):413-420.
- 196 Goudevenos J, Tselepis AD, Tsoukatos D, Grekas G, Kritikakos J, Sideris D: **Platelet aggregability to platelet activating factor at rest and after exercise in patients with coronary artery disease.** *Eur Heart J* 1995, **16**(8):1036-1043.

- 197 Clarkson PM, Byrnes WC, McCormick KM, Turcotte LP, White JS: **Muscle soreness and serum creatine kinase activity following isometric, eccentric, and concentric exercise.** *Int J Sports Med* 1986, **7**(3):152-155.
- 198 Armstrong RB, Warren GL, Warren JA: **Mechanisms of exercise-induced muscle fibre injury.** *Sports Med* 1991, **12**(3):184-207.
- 199 Demopoulos CA, Andrikopoulos NK, Antonopoulou S: **A simple and precise method for the routine determination of platelet-activating factor in blood and urine.** *Lipids* 1994, **29**(4):305-309.
- 200 Brotto MA, Nosek TM: **Hydrogen peroxide disrupts Ca²⁺ release from the sarcoplasmic reticulum of rat skeletal muscle fibers.** *J Appl Physiol* 1996, **81**(2):731-737.
- 201 Snyder F: **Platelet-activating factor and its analogs: metabolic pathways and related intracellular processes.** *Biochim Biophys Acta* 1995, **1254**(3):231-249.
- 202 Prescott SM, Zimmerman GA, Stafforini DM, McIntyre TM: **Platelet-activating factor and related lipid mediators.** *Annu Rev Biochem* 2000, **69**:419-445.
- 203 Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM, Stafforini DM: **The platelet-activating factor signaling system and its regulators in syndromes of inflammation and thrombosis.** *Crit Care Med* 2002, **30**(5 Suppl):S294-301.
- 204 Weyrich AS, McIntyre TM, McEver RP, Prescott SM, Zimmerman GA: **Monocyte tethering by P-selectin regulates monocyte chemotactic protein-1 and tumor necrosis factor-alpha secretion. Signal integration and NF-kappa B translocation.** *J Clin Invest* 1995, **95**(5):2297-2303.
- 205 Best TM, Hunter KD: **Muscle injury and repair.** *Phys Med Rehabil Clin N Am* 2000, **11**(2):251-266.
- 206 Trichopoulou A: **Food Composition Tables and Composition of Greek Cooked Food and Dishes.** Athens: School of Public Health; 1992.
- 207 DAJ Connolly, Malachy Mc Hugh, Olga Padilla-Zakour. **The efficacy of a tart cherry juice blend in preventing the symptoms of muscle damage.** *Br J Sports Med*. Published Online First: 21 June 2006. doi:10.1136/bjsm.2005.025429 © 2006 by BMJ Publishing Group Ltd & British Association of Sport and Exercise Medicine.
- 208 Coombes JS, McNaughton LR, **Effects of branched-chain amino acid supplementation on serum creatine kinase and lactate dehydrogenase after prolonged exercise,** *J Sports Med Phys Fitness*. 2000 Sep;**40**(3):240-6.
- 209 Powers SK, DeRuisseau KC, Quindry J, Hamilton KL: **Dietary antioxidants and exercise.** *J Sports Sci* 2004, **22**(1):81-94.
- 210 Wardlaw G, Insel P: **Perspectives in Nutrition.** St Louis, MO: C.V. Mosby; 1996.
- 211 Halliwell B, Gutteridge J: **Free Radicals in Biology and Medicine.** New York: Oxford University Press; 1999.

- 212 Childs A, Jacobs C, Kaminski T, Halliwell B, Leeuwenburgh C: **Supplementation with vitamin C and N-acetyl-cysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise.** *Free Radic Biol Med* 2001, **31**(6):745-753.
- 213 Leeuwenburgh C, Fiebig R, Chandwaney R, Ji LL: **Aging and exercise training in skeletal muscle: responses of glutathione and antioxidant enzyme systems.** *Am J Physiol* 1994, **267**(2 Pt 2):R439-445.
- 214 Leeuwenburgh C, Ji LL: **Alteration of glutathione and antioxidant status with exercise in unfed and refed rats.** *J Nutr* 1996, **126**(7):1833-1843.
- 215 Li G, Feng X, Wang S: **Effects of Cu/Zn superoxide dismutase on strain injury-induced oxidative damage to skeletal muscle in rats.** *Physiol Res* 2005, **54**(2):193-199.
- 216 Bettger W, Odell B: **Physiological roles of zinc in the plasma membrane of mammalian cells.** *J Nutr Biochem* 1993, **4**:194-207.