

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής

Π.Μ.Σ. Εφαρμοσμένης Διαιτολογίας- Διατροφής



Μεταπτυχιακή Διατριβή

Μαλαγάρης Ιωάννης

**“Η επίδραση της χορήγησης colostrum στο οξειδωτικό στρες μετά
από ασκησιογενή μυϊκή βλάβη.”**

Τριμελής επιτροπή

Νομικός Τζώρτζης

Αντωνοπούλου Σμαραγδή

Κάβουρας Σταύρος

Επίκουρος Καθηγητής

Καθηγήτρια

Επίκουρος Καθηγητής

(Επιβλέπων)

Αθήνα, 2013

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής

Π.Μ.Σ. Εφαρμοσμένης Διαιτολογίας- Διατροφής

Μεταπτυχιακή Διατριβή

Μαλαγάρης Ιωάννης

“Η επίδραση της χορήγησης colostrum στο οξειδωτικό στρες μετά από ασκησιογενή μυϊκή βλάβη.”

Τριμελής επιτροπή

Νομικός Τζώρτζης

Αντωνοπούλου Σμαραγδή

Κάβουρας Σταύρος

Επίκουρος Καθηγητής

Καθηγήτρια

Επίκουρος Καθηγητής

(Επιβλέπων)

Αθήνα, 2012

Ευχαριστίες

Κατ' αρχάς θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή, κ. Νομικό Τζώρτζη, για την ευκαιρία που μου έδωσε να συμμετέχω σε μία εξαιρετικά ενδιαφέρουσα, από επιστημονική οπτική, μελέτη, καθώς και για τις ατελείωτες ώρες που μου αφιέρωσε από τον πολύτιμο χρόνου του, κατά την διάρκεια της διεκπεραίωσης της μεταπτυχιακής μου διατριβής.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την επίκουρη καθηγήτρια κα Φραγκοπούλου Ελισάβετ, τις υποψήφιες διδάκτορες κα Βλαχογιάννη Ιωάννα, κα Μικελίδη Νατάσσα και την επιστημονική συνεργάτιδα του εργαστηρίου βιοχημείας κα Ξανθοπούλου Μαριάννα για την βοήθεια τους κατά την διάρκεια των εργαστηριακών αναλύσεων και μετρήσεων που πραγματοποιήθηκαν στα πλαίσια της παρούσας μελέτης.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τον υποψήφιο διδάκτορα κ. Κωτσή Ιωάννη για την διάθεση της πληθώρας των ανθρωπομετρικών, βιοχημικών και εργοφυσιολογικών δεδομένων καθώς και για τις καθοριστικές συμβουλές του όσον αφορά στο εργοφυσιολογικό μέρος της έρευνας.

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες.....	3
Λίστα πινάκων.....	8
Λίστα σχημάτων.....	9
Συμβολισμοί.....	11
Περίληψη.....	13
Abstract.....	15
1.Θεωρητικό μέρος.....	17
1.1 Ασκησιογενής μυϊκή βλάβη και καθυστερημένος μυϊκός πόνος.....	17
1.2 Έκκεντρη συστολή και μηχανισμός ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης.....	17
1.3 Δείκτες μυϊκής βλάβης.....	19
1.4 Φλεγμονώδης απόκριση.....	21
1.4.1 Ασκησιογενής μυϊκή βλάβη και τοπική φλεγμονώδης απόκριση.....	21
1.4.3 Ο ρόλος των ουδετερόφιλων στην ασκησιογενή μυϊκή βλάβη.....	22
1.4.4 Ο ρόλος των μακροφάγων στην ασκησιογενή μυϊκή βλάβη.....	23
1.4.5 Παράγοντες που επηρεάζουν την φλεγμονώδη απόκριση.....	24
1.5 Ο ρόλος του ασβεστίου στην μυϊκή βλάβη.....	26
1.6 Οξειδωτικό στρες.....	28
1.6.1 Ελεύθερες ρίζες.....	28
1.6.2 Αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί.....	31
1.6.3 Οξειδωτικό στρες και άσκηση.....	33
1.7 Τεχνικές πρόληψης και θεραπείας της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης.....	37
1.8 Διατροφικοί παράγοντες στην πρόληψη και θεραπεία της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης.....	38
1.8.1 Αντιοξειδωτικοί διατροφικοί παράγοντες.....	39
1.8.2 Αμινοξέα και παράγωγα αμινοξέων.....	40
1.8.3 Χορήγηση πρωτεϊνών και υδατανθράκων.....	42
1.8.4 Συμπεράσματα.....	43
1.9 Βόειο και ανθρώπινο πρωτόγαλα.....	44
1.9.1 Σύσταση πρωτογάλακτος: Ανοσολογικοί και αντιμικροβιακοί παράγοντες.....	45
1.9.2 Σύσταση πρωτογάλακτος: Αυξητικοί παράγοντες.....	48
1.9.3 Σύσταση πρωτογάλακτος – Αντιοξειδωτικοί παράγοντες.....	49

1.9.4 Βόειο πρωτόγαλα – Θεραπευτικές χρήσεις.....	50
1.9.5 Βόειο πρωτόγαλα: Επίδραση στην αθλητική απόδοση	53
2. Σκοπός μελέτης.....	58
3. Μεθοδολογία.....	60
3.1 1 ^ο Ερευνητικό πρωτόκολλο – Επίδραση χορήγησης colostrum σε δείκτες οξειδωτικού στρες έπειτα από πρόκληση ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης.....	60
3.2 2 ^ο Ερευνητικό πρωτόκολλο – Επίδραση χορήγησης διαφορετικών μορφών colostrum σε δείκτες οξειδωτικού στρες.....	62
3.3 Το συμπλήρωμα πρωτογάλακτος της εταιρείας LR Health and Beauty Systems..	64
3.4 Πρωτόκολλο Loughborough Intermittent Shuttle Test (LIST).....	66
3.5 Ανθρωπομετρία.....	66
3.6 Σύσταση σώματος.....	67
3.7 Υπολογισμός Μέγιστης Πρόσληψης Οξυγόνου.....	67
3.8 Προσδιορισμός μυϊκής δύναμης.....	68
3.9 Αντίληψη καθυστερημένου μυϊκού πόνου.....	68
3.10 Συλλογή σιέλου.....	69
3.11 Αιμοληψίες.....	69
3.12 Απομόνωση ορού και πλάσματος από το αίμα.....	69
3.13 Παραλαβή και ομογενοποίηση λευκοκυττάρων.....	70
3.14 Παραλαβή και ομογενοποίηση ερυθροκυττάρων.....	71
3.15 Προσδιορισμός δραστηριότητας γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH) σε ορό αίματος	72
3.16 Προσδιορισμός δραστηριότητας κρεατινικής κινάσης (CK) σε ορό αίματος	73
3.17 Προσδιορισμός συστατικών που αντιδρούν με θειοβαρβιτουρικό οξύ (thiobarbituric acid reactive substances, TBARS).....	74
3.18 Πρωτόκολλο οξείδωσης ορού.....	75
4.Αποτελέσματα.....	78
4.1 1 ^ο πρωτόκολλο – Ασκησιογενής μυϊκή βλάβη.....	78
4.1.1 Ανθρωπομετρικά, βιοχημικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά.....	78
4.1.2 Επίδραση του πρωτοκόλλου LIST στα TBARS και στον χρόνο αντίστασης του ορού στην οξείδωση (LagTime) πριν την παρέμβαση.....	79
4.1.3 Συσχέτιση βασικών ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών	

με TBARS και LagTime.....	81
4.1.4 Συσχέτιση επιπέδων TBARS και LAGTIME με ανθρωπομετρικά στοιχεία που προέκυψαν από την εξέταση DXA.....	82
4.1.5 Επίδραση βασικών ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών στην μεταβολή των TBARS.....	83
4.1.6 Επίδραση της παρέμβασης στα TBARS και LagTime στην ομάδα Placebo.....	85
4.1.7 Επίδραση της παρέμβασης στα TBARS και LagTime στην ομάδα Colostrum...	87
4.1.8 Σύγκριση της επίδρασης του LIST στην κινητική των TBARS και LAGTIME ανάμεσα στις ομάδες PLACEBO και COLOSTRUM πριν την παρέμβαση.....	89
4.1.9 Σύγκριση της επίδρασης του LIST στην κινητική των TBARS και LAGTIME ανάμεσα στις ομάδες PLACEBO και COLOSTRUM μετά την παρέμβαση.....	91
4.1.10 Συσχέτιση της μεταβολής των επιπέδων TBARS και LAGTIME με τις μεταβολές ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών.....	93
4.1.11 Σύγκριση ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών μεταξύ των ομάδων PLACEBO και COLOSTRUM πριν την παρέμβαση.....	95
4.1.12 Διαχωρισμός των εθελοντών ανάλογα με την επίδραση του LIST στα επίπεδα TBARS και περιγραφή των χαρακτηριστικών τους.....	96
4.2 Δεύτερο πρωτόκολλο – Επίδραση διαφορετικών μορφών BC σε δείκτες οξειδωτικού στρες.....	97
4.2.1 Συσχέτιση βασικών ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών με TBARS και LagTime.....	97
4.2.2 Σύγκριση ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών μεταξύ των ομάδων πριν την παρέμβαση.....	99
4.2.3 Σύγκριση της επίδρασης των παρεμβάσεων στα επίπεδα των TBARS.....	100
4.2.4 Σύγκριση της επίδρασης των παρεμβάσεων στο LAGTIME.....	101
5. Συζήτηση.....	103

ΛΙΣΤΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.1: Δείκτες αξιολόγησης μυϊκής βλάβης.....	19
Πίνακας 1.2: Σημαντικότερες ελεύθερες ρίζες και ο χρόνος ημιζωής τους.....	29
Πίνακας 1.3: Διαφορές στην σύσταση ανθρώπινου και βόειου πρωτογάλακτος.....	45
Πίνακας 1.4: Ανοσοσφαιρίνες στο ανθρώπινο και βόειο γάλα και πρωτόγαλα.....	46
Πίνακας 3.1: Αναγραφόμενη σύσταση των σκευασμάτων σε ενέργεια και μακροθρεπτικά συστατικά..	65
Πίνακας 3.2 : Αναγραφόμενη σύσταση σε αμινοξέα.....	65
Πίνακας 4.1 : Ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά δείγματος.....	78
Πίνακας 4.2: Ποιοτικά χαρακτηριστικά δείγματος.....	78
Πίνακας 4.3: πιθανές συσχετίσεις TBARS, LagTime με βασικά χαρακτηριστικά.....	81
Πίνακας 4.4: Συσχέτιση LAGTIME με ανθρωπομετρικά στοιχεία DXA.....	83
Πίνακας 4.5: Επίδραση βασικών ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών στην μεταβολή των TBARS.....	83
Πίνακας 4.6 : Συσχέτιση AUC_TBARS και LAGTIME με μεταβολές άλλων χαρακτηριστικών	93
Πίνακας 4.7: Σύγκριση χαρακτηριστικών μεταξύ των δύο ομάδων πριν την παρέμβαση.....	95
Πίνακας 4.8: Περιγραφή ομάδων του 2 ^{ου} πρωτοκόλλου της μελέτης.....	97
Πίνακας 4.9: πιθανές συσχετίσεις TBARS, LagTime με βασικά χαρακτηριστικά.....	97
Πίνακας 4.10: Σύγκριση χαρακτηριστικών μεταξύ των δύο ομάδων πριν την παρέμβαση.....	99

ΛΙΣΤΑ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1.1: Ασκησιογενής μυϊκή βλάβη και η ακόλουθη φλεγμονώδης απόκριση.....	23
Σχήμα 1.2: Μοντέλο φαύλου κύκλου του ασβεστίου στο μυ.....	27
Σχήμα 1.3: Θεωρητικό μοντέλο – Σχέση ισομετρικής δύναμης και επιπέδων RONS.....	30
Σχήμα 1.4: Τοπολογία αντιοξειδωτικών παραγόντων στο μυ.....	32
Σχήμα 1.5: Ασκησιογενές οξειδωτικό στρες και φλεγμονώδης απόκριση.....	36
Σχήμα 3.1: Παράδειγμα απεικόνισης οπτικής αναλογικής κλίμακας αξιολόγησης του πόνου	68
Σχήμα 4.1: Επίπεδα TBARS πριν και μετά την άσκηση.....	79
Σχήμα 4.2: Ποσοστιαία μεταβολή TBARS ως προς την τιμή στον χρόνο 0 (μηδέν).....	79
Σχήμα 4.3: Τιμές LagTime πριν και μετά την άσκηση.....	80
Σχήμα 4.4: Ποσοστιαία μεταβολή Lagtime ως προς την τιμή στον χρόνο 0 (μηδέν).....	80
Σχήμα 4.5: Επίδραση παρέμβασης στα TBARS στην ομάδα Placebo.....	85
Σχήμα 4.6: Επίδραση παρέμβασης στα %TBARS στην ομάδα Placebo.....	85
Σχήμα 4.7: Επίδραση της παρέμβασης στο LAGTIME στην ομάδα Placebo.....	86
Σχήμα 4.8: Επίδραση της παρέμβασης στο LAGTIME στην ομάδα Placebo.....	86
Σχήμα 4.9: Επίδραση παρέμβασης στα TBARS στην ομάδα Colostum.....	87
Σχήμα 4.10: Επίδραση παρέμβασης στα %TBARS στην ομάδα Colostrum.....	87
Σχήμα 4.11: Επίδραση της παρέμβασης στο LAGTIME στην ομάδα Colostrum.....	88
Σχήμα 4.12: Επίδραση της παρέμβασης στο LAGTIME στην ομάδα Colostrum.....	88
Σχήμα 4.13: Σύγκριση TBARS των δύο ομάδων πριν την παρέμβαση.....	89
Σχήμα 4.14: Σύγκριση %TBARS των δύο ομάδων πριν την παρέμβαση.....	89
Σχήμα 4.15: Σύγκριση LAGTIME των δύο ομάδων πριν την παρέμβαση.....	90
Σχήμα 4.16: Σύγκριση %LAGTIME των δύο ομάδων πριν την παρέμβαση.....	90
Σχήμα 4.17: Σύγκριση TBARS των δύο ομάδων μετά την παρέμβαση.....	91
Σχήμα 4.18: Σύγκριση %TBARS των δύο ομάδων μετά την παρέμβαση.....	91
Σχήμα 4.19: Σύγκριση LAGTIME των δύο ομάδων μετά την παρέμβαση.....	92
Σχήμα 4.20: Σύγκριση %LAGTIME των δύο ομάδων μετά την παρέμβαση.....	92
Σχήμα 4.21: Γραμμική σχέση μεταβολής TBARS με την μεταβολή αιμοπεταλίων.....	94

Σχήμα 4.22:Γραμμική σχέση μεταβολή TBARS με την μεταβολή λευκοκυττάρων.....	95
Σχήμα 4.23: Κοινή παρουσίαση της κινητικής των TBARS σε κάθε ομάδα παρέμβασης.....	100
Σχήμα 4.24: Κοινή παρουσίαση της κινητικής των TBARS σε κάθε ομάδα παρέμβασης εκφρασμένη ως ποσοστό μεταβολής.....	101
Σχήμα 4.25:Επίδραση των παρεμβάσεων στο LAGTIME.....	101
Σχήμα 4.26:Επίδραση των παρεμβάσεων στην ποσοστιαία μεταβολή του LAGTIME.....	102

Συμβολισμοί

ADP	Διφωσφορική αδενοσίνη
AST	Αμινοτρανσεράση του ασπαραγινικού οξέως
ATP	Τριφωσφορική αδενοσίνη
AUC	Εμβαδόν κάτω από την καμπύλη
BC	Βόειο πρωτόγαλα
BCAA	Αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσού
BCGF	Αυξητικός παράγοντας βόειου πρωτογάλακτος
BMI	Δείκτης μάζας σώματος
BSA	Βόεια αλβουμίνη ορού
CA III	Ανθρακική ανυδράση
CAT	Καταλάση
CK ή CPK	Κρεατινική κινάση
CRP	C-αντιδρώσα πρωτεΐνη
DOMS	Καθυστερημένος μυϊκός πόνος
EGF	Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας
FABP	Πρωτεΐνες σύνδεσης λιπαρών οξέων
FGF	Αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών
GPX	Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης
GSH	Ανηγμένη γλουταθειόνη
GSSG	Οξειδωμένη γλουταθειόνη
HBC	Υπερ-ανοσολογικό πρωτόγαλα
HMB	β-υδροξύ-β-μεθυλοβουτυρικό οξύ
ICAM	Ενδοκυττάριο μόριο προσκόλλησης στα κύτταρα
IFN	Ιντερφερόνη
Ig	Ανοσοσφαιρίνη
IGF	Ινσουλινομιμητικός αυξητικός παράγοντας
IL	Ιντερλευκίνη
KIC	Κετοϊσοκαπροϊκό οξύ
LAGTIME	Χρόνος αντίστασης του ορού στην οξείδωση
LIST	Πρωτόκολλο Loughborough Intermittent Shuttle Test
LP	Λακτοϋπεροξειδάση
LPS	Λιποπολυσακχαρίδια
mPTP	Πόρος μετάπτωσης της μιτοχονδριακής διαπερατότητας
NSAID	Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα

Περίληψη

Εισαγωγή: Η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη είναι μία κατάσταση που εμφανίζεται συχνά σε επαγγελματίες αθλητές και επιδρά αρνητικά περιορίζοντας την μέγιστη παραγόμενη δύναμη, την ταχύτητα συστολής και το εύρος κίνησης του μυ. Τα παραπάνω σε συνδυασμό με την δυσφορία που υπάρχει λόγω της αίσθησης του πόνου, υπονομεύουν το προπονητικό πρόγραμμα ενός επαγγελματία αθλητή καθιστώντας το λιγότερο αποδοτικό άλλα και την ποιότητα ζωής ενός αθλούμενου. Συνεπώς είναι επιθυμητή η εύρεση πρακτικών που να προλαμβάνουν, να θεραπεύουν ή έστω να περιορίζουν την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη και τον καθυστερημένο μυϊκό πόνο.

Σκοπός: Η παρούσα έρευνα διερευνά την επίδραση της χορήγησης συμπληρώματος βόειου πρωτογάλακτος (BC) σε δείκτες οξειδωτικού στρες μετά από πρόκληση ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης σε άνδρες ποδοσφαιριστές. Παράλληλα διερευνήθηκε η επίδραση της χορήγησης BC στην μεταβολή του οξειδωτικού προφίλ ποδοσφαιριστών χωρίς την πρόκληση μυϊκής βλάβης.

Μέθοδοι: Το δείγμα της παρούσας έρευνας αποτελούν 17 ποδοσφαιριστές Β', Δ' κατηγορίας και ερασιτεχνικών ομάδων (Μ.Ο ηλικίας 22 έτη). Οι εθελοντές υποβλήθηκαν σε πρωτόκολλο άσκησης (LIST) το οποίο προσομοιάζει έναν ποδοσφαιρικό αγώνα σε αρκετά ελεγχόμενες συνθήκες με στόχο την πρόκληση μυϊκής βλάβης παρόμοια με εκείνη που θα προέκυπτε ύστερα από έναν ποδοσφαιρικό αγώνα. Δείγματα αίματος παραλήφθηκαν ακριβώς πριν αλλά και στις 2, 24, 48 και 72 ώρες μετά το πρωτόκολλο LIST. Στην συνέχεια οι εθελοντές χωρίστηκαν σε δύο ομάδες. Οι εθελοντές στην ομάδα ελέγχου λάμβαναν καθημερινά 3,2γρ πρωτεΐνης ορού γάλακτος (WP) και οι εθελοντές της ομάδας παρέμβασης 3,2γρ βόειου πρωτογάλακτος. Έπειτα από 6 εβδομάδες οι εθελοντές επανέλαβαν το πρωτόκολλο LIST και έγιναν αιμοληψίες στις αντίστοιχες χρονικές στιγμές. Σε κάθε δείγμα αίματος προσδιορίστηκε ο δείκτης λιπιδικής υπεροξειδωσης TBARS και ο χρόνος αντίστασης του ορού στην οξείδωση (LAG TIME). Στο δεύτερο πρωτόκολλο της μελέτης υπάρχουν πέντε ομάδες εθελοντών. Το δείγμα αποτελείται από 42 ποδοσφαιριστές. Κάθε ομάδα λαμβάνει καθημερινά για 6 εβδομάδες διαφορετικό συμπλήρωμα. Τα πέντε συμπληρώματα είναι 3,6γρ WP, 3,6γρ BC, 0,8γρ WP, 0,8γρ BC και 8ml BC σε υγρή μορφή. Στις έξι εβδομάδες εκτιμήθηκε η επίδραση των παρεμβάσεων στους δείκτες οξειδωτικού στρες TBARS και LAGTIME.

Αποτελέσματα: Στο πρώτο πρωτόκολλο διαφάνηκε μία τάση αύξησης των TBARS από τις 0 (μηδέν) ώρες στις 2 ώρες ως αποτέλεσμα της επίδρασης του πρωτοκόλλου LIST ($p < 0.1$) . Δεν παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση στο LAGTIME. Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στους δείκτες TBARS και LAGTIME ανάμεσα στην ομάδα ελέγχου και παρέμβασης είτε πριν είτε μετά την παρέμβαση. Στο δεύτερο πρωτόκολλο της μελέτης δεν παρατηρήθηκε καμία επίδραση των παρεμβάσεων στους δείκτες TBARS και LAGTIME.

Συμπεράσματα: Φαίνεται ότι η χορήγηση 3,2γρ BC την ημέρα για 6 εβδομάδες δεν επηρεάζει τους δείκτες οξειδωτικού στρες TBARS και LAGTIME έπειτα από πρόκληση ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης.

Abstract

Introduction: Exercise-induced muscle damage is common among professional athletes and affects negatively peak produced power, contraction velocity and the muscle's range of motion. The above, combined with discomfort caused by pain, can seriously undermine a professional athlete's performance as well as the effectiveness of his training. Ergo, it is necessary to seek for new practices that prevent, cure or at least limit the excess of exercise-induced muscle damage and the delayed onset of muscle soreness.

Purpose: The present research evaluates the effects of bovine colostrum administration (BC) on male soccer players' oxidative stress biomarkers in relation with exercise induced muscle damage. At the same time, the research inquires into possible effects of BC administration on the variation of players' oxidative profiles, in the absence of muscle damage induction.

Methods: The research sample consists of 17 soccer players of the 2nd and 4th national division and local championships (Age Average: 22 years). The volunteers were subject to an exercise protocol (LIST) that simulates a soccer match in fairly controlled conditions, with the aim of inducing muscle damage similar to what an actual soccer match would provoke. Blood sampling took place prior to muscle damage and exactly 2, 24, 48 and 72 hours after the LIST protocol. Volunteers were then divided into two groups. The control group would intake daily 3,2gr of whey protein (WP), whereas the intervention group 3,2gr of bovine colostrum. The LIST protocol was repeated six weeks later and blood samples were collected at similar time frames. For every blood sample, the index of lipid peroxidation TBARS and the total resistance time of serum in oxidation (LAG TIME) were determined. The second research protocol consists of 42 volunteers divided into five groups. Each group intakes daily for a period of 6 weeks a different supplement. These are either 3,6gr WP or 3,6gr BC or 0,8gr WP or 0,8gr BC or 8ml BC in liquid form. Six weeks later the effects of the intervention on the indexes of oxidative stress TBARS and LAGTIME are evaluated.

Results: On the first protocol, there is a clear increase trend on TBARS from 0 (zero) hours to 2 hours, as a result of applying the LIST protocol ($p < 0.1$). There was no statistically significant change on LAGTIME. There were no significant differences on TBARS and LAGTIME indexes between the two groups either before or after the intervention. On the second research protocol, the interventions did not significantly affect the TBARS and LAGTIME indexes.

Conclusions: It is apparent that 3,2gr BC daily for a six week period does not affect significantly the oxidative stress biomarkers, TBARS and LAGTIME, after exercise induced muscle damage.

1.Θεωρητικό μέρος

1.1 Ασκησιογενής μυϊκή βλάβη και καθυστερημένος μυϊκός πόνος

Οι μυϊκές βλάβες κατατάσσονται σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με την σοβαρότητα τους. Οι 1^{ου} βαθμού μυϊκές βλάβες αφορούν σε μικροσχισίματα μυϊκών ινών και συνδετικού ιστού στο εσωτερικό του μυός, οι 2^{ου} βαθμού αναφέρεται σε μερική ρήξη και η 3^{ου} βαθμού σε ολική ρήξη του μυός. Η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη κατατάσσεται στην πρώτη κατηγορία. Ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος αποτελεί κλινικό σύμπτωμα της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης και γίνεται αντιληπτός ως ελαφριά μυϊκή δυσκαμψία κατά την κίνηση ή και ως πόνος κατά την άσκηση πίεσης ή κατά την ψηλάφηση κυρίως στην περιοχή της μυοτενόντιας σύνδεσης. Μάλιστα η ένταση του πόνου ή και του “πιασίματος” εμφανίζει σημαντική συσχέτιση με το μέγεθος της βλάβης και για αυτό το λόγο ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος χρησιμοποιείται και ως αδρός δείκτης, μεταξύ άλλων εγκυρότερων δεικτών, της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης. Τα συμπτώματα αυτά εμφανίζονται μερικές ώρες μετά την άσκηση και κορυφώνονται στις 24 με 48 ώρες αργότερα. Συνήθως υποχωρούν πλήρως σε διάστημα 5 με 7 ημερών (1).

Η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη επιδρά αρνητικά την μέγιστη παραγόμενη δύναμη, την ταχύτητα συστολής και το εύρος κίνησης του μυ (2). Τα παραπάνω σε συνδυασμό με την δυσφορία που υπάρχει λόγω της αίσθησης του πόνου, υπονομεύουν το προπονητικό πρόγραμμα ενός επαγγελματία αθλητή καθιστώντας το λιγότερο αποδοτικό άλλα και την ποιότητα ζωής ενός αθλούμενου. Συνεπώς είναι επιθυμητή η εύρεση πρακτικών που να προλαμβάνουν, να θεραπεύουν ή έστω να περιορίζουν την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη και τον καθυστερημένο μυϊκό πόνο.

1.2 Έκκεντρη συστολή και μηχανισμός ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης

Η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη σχετίζεται με άσκηση σχετικώς υψηλής έντασης και το άτομο του την εκτελεί δεν είναι συνηθισμένο σε αυτού του είδους την άσκηση. Πιο συγκεκριμένα θα πρέπει να περιλαμβάνει κυρίως πλειομετρικές ή έκκεντρες μυϊκές συστολές δηλαδή η δύναμη που ασκείται στο μυ να προκαλεί την ελεγχόμενη επιμήκυνσή του όπως για παράδειγμα συμβαίνει σε μεγάλο βαθμό κατά το τρέξιμο με αρνητική κλίση (κατηφορικό) ή κατά το “κατέβασμα” βαρών(1).

Είναι γνωστό ότι οι επαναλαμβανόμενες συνεδρίες άσκησης που περιλαμβάνουν συγκεκριμένη έκκεντρη μυϊκή συστολή, εφ' όσον παρεμβάλλεται επαρκής χρόνος ανάρρωσης ανάμεσα στις συνεδρίες, αμβλύνουν τα συμπτώματα του καθυστερημένου μυϊκού πόνου που προκαλεί η άσκηση αυτή. Δηλαδή ο μυς εκτός της ικανότητας του να αποκαθιστά τις ασκησιογενείς βλάβες, εμφανίζει και προσαρμογές οι οποίες τον προστατεύουν από μελλοντικές βλάβες, κάτι που είναι γνωστό ως φαινόμενο επαναλαμβανόμενων συνεδριών (repeated-bout effect). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η προσαρμογή αυτή παύει να υφίσταται όταν παύει και το ερέθισμα, δηλαδή όταν σταματήσουν οι συνεδρίες άσκησης(1).

Κατά την διάρκεια τη έκκεντρης συστολής επιστρατεύονται λιγότερες κινητικές μονάδες απ' ότι στην περίπτωση ομόκεντρης συστολής για ίδιας έντασης έργο. Το παραπάνω εξηγεί το μικρότερο ενεργειακό κόστος της έκκεντρης συστολής σε σχέση με την ομόκεντρη. Φαίνεται επίσης ότι στην έκκεντρη συστολή η τάση μοιράζεται σε λιγότερες κινητικές μονάδες , κάτι που υποδεικνύει ότι η μυϊκή βλάβη προκαλείται αρχικά από μηχανικούς λόγους παρά από μεταβολικές διεργασίες(1).

Κατά την διάρκεια της έκκεντρης συστολής όταν οι μυϊκές ίνες επιμηκύνονται, κάποια σαρκομέρια εμφανίζονται λιγότερο ανθεκτικά στην διάταση με αποτέλεσμα την ολοένα και μικρότερη επικάλυψη των νηματίων μυοσίνης και ακτίνης. Στη συνέχεια η τάση επιμερίζεται στα υπόλοιπα σαρκομέρια και τα επόμενα λιγότερο ανθεκτικά αρχίζουν να χάνουν την επικάλυψη τους καθώς συνεχίζονται οι μυϊκές συστολές. Κατά την φάση της χάλασης του μυ, τα μυονημάτια στα υπερδιατεταγμένα σαρκομέρια αποτυγχάνουν να επανασυνδεθούν και καθώς οι συστολές συνεχίζονται εμφανίζονται βλάβες στα μυϊκά κύτταρα που σχετίζονται με την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη και συγκεκριμένα στην κυτταρική μεμβράνη, στο σαρκοπλασματικό δίκτυο και στο σαρκόπλασμα. Η διάρρηξη της πλασματικής μεμβράνης έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση των πρωτεϊνών του σαρκοπλάσματος στην συστηματική κυκλοφορία(1). Η χαμηλή συγκέντρωση ιόντων ασβεστίου στο σαρκόπλασμα σε σχέση με το σαρκοπλασματικό δίκτυο και το εξωκυττάριο παύει να υφίσταται και μέσω της υψηλής πλέον συγκέντρωσης ασβεστίου ενεργοποιούνται πρωτεολυτικά μεταβολικά μονοπάτια (κυρίως μέσω ενεργοποίησης των καλπαϊνών)(3). Η φλεγμονώδης απόκριση στην παραπάνω διαδικασία είναι σχεδόν άμεση. Πρώτα επιστρατεύονται από την κυκλοφορία τα ουδετερόφιλα και στις 24 ώρες αντικαθίστανται από τα μακροφάγα. Κύριος ρόλος τους είναι ο μεταβολισμός των κατεστραμμένων σαρκομερίων γεγονός που πιθανόν να ενισχύει την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη και να εντείνει τον καθυστερημένο μυϊκό πόνο(4).

1.3 Δείκτες μυϊκής βλάβης

Ο πόνος, η δυσκαμψία, το οίδημα, η μυϊκή ευαισθησία και η μείωση της μυϊκής δύναμης είναι χαρακτηριστικά της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης (5) και πολλές φορές χρησιμοποιούνται ως δείκτες αξιολόγησης. Ο πόνος και η μυϊκή ευαισθησία κορυφώνονται στις 24 με 72 ώρες μετά την άσκηση και υποχωρούν μέσα σε μία εβδομάδα ενώ το οίδημα και η μείωση στο εύρος κίνησης εμφανίζονται στο μεγαλύτερο βαθμό περίπου στις 3 μέρες και διαρκούν για περισσότερο από μία εβδομάδα. Αντίθετα η δύναμη του τραυματισμένου μυ εμφανίζεται μειωμένη αμέσως μετά την άσκηση και παραμένει μειωμένη για περίπου 2 μέρες, ενώ επανέρχεται στα προ βλάβης επίπεδα σε περισσότερο από πέντε μέρες ανάλογα με τον βαθμό του τραυματισμού(6).

Στον παρακάτω πίνακα αναφέρονται κάποιες πληροφορίες για τους πιο συχνά χρησιμοποιούμενους δείκτες αξιολόγησης της μυϊκής βλάβης.

Πίνακας 1.1: Δείκτες αξιολόγησης μυϊκής βλάβης(7)

Index	Damage information	Cost	Difficulty of measure	Reliability
Biopsy	Local	High	High	High
Strength	Local	Low	Low	Medium
Pain	Central	Low	Low	Medium-high
Tenderness	Local	Low	Low	Medium
Stiffness	Local	Low	Low	Medium-high
Swelling	Local	Low	Low	Medium-high
Creatine kinase	Central	Low	Low	Low
Lactate dehydrogenase	Central	Low	Low	Low
Glutamic oxaloacetic trans-aminase	Central	Low	Low	Low

Υπάρχουν όμως και δείκτες που ανιχνεύονται στο πλάσμα. Όπως προαναφέρθηκε η έντονη και παρατεταμένη άσκηση μπορεί να προκαλέσει μυϊκή βλάβη η οποία συνήθως προκαλεί αύξηση της διαπερατότητας της μεμβράνης των μυϊκών κυττάρων. Το τελευταίο έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση ενζύμων και πρωτεϊνών του σαρκοπλάσματος στην συστηματική κυκλοφορία όπου και μπορούν να ανιχνευθούν. Επομένως τα στοιχεία αυτά χρησιμοποιούνται ως δείκτες ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης(8) . Στη συνέχεια αναφέρονται οι δείκτες αυτοί.

Κινάση της φωσφοκρεατίνης (CK): Η CK είναι το ένζυμο που καταλύει την αλληλομετατροπή της κρεατίνης και του ATP σε φωσφοκρεατίνη και ADP. Επομένως είναι πολύ σημαντικός ο ρόλος της στον ενεργειακό μεταβολισμό κατά την άσκηση. Εμφανίζεται με τρεις ισομορφές στο σαρκόπλασμα και δύο στα μιτοχόνδρια. Όταν η άσκηση είναι ήπια ή και δεν περιέχει πλειομετρικές συστολές τα επίπεδα της CK στο πλάσμα δεν αυξάνονται. Αντίθετα η μεγαλύτερη αύξηση παρατηρείται σε έντονη, παρατεταμένη άσκηση όπως σε υπερμαραθώνιους δρόμους, στο τρίαθλο αλλά και σε ασκήσεις με βάρη που περιέχουν πλειομετρικές συστολές. Οι αθλητές εμφανίζουν υψηλότερα επίπεδα CK στο πλάσμα αλλά μετά από άσκηση ίδιας έντασης τα επίπεδα CK των αθλητών στο πλάσμα είναι μικρότερα από αυτά των μη προπονημένων(8).

Αφυδρογονάση του γαλακτικού οξέως (LDH): η LDH είναι το ένζυμο που καταλύει την αμφίδρομη αντίδραση μετατροπής του πυροσταφυλικού οξέος σε γαλακτικό με ταυτόχρονη μετατροπή του NAD σε NADH. Βρίσκεται σε πέντε ισομορφές. Ο βαθμός αύξησης του ενζύμου εξαρτάται από την ένταση και την διάρκεια της προσπάθειας(8).

Αλδολάση: Η αλδολάση είναι το ένζυμο που καταλύει την μετατροπή της 1,6-διφωσφορικής φρουκτόζης σε 3-φωσφορική γλυκεριναλδεϋδη και φωσφορική διυδροξυ-ακετόνη, αντίδραση της κύριας γλυκολυτικής πορείας(8).

Αμινοτρανσεράση του ασπαραγινικού οξέως (AST): η AST είναι το ένζυμο που καταλύει την αντίδραση μετατροπής του ασπαραγινικού με το α-κετογλυταρικό σε οξαλοξικό και γλουταμινικό οξύ, αντίδραση που λαμβάνει χώρα ανάμεσα στο κυτταρόπλασμα και το μιτοχόνδριο και παρέχει ενέργεια στο κύτταρο(8).

Μυοσφαιρίνη: Είναι η πρωτεΐνη που μεταφέρει το οξυγόνο από τα τριχοειδή στο εσωτερικό του κυττάρου. Η ανίχνευσή της στην κυκλοφορία υποδεικνύει μυϊκή βλάβη(8).

Τροπονίνη: Είναι η πρωτεΐνη που ρυθμίζει, μέσω της σύνδεσης με το ασβέστιο, την σύνδεση της μυοσίνης με την ακτίνη, άρα κατ' επέκταση και την μυϊκή συστολή. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι τα επίπεδα τροπονίνης πλάσματος εμφανίζονται υψηλότερα σε άσκηση υψηλής έντασης σε σχέση με μέτριας έντασης παρατεταμένη άσκηση(8).

Ανθρακική ανυδράση (CA III): Είναι χρήσιμος δείκτης μυϊκής βλάβης καθώς είναι παρόν στους μυς αλλά όχι και στο μυοκάρδιο. Οι αυξομειώσεις της συγκέντρωσης του ενζύμου στο πλάσμα συμβαίνουν ταχύτερα από εκείνες της αλδολάσης, CK, AST, και LDH(8).

Πρωτεΐνες σύνδεσης λιπαρών οξέων (FABP): οικογένεια πρωτεϊνών οι οποίες είναι υποδοχείς των λιπαρών οξέων στην επιφάνεια των κυττάρων(8).

1.4 Φλεγμονώδης απόκριση

1.4.1 Ασκησιογενής μυϊκή βλάβη και τοπική φλεγμονώδης απόκριση

Η μυϊκή βλάβη που προκαλείται από έκκεντρες συστολές έχει ως αποτέλεσμα την προσέκλυση των ουδετερόφιλων στην περιοχή της βλάβης σε μόλις σε 4 ώρες μετά και κυριαρχούν στο μυ μέχρι τις 24 ώρες. Τα μακροφάγα εμφανίζονται από τις 24 ώρες και ανιχνεύονται μέχρι και 14 μέρες μετά την βλάβη. Ουδετερόφιλα και μακροφάγα εκκρίνουν μία σειρά προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών στην περιοχή καθώς και δραστικές μορφές οξυγόνου και αζώτου οι οποίες μεταβολίζουν και αφομοιώνουν τον κατεστραμμένο μυϊκό ιστό. Σε τοπικό επίπεδο φαίνεται ότι η φλεγμονώδης απόκριση είναι κυρίως προ-φλεγμονώδης. Εντοπίζονται κυρίως οι προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες ιντερλευκίνη (IL)-1 β , TNF- α , ιντερλευκίνη 6, TGF- β 1 καθώς και τα φλεγμονώδη αντιγόνα LIF και HIF-1 β (4) .

Σε αυτό το σημείο θα πρέπει να επισημανθεί ότι τα δεδομένα για την φλεγμονώδη απόκριση στο μυ είναι σαφώς λιγότερα από εκείνα που υπάρχουν για την συστηματική κυκλοφορία. Ο λόγος είναι ότι οι εθελοντές αποδέχονται πιο εύκολα την αιμοληψία από την αρκετά επεμβατική μυϊκή βιοψία η οποία προκαλεί τραυματισμό. Τέλος, λόγω του τραυματισμού που προκαλεί η μυϊκή βιοψία, δεν είναι ξεκάθαρο εάν το ίδιο το διαγνωστικό μέσο συνεισφέρει στην φλεγμονώδη απόκριση(9).

1.4.2 Ασκησιογενής μυϊκή βλάβη και συστηματική φλεγμονώδης απόκριση

Οι έρευνες που εξετάζουν τη συστηματική φλεγμονώδη απόκριση στη ασκησιογενή μυϊκή βλάβη είναι σαφώς περισσότερες από εκείνες που εξετάζουν την τοπική απόκριση. Όπως προαναφέρθηκε η αιμοληψία είναι σαφώς πιο εύκολη και αποδεκτή διαδικασία κυρίως από τους εθελοντές αλλά και στο εργαστήριο, τα δείγματα αίματος διαχειρίζονται πιο εύκολα από τα δείγματα μυϊκού ιστού.

Τα δεδομένα υποστηρίζουν ότι ο αριθμός των ουδετερόφιλων στην κυκλοφορία εξαρτάται από το είδος, το μέγεθος και τον αριθμό των μυϊκών ομάδων που εκτέλεσαν την έκκεντρη άσκηση καθώς και από την ένταση της άσκησης. Γενικά, ο αριθμός των ουδετερόφιλων στην κυκλοφορία είναι μεγαλύτερος μετά από τρέξιμο με αρνητική κλίση και

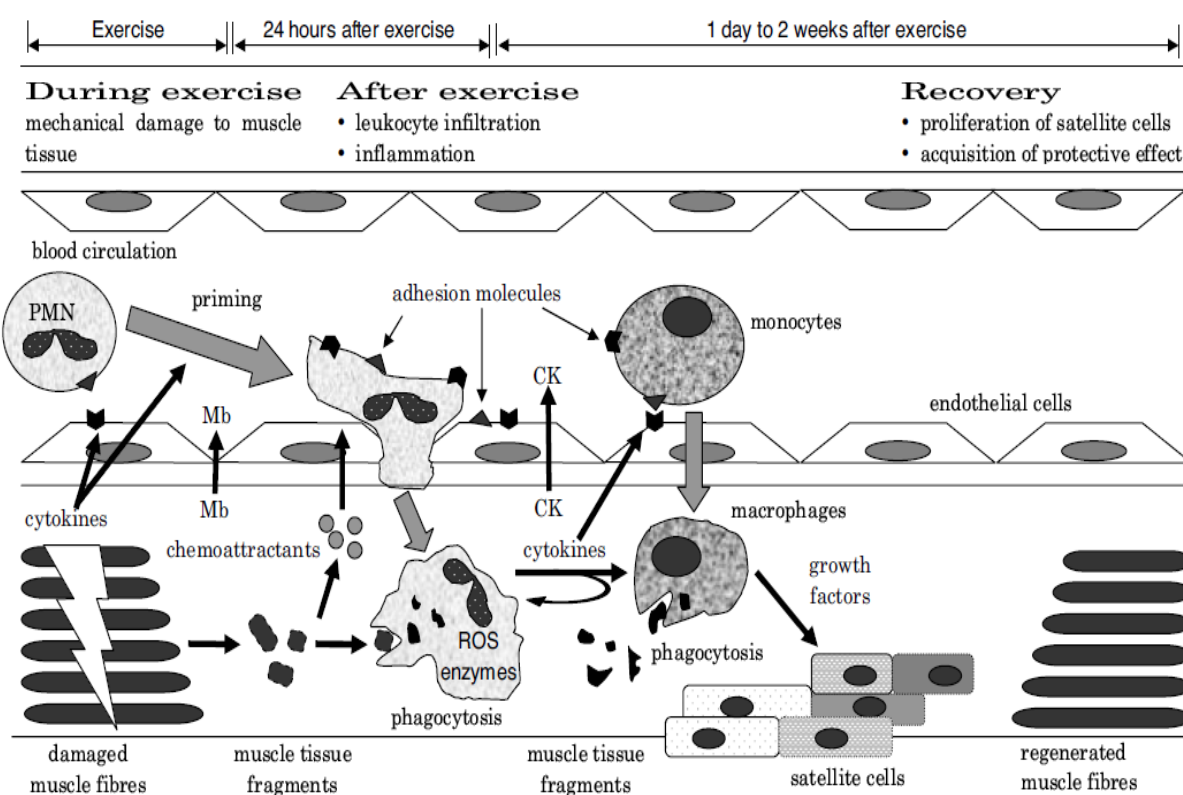
πλειομετρική ποδηλασία σε σχέση με μετά από ασκήσεις στις οποίες επιστρατεύονται μεμονωμένες και μικρές μυϊκές ομάδες. Εικάζεται ότι αυτές οι διαφορές στα κυκλοφορούντα ουδετερόφιλα οφείλονται στις ορμόνες του στρες (επινεφρίνη, κορτιζόλη) οι οποίες εκκρίνονται σε μεγαλύτερο βαθμό όταν κινητοποιούνται μεγάλες μυϊκές ομάδες. Επίσης φαίνεται ότι η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη τροποποιεί την έκφραση των υποδοχέων των ουδετερόφιλων και των μονοκυττάρων στην επιφάνεια των κυττάρων διευκολύνοντας με αυτό τον τρόπο την είσοδο τους στο κύτταρο.

Η φλεγμονώδης απόκριση στην κυκλοφορία φαίνεται να είναι περισσότερο αντιφλεγμονώδης από ότι προ-φλεγμονώδης όπως είδαμε να συμβαίνει στο μυ. Μετά από έκκεντρη άσκηση τα επίπεδα IL-1 β και TNF- α παραμένουν σταθερά ή αυξάνονται ελάχιστα. Αντίθετα αντιφλεγμονώδεις παράγοντες όπως IL-1ra, IL-10 και διαλυτοί υποδοχείς TNF- α εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα στην κυκλοφορία. Η έλλειψη προ-φλεγμονώδους απόκρισης στην κυκλοφορία αποδίδεται στην IL-6. Η δράση της IL-6 είναι μάλλον έμμεση και πραγματοποιείται με την ενεργοποίηση της παραγωγής άλλων αντιφλεγμονωδών παραγόντων όπως IL-1ra, IL-10, υποδοχείς TNF- α και κορτιζόλη(4).

1.4.3 Ο ρόλος των ουδετερόφιλων στην ασκησιογενή μυϊκή βλάβη

Τα ουδετερόφιλα εισέρχονται στην τραυματισμένη περιοχή ήδη στην πρώτη ώρα μετά την άσκηση και παραμένουν σε υψηλά επίπεδα μέχρι το πρώτο 24ωρο. Έρευνες αναφέρουν ότι έλκονται επιλεκτικά στο σημείο της βλάβης και καθαρίζουν τον τόπο της φλεγμονής από ιστικά υπολείμματα και άπεπτα σωματίδια μέσω της φαγοκυττάρωσης. Δρουν μέσω της έκκρισης πρωτεασών αλλά και μέσω αύξησης του οξειδωτικού στρες στην περιοχή της φλεγμονής. Οι προαναφερθείσες ιδιότητες, αν και σημαντικές για την αφαίρεση του κατεστραμμένου ιστού, πιθανότατα να προκαλούν βλάβες σε παρακείμενες περιοχές υγιούς μυϊκού ιστού. Το αποτέλεσμα είναι να επιτείνεται η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη και η ένταση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου. Σε μελέτη ισχαιμίας – επαναιμάτωσης η απουσία ουδετερόφιλων από το αίμα είχε ως αποτέλεσμα μείωση της ιστικής βλάβης έως και 40%. Σε άλλη έρευνα σε πειραματόζωα τα οποία είχαν έλλειψη της οξειδάσης του NADPH, ένζυμο απαραίτητο για την παραγωγή ριζών οξυγόνου από τα ουδετερόφιλα, εμφάνισαν σαφώς μειωμένη μυϊκή βλάβη 24 ώρες μετά τον τραυματισμό. Το παραπάνω υποδεικνύει ότι τα ουδετερόφιλα εντείνουν την μυϊκή βλάβη κυρίως μέσω της αύξησης του οξειδωτικού στρες.

Από την άλλη μεριά υπάρχουν ενδείξεις ότι τα ουδετερόφιλα προάγουν την αποκατάσταση και μυϊκή ανάπτυξη μετά από τραυματισμό. Έρευνα σε πειραματόζωα έδειξε ότι η απουσία ουδετερόφιλων είχε ως αποτέλεσμα να παραμείνουν ιστικά υπολείμματα στο μυ και ότι η διαδικασία αποκατάστασης της βλάβης απαιτήσε μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Τέλος φαίνεται ότι τα ουδετερόφιλα ενεργοποιούν τα δορυφορικά κύτταρα τα οποία είναι απαραίτητα για την μυϊκή ανάπτυξη και αποκατάσταση, καθώς μετά την διαφοροποίησή τους μεταναστεύουν στην περιοχή του τραυματισμού και σχηματίζουν νέες μυϊκές ίνες στην θέση του τραυματισμένου μυϊκού ιστού(10).



Σχήμα 1.1: Ασκησιογενής μυϊκή βλάβη και η ακόλουθη φλεγμονώδης απόκριση(4)

1.4.4 Ο ρόλος των μακροφάγων στην ασκησιογενή μυϊκή βλάβη

Έχει παρατηρηθεί ότι προϋπάρχει ένας πληθυσμός μονοκυττάρων/ μακροφάγων στον μυϊκό ιστό ο οποίος εντοπίζεται στο επιμύϊο και στο περιμύϊο. Ο πληθυσμός αυτός μετά την μυϊκή βλάβη μεταναστεύει γρήγορα μέσα στο μυ. Φαίνεται ότι η επιλεκτική μείωση αυτού του πληθυσμού έχει ως αποτέλεσμα την δραματική μείωση στην προσέλκυση μονοκυττάρων από την κυκλοφορία, μετά την μυϊκή βλάβη.

Μία μέρα μετά την μυϊκή βλάβη ο πληθυσμός των μακροφάγων έχει αυξηθεί σημαντικά. Σε αυτό το στάδιο και μέχρι τρεις μέρες μετά τον τραυματισμό τα μακροφάγα εμφανίζουν φλεγμονώδη δράση μέσω της παραγωγής προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών και συμμετέχουν στην αφαίρεση του κατεστραμμένου μυϊκού ιστού μέσω της φαγοκυττάρωσης και της παραγωγής ενεργών μορφών οξυγόνου. Αντίθετα μετά τις τρεις μέρες τα μακροφάγα εμφανίζουν αντιφλεγμονώδη δράση. Τα κύτταρα αυτά δεν προέρχονται από την κυκλοφορία αλλά είναι τα ίδια μακροφάγα που πριν εμφάνιζαν διαφορετική δράση. Από αυτό το σημείο και μετά τα μακροφάγα προάγουν άμεσα την μυϊκή ανάπτυξη. Υπάρχουν πολλές μελέτες που δείχνουν ότι η παρεμπόδιση εισόδου των μονοκυττάρων/ μακροφάγων στον τραυματισμένο μυϊκό ιστό έχει σημαντικά αρνητικό αντίκτυπο στην διαδικασία της ίασης(11).

1.4.5 Παράγοντες που επηρεάζουν την φλεγμονώδη απόκριση

Στη βιβλιογραφία αναφέρονται διάφοροι παράγοντες που δύνανται να διαφοροποιήσουν την φλεγμονώδη απόκριση στη μυϊκή βλάβη που προκλήθηκε από έκκεντρες συστολές. Παρακάτω αναλύονται οι παράγοντες αυτοί.

Ηλικία: Είναι γνωστό ότι οι ηλικιωμένοι εμφανίζουν μικρότερη μυϊκή μάζα, δύναμη και ταχύτητα συστολής από τους νεότερους. Επίσης οι ηλικιωμένοι εμφανίζουν μεγαλύτερη μυϊκή βλάβη έπειτα από έκκεντρη άσκηση και χρειάζονται μεγαλύτερο χρονικό διάστημα για την αποκατάσταση. Έπειτα από τρέξιμο σε κατηφορική κλίση, τα επίπεδα ουδετερόφιλων στην κυκλοφορία των ηλικιωμένων ήταν κατά 20% μικρότερα από τα αντίστοιχα των νεότερων. Επίσης έπειτα από έκκεντρη ποδηλασία οι νεότεροι εθελοντές εμφάνισαν 9-πλάσια επίπεδα ιντερλευκίνης-6. Φαίνεται λοιπόν ότι η ηλικία έχει αρνητικό αντίκτυπο στην φλεγμονώδη απόκριση(4).

Φύλο: Σε αυτή την περίπτωση να δεδομένα είναι αντικρουόμενα. Έρευνα έδειξε ότι 24 ώρες μετά από έκκεντρη άσκηση η εισχώρηση των ουδετερόφιλων στο τραυματισμένο μυϊκό ιστό ήταν μεγαλύτερη στις γυναίκες απ' ότι στους άνδρες και ότι συμπληρωματική συνεδρία έκκεντρης άσκησης είχε ως αποτέλεσμα την περαιτέρω αύξηση της εισχώρησης μακροφάγων στον τραυματισμένο μυϊκό ιστό των γυναικών αλλά όχι των ανδρών. Αντίθετα, σε παρόμοιο πρωτόκολλο, όταν η βιοψία έγινε 48 ώρες μετά την έκκεντρη άσκηση, η εισχώρηση των ουδετερόφιλων στο μυ ήταν μεγαλύτερη στους άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες. Τέλος στα πειραματόζωα φαίνεται ότι τα οιστρογόνα παρεμποδίζουν την εισχώρηση των ουδετερόφιλων σημείο της βλάβης κάτι που όμως δεν φαίνεται να ισχύει για τους ανθρώπους(4).

Επαναλαμβανόμενες συνεδρίες άσκησης: Όπως προαναφέρθηκε οι επαναλαμβανόμενες συνεδρίες άσκησης που περιλαμβάνουν συγκεκριμένη έκκεντρη μυϊκή συστολή, εφ' όσον παρεμβάλλεται επαρκής χρόνος ανάρρωσης ανάμεσα στις συνεδρίες, αμβλύνουν τα συμπτώματα του καθυστερημένου μυϊκού πόνου που προκαλεί η άσκηση αυτή. Τα υπάρχοντα επιστημονικά δεδομένα δεν έχει ξεκαθαρίσει την σχέση των φλεγμονωδών παραγόντων με το φαινόμενο αυτό. Σε έρευνα που αναφέρθηκε παραπάνω φάνηκε ότι δεύτερη συνεδρία έκκεντρης άσκησης είχε ως αποτέλεσμα την περαιτέρω αύξηση της εισχώρησης μακροφάγων στις γυναίκες αλλά όχι στους άνδρες. Άλλα στοιχεία δείχνουν ότι επαναλαμβανόμενες συνεδρίες έκκεντρης άσκησης είχαν ως αποτέλεσμα την μείωση των ουδετερόφιλων στην κυκλοφορία από 10% έως 45% σε σύγκριση με την πρώτη συνεδρία. Τέλος έρευνα έδειξε ότι η δεύτερη συνεδρία έκκεντρης άσκησης είχε ως αποτέλεσμα την μετρίου μεγέθους μείωση της έκφρασης των υποδοχέων των λευκοκυττάρων η οποία παρατηρήθηκε παράλληλα με την σημαντική μείωση των συγκεντρώσεων της μυοσφαιρίνης και της κρεατινικής κινάσης (CK) στο πλάσμα(4).

Ενδοκυτταρική ομοιότητα ασβεστίου: Η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη μπορεί να αλλάξει την διαπερατότητα των μεμβρανών του μυοκυττάρου και με αυτό τον τρόπο αυξάνεται η εισροή ιόντων ασβεστίου στο σαρκόπλασμα. Το τελευταίο έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση πρωτεολυτικών μεταβολικών μονοπατιών κυρίως μέσω ενεργοποίησης των καλπαϊνών και με αυτό των τρόπο προκαλείται η προσέλκυση των ουδετερόφιλων στο σημείο της βλάβης. Θεωρητικά η χρήση αναστολέων των διαύλων ασβεστίου αναμένεται να αμβλύνει αυτά τα αποτελέσματα. Αντίθετα, έρευνα έδειξε ότι μετά από έκκεντρη άσκηση η εισχώρηση ουδετερόφιλων ήταν μεγαλύτερη στην ομάδα εθελοντών που είχαν λάβει τους αναστολείς ασβεστίου, κάτι που αποδόθηκε στην επίδραση των αναστολέων στον μυϊκό τόνο στα αγγεία. Συνεπώς δεν είναι ξεκάθαρος ο ρόλος του ασβεστίου στην φλεγμονώδη απόκριση μετά από μυϊκή βλάβη.

Αντιφλεγμονώδη φάρμακα: Τα αποτελέσματα των ερευνών, όσον αφορά στην επίδραση των φαρμάκων στην φλεγμονώδη απόκριση κατά την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη, δεν είναι τα αναμενόμενα. Τα αντιφλεγμονώδη φάρμακα ασκούν την δράση τους μέσω της παρεμπόδισης της ενεργοποίησης και προσκόλλησης των ουδετερόφιλων καθώς και της παραγωγής προσταγλαδινών. Η χορήγηση 1200mg ιβουπροφαίνης πριν και μετά από μία συνεδρία έκκεντρης άσκησης δεν είχε καμία επίδραση στον αριθμό των μακροφάγων. Σε άλλο πρωτόκολλο η χορήγηση 2400mg ιβουπροφαίνης για πέντε μέρες πριν και 10 μέρες μετά από μία συνεδρία άσκησης είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού των ουδετερόφιλων χωρίς να περιορίσει την ικανότητας να παράγουν in vitro ενεργές μορφές οξυγόνου. Επίσης,

η χορήγηση ναπροξένης μετά από έκκεντρη άσκηση δεν είχε καμία επίδραση στην έκφραση του αντιγόνου CD45 των ουδετερόφιλων. Αντίθετα η χορήγηση 150mg δικλοφενάκης (Voltaren) από το στόμα για 27 ημέρες οδήγησε σε μειωμένη φλεγμονή στο μετά από έκκεντρη άσκηση που εκτελέστηκε την 15^η ημέρα τις χορήγησης(12).

1.5 Ο ρόλος του ασβεστίου στην μυϊκή βλάβη

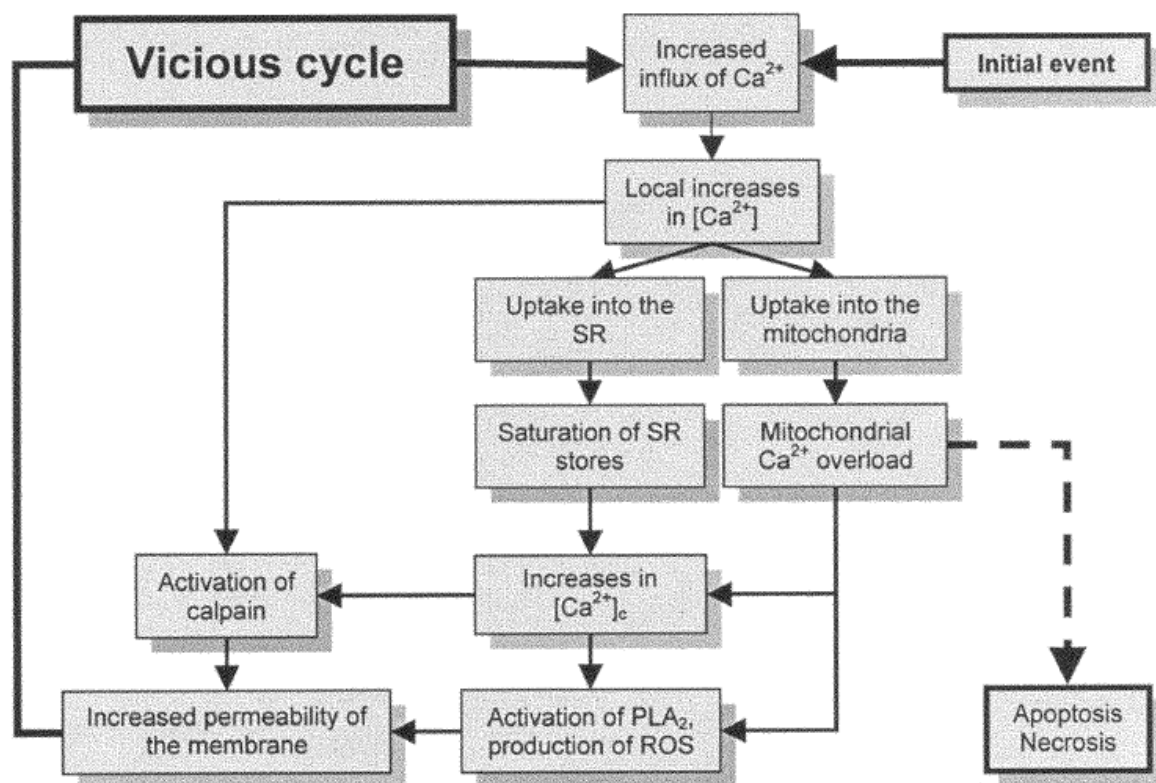
Η συγκέντρωση του ελεύθερου ασβεστίου στο σαρκόπλασμα κατά την ηρεμία είναι περίπου 50nM, δηλαδή πολλές φορές μικρότερη από την εξωκυττάρια συγκέντρωση που αγγίζει το 1mM. Η διατήρηση αυτού του μεγάλου ηλεκτροχημικού δυναμικού είναι ύψιστης σημασίας καθώς ο αυστηρός κυτταρικός έλεγχος των συγκεντρώσεων ασβεστίου επιτρέπει τον έλεγχο διαφόρων λειτουργιών του μυϊκού κυττάρου, όπως για παράδειγμα τη μυϊκή συστολή. Το παραπάνω επιτυγχάνεται κυρίως μέσω των αντλιών ασβεστίου του σαρκοπλασματικού δικτύου (SR Ca-ATPάσες). Συνολικά, η διατήρηση αυτού του δυναμικού αντιστοιχεί στο 5% των συνολικών ενεργειακών αναγκών του κυττάρου κατά την ηρεμία και στο 20% έως 50% κατά την άσκηση.

Κατά την διάρκεια της άσκησης η συγκέντρωση ασβεστίου στο σαρκόπλασμα αυξάνεται τοπικά έως και 100 φορές όμως γρήγορα επιστρέφει σε φυσιολογικά επίπεδα κυρίως λόγω των αντλιών ασβεστίου. Στην περίπτωση κάποιο που γεγονός οδηγήσει σε αύξηση της συγκέντρωσης ασβεστίου στο σαρκόπλασμα, όπως για παράδειγμα η αύξηση της διαπερατότητας των μεμβρανών λόγω ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, η μεγάλη ικανότητα αποθήκευσης ασβεστίου του σαρκοπλασματικού δικτύου και στη συνέχεια των μιτοχονδρίων θα συνεισφέρουν στην διατήρηση της ενδοκυτταρικής ομοιόστασης του ασβεστίου. Φαίνεται μάλιστα ότι μία μικρή αύξηση της συγκέντρωσης ασβεστίου στο εσωτερικό του μιτοχονδρίου εγείρει την περαιτέρω παραγωγή ATP συνεισφέροντας με αυτό τον τρόπο στην παραγωγή ενέργειας κατά την άσκηση.

Εάν όμως η εισροή ιόντων ασβεστίου στο σαρκόπλασμα συνεχιστεί τότε πιθανόν να ξεπεραστεί η ικανότητα αποθήκευσης ασβεστίου από τα μιτοχόνδρια, γεγονός με πολλές αρνητικές συνέπειες. Αρχικά, αυξάνεται δραματικά η παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου που με την σειρά τους προκαλούν την οξείδωση των λιπιδίων των μεμβρανών, γεγονός που αποδυναμώνει σε μεγάλο βαθμό τον αυστηρό έλεγχο διαπερατότητας της διπλής μεμβράνης των μιτοχονδρίων. Επιπλέον, το αυξημένο οξειδωτικό στρες αλλά και η υψηλή συγκέντρωση ασβεστίου στο μιτοχόνδριο αυξάνουν τον κίνδυνο ενεργοποίησης του πόρου μετάπτωσης της

μιτοχονδριακής διαπερατότητας (mPTP) που έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια του μιτοχονδριακού μεμβρανικού δυναμικού. Το τελευταίο έχει ως αποτέλεσμα να σταματήσει η παραγωγή ATP και την απελευθέρωση των ιόντων ασβεστίου στο σαρκόπλασμα.

Η τοπική αύξηση των ιόντων ασβεστίου στο σαρκόπλασμα μπορεί να οδηγήσει στην ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης A₂ (PLA₂) η οποία με την δράση της στις κυτταρικές μεμβράνες προκαλεί την απελευθέρωση του αραχιδονικού οξέος με αποτέλεσμα την αύξηση του οξειδωτικού στρες στα μιτοχόνδρια. Τα υψηλά πλέον επίπεδα ασβεστίου στο σαρκόπλασμα προκαλούν την ενεργοποίηση των καλπαϊνών οι οποίες με τις πρωτεολυτικές τους ιδιότητες αποδομούν τον κυτταρικό σκελετό, τα μυονημάτια και τις κυτταρικές μεμβράνες.



Σχήμα 1.2: Μοντέλο φαύλου κύκλου του ασβεστίου στο μυ(3)

Το τελευταίο έχει ως αποτέλεσμα την περαιτέρω αύξηση της διαπερατότητας της μεμβράνης στα ιόντα ασβεστίου και οδηγεί στο φαινόμενο του φαύλου κύκλου της ομοιόστασης ασβεστίου(3).

1.6 Οξειδωτικό στρες

Μέχρι σήμερα δεν υπάρχει γενικά αποδεκτός ορισμός για το οξειδωτικό στρες. Αρχικά το 1985 ορίστηκε ως η διαταραχή στην ισορροπία των προ-οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών παραγόντων εις βάρος των προ-οξειδωτικών(13). Θεωρείται όμως ανεπαρκής στο να περιγράψει την πολυπλοκότητα του φαινομένου. Το 2006 περιγράφηκε ως διαταραχή του οξειδοαναγωγικού ελέγχου και των οξειδοαναγωγικών βιολογικών μηνυμάτων(14).

Ως ελεύθερη ρίζα ορίζεται οποιοδήποτε άτομο ή μόριο δύναται να υπάρξει αυτόνομα, έστω και για ελάχιστο χρονικό διάστημα, το οποίο περιέχει ένα ή και περισσότερα μονήρη (ασύζευκτα) ηλεκτρόνια(15). Οι ελεύθερες ρίζες είναι χημικά εξαιρετικά ενεργές καθώς τα μονήρη ηλεκτρόνια τείνουν να μεταπέσουν σε σταθερότερη κατάσταση ζευγαρώνοντας με άλλα ηλεκτρόνια. Όταν δύο ελεύθερες ρίζες αντιδράσουν τότε εξουδετερώνονται. Τα περισσότερα όμως μόρια στο οργανισμό δεν είναι ελεύθερες ρίζες και έτσι συνήθως αντιδρούν με απλά μόρια (προκαλώντας ουσιαστικά βλάβη) τα οποία στην συνέχεια μετατρέπονται σε ελεύθερες ρίζες και η διαδικασία συνεχίζεται(16). Για να τερματιστεί η διαδικασία θα πρέπει να αντιδράσουν δύο ελεύθερες ρίζες μαζί ή να γίνει αντίδραση με ένα αντιοξειδωτικό. Ως αντιοξειδωτικό ορίζεται οποιαδήποτε ουσία προλαμβάνει βλάβη στον οργανισμό την οποία δύναται να προκαλέσει το μοριακό οξυγόνο(1).

1.6.1 Ελεύθερες ρίζες

Οι ελεύθερες ρίζες που προέρχονται από το οξυγόνο (ROS) αποτελούν την σημαντικότερη ομάδα ελευθέρων ριζών. Υπάρχουν όμως ενώσεις του οξυγόνου που δεν είναι ελεύθερες ρίζες σύμφωνα με τον ορισμό αλλά είναι εξαιρετικά δραστικές και συμπεριφέρονται ως ελεύθερες ρίζες. Το ίδιο ισχύει και για τις δραστικές ρίζες αζώτου (RNS). Οι δραστικές ρίζες οξυγόνου και αζώτου αναφέρονται ως RONS. Παρακάτω αναφέρονται οι κυριότερες ελεύθερες ρίζες(17).

Ανιόν του υπεροξειδίου (O_2^-): Είναι η πιο συχνά παραγόμενη ελεύθερη ρίζα στα κύτταρα και παράγεται είτε ως συγκεκριμένο ενζυμικό προϊόν είτε μέσω ατελούς αναγωγής του οξυγόνου στην αναπνευστική αλυσίδα. Έχει σχετικά μεγάλο χρόνο ημιζωής.

Υπεροξείδιο του υδρογόνου(H_2O_2) : Είναι δραστική χημική ουσία και μπορεί να προκαλέσει την δημιουργία άλλων ελευθέρων ριζών όπως ρίζες υδροξυλίου. Είναι σταθερό μόριο, έχει

σχετικά μεγάλο χρόνο ημιζωής και είναι διαπερατό στις κυτταρικές μεμβράνες. Θεωρείται σχετικά ασθενής οξειδωτικός παράγοντας(17).

Μονήρες οξυγόνο ($^1\Delta gO_2$): Είναι μία ηλεκτρονικά διεγερμένη μορφή οξυγόνου. Έχει μικρό χρόνο ημιζωής αλλά είναι διαπερατό από τις κυτταρικές μεμβράνες καθώς επίσης μπορεί να μεταφερθεί με διάχυση. Δεν γνωρίζουμε εάν παράγεται από το μυ κατά την διάρκεια της άσκησης.

Πίνακας 1.2: Σημαντικότερες ελεύθερες ρίζες και ο χρόνος ημιζωής τους(1)

Some of the major ROS and their relative half lives

ROS	Half life
Superoxide ($O_2^{\bullet -}$)	10^{-6} s
Hydroxyl ($\bullet OH$)	10^{-12} s
Nitric oxide (NO)	~30 s
Hydrogen peroxide (H_2O_2)	Minutes

Ρίζες υδροξυλίου ($\bullet OH$): Έχουν εξαιρετικά υψηλή δραστικότητα και πολύ μεγάλη οξειδωτική ισχύ. Δρουν κοντά στο σημείο της δημιουργίας τους και λόγω της υψηλής δραστικότητας τους δεν είναι διαπερατές στις κυτταρικές μεμβράνες. Είναι πιθανώς οι ελεύθερες ρίζες με την μεγαλύτερη ικανότητα αλληλεπίδρασης με βιολογικό υλικό και λόγω της υψηλής δραστικότητας τους, ο μόνος τρόπος να αντιληφθούμε την ύπαρξή τους είναι μέσω της ανίχνευσης των προϊόντων της δράσης τους.

Μονοξειδίο του αζώτου (NO^+): Μαζί με το ανιόν του υπεροξειδίου αποτελεί τις πιο συχνά παραγόμενες ελεύθερες ρίζες από τα κύτταρα. Συντίθεται από την οξείδωση της L-αργινίνης προς κιτρουλίνη, αντίδραση που καταλύεται από τις συνθετάσες του NO^+ . Επίσης λειτουργεί ως διαβιβαστής, ρυθμιστής της πίεσης και προκαλεί αγγειοδιαστολή.

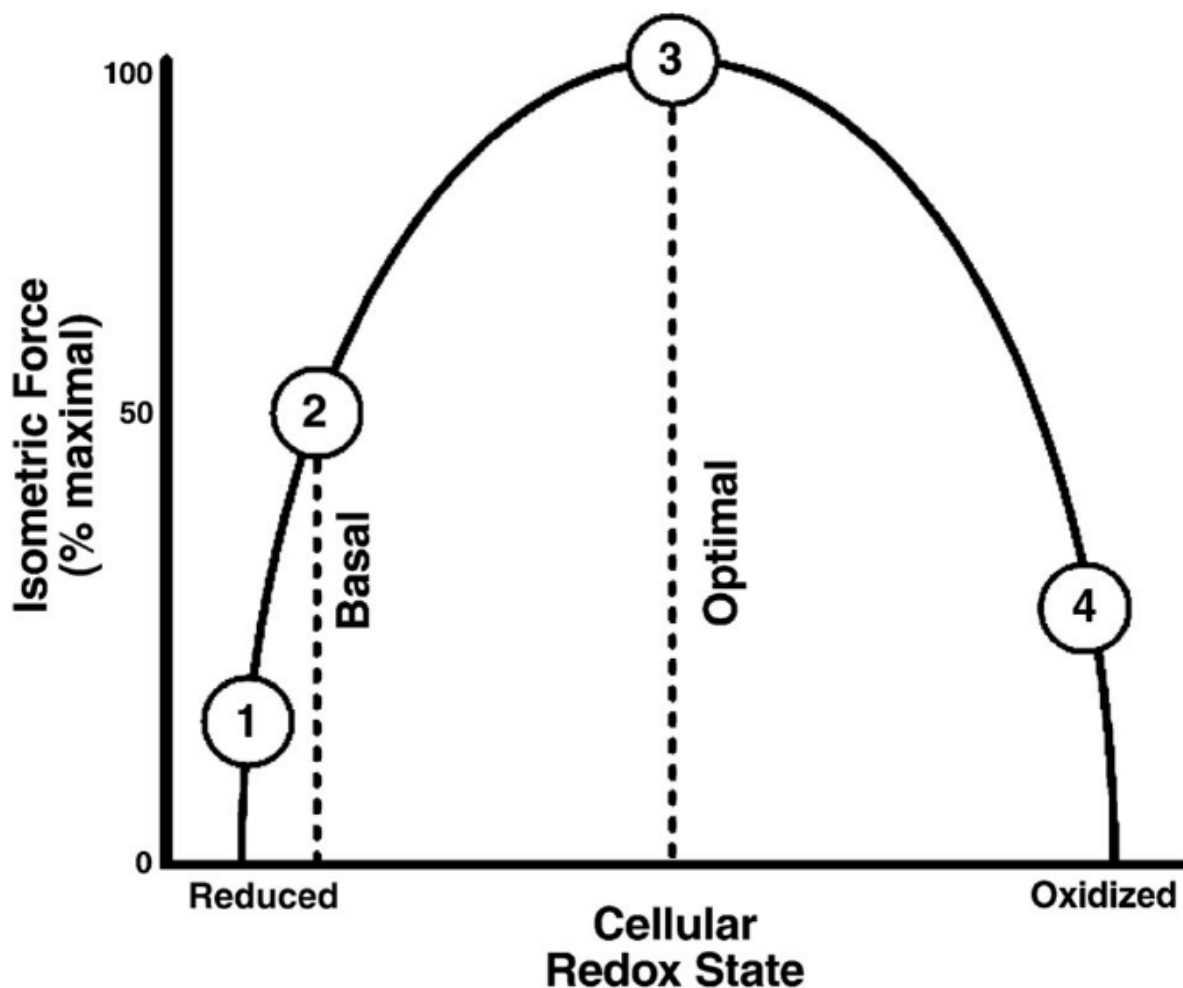
Υπεροξεινιτρώδες ($ONOO^-$): Προκύπτει από την αντίδραση του ανιόντος του υπεροξειδίου με το NO^+ . Το υπεροξεινιτρώδες είναι ισχυρός οξειδωτικός παράγοντας που δύναται να οξειδώσει θειολικές ομάδες, να προκαλέσει βλάβες στο DNA και νίτρωση στις πρωτεΐνες.

Υποχλωριώδες οξύ ($HOCl$): Σχηματίζεται από το υπεροξειδίο του υδρογόνου(H_2O_2) με την δράση της μυελοπεροξειδάσης (MPO). Κυρίως παράγεται από τα ουδετερόφιλα(17).

Οι ελεύθερες ρίζες παράγονται φυσιολογικά κατά τον κυτταρικό μεταβολισμό. Όταν βρίσκονται σε χαμηλές έως και μέτριες συγκεντρώσεις επιτελούν σημαντικές λειτουργίες

όπως είναι η μεταγραφή γονιδίων, η μεταγωγή σήματος, η κυτταρική διαφοροποίηση και πολλαπλασιασμός, ο οργανωμένος κυτταρικός θάνατος και άλλα(18). Επιπροσθέτως υπάρχουν επιστημονικά δεδομένα που στηρίζουν ότι είναι απαραίτητη η ύπαρξη ελευθέρων ριζών, σε μικρή συγκέντρωση, για την φυσιολογική παραγωγή δύναμης από τον μυ σε βασικές συνθήκες. Χωρίς δηλαδή να έχει προηγηθεί άσκηση ή ασκησιογενής μυϊκή βλάβη. Μάλιστα, η τεχνητή μείωση των επιπέδων RONS στο μυ, κάτω από εκείνα που φυσιολογικά παρατηρούνται, έχει αρνητική επίδραση την μυϊκή παραγωγή δύναμης(19).

Αντίθετα σε υψηλές συγκεντρώσεις, όπως κατά την άσκηση αλλά και μετά από ασκησιογενή μυϊκή βλάβη, οι ελεύθερες ρίζες προκαλούν βλάβες σε κυτταρικές πρωτεΐνες, στο DNA, στις κυτταρικές μεμβράνες και αλλού(20). Πέραν τούτου, φαίνεται ότι η υπερπαραγωγή RONS κατά την διάρκεια αλλά και μετά την άσκηση, εντείνει την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη, τον καθυστερημένο μυϊκό πόνο και επιδρά αρνητικά στην μυϊκή δύναμη. Είναι λοιπόν εμφανής η ανάγκη των μυοκυττάρων για την διατήρηση των επιπέδων RONS σε ένα βέλτιστο επίπεδο υπό διάφορες συνθήκες(17).



Σχήμα 1.3: Θεωρητικό μοντέλο – Σχέση ισομετρικής δύναμης και επιπέδων RONS(19)

1.6.2 Αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί

Δεδομένης της ανάγκης για διατήρηση της οξειδοαναγωγικής ισορροπίας και της αυξημένης παραγωγής RONS κατά την διάρκεια αλλά και μετά την άσκηση, τα μυοκύτταρα διαθέτουν διαφόρους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς. Με την ευρεία έννοια αντιοξειδωτικό είναι οτιδήποτε καθυστερεί ή προλαμβάνει την οξείδωση ενός υποστρώματος. Οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί μπορεί να είναι ενζυμικοί και μη ενζυμικοί. Στη συνέχεια αναφέρονται τα κυριότερα αντιοξειδωτικά ένζυμα(17).

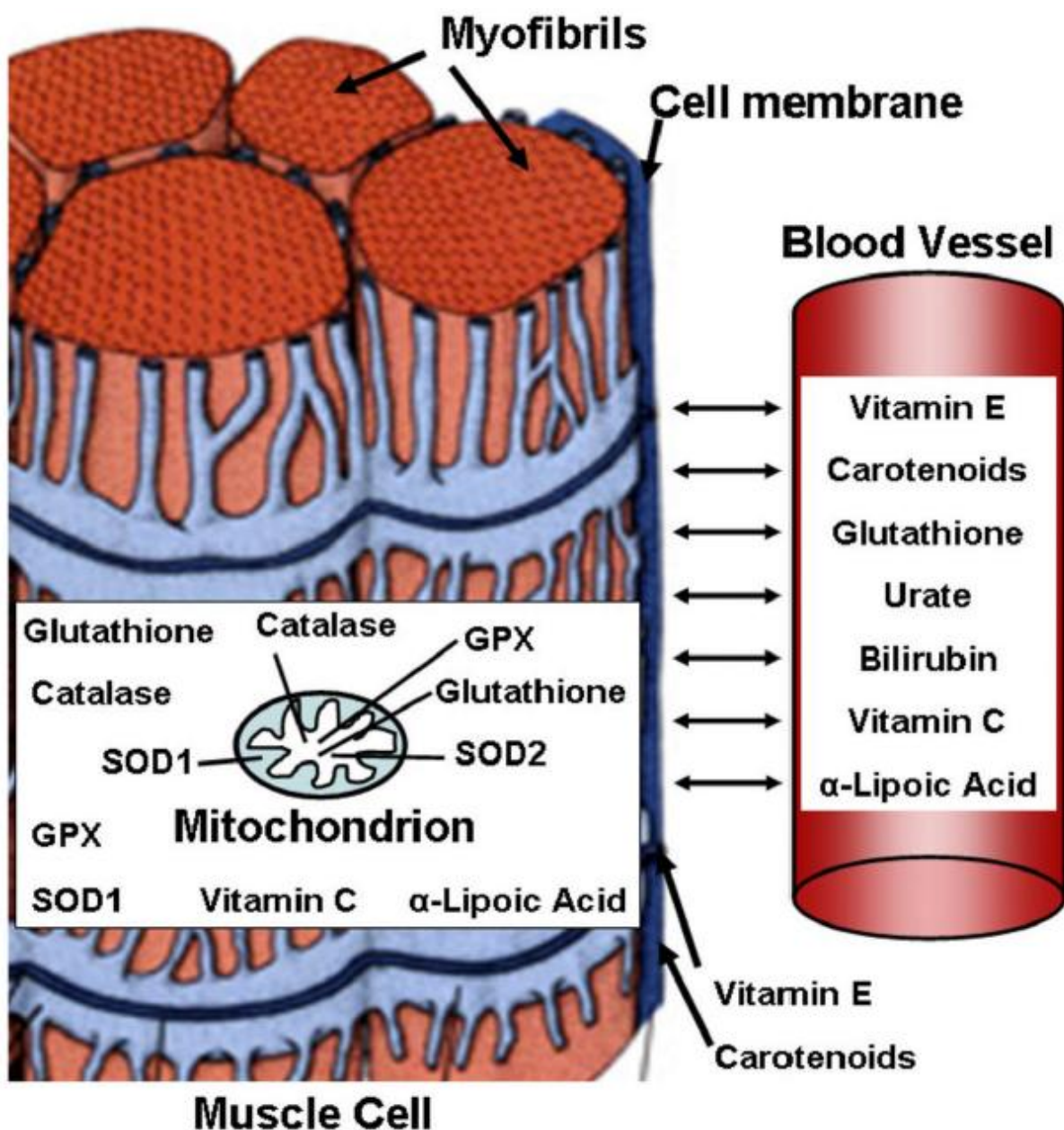
Δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD): Είναι από τα πιο αποτελεσματικά ενζυμικά συστήματα και καταλύει την μετατροπή των ανιόντων υπεροξειδίου (O_2^-) σε υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2). Στο άνθρωπο υπάρχει σε τρεις ισομορφές. Στα μυοκύτταρα το 15% με 35% της συνολικής δραστηριότητας της SOD εμφανίζεται στα μιτοχόνδρια και το 65% με 85% στο σαρκόπλασμα. Φαίνεται ότι η προπόνηση ή και μία συνεδρία άσκησης αυξάνει την ενεργότητα της SOD στους μυς αλλά σε μεγαλύτερο βαθμό στις μυϊκές ίνες με την μεγαλύτερη οξειδωτική ικανότητα (τύπου I και IIa).

Υπεροξειδάσες τις γλουταθειόνης (GPX): Καταλύουν την αναγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) σε νερό (H_2O) χρησιμοποιώντας κυρίως την ανηγμένη γλουταθειόνη ως δότη ηλεκτρονίων. Η ικανότητά τους να ανάγουν το H_2O_2 αλλά και σύνθετα οργανικά υδροϋπεροξείδια τις καθιστά ως ένα πολύ σημαντικό αντιοξειδωτικό μέσο για την προστασία των μεμβρανικών λιποειδών, πρωτεϊνών και του DNA από τις βλαβερές επιδράσεις των ελευθέρων ριζών. Φαίνεται ότι η προπόνηση αντοχής αυξάνει την δραστηριότητα των GPX στους μυς.

Καταλάση (CAT): Επιτελεί διάφορες βιοχημικές λειτουργίες αλλά ο κύριος ρόλος της είναι η μετατροπή του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) σε νερό (H_2O) και μοριακό οξυγόνο (O_2). Η CAT εμφανίζει πολύ μικρότερη δραστηριότητα για χαμηλές συγκεντρώσεις H_2O_2 σε σχέση με τις GPX. Δεν είναι ξεκάθαρο στην βιβλιογραφία εάν αυξάνεται η δραστηριότητα της CAT ως αποτέλεσμα της προπόνησης.

Άλλα ενζυμικά συστήματα που συμμετέχουν άμεσα ή έμμεσα στην διατήρηση της οξειδοαναγωγικής ομοιόστασης στα κύτταρα είναι της θειορεδοξίνης (TRX), της γλουταρεδοξίνης (GRX) και της υπεροξειρεδοξίνης (PRX). Τα κυριότερα μη ενζυμικά

αντιοξειδωτικά που υπάρχουν και συνθέτονται στα κύτταρα είναι η γλουταθειόνη, το ουρικό οξύ, η χολερυθρίνη και το συνένζυμο Q10(17).



Σχήμα 1.4: Τοπολογία αντιοξειδωτικών παραγόντων στο μυ(17)

Γλουταθειόνη (GSH): Είναι από τα πιο σημαντικά μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά στους μυς. Είναι τριπεπτίδιο και αποτελεί την πιο μεγάλη μη πρωτεϊνική θειολική ομάδα στον ανθρώπινο οργανισμό. Συντίθεται στο ήπαρ και μεταφέρεται στους ιστούς μέσω της κυκλοφορίας. Η αντιοξειδωτική της δράση εκδηλώνεται είτε άμεσα δρώντας ως δότης ατόμων υδρογόνου και ανάγοντας με αυτόν των τρόπο ελεύθερες ρίζες, είτε έμμεσα λειτουργώντας ως υπόστρωμα για την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPX). Επίσης άλλη μία έμμεση αντιοξειδωτική λειτουργία της GSH είναι ότι μπορεί να ανάγει τις

αντιοξειδωτικές βιταμίνες C και E. Φαίνεται ότι οι συχνές συνεδρίες άσκησης αντοχής υψηλής έντασης οδηγούν στην αύξηση των επιπέδων GSH στους μυς.

Ουρικό οξύ: Παράγεται ως προϊόν του μεταβολισμού των πουρινών. Λειτουργεί ως δότης ηλεκτρονίων και εκδηλώνει την αντιοξειδωτική του δράση πάνω σε ρίζες υπεροξειδίου, ρίζες υδροξυλίου και στο μονήρες οξυγόνο. Δεν είναι γνωστή η επίδραση της προπόνησης στα επίπεδα ουρικού οξέως αλλά είναι γνωστό ότι λειτουργεί ως αντιοξειδωτικό στους μυς κατά την διάρκεια της άσκησης.

Χολερυθρίνη: Αποτελεί προϊόν του μεταβολισμού της αίμης και προκύπτει κυρίως μέσω της καταστροφής των ερυθρών αιμοσφαιρίων(21). Το σύνδρομο Gilbert είναι μία γενετική ασθένεια που αφορά περίπου το 5% του πληθυσμού και οι πάσχοντες εμφανίζουν ελαφρώς αυξημένα επίπεδα χολερυθρίνης στο αίμα. Μετανάλυση του 2002 έδειξε ότι οι ασθενείς διατρέχουν σαφώς μικρότερο καρδιαγγειακό κίνδυνο σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό κάτι που αποδίδεται στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες της χολερυθρίνης(22).

Συνένζυμο Q10: Συντίθεται στα κύτταρα και είναι σημαντικό στοιχείο στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια. Απαντάται επίσης και στις κυτταρικές μεμβράνες. In vitro, το συνένζυμο Q10 εκδηλώνει την αντιοξειδωτική του δράση, εμποδίζοντας την λιπιδική υπεροξείδωση. Δεν υπάρχουν δεδομένα σχετικά με την αντιοξειδωτική του δράση in vivo(17).

Τέλος, υπάρχουν και διατροφικοί αντιοξειδωτικοί παράγοντες όπως οι βιταμίνη C, η βιταμίνη E, τα καροτενοειδή και το α-λιποϊκό οξύ που θα αναλυθούν εκτενέστερα στη συνέχεια.

1.6.3 Οξειδωτικό στρες και άσκηση

Η παραγωγή ελευθέρων ριζών στον ανθρώπινο οργανισμό είναι αναπόφευκτη καθώς αποτελούν προϊόν του μεταβολισμού του οξυγόνου, στοιχείου απαραίτητου για την διατήρηση της ζωής. Η μέση κατανάλωση οξυγόνου σε συνθήκες ηρεμίας αντιστοιχεί σε περίπου 3,5ml O₂ ανά χιλιόγραμμο σωματικού βάρους το λεπτό (3,5ml O₂ /kg/min). Σε αερόβια άσκηση υψηλής έντασης, η κατανάλωση οξυγόνου μπορεί να αυξηθεί περισσότερο από 20 φορές. Γίνεται λοιπόν αντιληπτό ότι κατά την άσκηση αυξάνεται κατά πολύ η παραγωγή ελευθέρων ριζών(23).

Υπάρχουν έρευνες που υποστηρίζουν ότι το 2% με 5% του οξυγόνου που καταναλώνεται στα μιτοχόνδρια υφίσταται ατελή αναγωγή με αποτέλεσμα την παραγωγή ανιόντων του υπεροξειδίου(17). Πιο πρόσφατη έρευνα τοποθέτησε το ποσοστό στο 0,15%, δηλαδή αρκετές φορές μικρότερο(24). Επίσης, υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν ότι οι πρωτεΐνες αποσύζευξης (UCP3) ρυθμίζουν την παραγωγή ROS στα μιτοχόνδρια προστατεύοντας τα από τις βλαβερές δράσεις των ελευθέρων ριζών(25). Επιπλέον, η διαρροή ανιόντων υπεροξειδίου είναι ποσοστιαία μεγαλύτερη όταν τα μιτοχόνδρια βρίσκονται στην βασική κατάσταση (στάδιο 4) παρά κατά την άσκηση (στάδιο 3)(26). Φαίνεται λοιπόν ότι τα μιτοχόνδρια δεν είναι το κύριο σημείο παραγωγής ελευθέρων ριζών κατά την άσκηση. Τέλος, οι ελεύθερες ρίζες που παράγουν τα μιτοχόνδρια κατά την άσκηση δεν φαίνεται να είναι το σημαντικότερο αίτιο του καθυστερημένου μυϊκού πόνου (DOMS) καθώς οι πλειομετρικές ασκήσεις που κυρίως προκαλούν DOMS, είναι μεταβολικά λιγότερο απαιτητικές από τις ομόκεντρες ασκήσεις, οι οποίες απαιτούν μεγαλύτερη κατανάλωση οξυγόνου από τα μιτοχόνδρια(17).

Άλλα σημεία του μυοκυττάρου που εμπλέκονται στην παραγωγή ελευθέρων ριζών είναι το σαρκοπλασματικό δίκτυο (SR), το δίκτυο εγκάρσιων σωληνίσκων (T-tubules) και η πλασματική μεμβράνη. Στα τρία αυτά σημεία έχουν υπάρχουν ισομορφές του ενζύμου της οξειδάσης του NADP(H) που προκαλούν την παραγωγή ανιόντων του υπεροξειδίου. Επιπροσθέτως, κατά την διάρκεια της άσκησης εντείνεται η δράση των οξειδάση της ξανθίνης και της φωσφολιπάσης A_2 (PLA $_2$). Η PLA $_2$ είναι ένζυμο που αποσπά από τις κυτταρικές μεμβράνες το αραχιδονικό οξύ, το οποίο είναι υπόστρωμα οξειδωτικών συστημάτων όπως οι κυκλοξυγονάσες. Επίσης έχει την ιδιότητα να ενεργοποιεί την οξειδάση του NADP(H) καθώς επίσης να προκαλέσει αύξηση της παραγωγής ελευθέρων ριζών κατά την άσκηση τόσο στα μιτοχόνδρια όσο και στο σαρκόπλασμα(17).

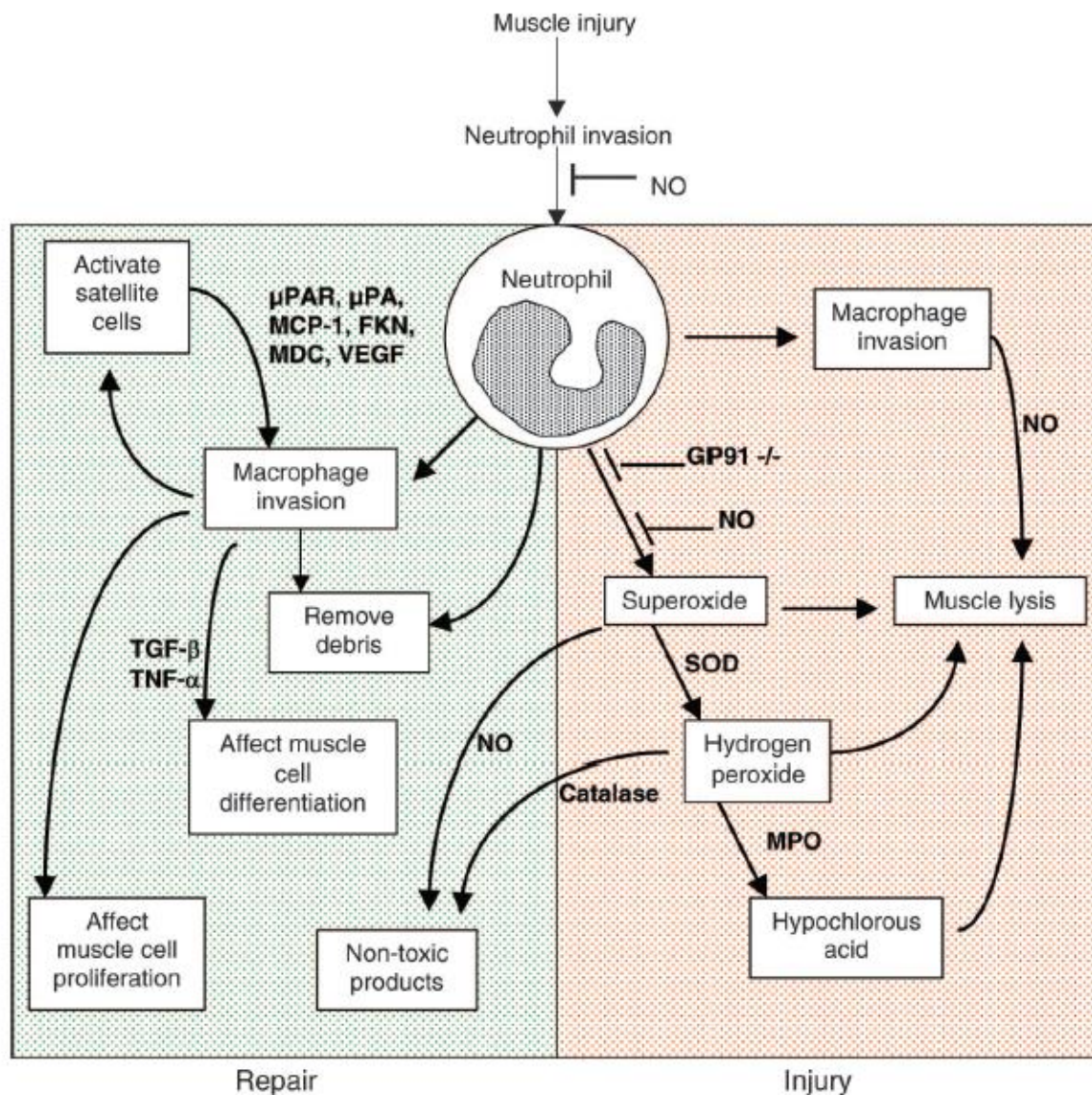
Υπάρχουν επαρκή επιστημονικά δεδομένα που δείχνουν ότι κατά την διάρκεια μυϊκών συσπάσεων παράγονται ανιόντα υπεροξειδίου, υπεροξείδιο του υδρογόνου, μονοξείδιο του αζώτου και υπό συνθήκες ρίζες υδροξυλίου. Μέχρι σήμερα δεν είναι γνωστό εάν όλα τα σημεία του κυττάρου που προαναφέρθηκαν συνεισφέρουν στην δημιουργία του αυξημένου οξειδωτικού στρες που παρατηρείται κατά την άσκηση, ή εάν κάποιο από αυτά κυριαρχεί. Είναι πιθανό το καθένα να συνεισφέρει σε διαφορετικό βαθμό ανάλογα με τις συνθήκες(17).

Υπάρχουν όμως και μη μυϊκές πηγές που συνεισφέρουν στην αύξηση του οξειδωτικού στρες όταν έχει επέλθει ήδη μυϊκή βλάβη λόγω άσκησης, πιθανότατα επιτείνοντάς την υπάρχουσα βλάβη. Μέτα την πρόκληση ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, η απάντηση του

ανοσοποιητικού συστήματος είναι σχεδόν άμεση καθώς ώρες μετά των τραυματισμό αρχίζει η εισχώρηση των ουδετερόφιλων και στην συνέχεια των μονοκύτταρων/ μακροφάγων στην περιοχή του τραυματισμού. Η δράση τους φαίνεται απαραίτητη για την ομαλή αποκατάσταση και μυϊκή ανάπτυξη όμως η αύξηση του οξειδωτικού στρες που προκαλούν ενδέχεται να οδηγεί σε βλάβη παρακείμενου υγιούς μυϊκού ιστού(10)(11).

Τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος είναι ικανά να παράγουν μεγάλες ποσότητες ελευθέρων ριζών. Η ικανότητα τους αυτή είναι εξαιρετικά σημαντική όσον αφορά την άμυνα του οργανισμού ενάντια σε ιούς και μικροοργανισμούς που έχουν εισβάλει στον οργανισμό(27). Όμως και μετά από πλειομετρικές μυϊκές συστολές παρατηρείται αξιοσημείωτη αύξηση των λευκοκυττάρων στο αίμα(28). Η χημειοταξία που διαμορφώνεται στην συγκεκριμένη κατάσταση προκαλεί την εισχώρηση των ουδετερόφιλων στον μυϊκό ιστό. Το παραπάνω φαίνεται να επιτυγχάνεται μέσω της δράσης κυτταροκινών (TNF- α , IL-1, IL-8) άλλα και μέσω της δράσης του τραυματισμένου μυϊκού ιστού ο οποίος απελευθερώνει στην κυκλοφορία τον αυξητικό παράγοντα ινοβλαστών (FGF) και αιμοπεταλιακό αυξητικό παράγοντα (PDGF) προσελκύοντας τα λευκοκύτταρα στο σημείο της βλάβης. Τα ουδετερόφιλα όταν εισέλθουν στο μυ έρχονται σε επαφή με παράγοντες που προκαλούν την ενεργοποίηση της φαγοκυτταρικής τους δράσης. Συγκεκριμένα τα ουδετερόφιλα αρχίζουν να υπερκαναλώνουν οξυγόνο, φαινόμενο που περιγράφεται ως «αναπνευστική έκρηξη». Αρχικά ενεργοποιείται η οξειδάση του NADP(H) των ουδετερόφιλων και το μοριακό οξυγόνο ανάγεται σε ανιόν υπεροξειδίου και το τελευταίο εν συνεχεία μετατρέπεται σε υπεροξείδιο του υδρογόνου. Καθώς η οξειδωτική δύναμη των δύο προαναφερθέντων ελεύθερων ριζών δεν είναι ιδιαίτερα ισχυρή τα ουδετερόφιλα επιστρατεύουν το ένζυμο μυελοπεροξειδάση (MPO) με αποτέλεσμα την μετατροπή του υπεροξειδίου του υδρογόνου στο σαφώς ισχυρότερο οξειδωτικά υποχλωριώδες οξύ. Επιπλέον υπάρχουν ενδείξεις ότι υπό συνθήκες σχηματίζονται και οι δραστηκότες ρίζες υδροξυλίου. Η είσοδος των ουδετερόφιλων ξεκινά από την πρώτη ώρα μετά τη πλειομετρική άσκηση αλλά η οξειδωτική δράση των λευκοκυττάρων κορυφώνεται από τις 24 έως 72 ώρες. Σε αυτό το χρονικό διάστημα έχουν εισέλθει στο μυ και τα μακροφάγα, τα οποία εμφανίζουν παρόμοια δράση. Μετά τις τρεις μέρες κυριαρχεί η δράση των μακροφάγων η οποία έχει πλέον μεταβληθεί σε αντιφλεγμονώδης και προάγουν άμεσα την μυϊκή ανάπτυξη(1). Οι ελεύθερες ρίζες που παράγονται κατά την αναπνευστική έκρηξη αλληλεπιδρούν με τα ακόρεστα λιπαρά των μεμβρανών των κυττάρων στόχων συμβάλλοντας στην αφαίρεση του κατεστραμμένου ιστού. Ωστόσο φαίνεται ότι μπορεί να υπάρξει διαρροή ελευθέρων ριζών με αποτέλεσμα την πρόκληση βλάβης σε παρακείμενα υγιή κύτταρα(1). Από την άλλη μεριά έχει φανεί ότι η

παρεμπόδιση της δράσης των ουδετερόφιλων και των μακροφάγων οδηγεί σε καθυστέρηση της μυϊκής αποκατάστασης(10)(11). Επίσης στην βιβλιογραφία δεν αναφέρεται σαφής σχέση μεταξύ μετασχησιακού οξειδωτικού στρες και καθυστερημένου μυϊκού πόνου (DOMS), καθώς το οξειδωτικό στρες φαίνεται να κορυφώνεται μία με δύο μέρες μετά την κορύφωση του DOMS(29).



Σχήμα 1.5: Ασκησιογενές οξειδωτικό στρες και φλεγμονώδης απόκριση(30)

Ίσως η εικόνα δεν είναι ξεκάθαρη λόγω του ότι είναι σχετικά δύσκολη η άμεση ανίχνευση των ελευθέρων ριζών στον οργανισμό, καθώς παρουσιάζονται σε αρκετά μικρές συγκεντρώσεις και λόγω της υψηλής δραστηρότητας τους εμφανίζουν πολύ μικρό χρόνο ημιζωής. Για αυτό το λόγο οι μέθοδοι που κυρίως χρησιμοποιούνται για την μέτρηση του οξειδωτικού στρες είναι έμμεσοι και αφορούν τα τελικά προϊόντα της δράσης των ελευθέρων ριζών όπως είναι οι δείκτες λιπιδικής υπεροξειδωσης, δείκτες οξείδωσης DNA και

πρωτεϊνών (πρωτεϊνικά καρβονύλια, θειόλες, F_2 – ισοπροστάνες, μαλοναλδεϋδη) . Τέλος είναι πιθανό, οι διαφορές που υπάρχουν στις μελέτες που εξετάζουν την σχέση του οξειδωτικού στρες με τον καθυστερημένο μυϊκό πόνο να οφείλονται εν μέρει στις διαφορετικές μεθόδους μέτρησης που χρησιμοποιούνται κάθε φορά(31).

1.7 Τεχνικές πρόληψης και θεραπείας της ασκησιογενούς μυϊκή βλάβης

Η μυϊκή βλάβη λόγω άσκησης συνήθως συνοδεύεται από πόνο, μυϊκή ευαισθησία, οίδημα, μείωση της μυϊκής δύναμης και του εύρους κίνησης και εμφάνιση ενδομυϊκών πρωτεϊνών στο πλάσμα. Για αυτό το λόγο, μία ποικιλία παρεμβάσεων έχει χρησιμοποιηθεί με στόχο την πρόληψη, θεραπεία ή τον περιορισμό των αρνητικών συμπτωμάτων της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης. Παρακάτω περιγράφονται κάποιες από αυτές τις παρεμβάσεις.

Χορήγηση μη στεροειδών, αντιφλεγμονωδών φαρμάκων (NSAIDs): Υπάρχουν πολλές μελέτες που έχουν διερευνήσει την επίδραση των NSAIDs στην ασκησιογενή μυϊκή βλάβη, ακολουθώντας διαφορετικά πρωτόκολλα όσον αφορά την δραστική ουσία, την δοσολογία, τον χρόνο και την διάρκεια χορήγησης καθώς και τον τύπο άσκησης. Σε κάποιες από αυτές τις μελέτες αναφέρεται μείωση του πόνου και της μυϊκής βλάβης όπως αποτυπώνεται από τα επίπεδα της κινάσης της φωσφοκρεατίνης (CK) στο πλάσμα. Αντίθετα η χορήγηση NSAIDs δεν φαίνεται να περιορίζει την φλεγμονώδη απόκριση. Καμία επίσης βελτίωση δεν παρατηρήθηκε στην μυϊκή δύναμη και στο εύρος κίνησης. Τέλος η χορήγηση μεγάλων δόσεων NSAIDs μετά από μυϊκή βλάβη είχε ως αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της αποκατάστασης και της μυϊκής υπερτροφίας σε πειραματόζωα, εύρημα που φαίνεται να επιβεβαιώνεται και στους ανθρώπους.

Διατατικές ασκήσεις: Χρησιμοποιούνται για την αύξηση της ελαστικότητας των μυών πριν από την άσκηση. Δυστυχώς δεν υπάρχουν πολλές μελέτες σχετικά με το θέμα. Πάντως τα μέχρι τώρα δεδομένα δείχνουν κάποιες μικρού βαθμού θετικές επιδράσεις στον πόνο, τη φλεγμονή, το εύρος κίνησης και τη δύναμη.

Ηλεκτροθεραπεία: Οι μέθοδοι ηλεκτροθεραπείας χρησιμοποιούνται για την θεραπεία τραυμάτων και για την αποκατάσταση διαφόρων μυοσκελετικών προβλημάτων. Η χρήση τους για την θεραπεία της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης δεν έχει εξεταστεί επαρκώς. Συγκεκριμένα έχει εξεταστεί η μέθοδος της διαδερμικού ηλεκτρικού νευρικού ερεθισμού (TENS), η HVPC (high voltage pulsed current) καθώς και η χρήση υπερήχων. Υπάρχουν

ενδείξεις ότι συνεισφέρουν στην θεραπεία της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης αλλά δεν υπάρχουν αρκετά επιστημονικά δεδομένα που να στηρίζουν την ευρεία χρήση τους. Επίσης οι μέθοδοι αυτοί απαιτούν ακριβό εξοπλισμό και εξειδικευμένο προσωπικό για τη χρήση του(2).

Μασάζ: Το μασάζ χρησιμοποιείται ευρέως για την μείωση του μυϊκού πόνου και πολλοί αθλητές είναι πεπεισμένοι για την αποτελεσματικότητά του. Η πλειοψηφία των δεδομένων μέχρι σήμερα υποστηρίζει ότι το μασάζ είναι αποτελεσματικό στην μείωση της αίσθησης του πόνου αλλά δεν φαίνεται να έχει επίδραση στην αθλητική απόδοση.

Κρυοθεραπεία: Συνήθως χρησιμοποιείται άμεσα μετά τον τραυματισμό και στοχεύει στην μείωση του πόνου, της φλεγμονής, του οιδήματος και του σχηματισμού αιματώματος μέσω της μείωσης της αιματικής ροής και του μεταβολισμού στην περιοχή του τραυματισμού.

Άσκηση: Η ήπια άσκηση χρησιμοποιείται για την μείωση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου. Φαίνεται ότι η ήπια άσκηση αυξάνει την αιματική ροή απομακρύνοντας τα επιβλαβή παραπροϊόντα του μεταβολισμού του τραυματισμένου μυϊκού ιστού και αυξάνει την τοπική έκκριση ενδορφίνης ασκώντας αναλγητική δράση. Υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν την μικρού βαθμού ευεργετική δράση της ήπιας άσκησης πριν (προθέρμανση) και μετά από έντονη έκκεντρη άσκηση(7).

Επίδραση επαναλαμβανόμενων συνεδριών: Τα αρνητικά συμπτώματα της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης εμφανίζονται σε μεγάλο βαθμό μειωμένα μετά από δεύτερη συνεδρία έκκεντρης άσκησης παρόμοιας έντασης. Φαίνεται να ισχύει τόσο για τα άνω όσο και για τα κάτω άκρα. Μάλιστα έχει παρατηρηθεί ότι αυτή η προσαρμογή μπορεί να διαρκέσει μέχρι και μερικούς μήνες(2).

1.8 Διατροφικοί παράγοντες στην πρόληψη και θεραπεία της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης

Η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη και ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος που προκύπτει, συνοδεύονται από δυσάρεστα συμπτώματα όπως οίδημα, ακαμψία, μυϊκή ευαισθησία, μείωση της δύναμης, του εύρους κίνησης και φυσικά από πόνο(5). Για αυτό το λόγο είναι εύλογο το έντονο επιστημονικό ενδιαφέρον για την εύρεση διατροφικών παραγόντων οι οποίοι δύνανται να αμβλύνουν τα συμπτώματα αυτά.

1.8.1 Αντιοξειδωτικοί διατροφικοί παράγοντες

Η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη θεωρείται ότι οφείλεται εν μέρει στο αυξημένο οξειδωτικό στρες στους μυς. Εμφανίζεται κατά την διάρκεια της άσκησης λόγω του αυξημένου μεταβολισμού του οξυγόνου αλλά και μετά την άσκηση μέσω της «αναπνευστικής έκρηξης» που προκύπτει μέσω της δράσης των ουδετερόφιλων και των μακροφάγων που έχουν εισέλθει στον τραυματισμένο ιστό(17). Για αυτό τον λόγο πολλές έρευνες επικεντρώθηκαν στην διερεύνηση της επίδρασης των βιταμινών που εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση δηλαδή στις βιταμίνες C και E.

Η βιταμίνη C εμφανίζει αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση. Επίσης είναι σημαντική η συμβολή της στον σχηματισμό του κολλαγόνου. Στις μελέτες που διερευνήθηκε η σχέση πρόσληψης βιταμίνης C και μυϊκής βλάβης χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικά πρωτόκολλα ως προς το είδος της έκκεντρης άσκησης, της χρονικής διάρκειας της πρόσληψης και του ύψους της δόσης. Οι θετικές επιδράσεις της βιταμίνης C που έχουν αναφερθεί αφορούν στη μείωση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου στην ομάδα παρέμβασης(32)(33), και στη μείωση των επιπέδων ιντερλευκίνης – 6 (IL-6) στην κυκλοφορία(34). Επίσης έχουν καταγραφεί μείωση του λόγου οξειδωμένης/ανηγμένης γλουταθειόνης (GSSG/GSH) υποδεικνύοντας την επιτυχημένη αντιοξειδωτική δράση της βιταμίνης C(32).

Αντίθετα δεν έχει αναφερθεί θετική επίδραση στην μείωση της δύναμης και του εύρους κίνησης που παρατηρείται έπειτα από έκκεντρες συστολές(32)(34)(35). Επιπλέον έρευνα έδειξε ότι η πρόσληψη βιταμίνης C σχετίστηκε με αυξημένα επίπεδα των μυϊκών πρωτεϊνών, κινάση της φωσφοκρεατίνης (CK) και γαλακτική αφυδρογονάση (LDH) στο πλάσμα, υποδεικνύοντας αυξημένη μυϊκή βλάβη(36). Τέλος έχει αναφερθεί ότι η χορήγηση 1000mg βιταμίνης C για 14 μέρες μετά την άσκηση, σχετίστηκε καθυστέρηση της μυϊκής αποκατάστασης και ανάπτυξης(37).

Στις μελέτες που εξέτασαν την επίδραση της χορήγησης βιταμίνης E, τα αποτελέσματα είναι επίσης διφορούμενα. Στις θετικές επιδράσεις αναφέρονται στη μείωση των επιπέδων TBARS, LDH, CK, TNF- α , IL-10 και στη μείωση του μυϊκού πόνου(38). Αντίθετα υπάρχουν έρευνες δείχνουν ότι η χορήγηση βιταμίνης E δεν επηρέασε τον μυϊκό πόνο, την μυϊκή δύναμη, το εύρος κίνησης, την λιπιδική υπεροξείδωση(39), τα επίπεδα CK πλάσματος(38), αύξησε τα επίπεδα των TBARS και την εισχώρηση των μακροφάγων στο μυ(40).

Σε αυτό το σημείο θα πρέπει να αναφερθεί ότι έχει διερευνηθεί η επίδραση και άλλων διατροφικών παραγόντων που εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση όπως το συνένζυμο Q10(41), η Ν-ακετύλοκυστεΐνη (36) αλλά και η χορήγηση συνδυασμού αντιοξειδωτικών(42)(43). Όμως τα αποτελέσματα και σε αυτές τις μελέτες δεν είναι ξεκάθαρα.

Εκτός από μεμονωμένα διατροφικά συστατικά έχουν εξεταστεί και τρόφιμα τα οποία εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση και ενδεχομένως να έχουν ευεργετική επίδραση στην αντιμετώπιση της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης. Σε αυτά περιλαμβάνεται ο χυμός ροδιού, του γνωστού φρούτου, ο οποίος περιλαμβάνει πολυφαινολικά συστατικά με γνωστή αντιοξειδωτική δράση. Φαίνεται ότι η χορήγηση του έχει ήπια ευεργετική επίδραση στον καθυστερημένο μυϊκό πόνο και στην μείωση της δύναμης(44)(45). Επίσης έχει μελετηθεί άλλος ένας χυμός φρούτου, μία ποικιλία ξινών κερασιών (tart cherries), ο οποίος φαίνεται να εμφανίζει ήπια θετική επίδραση μέσω της μείωσης του οξειδωτικού στρες, της φλεγμονώδους απόκρισης, της αίσθησης του πόνου καθώς και μέσω της άμβλυνσης της μείωσης της δύναμης μετά από έκκεντρες συστολές(46)(47). Τέλος υπάρχουν αναφορές ότι χορήγηση σόγιας μπορεί να μειώσει το οξειδωτικό στρες και τα επίπεδα CK πλάσματος(48).

1.8.2 Αμινοξέα και παράγωγα αμινοξέων

Σε αυτά περιλαμβάνονται η κρεατίνη, η καρνιτίνη, τα διακλαδισμένης αλύσου αμινοξέα, το β-υδροξύ-β-μεθυλοβουτυρικό οξύ και το α-κετοϊσοκαπροϊκό οξύ.

Η κρεατίνη συντίθεται στον οργανισμό αλλά λαμβάνεται και από την τροφή κυρίως μέσω προϊόντων κρέατος. Έχει σημαντική συμβολή στον αναερόβιο μυϊκό μεταβολισμό και χρησιμοποιείται ως εργογόνο βοήθημα κυρίως για αναερόβια αθλήματα υψηλής έντασης. Χωρίς να είναι ξεκάθαρο ακόμα, φαίνεται η χορήγηση κρεατίνης περιορίζει την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη (μείωση πόνου, κάματος, επιπέδων CK και LDH στο πλάσμα, περιορισμός στην απώλεια δύναμης). Η θετική της επίδραση αποδίδεται στις ικανότητες της να σταθεροποιεί με το φορτίο της, τις κυτταρικές μεμβράνες, να καθιστά πιο αποτελεσματικό τον ενεργειακό μεταβολισμό και στην αντιοξειδωτική της δράση(49).

Η καρνιτίνη βιοσυντίθεται στον οργανισμό από τα αμινοξέα λυσίνη και μεθειονίνη αλλά λαμβάνεται και από την τροφή. Χορηγείται ως εργογόνο βοήθημα καθώς υπάρχουν ενδείξεις ότι η αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας της ενισχύει την β-οξείδωση και τον αερόβιο

μεταβολισμό(50). Επιπλέον έχει παρατηρηθεί ότι η χορήγηση καρνιτίνης είχε ως αποτέλεσμα μείωση δεικτών καταβολισμού πουρινών και οξειδωτικού στρες καθώς και μείωσης της μυϊκής βλάβης. Τα ευρήματα αυτά αποδίδονται στην ικανότητα της καρνιτίνης να βελτιώνει την ενδοθηλιακή λειτουργία των αγγείων, αυξάνοντας με αυτόν τον τρόπο την αιματική ροή στους μυς και μειώνοντας το υποξικό στρες(51).

Τα διακλαδισμένης αλύσου αμινοξέα (BCAA) είναι η λευκίνη, ισολευκίνη και βαλίνη και αποτελούν τα τρία από τα εννέα απαραίτητα αμινοξέα. Μειωμένα επίπεδα CK και μυοσφαιρίνης πλάσματος, μείωση του μυϊκού πόνου αλλά όχι και βελτίωση της μυϊκής λειτουργίας είναι τα κυριότερα ευρήματα των μελετών που εξέτασαν την επίδραση της χορήγησης BCAA στην ασκησιογενή μυϊκή βλάβη(52). Η δράση τους αποδίδεται στην ιδιότητα τους, κυρίως της λευκίνης, να προάγουν την μεταγραφή των πρωτεϊνών και να περιορίζουν τον μυϊκό καταβολισμό(53). Επίσης έχει διερευνηθεί η δράση του α-κετοϊσοκαπροϊκού οξέος (KIC) που αποτελεί το αντίστοιχο κετοξύ της λευκίνης και του β-υδροξύ-β-μεθυλοβουτυρικού οξέος (HMB) το οποίο είναι μεταβολικό παράγωγο του KIC. Στο εμπόριο υπάρχουν σκευάσματα που περιέχουν κυρίως HMB αλλά αρκετά υπάρχει και μικρή ποσότητα KIC(54). Έχει φανεί ότι η χορήγηση τους έχει συσχετιστεί με μείωση του μυϊκού καταβολισμού, αύξηση της μυϊκής μάζας και μείωση των επιπέδων CK πλάσματος έπειτα από προπόνηση με αντιστάσεις(55)(56). Υπάρχουν έρευνες οι οποίες δεν παρατήρησαν τις θετικές αυτές επιδράσεις σε καλά προπονημένους αθλητές(57).

Η ταυρίνη είναι ένα οργανικό οξύ παράγωγο του αμινοξέος κυστεΐνη αλλά δεν συμπεριλαμβάνεται στα αμινοξέα γιατί ενώ έχει ομάδα αμίνης, δεν έχει καρβονυλομάδα. Η ταυρίνη συμμετέχει στην αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού, στην οσμωτική ισορροπία των κυττάρων, στην ρύθμιση των ενδοκυτταρικών επιπέδων ασβεστίου αλλά και στην σταθερότητα της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Παρ' όλα αυτά υπάρχει μόνο μία έρευνα που εξετάζει την επίδραση της συμπληρωματικής χορήγησης ταυρίνης στην ασκησιογενή μυϊκή βλάβη. Η έρευνα έγινε σε πειραματόζωα και χορηγήθηκαν 300mg ταυρίνης ανά χιλιόγραμμο σωματικού βάρους την ημέρα για 15 μέρες. Η ομάδα παρέμβασης έπειτα από 90 λεπτά τρεξίματος με κατηφορική κλίση εμφάνισε μειωμένα επίπεδα ανιόντων υπεροξειδίου, λιπιδικής υπεροξειδωσης, πρωτεϊνικών καρβονυλίων και CK πλάσματος(58).

Η γλουταμίνη είναι ένα μη απαραίτητο αμινοξύ και εμφανίζει την μεγαλύτερη συγκέντρωση από κάθε άλλο στο πλάσμα και στους μυς. Χρησιμοποιείται από διάφορα κύτταρα του οργανισμού για την παραγωγή ενέργειας. Επίσης η μείωση της συγκέντρωσης της έχει αρνητικές επιδράσεις στο ανοσοποιητικό σύστημα και συμμετέχει με διάφορους

τρόπους στην ρύθμιση της λειτουργίας των κυττάρων(59)(60). Υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν ότι η συγκέντρωση της γλουταμίνης στο πλάσμα και στο μυ μειώνεται έπειτα από άσκηση. Το 2011 έρευνα έδειξε ότι η συμπληρωματική χορήγηση γλουταμίνης έχει ως αποτέλεσμα την μείωση του μυϊκού πόνου αλλά και μικρότερη μείωση της μυϊκής δύναμης τέσσερις μέρες μετά από την πρόκληση ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης(61).

Οι πρωτεΐνες ορού γάλακτος είναι μείγμα σφαιρινών οι οποίες απομονώθηκαν από τον ορό του γάλακτος και με την χορήγηση τους επιτυγχάνεται ταχύτερη αύξηση των αμινοξέων στην κυκλοφορία και της πρωτεϊνικής σύνθεσης σε σχέση με συμβατικά σκευάσματα πρωτεϊνών. Οι δράσεις αυτές αποδίδονται στην πληθώρα διαφορετικών αμινοξέων που περιέχουν, στην διαφορετική κινητική απορρόφησης που αυτά εμφανίζουν καθώς και στην υψηλή διαθεσιμότητα σε BCAA τα οποία αναφέρονται παραπάνω(62). Δεδομένα υπάρχουν κυρίως για την επίδραση της χορήγησης τους στην αύξηση της δύναμης και της μυϊκής μάζας μετά από προπόνηση με αντιστάσεις(63). Οι μελέτες που διερεύνησαν την επίδραση της χορήγησης τους στην ασκησιογενή μυϊκή βλάβη αναφέρουν μείωση του πόνου(64) και ταχύτερη αποκατάσταση της μυϊκής δύναμης έπειτα από άσκηση με αντιστάσεις(65). Σε αυτό το σημείο θα πρέπει να αναφερθεί ότι και σε αυτή την περίπτωση δεν υπάρχει ομοφωνία ως προς τις θετικές επιδράσεις(66).

1.8.3 Χορήγηση πρωτεϊνών και υδατανθράκων

Υπάρχει πληθώρα ερευνών που εξετάζουν την σχέση της χορήγησης πρωτεϊνών (PRO) και υδατανθράκων (CHO) με την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη. Έχει εξεταστεί η επίδραση της χορήγησής τους μεμονωμένα ή και σε συνδυασμό πριν, κατά την διάρκεια αλλά και μετά την άσκηση. Όσον αφορά στους CHO φαίνεται η χορήγηση τους να μην επηρεάζει τον καθυστερημένο μυϊκό πόνο, την μυϊκή λειτουργία, τα επίπεδα CK, την φλεγμονώδη απόκριση καθώς και το οξειδωτικό στρες(67). Βέβαια η μη επαρκής πρόσληψη CHO μπορεί να εντείνει την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη όταν έχει ως αποτέλεσμα την εξάντληση των αποθεμάτων γλυκογόνου, καθώς σε αυτή την περίπτωση οι μυς γίνονται λιγότερο εύκαμπτοι(68).

Από την άλλη μεριά η χορήγηση πρωτεϊνών, όπως και η χορήγηση των BCAA και των αμινοξέων που αναφέρθηκαν παραπάνω, φαίνεται να επιδρούν ευεργετικά όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα των περισσότερων μελετών. Οι πιθανοί μηχανισμοί που έχουν προταθεί αφορούν στην αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας των αμινοξέων, στην αύξηση

των διαθέσιμων ενεργειακών υποστρωμάτων κατά την διάρκεια και μετά την άσκηση, αύξηση την πρωτεϊνοσύνθεσης ή και μείωση του πρωτεϊνικού καταβολισμού(61).

Η δράση των πρωτεϊνών στην ασκησιογενή μυϊκή βλάβη έχει μελετηθεί μεμονωμένα ή και σε συνδυασμό με υδατάνθρακες. Η τελευταία περίπτωση παρουσιάζει επιπλέον ενδιαφέρον καθώς είναι γνωστό ότι η χορήγηση υδατανθράκων κατά την διάρκεια αερόβιας άσκησης βελτιώνει την απόδοση (69) ενώ μετά την άσκηση βελτιώνει τον ρυθμό αναπλήρωσης του γλυκογόνου(70). Στις ευεργετικές επιδράσεις της χορήγησης πρωτεϊνών, χωρίς την συνοδεία CHO, έχουν αναφερθεί η μείωση του μυϊκού πόνου(71), η διατήρηση της μέγιστης εκούσιας συστολής (MVC) και η αποκατάσταση της μέγιστης δύναμης στις 2 μέρες μετά την άσκηση(72).

Η συνδυαστική χορήγηση CHO και PRO αποτελεί αντικείμενο περισσότερων ερευνών. Έχει βρεθεί ότι η χορήγηση CHO και PRO οδηγεί σε μεγαλύτερο ρυθμό αναπλήρωσης μυϊκού γλυκογόνου σε σχέση με αντίστοιχη ισοθερμική χορήγηση CHO. Βέβαια θα πρέπει να αναφερθεί ότι ο μέγιστος ρυθμός αναπλήρωσης παρατηρείται με την χορήγηση 1,2 γρ CHO ανά χιλιόγραμμο σωματικού βάρους ανά ώρα και ότι συμπληρωματική χορήγηση PRO σε αυτή την περίπτωση δεν έχει καμία επίδραση(73). Επιπλέον υπάρχουν έρευνες που αναφέρουν ότι η κατανάλωση CHO και PRO μετά την άσκηση έχουν ως αποτέλεσμα την μείωση κάποιων δεικτών μυϊκής βλάβης στο πλάσμα όπως της CK(74)(75)(76), της μυοσφαιρίνης (75) και της LDH(76). Επιπλέον έχει παρατηρηθεί μείωση του μυϊκού πόνου (74)(76) και βελτιωμένη μυϊκή λειτουργία(75). Βέβαια και σε αυτή την περίπτωση τα αποτελέσματα δεν είναι ξεκάθαρα καθώς υπάρχουν μελέτες οι οποίες δεν αναφέρουν κάποια ευεργετική επίδραση της συνδυαστικής χορήγησης πρωτεϊνών και υδατανθράκων(77)(78).

1.8.4 Συμπεράσματα

Τα πρωτόκολλα των ερευνών που έχουν μέχρι τώρα διερευνήσει πιθανές θετικές επιδράσεις διατροφικών παραγόντων στην ασκησιογενή μυϊκή βλάβη, διαφέρουν σε μεγάλο βαθμό μεταξύ τους ως προς τα χαρακτηριστικά των εθελοντών, το είδος της άσκησης που προκάλεσε την βλάβη, το μέγεθος της δόσης, την χρονική διάρκεια και τον ακριβή χρόνο χορήγησης. Είναι πιθανό να είναι αυτός ο λόγος που εξηγεί τα διφορούμενα αποτελέσματα που προέκυψαν στις περισσότερες περιπτώσεις.

Σύμφωνα με τα μέχρι τώρα δεδομένα φαίνεται ότι κάποιοι διατροφικοί παράγοντες εμφανίζουν ήπια θετική επίδραση κυρίως επί των συμπτωμάτων της μυϊκής βλάβης, χωρίς να αποτελούν θεραπεία. Δεν είναι ξεκάθαρο ακόμα το μέγεθος της δόσης, η χρονική διάρκεια

και ο ακριβής χρόνος χορήγησης, εάν θα πρέπει να λαμβάνονται μεμονωμένα ή σε συνδυασμό, ποια η μακροχρόνια επίδραση στον οργανισμό των μεγάλων δόσεων που κυρίως χρησιμοποιήθηκαν στις περισσότερες μελέτες και τέλος εάν κρίνεται απαραίτητη η χρήση συμπληρωμάτων εφόσον τεκμηριωθεί ότι οι ευεργετικές επιδράσεις δεν προκύπτουν μέσω της διατροφής των αθλουμένων.

Το συγκεκριμένο θέμα παρουσιάζει έντονο επιστημονικό ενδιαφέρον και είναι βέβαιο ότι στο μέλλον θα προκύψουν νέα ευρήματα τα οποία θα απαντήσουν, τουλάχιστον εν μέρει, τα παραπάνω ερωτήματα.

1.9 Βόειο και ανθρώπινο πρωτόγαλα

Το πρωτόγαλα ή πύαρ (colostrum, BC) είναι ένα υποκίτρινο υγρό που παράγεται από τους μαστικούς αδένες των θηλυκών θηλαστικών αμέσως μετά τον τοκετό. Η παραγωγή διαρκεί μερικές μέρες και σταδιακά αντικαθίσταται από το μητρικό γάλα. Τα έμβρυα βρίσκονται σε ένα απολύτως αποστειρωμένο περιβάλλον αλλά μετά τον τοκετό το ανοσοποιητικό τους σύστημα θα πρέπει να αντιμετωπίσει πολλές προκλήσεις. Το πρωτόγαλα αποτελεί πολύ σημαντικό στοιχείο του μητρικού θηλασμού καθώς θέτει τις βάσεις του ανοσοποιητικού συστήματος το νεογνού(79). Με τον θηλασμό παρέχεται από την μητέρα στο νεογνό παθητική ανοσία καθώς το πρωτόγαλα περιέχει πολλούς ανοσολογικούς παράγοντες όπως αντισώματα, ανοσοσφαιρίνες και αντιμικροβιακά συστήματα. Επιπλέον το πρωτόγαλα είναι πλούσια πηγή πρωτεϊνών, λιπών, υδατανθράκων, ιχνοστοιχείων, βιταμινών και αυξητικών παραγόντων συμβάλλοντας με αυτό τον τρόπο στην ανάπτυξη του νεογνού(80).

Παθολογικές καταστάσεις κατά την κύηση όπως εκλαμψία, διαβήτης και αναιμία μπορεί να επηρεάσουν αρνητικά την σύσταση και την ποιότητα του ανθρώπινου πρωτογάλακτος. Επίσης, αρνητική επίδραση εμφανίζουν και συμπεριφοριστικοί παράγοντες όπως κάπνισμα και κατανάλωση αλκοόλ. Επιπροσθέτως το ανθρώπινο πρωτόγαλα επαρκεί μόνο για τις ανάγκες του νεογνού. Αντίθετα, το βόειο πρωτόγαλα (bovine colostrum, BC) παράγεται σε πολύ μεγαλύτερες ποσότητες από όσο χρειάζονται τα νεογνά και με αυτό τον τρόπο είναι εφικτή η συλλογή του. Οι ευεργετικοί για την υγεία παρόντες στο βόειο πρωτόγαλα δεν διαφέρουν σημαντικά από εκείνους στο ανθρώπινο και σε κάποια σημεία φαίνεται να υπερτερεί (μεγαλύτερη συγκέντρωση της ανοσοσφαιρίνης IgG)(81). Η χορήγηση BC δεν εγκυμονεί κινδύνους για την ανθρώπινη υγεία, αντίθετα υπάρχουν ενδείξεις ότι

εμφανίζει ευεργετικές δράσεις σε πληθώρα παθολογικών καταστάσεων και φαίνεται να έχει ευεργετικές επιδράσεις στην αθλητική απόδοση(82).

Πίνακας 1.3: Διαφορές στην σύσταση ανθρώπινου και βόειου πρωτογάλακτος(83)

	<i>Human</i>	<i>Bovine</i>
Water	87%	78%
CHO	5.5%	3.1%
Fat	2.9%	3.6%
Protein	4.1%	14.3%
IgG	0.21 mg/ml	77 mg/ml
IgM	0.92 mg/ml	4.9 mg.ml
sIgA	13.6 mg/ml	4.4 mg/ml
Lactoferrin	++	+
Lysozyme	++++	+
Lactoperoxidase	+	+
Growth factors	++++	++

1.9.1 Σύσταση πρωτογάλακτος: Ανοσολογικοί και αντιμικροβιακοί παράγοντες

Έχουν εντοπιστεί περίπου 90 διαφορετικά συστατικά στο πρωτόγαλα. Ένα μεγάλο ποσοστό αυτών αποτελούν οι ανοσολογικοί και αντιμικροβιακοί παράγοντες οι οποίοι επιδρούν θετικά στο οργανισμό μετά από την χορήγηση πρωτογάλακτος(81).

Συγκεκριμένα αντισώματα: Η έκθεση της μητέρας κατά την διάρκεια της ζωής σε μικρόβια, ιούς και μύκητες οδηγεί σε παραγωγή αντισωμάτων κάποια από τα οποία δύνανται να περάσουν και στο πρωτόγαλα προσφέροντας με αυτόν τον τρόπο προστασία στο νεογνό. Έχουν βρεθεί πάνω από 20 αντισώματα στο πρωτόγαλα όπως για το E.Coli, τον σταφυλόκοκκο, τον στρεπτόκοκκο το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού και άλλα.

Ανοσοσφαιρίνες: Είναι οι IgA,IgG και IgM. Ανήκουν στην οικογένεια των σφαιρινών και δρουν κυρίως στο αίμα, σίελο, δάκρυα και στον γαστρεντερικό σωλήνα. Αποτελούν άμυνα του οργανισμού ενάντια σε μολύνσεις από μικρόβια, ιούς, και μύκητες. Βρίσκονται σε διαφορετικές συγκεντρώσεις στο πλάσμα, στο γάλα και στο πρωτόγαλα. Το βόειο πρωτόγαλα περιέχει 8% -25% IgG ενώ το ανθρώπινο 2%, αλλά το ανθρώπινο πρωτόγαλα περιέχει μεγαλύτερες ποσότητες IgA. Οι ανοσοσφαιρίνες IgG είναι οι κύριοι παράγοντες που

προστατεύουν από μικροβιακές μολύνσεις στα έντερο των νεογνών. Στο βόειο πρωτόγαλα η IgG1 είναι η ανοσοσφαιρίνη με την μεγαλύτερη συγκέντρωση. Οι IgG1 μεταφέρονται στα εκκρίματα των μαστικών αδένων κυρίως από το πλάσμα. Οι IgG2, IgA, και IgM εμφανίζονται σε μικρότερες ποσότητες και προέρχονται είτε από το πλάσμα είτε από εκκρίσεις των επιθηλιακών κυττάρων των μαστικών αδένων.

Πίνακας 1.4: Ανοσοσφαιρίνες στο ανθρώπινο και βόειο γάλα και πρωτόγαλα(84)

Species	Immunoglobulin	Concentration, mg/mL		% of total immunoglobulins	
		Colostrum	Milk	Colostrum	Milk
Bovine	IgG ₁	47.60	0.59	81.0	73.0
	IgG ₂	2.90	0.02	5.0	2.5
	IgA	3.90	0.14	7.0	18.0
	IgM	4.20	0.05	7.0	6.5
Human	IgG	0.43	0.04	2.0	3.0
	IgA	17.35	1.00	90.0	87.0
	IgM	1.59	0.10	8.0	10.0

Πολυπεπίδια πλούσια σε προλίνη (PRP): Τα PRP επιδρούν στο θυμό αδένος ο οποίος είτε ενεργοποιεί περαιτέρω το ανοσοποιητικό σύστημα σε περίπτωση ανάγκης είτε καταστέλλει την υπερδραστηριότητα του σε περιπτώσεις αυτοάνοσων νοσημάτων και αλλεργικών αντιδράσεων.

Ολιγοσακχαρίτες: Εμποδίζουν την μικροβιακή μόλυνση δρώντας ανταγωνιστικά με τα βακτήρια στις θέσεις δέσμησης του εντέρου είτε προσδένονται πάνω στα ίδια τα βακτήρια. Κάποιοι ολιγοσακχαρίτες φαίνεται να λειτουργούν ως πρεβιοτικά προωθώντας την ανάπτυξη της φυσιολογικής χλωρίδας του εντέρου.

Γλυκοπρωτεΐνες και αναστολείς της θρυψίνης: εμποδίζουν την αποδόμηση των ανοσολογικών και αυξητικών παραγόντων του πρωτογάλακτος ώστε να καταστεί δυνατή η εκδήλωση της ευεργετικής δράσης τους.

Λιπίδια: Κυρίως φωσφολιπίδια και λιπαρά οξέα μικρής και μέσης αλυσού που φαίνεται να εμφανίζουν αντιμικροβιακή δράση στο έντερο.

Λακταλβουμίνες: Είναι πρωτεΐνες που εμφανίζουν προστατευτική δράση έναντι των ιών και καρκινωμάτων. Επίσης φαίνεται να αυξάνουν τα επίπεδα σεροτονίνης και να μειώνουν τα επίπεδα κορτιζόλης.

Λεμφοκύτταρα: Το πρωτόγαλα περιέχει και ζώντα κύτταρα όπως ουδετερόφιλα και μακροφάγα τα οποία εκκρίνουν μία σειρά από ανοσολογικούς παράγοντες όπως

κυτταροκίνες, αντιμικροβιακά πεπτίδια και πρωτεΐνες στις οποίες συγκαταλέγονται η λακτοφερίνη, οι ντεφενσίνες και οι καθεδικιλίνες.

Λυσοζύμη: Υδρολυτικό ένζυμο ανθεκτικό στο χαμηλό pH το οποίο έχει την δυνατότητα να καταστρέφει τις μεμβράνες ιών και βακτηρίων(81).

Λακτοφερίνη: Είναι ένζυμο το οποίο έχει μεγάλη ικανότητα δέσμευσης ιόντων σιδήρου και έχει την δυνατότητα ισχυρής αλληλεπίδρασης με άλλα μόρια και επιφάνειες. Η αντιμικροβιακή της δράση εκδηλώνεται με δύο τρόπους. Η ικανότητα της να δεσμεύει σίδηρο είναι τόσο ισχυρή που δημιουργεί έλλειψη στον περιβάλλοντα χώρο, εμποδίζοντας με αυτόν τον τρόπο την ανάπτυξη των μικροβίων. Η υψηλή συγκέντρωση σιδήρου που προκαλεί κορεσμό στις θέσεις δέσμευσης της λακτοφερίνης ακυρώνει αυτή την δράση. Επιπροσθέτως έχει διαπιστωθεί αντιμικροβιακή δράση της λακτοφερίνης ανεξάρτητη από τον σίδηρο καθώς εμφανίζει ισχυρή ικανότητα απευθείας πρόσθεσής της σε μικροοργανισμούς μεταβάλλοντας με αυτό τον τρόπο την διαπερατότητα της μεμβράνης τους και οδηγώντας τα σε θάνατο(79).

Λακτοϋπεροξειδάση (LP): Ανήκει στην οικογένεια των υπεροξειδασών. Παρουσιάζει ομοιότητες με τις υπεροξειδάσες που υπάρχουν στον ανθρώπινο οργανισμό και πήρε το όνομά της επειδή απομονώθηκε στο γάλα και στο πρωτόγαλα. Συμβάλλει στην άμυνα του οργανισμού έναντι βακτηρίων, ιών και καρκινωμάτων. Το ενζυμικό σύστημα της λακτοϋπεροξειδάσης περιλαμβάνει και το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) και το θειοκυανικό ανιόν (SCN^-). Το SCN^- εμφανίζεται στο πλάσμα, σίελο, δάκρυα, στις εκκρίσεις του θυρεοειδούς αδένος στα γαστρικά υγρά και αλλού. Όταν τα λευκά αιμοσφαίρια παράγουν H_2O_2 , όπως στην περίπτωση μικροβιακής μόλυνσης, τότε ενεργοποιείται το ενζυμικό σύστημα και η LP χρησιμοποιεί το H_2O_2 για την οξείδωση του SCN^- με αποτέλεσμα την παραγωγή προϊόντων που εμφανίζουν έντονη αντιμικροβιακή δράση. Τα προϊόντα αυτά δεν φαίνεται να προκαλούν βλάβες στα κύτταρα του οργανισμού(85).

1.9.2 Σύσταση πρωτογάλακτος: Αυξητικοί παράγοντες

Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF): Είναι ένα πεπτίδιο το οποίο παράγεται στους ενήλικες από τους σιελογόνους αδένες και από τον δωδεκαδάκτυλο. Βρίσκεται σε μεγάλη συγκέντρωση στο πρωτόγαλα και σε μικρότερη στο γάλα. Ο EGF υφίσταται μερική πρωτεόλυση από τα γαστρικά υγρά και έτσι διατηρεί μέρος της δραστηριότητάς του.

Ενεργοποιεί την διαδικασία αποκατάστασης του εντέρου σε σημεία τραυματισμού και εμποδίζει την διασπορά μικροβίων(86).

Τροποποιητικός αυξητικός παράγοντας (TGF): Είναι ένα πεπτίδιο που υπάρχει σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο πρωτόγαλα σε σχέση με το γάλα αλλά σε μικρότερο βαθμό από τον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα. Διεγείρει την αποκατάσταση και την ανάπτυξη των κυττάρων του γαστρεντερικού συστήματος, περιορίζει την έκκριση γαστρικών οξέων και συμβάλλει στην αποκατάσταση της εντερικής βλεννογόνου μετά από τραυματισμό.

Οικογένεια των τροποποιητικών αυξητικών παραγόντων β (TGF- β): Οι TGF- β έχουν ξεχωριστή δομή από τους TFG. Βρίσκονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στο βόειο πρωτόγαλα και γάλα. Δρουν προέλκοντας ουδετερόφιλα στην περιοχή της βλάβης. Εμποδίζουν την κυτταρική διαφοροποίηση και προσελκύουν τα παρακείμενα υγιή κύτταρα στην περιοχή της βλάβης για την αποκατάσταση του επιθηλίου.

Αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγοντας (PDGF): Είναι μόριο ανθεκτικό στο χαμηλό pH και αρχικά είχε βρεθεί να παράγεται από τα αιμοπετάλια αλλά συντίθεται και εκκρίνεται και από τα μακροφάγα. Βρίσκεται τόσο στο ανθρώπινο όσο και στο βόειο γάλα και πρωτόγαλα. Διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών και των λείων μυϊκών κυττάρων των αγγείων.

Αυξητικός παράγοντας βόειου πρωτογάλακτος (BCGF): Εμφανίζει παρόμοια δράση με των PDGF. Επίσης φαίνεται να ευνοεί τον καταβολισμό των λιποειδών και την διατήρηση των πρωτεϊνών. Έχει χρησιμοποιηθεί για την αποκατάσταση των ιστών έπειτα από χειρουργικούς και άλλους τραυματισμούς.

Ινσουλινομιμητικοί αυξητικοί παράγοντες I και II (IGF-I και IGF-II): Ευνοούν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση. Στο βόειο πρωτόγαλα βρίσκονται σε πολύ μεγαλύτερη συγκέντρωση από ότι στο ανθρώπινο. Στο οργανισμό συντίθενται κυρίως από το ήπαρ αλλά και από το λεπτό έντερο. Σε υψηλές συγκεντρώσεις εμφανίζουν δράσεις παρόμοιες με της ινσουλίνης. Είναι μόρια σχετικά ανθεκτικά στην οξύτητα και στην υψηλή θερμοκρασία. Εμφανίζουν αναβολική δράση καθώς διεγείρουν την πρωτεϊνική σύνθεση(86).

1.9.3 Σύσταση πρωτογάλακτος – Αντιοξειδωτικοί παράγοντες

Τα νεογνά κατά την γέννηση αντιμετωπίζουν ένα πολύ πιο πλούσιο σε οξυγόνο περιβάλλον απ' ό,τι στην ενδομήτρια ζωή. Επίσης τα αντιοξειδωτικά συστήματα του οργανισμού τους δεν έχουν αναπτυχθεί επαρκώς. Έχει βρεθεί ότι η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) του πρωτογάλακτος είναι πολύ μεγαλύτερη από την αντίστοιχη του αίματος των νεογνών. Έχει προταθεί ότι το πρωτόγαλα συμβάλλει σημαντικά στην αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες στα νεογνήτα(87).

Στο πρωτόγαλα υπάρχουν τόσο ενζυμικοί όσο και μη ενζυμικοί αντιοξειδωτικοί παράγοντες. Στα ενζυμικά αντιοξειδωτικά συστήματα περιλαμβάνονται η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPX), η καταλάση (CAT), η δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD) τα οποία έχουν αναφερθεί στο κεφάλαιο του οξειδωτικού στρες (σελ...) αλλά και η λακτοφερίνη που αναφέρεται παραπάνω. Η αντιοξειδωτική δράση της λακτοφερίνης οφείλεται στην ισχυρή ικανότητα της να δεσμεύει ιόντα σιδήρου μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο πιθανές οξειδωτικές βλάβες.

Στους μη ενζυμικούς αντιοξειδωτικούς παράγοντες περιλαμβάνονται οι βιταμίνες A, E και C. Οι βιταμίνες δεν συντίθενται στον οργανισμό αλλά λαμβάνονται μέσω της τροφής και οι συγκεκριμένες εμφανίζουν αντιοξειδωτική δράση. Στο πρωτόγαλα η βιταμίνη E εμφανίζει την δράσης κυρίως με την μορφή α-τοκοφερόλης που αποτελεί μία από τις 8 μορφές της βιταμίνης. Η συγκέντρωση της βιταμίνης στο πλάσμα της μητέρας μειώνεται δραστικά κατά το χρονικό διάστημα κοντά στον τοκετό καθώς η βιταμίνη συσσωρεύεται στο πρωτόγαλα (1,9mg/l α-τοκοφερόλης). Η χορήγηση βιταμίνης E φαίνεται να αυξάνει σημαντικά την συγκέντρωση της βιταμίνης στο μητρικό γάλα.

Στο βόειο γάλα και πρωτόγαλα η βιταμίνη A (ρετινόλη) βρίσκεται κυρίως με την μορφή β-καροτενίου. Η βιταμίνη βρίσκεται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις στο πλάσμα του νεογνού αλλά η υψηλή συγκέντρωσή της στο πρωτόγαλα έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων σε λίγες μέρες. Τέσσερις εβδομάδες μετά των τοκετό η λουτεΐνη είναι το μοναδικό καρετονοειδές που εμφανίζεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στο μητρικό γάλα και θεωρείται ότι είναι σημαντική η συμβολή της στην προσαρμογή της όρασης του νεογνού στο νέο φωτεινό περιβάλλον. Η χορήγηση β-καροτενίου στους ανθρώπους δεν εμφανίζει κάποια επίδραση στα επίπεδα της βιταμίνης στο πρωτόγαλα κάτι που υποδεικνύει ότι έχει επέλθει κορεσμός. Επίσης η βιταμίνη C βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στο ανθρώπινο πρωτόγαλα ότι στο βόειο. Επίσης η συγκέντρωση της βιταμίνης είναι διπλάσια στο βόειο

πρωτόγαλα σε σχέση με το γάλα (16μg/ml έναντι 8μg/ml). Εδώ θα πρέπει να αναφερθεί ότι η βιταμίνη C όπως και οι άλλες υδατοδιαλυτές βιταμίνες είναι πιο ευαίσθητες στις συνθήκες του περιβάλλοντος και είναι πιθανό να υπάρχουν απώλειες κατά την επεξεργασία και αποθήκευση του πρωτογάλακτος. Αντίθετα η λιποδιαλυτές βιταμίνες εμφανίζουν μεγαλύτερη αντοχή.

Στους μη ενζυμικούς αντιοξειδωτικούς παράγοντες περιλαμβάνονται και τα ιχνοστοιχεία σελήνιο (Se), χαλκός (Cu) και ψευδάργυρος (Zn). Οι μαστικοί αδένες ελέγχουν τους μηχανισμούς σύνθεσης και έκκρισης των μορίων που περιέχουν σελήνιο καθ' όλη την διάρκεια της γαλουχίας με την μεγαλύτερη συγκέντρωση να εμφανίζεται στο πρωτόγαλα και στην συνέχεια μειώνεται. Στο πρωτόγαλα εμφανίζεται κυρίως με την μορφή σεληνο-πρωτεϊνών και αμινοξέων συνδεδεμένων με Se. Στο ανθρώπινο πρωτόγαλα εμφανίζεται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις απ' ότι στο βόειο και φαίνεται ότι η διατροφή αλλά και η σύσταση του εδάφους επηρεάζουν τα επίπεδα σεληνίου. Επίσης υπάρχουν ενδείξεις ότι η κατανάλωση οργανικών μορφών σεληνίου είναι πιο αποτελεσματική στην αύξηση των επιπέδων του στο πρωτόγαλα σε σχέση με τις ανόργανες μορφές.

Τα επίπεδα χαλκού και ψευδαργύρου στο ανθρώπινο πρωτόγαλα είναι 19,2 και 63,7 μmol/L. Είναι απαραίτητα για την λειτουργία κάποιων αντιοξειδωτικών ενζύμων αλλά εμφανίζουν ανεξάρτητα από τα ένζυμα αυτά αντιοξειδωτική δραστηριότητα. Τα επίπεδα ψευδαργύρου βαίνουν μειούμενα κατά την διάρκεια της γαλουχίας και η χορήγησή του δεν φαίνεται να επηρεάζει τα επίπεδα στο πρωτόγαλα ανεξάρτητα από το εάν έχει επιτευχθεί αύξηση στα επίπεδα πλάσματος της μητέρας. Τέλος άλλοι μη ενζυμικοί αντιοξειδωτικοί παράγοντες που περιέχονται στο πρωτόγαλα είναι η σερουλοπλασμίνη που είναι πρωτεΐνη μεταφοράς χαλκού, η κολοστρινίνη που κατατάσσεται στα πολυπεπίδια πλούσια σε προλίνη και η κυστεΐνη η οποία είναι πρόδρομη ουσία και συστατικό της γλουταθειόνης(87).

1.9.4 Βόειο πρωτόγαλα – Θεραπευτικές χρήσεις

Το βόειο πρωτόγαλα χρησιμοποιείται ως συμπλήρωμα διατροφής αρκετά χρόνια. Μπορεί να παραχθεί μαζικά, η κατανάλωση του δεν ενέχει κινδύνους για την ανθρώπινη υγεία και όπως και το ανθρώπινο πρωτόγαλα, έχει υψηλή θρεπτική αξία και περιλαμβάνει ανοσολογικούς, αυξητικούς και αντιοξειδωτικούς παράγοντες. Λόγω της ευεργετικής του σύστασης έχει χρησιμοποιηθεί την πρόληψη, την θεραπεία και την άμβλυνση των συμπτωμάτων σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις(81).

Ως συμπλήρωμα διατροφής, σε αντίθεση με τα υπόλοιπα συμπληρώματα, η σύστασή του επηρεάζεται κάθε φορά από πολλούς παράγοντες όπως η διατροφή, η κατάσταση της υγείας του εκτρεφόμενου ζώου καθώς και ο χρόνος συλλογής του πρωτογάλακτος. Συνήθως η παραγωγή πρωτογάλακτος διαρκεί από δύο έως τέσσερις μέρες μετά τον τοκετό αλλά η σύσταση του μεταβάλλεται μέσα σε αυτό το χρονικό διάστημα. Το πρωτόγαλα που συλλέγεται τις πρώτες δώδεκα ώρες αναμένεται να είναι πολύ πλουσιότερο σε ανοσοσφαιρίνες και αυξητικούς παράγοντες σε σύγκριση με τρεις μέρες μετά. Επίσης διαφοροποίηση παρατηρείται και στο είδος των αντισωμάτων που περιέχονται στο πρωτόγαλα ανεξάρτητα από τον χρόνο συλλογής. Το ποια αντισώματα μεταφέρονται στο πρωτόγαλα από το πλάσμα εξαρτάται από τις συγκεκριμένες μολυσματικές ασθένειες αντιμετώπισε κατά την διάρκεια της ζωής του το εκτρεφόμενο ζώο και σαφώς ενδέχεται να διαφέρουν κατά περίπτωση(88).

Θα πρέπει να αναφερθεί σε αυτό το σημείο ότι υπάρχει η δυνατότητα να απομονωθούν οι ανοσοσφαιρίνες και το προϊόν που θα προκύψει να είναι πρωτόγαλα ενισχυμένο ως προς τον συγκεκριμένο παράγοντα(82). Επίσης υπάρχει η δυνατότητα παραγωγής του υπερ-ανοσολογικού πρωτογάλακτος (hyperimmune bovine colostrum, HBC). Η διαδικασία παραγωγής του προϊόντος αυτού περιλαμβάνει συχνό εμβολιασμό του εκτρεφόμενου ζώου με αντιγόνα συγκεκριμένου παράγοντα. Τα αποτελέσματα που προκύπτει είναι πρωτόγαλα με μεγάλη συγκέντρωση αντισωμάτων του συγκεκριμένου παράγοντα(88). Στην συνέχεια θα αναφερθούν συνοπτικά συμπεράσματα μελετών που αφορούν την επίδραση του βόειου πρωτογάλακτος σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις. Στις μελέτες αυτές χρησιμοποιήθηκε πρωτόγαλα σε διάφορες μορφές και δοσολογίες (υγρή μορφή, σκόνη, HBC). Επίσης όπως αναφέρθηκε το πρωτόγαλα δεν έχει σταθερή σύσταση. Τα παραπάνω θα πρέπει να ληφθούν υπ' όψιν κατά την ανάγνωση των συμπερασμάτων.

Υπάρχουν αρκετές μελέτες που εξέτασαν την επίδραση της χορήγησης BC και HBC στην χρόνια διάρροια σε ασθενείς με σύνδρομο ανοσολογικής ανεπάρκειας. Η πιο συχνή περίπτωση είναι η κρυπτοσποριδίωση σε ασθενείς του AIDS. Στις θετικές επιδράσεις αναφέρονται στη βελτίωση της ποιότητας των κενώσεων καθώς και στην μείωση της συχνότητάς τους. Στις περισσότερες περιπτώσεις η πλειοψηφία των εθελοντών ωφελήθηκε είτε με πλήρη ίαση είτε με σημαντική άμβλυνση των συμπτωμάτων(82).

Η επίδραση της χορήγησης BC έχει εξεταστεί και σε άλλες μολυσματικές νόσους όπως στη χολέρα (*Vibrio cholerae*), στη σιγκέλλωση (*Shigellosis*), στον ροταϊό (*Rotavirus*) αλλά και στο ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού (*Helicobacter pylori*). Στην περίπτωση της

χολέρας η χορήγηση BC ή HBC δεν είχε καμία επίδραση. Αντίθετα υπάρχουν ενδείξεις που υποστηρίζουν ότι χορήγηση HBC (ανοσολογικά ενισχυμένο πρωτόγαλα με αντισώματα για τον ροταϊό) είναι αποτελεσματική στην πρόληψη, θεραπεία, και ταχύτερη ανάρρωση στα περιστατικά με μόλυνση από ροταϊό. Η χορήγηση BC δεν φαίνεται να έχει κάποια ευεργετική επίδραση. Στην περίπτωση της σιγκέλλωσης ταχύτερη ανάρρωση έχει αναφερθεί τόσο με την χορήγηση BC όσο και με HBC. Αντίθετα στην πρόληψη της ασθένειας φαίνεται να επιδρά θετικά μόνο η χορήγηση HBC. Τέλος όσον αφορά το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού δεν έχουν αναφερθεί θετικές επιδράσεις της χορήγησης πρωτογάλακτος στην πρόληψη και θεραπεία της νόσου. Θα πρέπει όμως να αναφερθεί ότι η χορήγηση HBC είχε ως αποτέλεσμα την μείωση της οξύτητας της γαστρικής φλεγμονής και των συμπτωμάτων της(82).

Εκτός από την μολυσματικές νόσους φαίνεται ότι η χορήγηση πρωτογάλακτος είναι ωφέλιμη και για ασθενείς που πάσχουν από την αυτοάνοση ασθένεια της πολλαπλής σκλήρυνσης ή σκλήρυνση κατά πλάκας. Συγκεκριμένα η χορήγηση 100γρ HBC για 30 ημέρες είχε ως αποτέλεσμα την βελτίωση των συμπτωμάτων της ασθένειας. Το υπερανοσολογικό πρωτόγαλα προέκυψε ύστερα από εμβολιασμό των εκτρεφόμενων ζώων με το αντιγόνο της ιλαράς. Μέχρι στιγμής δεν υπάρχουν δεδομένα για την επίδραση του κοινού BC στην πολλαπλή σκλήρυνση(82).

Επίσης λόγω της υψηλής συγκέντρωσης σε αυξητικούς παράγοντες, οι οποίοι προωθούν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και διαίρεση, έχει μελετηθεί η επίδραση της χορήγησης πρωτογάλακτος στην αποκατάσταση της βλάβης του βλεννογόνου από την χρήση μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων (NSAID) τα οποία εμφανίζουν ως παρενέργεια την παρεμπόδιση της προστατευτικής δράσης των προσταγλαδινών στο επιθήλιο του γαστρεντερικού συστήματος. Τα αποτελέσματα δεν είναι ξεκάθαρα αν και φαίνεται το πρωτόγαλα να προκαλεί μία ήπια μείωση της φλεγμονής(82). Πάντως φαίνεται οι αυξητικοί παράγοντες να επάγουν τον πολλαπλασιασμό των εντεροκυττάρων και να συμβάλλουν στην ανάπτυξη του εντέρου των νεογνών(89). Επίσης υπάρχουν ενδείξεις ότι η λακτοφερίνη προωθεί την ανάπτυξη της φυσιολογικής μικροχλωρίδας του εντέρου(90).

Επιπροσθέτως φαίνεται ότι η χορήγηση πρωτογάλακτος οδηγεί στην αύξηση της ανοσοσφαιρίνης IgA του σιέλου και με αυτό τρόπο συνεισφέρει στην πρόληψη και θεραπεία των μολύνσεων του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος, στοματικών μολύνσεων, της χρόνιας βρογχίτιδας και διαφόρων αναπνευστικών αλλεργικών διαταραχών. Εκτός από την αύξηση της IgA, η κατανάλωση πρωτογάλακτος εμφανίζει προστατευτική δράση στο

ανώτερο αναπνευστικό άλλα και στο έντερο καθώς οι ολιγοσακχαρίτες που περιέχει εμποδίζουν την πρόσδεση μικροοργανισμών στην βλεννογόνο των συστημάτων αυτών(91).

Τέλος υπάρχουν ενδείξεις ότι η χορήγηση BC μπορεί να έχει ευεργετική δράση στην αντιμετώπιση του μεταβολικού συνδρόμου. Έρευνα έδειξε ότι η χορήγηση 5γρ BC καθημερινά για 4 μήνες είχε ως αποτέλεσμα την μείωση των επιπέδων γλυκόζης στις 2 και στις 8 ώρες μετά το γεύμα. Στους άνδρες εθελοντές σημειώθηκε μείωση περίπου 11% και στις γυναίκες 14%. Επίσης στατιστικά σημαντική μείωση εμφάνισαν και τα επίπεδα χοληστερόλης και τριακυλογλυκερολών τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες.(92)

1.9.5 Βόειο πρωτόγαλα: Επίδραση στην αθλητική απόδοση

Η πλούσια και ιδιαίτερη σύσταση του βόειου πρωτογάλακτος έχει εγείρει έντονο επιστημονικό ενδιαφέρον όσον αφορά την επίδραση της χορήγησης του στην απόδοση αθλητών και αθλουμένων. Είναι εύλογη η υπόθεση ότι το BC ίσως προάγει την μυϊκή ανάπτυξη και αποκατάσταση, επομένως και την απόδοση, μέσω της πληθώρας των αυξητικών παραγόντων που περιέχει. Επίσης οι διάφοροι ανοσολογικοί παράγοντες του BC ενδεχομένως να συμβάλλουν στην ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος των αθλητών το οποίο δοκιμάζεται κατά την διάρκεια έντονης προπονητικής περιόδου. Επιπλέον τα αντιοξειδωτικά συστήματα του BC πιθανώς να συμβάλλουν στην αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες που παρατηρείται κατά την άσκηση, περιορίζοντας με αυτό τον τρόπο την μυϊκή βλάβη. Στην συνέχεια αναφέρονται αποτελέσματα ερευνών, οι οποίες διερεύνησαν τις παραπάνω υποθέσεις.

Η χορήγηση 125ml BC σε αθλητές αγώνων ταχύτητας για οχτώ ημέρες είχε ως αποτέλεσμα την ήπια αύξηση των επιπέδων πλάσματος του IGF-1 στην ομάδα παρέμβασης σε σχέση με τις αρχικές τιμές ενώ δεν παρατηρήθηκε αλλαγή στην ομάδα ελέγχου. Παρ' όλα αυτά, οι νέες αυξημένες τιμές του IGF-1 παρέμειναν μέσα στο φυσιολογικό εύρος. Δεν παρατηρήθηκε επίδραση του BC στα επίπεδα τεστοστερόνης, αυξητικής ορμόνης, κορτιζόλης, IgA στο σίελο και IgG στο πλάσμα. Επίσης δεν παρουσιάστηκε βελτίωση της απόδοσης όπως αυτή αξιολογήθηκε μέσω της αλτικής ικανότητας των εθελοντών(93). Επίσης η χορήγηση 20γρ BC την ημέρα σε άνδρες και γυναίκες αθλητές για δύο εβδομάδες εν μέσω προπονητικής περιόδου είχε ως αποτέλεσμα την στατιστικά σημαντική αύξηση των επιπέδων IGF-1 στο πλάσμα και των IgA στο σίελο των εθελοντών στην ομάδα παρέμβασης. Σε αυτή την έρευνα δεν εκτιμήθηκε η επίδραση του BC στην αθλητική απόδοση(94). Επιπλέον

διερευνήθηκε η επίδραση της χορήγησης BC στα επίπεδα IgA στο σίελο δρομέων μεγάλων αποστάσεων. Οι αθλητές αυτοί εμφανίζουν μεγάλο κίνδυνο λοίμωξης του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος. Έπειτα από χορήγηση BC για χρονικό διάστημα δύο εβδομάδων τα επίπεδα IgA αυξήθηκαν στην ομάδα παρέμβασης κατά 79% και η αύξηση ήταν στατιστικά σημαντική(95).

Η χορήγηση BC φαίνεται να αμβλύνει την αρνητική επίδραση της άσκησης στο ανοσοποιητικό σύστημα όπως υποδεικνύουν τα ευρήματα της ακόλουθης έρευνας. Η ομάδα παρέμβασης λάμβανε 20γρ BC την ημέρα για τέσσερις εβδομάδες και η ομάδα ελέγχου αντίστοιχη ποσότητα πρωτεΐνης γάλακτος για το ίδιο διάστημα. Στο τέλος της τέταρτης εβδομάδας οι εθελοντές των δύο ομάδων ασκήθηκαν για δύο ώρες στο κυκλοεργόμετρο σε ένταση που αντιστοιχούν περίπου στο 64% της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου. Παρατηρήθηκε αύξηση των δεικτών φυσιολογικού στρες και στις δύο ομάδες. Φαίνεται όμως η χορήγηση BC να άμβλυνε την μείωση του ενζύμου λυσοζύμης στο σίελο. Επίσης η λειτουργία των ουδετερόφιλων αποκαταστάθηκε σε μεγαλύτερο βαθμό στην ομάδα παρέμβασης μία ώρα μετά την άσκηση(96).

Σε άλλη μελέτη διερευνήθηκε η επίδραση της χορήγησης 20γρ BC την ημέρα (20γρ πρωτεΐνες γάλακτος η ομάδα ελέγχου) για οχτώ εβδομάδες. Αξιολογήθηκε η σύσταση σώματος και η βελτίωση της απόδοσης των αθλητών στις ασκήσεις με αντιστάσεις. Δεν παρουσιάστηκαν διαφορές ανάμεσα στις δύο ομάδες όσον αφορά την μία επανάληψη μέγιστης προσπάθειας ή στον αριθμό των συνολικών επαναλήψεων. Αντίθετα στην ομάδα παρέμβασης παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση της άλιπης μάζας σώματος (1,4 kgr) καθώς και μη στατιστικά σημαντική μείωση του της λιπώδους μάζας (0,72 kgr) και αύξηση του συνολικού βάρους (1,1 kgr). Στην ομάδα ελέγχου υπήρξε στατιστικά σημαντική αύξηση βάρους (2,11 kgr) η οποία αποδόθηκε κυρίως στην εναπόθεση λίπους(97). Επιπλέον, η επίδραση του BC στην σύσταση σώματος και η απόδοση σε ασκήσεις αντιστάσεων εξετάστηκε και από άλλη έρευνα χρησιμοποιώντας ένα πιο περίπλοκο πρωτόκολλο. Συγκεκριμένα η ομάδα παρέμβασης λάμβανε καθημερινά για οχτώ εβδομάδες 60γρ συμπληρώματος BC και η ομάδα ελέγχου για το ίδιο διάστημα 60γρ πρωτεΐνες ορού γάλακτος. Κατά την διάρκεια της παρέμβασης οι εθελοντές εξασκήθηκαν στις κάμψεις δικεφάλου μόνο του μη κυρίαρχου χεριού τους και το άλλο χέρι χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας. Στις οχτώ εβδομάδες η αθλητική απόδοση αυξήθηκε εξίσου και στις δύο ομάδες. Αντίθετα μόνο στην ομάδα παρέμβασης παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική αύξηση στην περίμετρο της περιοχής του δικεφάλου στο χέρι που προπονήθηκε το διάστημα της παρέμβασης ενώ στο χέρι μάρτυρας, στο μη προπονημένο χέρι, δεν παρουσιάστηκε καμία

διαφορά. Οι απεικονίσεις μαγνητικής τομογραφίας έδειξε ότι η αύξηση της περιμέτρου οφείλεται κυρίως σε αύξηση του μεγέθους του δέρματος ή και του υποδόριου λίπους στην περιοχή του βραχίονα. Οι ερευνητές συμπέραναν ότι αλλαγή στην περίμετρο οφείλεται στην αύξηση του δέρματος καθώς η εναπόθεση λίπους υπόκειται σε κεντρικό ορμονικό έλεγχο επομένως θα υπήρχε επίδραση και στο χέρι μάρτυρας(98). Το αποτέλεσμα αυτό ίσως να οφείλεται στην επίδραση του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα που περιέχει το πρωτόγαλα.

Βελτίωση δεικτών αναερόβιας ικανότητας παρατηρήθηκε σε μη αθλητές έπειτα από χορήγηση 60γρ BC την ημέρα για οχτώ εβδομάδες. Συγκεκριμένα μετά από οχτώ εβδομάδες η αλτική ικανότητα των εθελοντών στην ομάδα παρέμβασης βελτιώθηκε περισσότερο σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Επίσης βελτίωση παρατηρήθηκε και στην μέγιστη παραγόμενη ισχύ κατά την μέγιστη προσπάθεια ποδηλάτησης διάρκειας δέκα δευτερολέπτων. Αντίθετα δεν υπήρξε καμία αλλαγή των επιπέδων IGF-1 πλάσματος στις δύο ομάδες(99).

Σε ελίτ αθλητές του χόκεϋ, άνδρες και γυναίκες, η χορήγηση 60γρ BC την ημέρα για οκτώ εβδομάδες (60γρ πρωτεΐνης γάλακτος η ομάδα ελέγχου) δεν είχε ως αποτέλεσμα την διαφοροποίηση της σύστασης σώματος, της αλτικής και καρδιοαναπνευστικής ικανότητας ανάμεσα στις δύο ομάδες. Αντίθετα, ενώ και οι δύο ομάδες βελτίωσαν την ταχύτητά τους στο σπριντ, η βελτίωση στην ομάδα παρέμβασης ήταν στατιστικώς σημαντικά μεγαλύτερη από την βελτίωση στην ομάδα ελέγχου(100).

Η χορήγηση 60γρ BC την ημέρα για 9 εβδομάδες δεν οδήγησε σε αύξηση της απόδοσης σε μέγιστη άσκηση τεσσάρων λεπτών σε ελίτ αθλήτριες της κωπηλασίας. Όμως στην ομάδα παρέμβασης παρατηρήθηκε βελτίωση της ικανότητας του αίματος στην ρύθμιση του pH (blood buffer capacity, b). Ο δείκτης b εκφράζει τον βαθμό αύξησης της συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέος για κάθε μονάδα μείωσης του pH στο αίμα. Λόγω του ότι οι αθλήτριες ήταν υψηλού επιπέδου δεν έγιναν μυϊκές βιοψίες και δεν υπάρχουν στοιχεία για ενδομυϊκούς παράγοντες ρύθμισης του pH (πχ. καρνοσίνη). Συνεπώς δεν μπορεί να αξιολογηθεί άμεσα ο μηχανισμός επίδρασης του BC στο b. Οι ερευνητές έκαναν την υπόθεση ότι η βελτίωση στο b προέκυψε μέσω της επίδρασης του BC στην μεγαλύτερου βαθμού υπερτροφία των μυϊκών ινών ταχείας συστολής σε σχέση με της βραδείας συστολής. Έχει παρατηρηθεί βελτίωση στην μυϊκή b ως αποτέλεσμα της μεγαλύτερης αύξησης των μυϊκών ινών ταχείας συστολής σε σχέση με τις βραδείας συστολής. Η υπόθεση αυτή ερμηνεύει την βελτίωση στην ταχύτητα στο σπριντ των αθλητών του χόκεϋ στην έρευνα που παρουσιάστηκε ακριβώς παραπάνω και την απουσία βελτίωσης στην απόδοση στην παρούσα

έρευνα καθώς στην μέγιστη τετράλεπτη δοκιμασία η συνεισφορά του αερόβιου συστήματος παραγωγής ενέργειας είναι πολύ μεγαλύτερη(101).

Στην ακόλουθη έρευνα εξετάστηκε η επίδραση του BC στην αερόβια άσκηση. Συγκεκριμένα οι εθελοντές στην ομάδα παρέμβασης λάμβαναν 60γρ BC ημερησίως για οκτώ εβδομάδες και η ομάδα ελέγχου αντίστοιχη ποσότητα WP για το ίδιο διάστημα. Πριν την έναρξη της χορήγησης οι εθελοντές υποβλήθηκαν σε δύο τεστ τρεξίματος στο διάδρομο μέχρι εξάντλησης. Ανάμεσα στις δύο δοκιμασίες παρεμβλήθηκαν είκοσι λεπτά ανάπαυσης. Η επίδοση στο δεύτερο τεστ μειώθηκε εξίσου και για της δύο ομάδες. Έπειτα από 8 εβδομάδες χορήγησης των συμπληρωμάτων και προπόνησης οι εθελοντές επανέλαβαν τις δοκιμασίες. Οι επιδόσεις στην πρώτη δοκιμασία βελτιώθηκαν εξίσου στις δύο ομάδες. Αντίθετα η ομάδα παρέμβασης στην δεύτερη δοκιμασία βελτίωσε την επίδοση της σε μεγαλύτερο βαθμό από την ομάδα ελέγχου. Οι ερευνητές υποθέτουν ότι η χορήγηση 60γρ BC για οκτώ εβδομάδες είχε ως αποτέλεσμα ταχύτερη αποκατάσταση έπειτα από δοκιμασία τρεξίματος στο διάδρομο μέχρι εξάντλησης(102).

Ευρήματα που υποστηρίζουν την υπόθεση ότι η χορήγηση BC βελτιώνει την απόδοση σε αερόβια αθλήματα βρέθηκαν και στη έρευνα που ακολουθεί. Οι εθελοντές ήταν άνδρες, υψηλού επιπέδου ποδηλάτες. Πριν την παρέμβαση μετρήθηκε η επίδοσή τους στα 40km ποδηλάτησης και ο χρόνος μέχρι εξάντλησης σε ένταση που αντιστοιχούσε στο 110% του αναπνευστικού τους κατωφλίου (VT). Στην συνέχεια οι εθελοντές στην ομάδα παρέμβασης λάμβαναν καθημερινά για εννιά εβδομάδες 10γρ BC και οι εθελοντές στην ομάδα ελέγχου 10γρ WP και όλοι συνέχισαν κανονικά το προπονητικό τους πρόγραμμα. Ακολούθησε αξιολόγηση την έβδομη εβδομάδα και δεν βρέθηκαν διαφορές ανάμεσα στις δύο ομάδες. Κατά την όγδοη εβδομάδα όλοι οι εθελοντές προπονήθηκαν καθημερινά σε πολύ υψηλή ένταση, δηλαδή ασκήθηκαν σε ένταση ίση ή και μεγαλύτερη από εκείνη που αντιστοιχεί στο αναπνευστικό τους κατώφλι. Με το πέρας της έντονης προπονητικής περιόδου έγινε εκ νέου αξιολόγηση των εθελοντών. Την ένατη εβδομάδα βρέθηκε ότι η χορήγηση BC σε σχέση με την χορήγηση placebo είχε ως αποτέλεσμα την ήπια βελτίωση της επίδοσης στην δοκιμασία των 40km σε σύγκριση και βελτίωση στην δοκιμασία μέχρι εξάντλησης. Επίσης η χορήγηση BC είχε ως αποτέλεσμα η ομάδα παρέμβασης να διατηρήσει στο ίδιο επίπεδο το αναπνευστικό της κατώφλι (LT) ύστερα από την περίοδο της έντονης προπόνησης. Αντίθετα στην ομάδα ελέγχου παρατηρήθηκε μείωση του LT κατά 14% (103).

Μέχρι στιγμής υπάρχει μόνο μία δημοσιευμένη έρευνα που εξέτασε την επίδραση της χορήγησης BC στο οξειδωτικό στρες που προκαλεί η άσκηση. Η έρευνα έγινε σε

πειραματόζωα και διήρκησε 42 μέρες. Μελετήθηκαν τέσσερις ομάδες. Αυτές ήταν η ομάδα ελέγχου, ομάδα χορήγησης BC, ομάδα άσκησης και ομάδα χορήγησης BC με άσκηση. Η χορήγηση BC αντιστοιχούσε σε 50mg/kg bw την ημέρα. Η άσκηση περιελάμβανε 30 λεπτά τρέξιμο την ημέρα σε διάδρομο. Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι οι δύο ομάδες της άσκησης και η ομάδα της χορήγησης BC εμφάνισαν στατιστικά σημαντική αύξηση στο πρωτεϊνικό περιεχόμενο του μυ του ποδιού στο τέλος της παρέμβασης. Η αύξηση ήταν πιο έντονη στην ομάδα άσκησης/BC. Τα επίπεδα λιπιδικής υπεροξειδωσης στο μυ εμφάνισαν στατιστικώς σημαντική μείωση στις δύο ομάδες χορήγησης BC, στατιστικώς σημαντική αύξηση στην ομάδα της άσκησης και παρέμειναν αμετάβλητα στην ομάδα ελέγχου. Τα ακριβώς αντίθετα αποτελέσματα εμφάνισαν τα επίπεδα του αντιοξειδωτικού ενζύμου της υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD). Συγκεκριμένα οι δύο ομάδες της χορήγησης BC εμφάνισαν στατιστικώς σημαντική αύξηση, η ομάδα άσκησης στατιστικώς σημαντική μείωση, ενώ στην ομάδα ελέγχου να επίπεδα του ενζύμου δεν διαφοροποιήθηκαν. Επίσης μετρήθηκαν και τα επίπεδα της οξειδάσης της ξανθίνης, ένζυμο που εμφανίζει οξειδωτική δράση. Δεν παρουσιάστηκαν μεταβολές στην ομάδα χορήγησης BC και στην ομάδα ελέγχου. Αντίθετα τα στατιστικώς σημαντικά ευρήματα ήταν η μείωση των επιπέδων του ενζύμου στην ομάδα άσκησης/BC και η μείωση στην ομάδα άσκησης. Τέλος το συνολικό αντιοξειδωτικό περιεχόμενο του μυ αυξήθηκε σημαντικά στις δύο ομάδες της χορήγησης BC. Αντίθετα υπήρξε σημαντική μείωση στην ομάδα της άσκησης ενώ στην ομάδα ελέγχου δεν παρουσιάστηκε καμία μεταβολή(104).

2. Σκοπός μελέτης

Η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη και ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος που επακολουθεί αθλητικών αγώνων μεγάλων εντάσεων αποτρέπει την άμεση επάνοδο των αθλητών στο προπονητικό τους σχήμα και την βέλτιστη απόδοση τους όταν αυτοί πρέπει να συμμετέχουν σε συχνούς, συνεχείς αγώνες (πρωταθλήματα, τουρνουά κλπ). Το πρόβλημα αυτό είναι ιδιαίτερα έντονο στους επαγγελματίες αθλητές, οι οποίοι συμμετέχουν σε αγώνες μεγάλων φυσικών απαιτήσεων με συχνότητα που πολλές φορές πλησιάζει τις τρεις με τέσσερις μέρες. Χαρακτηριστικό παράδειγμα τέτοιων αθλητών είναι και οι επαγγελματίες ποδοσφαιριστές. Ειδικότερα, οι βιοχημικοί μηχανισμοί που συνοδεύουν την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη μετά από έναν αγώνα ποδοσφαίρου είναι ελάχιστα μελετημένοι. Στα πλαίσια αυτά η παρέμβαση με κατάλληλα διατροφικά σχήματα ή συμπληρώματα διατροφής θα μπορούσε με ήπιο και φυσικό τρόπο να βοηθήσει τους αθλητές να επανέλθουν σε συντομότερο χρονικό διάστημα στην πριν τον αγώνα βέλτιστη κατάσταση τους μέσω της μείωσης της έντασης και της χρονικού διαστήματος των φαινομένων (πόνος, οίδημα, κόπωση) που συνοδεύουν την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη. Δεδομένου ότι αυτή δεν μπορεί να αποφευχθεί πλήρως μετά από έναν αγώνα αφού εξαρτάται κυρίως από την προπονητική κατάσταση του αθλουμένου, οι διατροφικές παρεμβάσεις πρέπει να στοχεύουν στα συστηματικά φαινόμενα που ακολουθούν όπως είναι το οξειδωτικό στρες και η φλεγμονή.

Οι ευεργετικές δράσεις του πρωτογάλακτος (colostrum) έχουν βρεθεί και μελετηθεί εδώ και αρκετά χρόνια. Ωστόσο, η εμπορική του διάθεση ως συμπλήρωμα έχει επιτευχθεί σε μεγάλο βαθμό την τελευταία δεκαετία. Οι ανοσορυθμιστικές και αντιοξειδωτικές του ιδιότητες καθώς και η ύπαρξη σε αυτό αυξητικών παραγόντων καθιστούν το colostrum ως ένα συμπλήρωμα που δυνητικά θα μπορούσε να επηρεάσει τους μηχανισμούς φλεγμονής και αναγέννησης του ιστού μετά από ασκησιογενή βλάβη και να βοηθήσει τον αθλητή να επανέλθει στην πρότερη κατάσταση του.

Στα πλαίσια αυτά σκοπός της προτεινόμενης διδακτορικής διατριβής είναι:

- α) Η κινητική μελέτη των μηχανισμών ενεργοποίησης οξειδωτικού στρες που συνοδεύουν έναν αγώνα ποδοσφαίρου
- β) Η αναζήτηση σχέσεων μεταξύ της έκτασης του οξειδωτικού στρες με τη φυσική κατάσταση του αθλητή

γ) Κινητική μελέτη της μεταβολής δεικτών οξειδωτικού στρες μετά από χορήγηση colostrum

δ) Η επίδραση της χορήγησης συμπληρώματος colostrum στους οξειδωτικού στρες που συνοδεύουν έναν αγώνα ποδοσφαίρου και η εκτίμηση της ικανότητας του colostrum, μέσω της επίδρασης του σε αυτούς του μηχανισμούς, να οδηγεί σε μείωση των κλινικών φαινομένων που επακολουθούν της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης.

3. Μεθοδολογία

3.1 1^ο Ερευνητικό πρωτόκολλο – Επίδραση χορήγησης colostrum σε δείκτες οξειδωτικού στρες έπειτα από πρόκληση ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης.

Το δείγμα της έρευνας αποτελούν νέοι ενήλικες αθλητές ποδοσφαίρου:

1. Ενεργά μέλη ομάδας που συμμετέχει σε πρωτάθλημα Α τοπικής κατηγορίας στο νομό Αττικής
2. Φοιτητές από το Τ.Ε.Φ.Α.Α Αθηνών, οι οποίοι είναι ενεργά μέλη ομάδων που συμμετέχουν σε πρωταθλήματα Β΄ και Γ΄ εθνικής κατηγορίας καθώς και σε τοπικά πρωταθλήματα του Νομού Αττικής.

Οι προϋποθέσεις για την συμμετοχή τους στην μελέτη ήταν:

α) Να μην αντιμετωπίζουν κάποιο ορθοπεδικό πρόβλημα, τραυματισμό, κάποια ασθένεια, λοίμωξη, ή φλεγμονή τις δύο τελευταίες εβδομάδες πριν την έναρξη της έρευνας,

β) Να συμμετέχουν κανονικά στις καθημερινές τους προπονήσεις

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

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

1. ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών
2. σύστασης σώματος
3. μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου
4. μέγιστης ισομετρικής δύναμης (ΜΙΔ).

1^η μέτρηση (εβδομάδα μηδέν – 0w): Μια εβδομάδα μετά τις προκαταρτικές μετρήσεις οι εθελοντές ήρθαν στο εργαστήριο για δεύτερη φορά κατά την οποία:

1. Παραλήφθηκε αίμα για βιοχημικές και αιματολογικές εξετάσεις

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

Μετά τις μετρήσεις αυτές οι δοκιμαζόμενοι υποβλήθηκαν στη δοκιμασία (Loughborough Intermittent Shuttle Test, LIST), η οποία προσομοιάζει έναν αγώνα ποδοσφαίρου και ακόλουθα υποβλήθηκαν σε αξιολόγηση της ΜΙΑ και σε αιματολογική εξέταση σε 5 μεταγενέστερες χρονικές στιγμές:

1. Στις 2 ώρες
2. Στις 6 ώρες
3. Στις 24 ώρες
4. Στις 48 ώρες
5. Στις 72 ώρες

Σε αυτό το στάδιο οι εθελοντές χωρίστηκαν τυχαιοποιημένα σε δύο ομάδες. Κάθε ομάδα έλαβε:

Ομάδα Α: Εικονικό σκεύασμα (εμπορικά διαθέσιμη πρωτεΐνη ορού γάλακτος, 3,2g/d)

Ομάδα Β: Συμπλήρωμα BC (Colostrum Compact) σε μορφή χαπιού της εταιρείας LR Health and Beauty Systems (8 χάπια των 400 mg BC ημερησίως, δηλαδή 3,2 g/ημέρα. Το σχήμα θα είναι 3 χάπια το πρωί, τρία το μεσημέρι και δύο το βράδυ με τα κύρια γεύματα).

2^η μέτρηση (3^{ης} εβδομάδας – 3w): Στις 3 εβδομάδες προσήλθαν στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο για:

1. Συλλογή αίματος
2. Συλλογή σάλιου
3. DXA

3^η μέτρηση(6^{ης} εβδομάδας – 6w): Στη συνέχεια για τις επόμενες 3 εβδομάδες θα συνέχισαν την συμπληρωματική χορήγηση με Β.Π και μετά το πέρας 3 εβδομάδων (σύνολο 6 εβδομάδες) οι εθελοντές ήρθαν στο εργαστήριο για τρίτη φορά κατά την οποία:

1. Παραλήφθηκε αίμα για βιοχημικές και αιματολογικές εξετάσεις
2. Σάλιο για βιοχημικές εξετάσεις

3. Έγινε μέτρηση της ΜΙΑ
4. Έγινε μέτρηση της σύστασης σώματος με απορροφησιμετρία διπλοενεργειακών φωτονίων (Dual Energy X-Ray Absorptiometry, DXA)

Μετά τις μετρήσεις αυτές οι δοκιμαζόμενοι υποβλήθηκαν στο LIST και ακόλουθα υποβλήθηκαν σε αξιολόγηση της ΜΙΑ και σε αιματολογική εξέταση σε 5 μεταγενέστερες χρονικές στιγμές:

1. Στις 2 ώρες
2. Στις 6 ώρες
3. Στις 24 ώρες
4. Στις 48 ώρες
5. Στις 72 ώρες

3.2 2^ο Ερευνητικό πρωτόκολλο – Επίδραση χορήγησης διαφορετικών μορφών colostrum σε δείκτες οξειδωτικού στρες.

Το δείγμα της έρευνας αποτελούν νέοι ενήλικες αθλητές ποδοσφαίρου:

3. Ενεργά μέλη ομάδας που συμμετέχει σε πρωτάθλημα Α τοπικής κατηγορίας στο νομό Αττικής
4. Φοιτητές από το Τ.Ε.Φ.Α.Α Αθηνών, οι οποίοι είναι ενεργά μέλη ομάδων που συμμετέχουν σε πρωταθλήματα Β΄ και Γ΄ εθνικής κατηγορίας καθώς και σε τοπικά πρωταθλήματα του Νομού Αττικής.

Οι προϋποθέσεις για την συμμετοχή τους στην μελέτη ήταν:

α) Να μην αντιμετωπίζουν κάποιο ορθοπεδικό πρόβλημα, τραυματισμό, κάποια ασθένεια, λοίμωξη, ή φλεγμονή τις δύο τελευταίες εβδομάδες πριν την έναρξη της έρευνας,

β) Να συμμετέχουν κανονικά στις καθημερινές τους προπονήσεις

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

την διατήρηση των διατροφικών τους συνήθειών κατά το χρονικό διάστημα της συμμετοχής τους στην έρευνα.

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

1. ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών
2. σύστασης σώματος

1^η μέτρηση (εβδομάδα μηδέν – 0w): Μια εβδομάδα μετά τις προκαταρκτικές μετρήσεις οι εθελοντές ήρθαν στο εργαστήριο για δεύτερη φορά κατά την οποία:

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

Σε αυτό το στάδιο οι εθελοντές χωρίστηκαν τυχαιοποιημένα σε πέντε ομάδες. Κάθε ομάδα έλαβε:

Ομάδα Α: Εικονικό σκεύασμα (εμπορικά διαθέσιμη πρωτεΐνη ορού γάλακτος, 3,2g/d)

Ομάδα Β: Συμπλήρωμα BC (Colostrum Compact) σε μορφή χαπιού της εταιρείας LR Health and Beauty Systems (8 χάπια των 400 mg BC ημερησίως, δηλαδή 3,2 g/ημέρα. Το σχήμα θα είναι 3 χάπια το πρωί, τρία το μεσημέρι και δύο το βράδυ με τα κύρια γεύματα).

Ομάδα Γ: Εικονικό σκεύασμα (εμπορικά διαθέσιμη πρωτεΐνη ορού γάλακτος, 0,8g/d)

Ομάδα Δ: Συμπλήρωμα BC (Colostrum Compact) σε μορφή χαπιού της εταιρείας LR Health and Beauty Systems (8 χάπια των 400 mg BC ημερησίως, δηλαδή 0,8g/ημέρα)

Ομάδα Ε: Υγρό BC (Colostrum Direct) της ίδιας εταιρείας σε ποσότητα που θα περιέχει την ίδια ποσότητα πρωτεΐνης με το σκεύασμα της ομάδας Β.

2^η μέτρηση (3^η εβδομάδας – 3w): Στις 3 εβδομάδες προσήλθαν στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο για:

1. Παραλήφθηκε αίμα για βιοχημικές και αιματολογικές εξετάσεις

2. Έγινε μέτρηση της σύστασης σώματος με απορροφησιμετρία διπλοενεργειακών φωτονίων (Dual Energy X-Ray Absorptiometry, DXA)

3^η μέτρηση(6^η εβδομάδας – 6w): Στη συνέχεια για τις επόμενες 3 εβδομάδες θα συνέχισαν την συμπληρωματική χορήγηση με Β.Π και μετά το πέρας 3 εβδομάδων (σύνολο 6 εβδομάδες) οι εθελοντές ήρθαν στο εργαστήριο για τρίτη φορά κατά την οποία:

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

3.3 Το συμπλήρωμα πρωτογάλακτος της εταιρείας LR Health and Beauty Systems

Για τις ανάγκες της παρούσας μελέτης in vitro παρούσα χρησιμοποιήθηκε το βόειο πρωτόγαλα της εταιρείας LR Health and Beauty Systems (<http://www.lrworld.com/lrweb/index.php?id=984>). Συγκεκριμένα, πραγματοποιήσαμε αναλύσεις σε διαφορετικές παρτίδες βόειου colostrum σε δύο διαφορετικές διαθέσιμες μορφές, είτε, ως υγρό (Colostrum Direct, Αριθμός Γνωστοποίησης ΕΟΦ: 47209/07), είτε ως στερεό σε μορφή κάψουλας (Colostrum Basis, Αριθμός Γνωστοποίησης ΕΟΦ: 47212/07). Για την κάθε μορφή έγιναν αναλύσεις σε 3 διαφορετικές παρτίδες. Το Colostrum Basis έχει πλέον μετονομαστεί σε Colostrum Compact. Περισσότερες πληροφορίες (σύσταση, επισημάνσεις) για τα υπό μελέτη προϊόντα δίνονται στα επισυναπτόμενα έγγραφα. Επίσης επίσημο διαφημιστικό βίντεο για τα προϊόντα colostrum από την παραγωγό εταιρεία υπάρχει στην ιστοσελίδα <http://www.youtube.com/watch?v=XNFTc0nG5D0>. Εκτός από τα παραπάνω προϊόντα colostrum στην in vitro μελέτη, χρησιμοποιήθηκαν 2 διαφορετικά σκευάσματα πρωτεΐνης ορού. Το πρώτο σκεύασμα ανήκει στην εταιρεία enerZONA (enerZONA whey protein 90%). Περισσότερες πληροφορίες για το σκεύασμα διατίθενται στην ιστοσελίδα http://www.en.enerzona.com/_vti_g4_prodDet.aspx_idprod_6-rpstry_49_.shtml. Το δεύτερο σκεύασμα πρωτεΐνης ορού αποτελεί σκεύασμα που διατίθεται από την εταιρεία Focus Extreme (Focus Extreme- high protein No way, natural). Και για τις δυο πρωτεΐνες ορού χρησιμοποιήθηκαν σκευάσματα φυσικής και όχι κάποιας άλλης γεύσης, ώστε να μην επηρεάσουν το αποτέλεσμα της έρευνας τυχόν επιπρόσθετα συστατικά που προσδίδουν διαφορετική γεύση σε τέτοιου είδους προϊόντα.

Για τα in vivo πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στους ποδοσφαιριστές εθελοντές χρησιμοποιήθηκαν το Colostrum Basis, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, ως προϊόν στην ομάδα παρέμβασης και η enerZONA whey protein 90% ως αντίστοιχο προϊόν στην ομάδα ελέγχου.

Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται η σύσταση των σκευασμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη, όπως αυτή παρουσιάζεται στις διατροφικές ετικέτες των εμπορικών συσκευασιών

Πίνακας 3.1: Αναγραφόμενη σύσταση των σκευασμάτων σε ενέργεια και μακροθρεπτικά συστατικά

Σύσταση	Σκεύασμα			
	Colostrum Compact	Colostrum Direct	EnerZona whey protein 90%	Focusextreme high protein “No way”
Ενέργεια (kcal/100g)	457*	37	395	377
Πρωτείνες (g/100g)	-	5,6	90	94
Υδατάνθρακες (g/ 100g)	-	3,6	1	1
Λιπίδια (g/100g)	<5	<0,1	0,5	1

Για το Colostrum Compact δεν αναφέρεται η σύσταση σε ενέργεια, πρωτείνες και υδατάνθρακες.

Για το Colostrum Direct οι μονάδες μετρήσεις είναι kcal/100ml για την ενέργεια και g/100ml για τις πρωτείνες, τους υδατάνθρακες και τα λιπίδια. Ωστόσο, καθώς ύστερα από μετρήσεις καταλήξαμε ότι 1ml σκευάσματος σε υγρή μορφή= 1g μπορούν να χρησιμοποιούνται οι μονάδες kcal/100g και g/ 100g αντίστοιχα.

Επιπλέον για το σκεύασμα High protein “No way” της Focusextreme αναγράφεται η λεπτομερής σύσταση στα περιεχόμενα αμινοξέα, όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 3.2 : Αναγραφόμενη σύσταση σε αμινοξέα

Σύσταση σε αμινοξέα	Ποσότητα (g/100g)
L-aspartic acid	11,2
L-threonine	7,2
L-serine	4,6
L-glutamic acid	14,2
L-glutamine	5,56
L-proline	6,5
L-glucine	1,7

L-alanine	5,0
L-valine	6,2
L-methionne	2,0
L-cysteine	2,2
L-isoleukine	7,0
L-leukine	10,6
L-tyrocine	2,8
L-phenylalanine	3,0
L-lysine	9,6
L-hystidine	1,7
L-arginine	1,9
L-tryptophan	1,7

3.4 Πρωτόκολλο Loughborough Intermittent Shuttle Test (LIST)

Οι δοκιμαζόμενοι τρέχουν ανάμεσα σε 2 γραμμές οι οποίες απέχουν μεταξύ τους 20m. Η ταχύτητα του δοκιμαζόμενου αλλάζει συνεχώς και αντιστοιχεί σε συγκεκριμένα ποσοστά της VO_2max των αθλητών και οι οποίες υπαγορεύονται από ηχητικό σήμα από ειδικά διαμορφωμένο πρόγραμμα υπολογιστή. Πιο συγκεκριμένα οι περίοδοι άσκησης έχουν ως εξής:

1. 3 x 20 m περπάτημα
2. 1 x 20 m σπριντ (μέγιστη ταχύτητα)
3. 4 sec αποκατάσταση
4. 3 x 20 m σε ταχύτητα που αντιστοιχεί στο 55% VO_2max
5. 3 x 20 m σε ταχύτητα που αντιστοιχεί στο το 95% VO_2max

Αυτό το μοτίβο ακολουθείται για διαστήματα 15min τα οποία ακολουθούνται από αντίστοιχα 3λεπτα διαστήματα ανάπαυσης. Η συνολική χρονική διάρκεια του τεστ θα είναι 90min. Το πρωτόκολλο LIST θα γίνει στο Δημοτικό Γήπεδο Καλλιθέας ύστερα από έγγραφη αίτηση προς το Δήμο για τη χρήση του.

3.5 Ανθρωπομετρία

Το σωματικό βάρος των εθελοντών μετρήθηκε με τα εσώρουχα και χωρίς υποδήματα, σε ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας (Seca, Αμβούργο, Γερμανία) και με ακρίβεια 0,1kg. Το ύψος μετρήθηκε με τη χρήση εντοιχισμένου αναστημόμετρου (Seca, Αμβούργο, Γερμανία) και με ακρίβεια 0,5cm. Οι μετρήσεις αυτές έγιναν εις διπλούν. Επίσης υπολογίστηκε ο μέσος όρος

του βάρους και του ύψους κάθε εθελοντή, από όπου και στη συνέχεια υπολογίστηκε ο ΔΜΣ ως το πηλίκο του βάρους (σε kg) προς το τετράγωνο του ύψους (σε m).

3.6 Σύσταση σώματος

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

3.7 Υπολογισμός Μέγιστης Πρόσληψης Οξυγόνου

Η μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου των εθελοντών αξιολογήθηκε με τεστ αυξανόμενης έντασης σε δαπεδοεργόμετρο. Μετά από προθέρμανση λίγων λεπτών, ο κάθε δοκιμαζόμενος ακολούθησε ένα πρωτόκολλο αυξανόμενης έντασης και παράλληλα μετρήθηκε η πρόσληψη οξυγόνου (Sensormedics, Vmax229, Yorba Linda CA), η μέγιστη καρδιακή του συχνότητα καθώς και η καρδιακή του συχνότητα σε κάθε στάδιο. Η κλίση του δαπεδοεργόμετρου ρυθμίστηκε σε κλίση 1% (φυσικό χόρτο ή πλαστικό χόρτο), ξεκινώντας από τα 8km/h και στη συνέχεια αυξήθηκε κατά 1km/h κάθε 2min ώσπου να παρατηρηθεί σταθεροποίηση (plateau) στο ρυθμό πρόσληψης οξυγόνου ή να εξαντληθεί ο δοκιμαζόμενος. Από την μετρηθείσα VO₂max υπολογίστηκε η ταχύτητα που αντιστοιχεί στο 55 και 95% της VO₂max. Μετά από την μέτρηση οι δοκιμαζόμενοι δοκίμασαν το LIST για 30min για εξοικείωση.

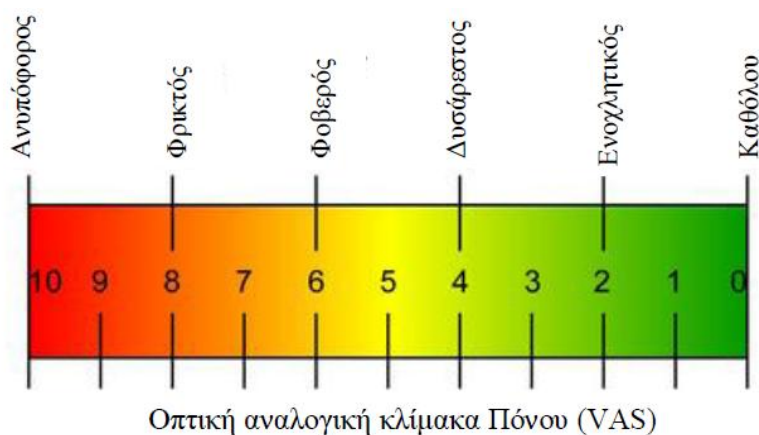
3.8 Προσδιορισμός μυϊκής δύναμης

Η μέτρηση της μέγιστης ισομετρικής ροπής, πραγματοποιήθηκε με την βοήθεια του ισομετρικού δυναμόμετρου (BIODEX). Ωστόσο, πρέπει να προστεθεί πως η κάθε ισομετρική αξιολόγηση επαναλαμβάνεται 3 φορές (συνολικά 3 προσπάθειες), και για τους μετέπειτα υπολογισμούς χρησιμοποιήθηκε η μέγιστη τιμή ροπής εκ των τριών προσπαθειών. Μεταξύ των διαδοχικών προσπαθειών, παρέχεται στον δοκιμαζόμενο χρόνος ξεκούρασης 2 λεπτών. Η μέτρηση ΜΙΔ θα γίνει στο εργαστήριο Εργοφυσιολογίας του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου.

3.9 Αντίληψη καθυστερημένου μυϊκού πόνου

Για την αξιολόγηση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου χρησιμοποιήθηκε μία οπτική αναλογική κλίμακα (Visual Analog Scale – VAS) (υποκειμενικής αξιολόγησης του πόνου) 10 σημείων, η οποία συνίσταται από μία ευθεία γραμμή μήκους 10 εκατοστών όπου, η μία της άκρη αντιστοιχεί στην ένδειξη «καθόλου πόνος» και η άλλη της στην ένδειξη «ανυπόφορος πόνος» (σχήμα) (105).

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



Σχήμα 3.1: Παράδειγμα απεικόνισης οπτικής αναλογικής κλίμακας αξιολόγησης του πόνου.

3.10 Συλλογή σιέλου

Η συλλογή σιέλου έγινε από τους εθελοντές ενώ αυτοί θα κάθονται. Πριν τη παραλαβή του σιέλου ζητήθηκε από τους εθελοντές να αδειάσουν το περιεχόμενο του στόματος τους με κατάποση. Στη συνέχεια, συλλέχθηκε σάλιο σε προζυγισμένο αποστειρωμένο πλαστικό σωλήνα για δύο λεπτά. Αμέσως μετά ο σωλήνας ζυγίστηκε για να υπολογιστεί το περιεχόμενο του σε σάλιο. Το δείγμα χωρίστηκε σε τρία μέρη και αποθηκεύτηκε στους -80 °C. Ζητήθηκε από τους εθελοντές να μην καταναλώσουν οτιδήποτε τα 10 λεπτά πριν τη συλλογή του δείγματος.

3.11 Αιμοληψίες

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

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

3.12 Απομόνωση ορού και πλάσματος από το αίμα

3.12.1 Όργανα

- Φυγόκεντρος (Avanti 30 centrifuge, Beckman)

3.12.2 Αναλυτική πορεία

Δέκα (10) mL αίματος λήφθηκαν σε σωλήνες αιμοληψίας κενού των 10 mL και αφέθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 45 min. Στη συνέχεια φυγοκεντρήθηκαν στα 1500 x g για 10 min σε θερμοκρασία 20 °C και παραλήφθηκε το υπερκείμενο, που αποτελεί τον ορό. Το υπερκείμενο μοιράστηκε σε σωλήνες τύπου erpendorfs και φυλάχθηκε στους - 80 °C.

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

3.13 Παραλαβή και ομογενοποίηση λευκοκυττάρων

3.13.1 Όργανα

- Φυγόκεντρος (Avanti 30 centrifuge, Beckman)
- Ομογενοποιητής υπερήχων (Bandelin Sonoplus sonicator GM 2070, Germany)

3.13.2 Διαλύματα

- Δεξτράνη 3% διαλυμένη σε φυσιολογικό ορό (NaCl 0,15 M)
- Διάλυμα λύσης ερυθροκυττάρων (lysis buffer): 155 mM NH₄Cl, 10 mM KHCO₃ και 0,1 mM EDTA
- Διάλυμα αναδιάλυσης Tris (50 mM-pH 7,4) -Suc 0,25 M-DTT 1 mM
- Φυσιολογικός ορός (NaCl 0,15 M)
- HCl 1N

3.13.3 Αναλυτική πορεία

Σε ηπαρηνισμένους σωλήνες των 10 mL προστέθηκαν 5 mL αίματος. Προστέθηκαν 1,7 mL διαλύματος δεξτράνης 3% διαλυμένης σε NaCl 0,15 M σε θερμοκρασία δωματίου και έγινε ήπια ανάδευση. Το μείγμα αφέθηκε για καταβύθιση σε θερμοκρασία δωματίου για 1 h. Λήφθηκε το υπερκείμενο (leukocyte rich plasma- LRP) και φυγοκεντρήθηκε στα 500 x g για 10 min σε θερμοκρασία δωματίου. Το υπερκείμενο απορρίφθηκε με απόχυση και το ίζημα αναμείχθηκε με 5 mL διαλύματος λύσης και αφέθηκε για 5 min. Στη συνέχεια φυγοκεντρήθηκε στα 300 x g για 10 min σε θερμοκρασία δωματίου. Το υπερκείμενο

απορρίφθηκε και το ίζημα των κυττάρων αναδιασπάθηκε σε 1 mL Tris 50mM - Suc Ph pH 7,4 και DTT. Ακολούθησε κατεργασία με υπέρηχους (sonicator) για 10 sec (x 4) (υπό ψύξη) με μεσοδιάστημα 30 sec για να αποφευχθεί η υπερθέρμανση του ομογενοποιημάτος (μέση ισχύς 30- 40%). Στη συνέχεια έγινε φυγοκέντρωση στα 500 x g για 10 min στους 4 °C, λήφθηκε το υπερκείμενο και μοιράστηκε σε σωλήνες τύπου erppendorf και φυλάχθηκε στους - 80 °C.

3.14 Παραλαβή και ομογενοποίηση ερυθροκυττάρων

3.14.1 Όργανα

- Φυγόκεντρος (Avanti 30 centrifuge, Beckman)
- Ομογενοποιητής υπέρηχων (Bandelin Sonoplus sonicator GM 2070, Germany)

3.14.2 Διαλύματα

- Φυσιολογικός ορός (NaCl 0,15 M)

3.14.3 Αναλυτική πορεία

Σε σωλήνα αιμοληψίας κενού με αντιπηκτικό EDTA παραλαμβάνονται 6 ml αίματος. Το αίμα φυγοκεντρείται στα 1000 g για 15 min και το υπερκείμενο (πλάσμα) παραλαμβάνεται και αποθηκεύεται (δες 3.5.2). Το ίζημα των ερυθροκυττάρων ξεπλένεται 1 φορά με 2,5 ml φυσιολογικού ορού. Το εναιώρημα των ερυθροκυττάρων φυγοκεντρείται στα 200 g για 15 min και το υπερκείμενο που περιέχει τα λευκοκύτταρα απορρίπτεται. Το ίζημα των ερυθροκυττάρων ξεπλένεται με 2,5 ml φυσιολογικό ορό, φυγοκεντρείται στα 1500 g για 10 min και το υπερκείμενο απορρίπτεται. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται άλλη μία φορά. Μετά την τελευταία φυγοκέντρωση στο ίζημα των ερυθροκυττάρων προστίθενται 2 mL ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών 7 mM pH=7,4. Το διάλυμα των ερυθροκυττάρων μεταφέρεται σε παγωμένους πλαστικούς σωλήνες και ομογενοποιείται υπό ψύξη με δονητή

υπερήχων σε 3 κύκλους των 10 sec (με δύναμη 35%) (σε πάγο). Το ομογενοποίημα μοιράστηκε σε σωλήνες erpendorfs, οι οποίοι φυλάχθηκαν στους -80°C.

3.15 Προσδιορισμός δραστηριότητας γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH) σε ορό αίματος

3.15.1 Όργανα

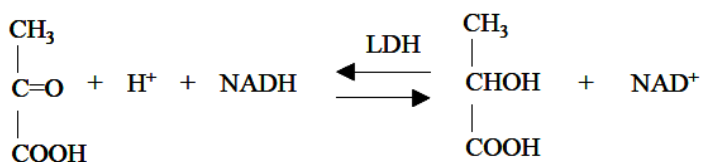
- Φωτόμετρο (Spectrophotometer Pharmacia Biotech, Novaspec II)
- Υδρόλουτρο για ρύθμιση θερμοκρασίας στους 37°C

3.15.2 Διαλύματα/διαλύτες

- Προκατασκευασμένα υποστρώματα (Dialab): α) R1: Πυροσταφυλικό οξύ 0,6 mM, νατραζίδιο 0,95 g/L σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών 50 mM β) R2: NADH 0,18 mM - pH 9,6

3.15.3 Αρχή μεθόδου [316].

Η LDH καταλύει την αναγωγή του πυροσταφυλικού οξέος προς γαλακτικό οξύ, με ταυτόχρονη οξείδωση του NADH προς NAD^+ σύμφωνα με την αντίδραση:



Ο προσδιορισμός στηρίζεται στο γεγονός ότι στα 340 nm μόνο το NADH εμφανίζει μέγιστο απορρόφησης. Έτσι, η αντίδραση ξεκινά με την προσθήκη NADH και πυροσταφυλικού οξέος και παρακολουθείται η ελάττωση της απορρόφησης στα 340 nm στους 37°C για 5 λεπτά.

3.15.4 Αναλυτική πορεία

Ο προσδιορισμός της δραστηριότητας LDH γίνεται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή ως εξής: Αναμιγνύεται περιεχόμενο του φιαλιδίου με το ρυθμιστικό διάλυμα R1 με περιεχόμενο του φιαλιδίου με τον συμπαράγοντα R2, με αναλογία 4:1 (R1:R2), προκειμένου να δημιουργηθεί το «αντιδρών μίγμα». Το «αντιδρών μίγμα» παραμένει 10 min πριν χρησιμοποιηθεί στους 37°C (στο υδρόλουτρο). Σε κυψελίδα φωτομέτρου αναμιγνύεται 1 ml από το μίγμα της αντίδρασης με ορισμένη ποσότητα (10 μL) από το δείγμα ορού που πρόκειται να προσδιορισθεί ποσοτικά η δραστηριότητα της LDH και ύστερα από παραμονή 1

min μετριέται η απορρόφηση στα 340 nm, για 5 λεπτά (ανά λεπτό) και υπολογίζεται ο μέσος όρος της διαφοράς απορρόφησης. Η ενζυμική δραστητικότητα της LDH σε U/L υπολογίζεται από τον τύπο: $LDH = (\Delta A/min * 0,510 * 1000) / 6,22 * 0,010$.

3.16 Προσδιορισμός δραστηκότητας κρεατινικής κινάσης (CK) σε ορό αίματος

3.16.1 Όργανα

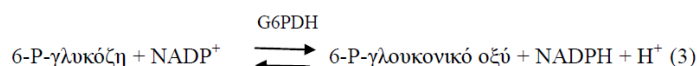
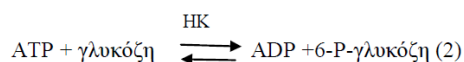
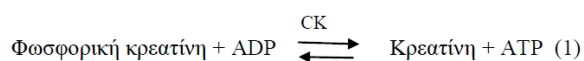
- Φωτόμετρο (Spectrophotometer Pharmacia Biotech, Novaspec II)
- Υδρόλουτρο για ρύθμιση θερμοκρασίας στους 37°C

3.16.2 Διαλύματα

- Προκατασκευασμένα αντιδραστήρια (SGMItalia):
 - R1: Ρυθμιστικό δ/μα ιμιδαζόλης 100 mM, pH 6,3, εξοκινάση 2500 U/L, Οξικό μαγνήσιο 10 mM, D-γλυκόζη 20 mM, EDTA 2 mM, AMP 20 mM, NADP 2mM, diadenosine phosphate 10mM, N-acetyl-cysteine (NAC) 20mM.
 - R2: Ρυθμιστικό δ/μα ιμιδαζόλης 100 mM, pH 6,3, 6-P-γλυκόζης (G6P-DH) 8000U/L, creatine phosphate 30mM, ADP 10,5mM, EDTA Na2 2,0 mM.

3.16.3 Αρχή μεθόδου

Η CK (ή CPK) καταλύει την αντίδραση μεταξύ φωσφορικής κρεατίνης και ADP προς κρεατίνη και ATP (1). Το ATP, παρουσία γλυκόζης και εξοκινάσης (HK), δίνει ADP και 6-P-γλυκόζη (2) η οποία με την επίδραση της αφυδρογονάσης της 6-P-γλυκόζης (G6P-DH) δίνει 6-φωσφογλουκονικό οξύ ενώ ταυτόχρονα το $NADP^+$ ανάγεται προς NADPH (3). Ο ρυθμός παραγωγής του NADPH καθορίζεται φωτομετρικά (340 nm) και είναι ευθέως ανάλογος με την δραστητικότητα της CK στο δείγμα.



3.16.4 Αναλυτική πορεία

Ο προσδιορισμός της δραστηριότητας CK γίνεται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή ως εξής : Διαλύεται το περιεχόμενο του φιαλιδίου R1 με το περιεχόμενο του φιαλιδίου R2, προκειμένου να δημιουργηθεί το «αντιδρών μίγμα» (4R1:1R2) που θα χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση, το οποίο παραμένει για 10 min στους 37°C (στο υδρόλουτρο) πριν χρησιμοποιηθεί. Παράλληλα, θερμοστατούνται στους 37°C οι κυψελίδες του φωτομέτρου που θα χρησιμοποιηθούν. Στην συνέχεια, σε κυψελίδα φωτομέτρου αναμιγνύεται 1 ml από το «αντιδρών μίγμα» με 25 μ L από το δείγμα ορού που πρόκειται να ελεγχθεί ως προς την δραστηριότητα της CK. Ύστερα από ανακίνηση και παραμονή για 2 min στους 37°C, μετριέται η απορρόφηση στα 340 nm. Λαμβάνονται μετρήσεις για 5 λεπτά (ανά λεπτό) και υπολογίζεται ο μέσος όρος της διαφοράς απορρόφησης ο οποίος πολλαπλασιαζόμενος με κατάλληλο συντελεστή, που δίνεται από την εταιρεία ($CK = \Delta A / \text{min} \times 6507$), μας δίνει την ενζυμική δραστηριότητα της CK σε U/L.

3.17 Προσδιορισμός συστατικών που αντιδρούν με θειοβαρβιτουρικό οξύ (thiobarbituric acid reactive substances, TBARS)

3.17.1 Όργανα

- Φυγόκεντρος (Eppendorf Centrifuge 5810R, Netheler Hinz GmbH)
- Θερμοστατούμενο υδρόλουτρο
- Φασματοφωτόμετρο μικροπλακιδίων (TECAN)
- Μικροπλακίδια 96 βοθρίων

3.17.2 Διαλύματα/διαλύτες

- Φωσφορικό οξύ
- Βουτανόλη
- HCl 0.01 M: 250 μ L HCL σε 250ml απιονισμένο νερό
- NaOH 0.1 N
- BHT (5 μ M): 0,0055g σε 5 ml μεθανόλη
- Φωσφορικό οξύ 0,2 M
- TBA 0,11M: 0.0793 g σε 5 ml NaOH 0,1N
- Πρότυπο διάλυμα MDA 200 μ M: Υδρολύονται 0,672 ml TMP σε 20 ml 0.01M για 10 min σε θερμοκρασία δωματίου. Το διάλυμα MDA που προκύπτει έχει συγκέντρωση 200 μ M.

3.17.3 Αρχή μεθόδου

Η MDA είναι μία αλδεϋδη με τρεις ανθρακικές αλυσίδες που παράγεται κατά τη διάρκεια αποσύνθεσης του υδροπεροξειδίου των λιπιδίων. Η ανίχνευση των TBARS είναι μια δοκιμή που χρησιμοποιείται για την μέτρηση των προϊόντων αλδεϋδης (κυρίως MDA) που σχηματίζονται μέσω της διάσπασης των υδροπεροξειδίων των λιπιδίων [197].

3.17.4 Αναλυτική πορεία

- Σε eppendorfs σωλήνες προστίθενται: 100μL ορού ή 200μL πρότυπο διάλυμα TMP ή αποσταγμένο νερό (τυφλό). Στην περίπτωση του ορού, ο όγκος συμπληρώνεται μέχρι τα 200μL με νερό, 25μL BHT (5μM), 200μL φωσφορικό οξύ 0,2M και 25μL TBA 0,11M. Μετά από έντονη ανάδευση το μίγμα της αντίδρασης παραμένει στους 90 °C για 60 min. Μετά το τέλος της επώασης, οι σωλήνες ψύχονται για 5 min στο ψυγείο και προστίθεται σε αυτούς 500 μL βουτανόλης. Μετά από έντονη ανάδευση και φυγοκέντρηση στα 10000xg για 10 min, ώστε να διαχωριστούν οι δύο φάσεις, παραλαμβάνεται η πάνω βουτανολική φάση, μεταφέρεται σε eppendorfs και επαναφυγοκεντρείται στα 10000xg για 10 min. Η βουτανολική φάση μεταφέρεται σε μικροπλακίδια 96 βοθρίων και φωτομετρείται στα 535 nm. Από την καμπύλη αναφοράς που κατασκευάζεται με πρότυπα διαλύματα που έχουν συνολική ποσότητα MDA στο διάλυμα φωτομέτρησης 0,02, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6 nmol MDA προσδιορίζεται η συγκέντρωση MDA των αγνώστων διαλυμάτων. Τόσο τα πρότυπα διαλύματα, όσο και τα άγνωστα αναλύονται εις διπλούν.

3.18 Πρωτόκολλο οξειδωσης ορού

3.18.1 Αντιδραστήρια

- Stock Διάλυμα CuSO_4 20mM: Ζυγίζονται 0,0250 gr $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (MW=249,68) και διαλύονται σε 2,5ml H_2O . Το διάλυμα φυλάσσεται σε σκουρόχρωμη φιάλη σε θερμοκρασία δωματίου.
- Working Διάλυμα CuSO_4 200 μM: Αραιώνεται 1:100 το stock διάλυμα CuSO_4 με H_2O . Δηλαδή λαμβάνονται 20 μl και αραιώνεται με H_2O έως όγκο 1980 μl.
- Διάλυμα PBS buffer: Αναδιαλύονται σε 1000 mL απεσταγμένου νερού 9 g NaCl, 0.9076 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.2408 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ και ρυθμίζεται το pH στο 7,4.

3.18.2 Αρχή μεθόδου

Με το διάλυμα του CuSO_4 προκαλείται οξείδωση της LDL κατά την οποία παράγονται λιποειδικά υπεροξειδία. Η ανίχνευση τους γίνεται με φωτομέτρηση στα 245 nm. Το αποτέλεσμα εκφράζεται ως χρόνος αντίστασης του ορού στην οξείδωση (LagTime).

3.18.3 Αναλυτική πορεία

96-well plate flat bottom:

- Διάλυμα ορού αραιώση 1: 12 του δείγματος με PBS buffer. Δηλαδή λαμβάνονται 5 μl και αραιώνεται με PBS έως όγκο 55 μl σε ειδικά σωληνάκια.
- Μίγμα CuSO_4 και PBS. Για ένα 96-well plate λαμβάνονται 21 ml PBS και τοποθετούνται και 2 ml CuSO_4 (τελική συγκέντρωση **16 μM**)
- Σε κάθε well τοποθετούνται 20 μl ορού
- Η αντίδραση ξεκινάει με την προσθήκη 230 μl μίγματος που περιέχουν PBS και CuSO_4 .
- Γίνεται μέτρηση της απορρόφησης στα 245 nm για 3,5 h ανά 2 min.
- Working Διάλυμα CuSO_4 0,2mM (*half area*): Αραιώνεται 1:100 το stock διάλυμα CuSO_4 με H_2O .
- 96-well plate *half area* flat bottom:

Σε κάθε well τοποθετούνται 149 μl μίγματος που περιέχουν 133 μl PBS και 16 μl διαλύματος 0,2 mM CuSO_4 (τελική συγκέντρωση **20 μM**). Η αντίδραση ξεκινάει με την προσθήκη 11 μl ορού. Ο όγκος της αντίδρασης είναι 160 μl . Γίνεται μέτρηση της απορρόφησης στα 405nm για 3,30h ανά 2 min.

3.19 Στατιστική ανάλυση

Η κανονικότητα των συνεχών μεταβλητών εξετάστηκε με εφαρμογή του ελέγχου Kolmogorov-Smirnov. Όλες οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσος όρος $\pm$ SD (standard deviation, τυπική απόκλιση). Οι συσχετίσεις μεταξύ των συνεχών μεταβλητών έγιναν με τη χρήση του συντελεστή συσχέτισης Pearson r. Οι συσχετίσεις μεταξύ συνεχών

και κατηγορικών μεταβλητών έγιναν με ανάλυση διακύμανσης (one-way και repeated measures ANOVA). Ο κανόνας Bonferroni εφαρμόστηκε ώστε να αντισταθμιστεί το σφάλμα Τύπου 1 λόγω των πολλαπλών συγκρίσεων. Πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση εφαρμόστηκε για να ελεγχθεί η συσχέτιση ανάμεσα στους βιοχημικούς δείκτες και διάφορους ανθρωπομετρικούς, ελέγχοντας για πιθανούς συγχρητικούς παράγοντες. Όλες οι αναφερόμενες τιμές πιθανοτήτων (p) βασίζονται σε αμφίπλευρους ελέγχους και συγκρίνονται στο επίπεδο σημαντικότητας του 5%. Το iAUC υπολογίστηκε από το εμβαδόν που περικλείεται μεταξύ της καμπύλης μεταβολής μίας μετρούμενης παραμέτρου και της νοητής ευθείας παράλληλης στον άξονα x, η οποία ξεκινά από την τιμή της παραμέτρου σε χρόνο 0.

Όλες οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν μέσω του λογισμικού στατιστικής SPSS 18 (SPSS, Inc., Chicago, IL).

4.Αποτελέσματα

4.1 1^ο πρωτόκολλο – Ασκησιογενής μυϊκή βλάβη

4.1.1 Ανθρωπομετρικά, βιοχημικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση των βασικών ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών όλων των εθελοντών που συμμετείχαν στο 1^ο πρωτόκολλο της παρούσας μελέτης πριν την έναρξη της παρέμβασης.

Πίνακας 4.1 :Ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά δείγματος

Μεταβλητές	Μέσος όρος
Ηλικία (έτη)	20,3 ± 2,1
Ύψος (m)	1,79 ± 7
Βάρος (kg)	75 ± 6,6
B.M.I. (kg/m ²)	23,5 ± 1,9
VO ₂ max (ml/kg/min)	51,5 ± 2,5
Χρόνος άσκησης/εβδομάδα (min)	379 ± 143
Χρόνος άσκησης με αντιστάσεις/εβδομάδα (min)	137 ± 84
Λευκοκύτταρα (10 ³ /μL)	5,85 ± 1,37
Ερυθροκύτταρα (10 ³ /μL)	5,17 ± 0,55
Αιμοσφαιρίνη g/dL	14,7 ± 1,14
Αιματοκρίτης (%)	40,6 ± 2,9
Αιμοπετάλια (10 ³ /μL)	224 ± 35,5
Δραστικότητα κρεατινικής κινάσης (CK)	158 ± 75
Δραστικότητα γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH)	335 ± 145

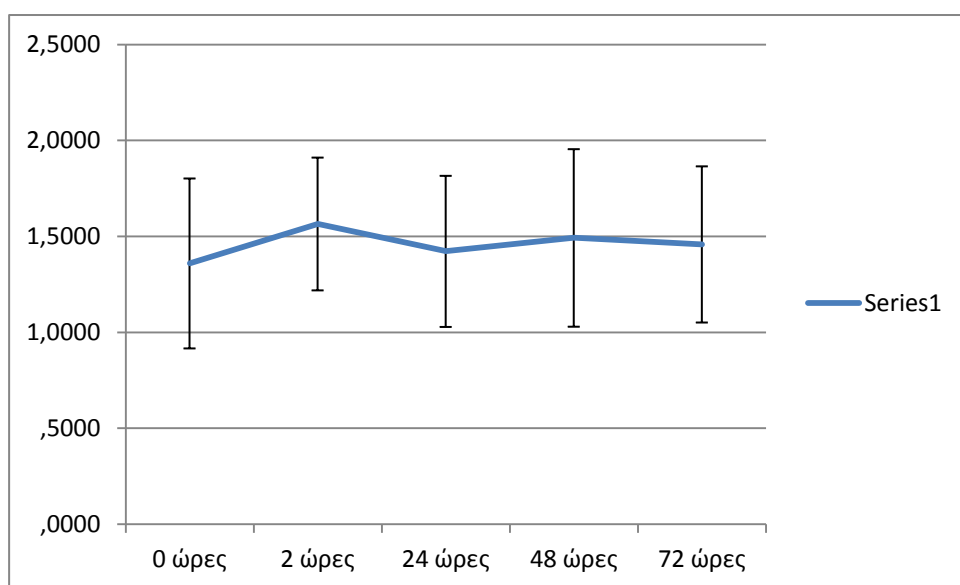
Στην συνέχεια παρουσιάζονται η θέση και η ποδοσφαιρική κατηγορία που συμμετέχουν οι εθελοντές του δείγματος.

Πίνακας 4.2: Ποιοτικά χαρακτηριστικά δείγματος

Ποιοτικά χαρακτηριστικά δείγματος	Αριθμός εθελοντών
2η εθνική κατηγορία	4
3η εθνική κατηγορία	0
4η εθνική κατηγορία	2
Τοπικά πρωταθλήματα	11
Θέση: Τερματοφύλακες	1
Θέση: Αμυντικοί	4
Θέση: Μέσοι	8
Θέση: Επιθετικοί	4
Σύνολο εθελοντών	17

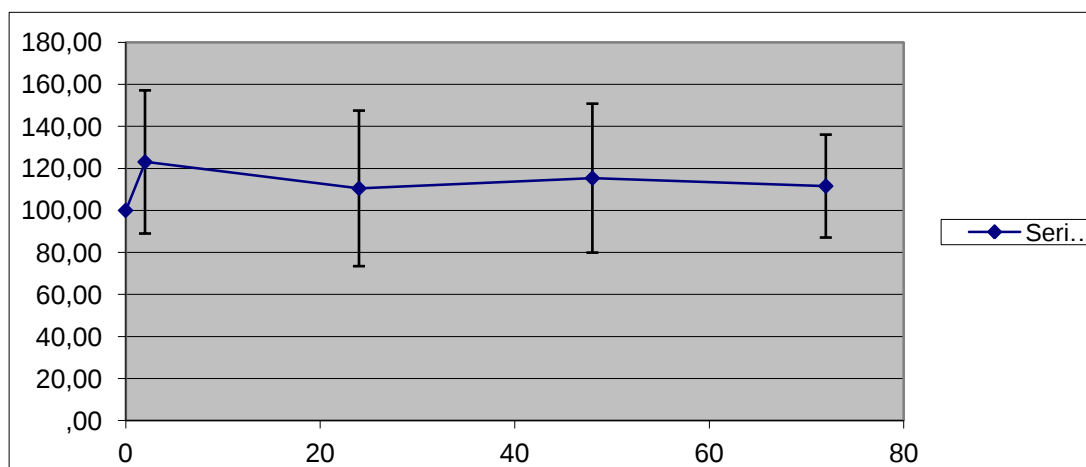
4.1.2 Επίδραση του πρωτοκόλλου LIST στον δείκτη λιπιδικής υπεροξείδωσης TBARS και στον χρόνο αντίστασης του ορού στην οξείδωση (LagTime) πριν την παρέμβαση

Πριν τον τυχαίο διαχωρισμό των εθελοντών σε ομάδα παρέμβασης και ελέγχου, όλοι οι εθελοντές υποβλήθηκαν στο πρωτόκολλο LIST. Η άσκηση είχε ως αποτέλεσμα την μεταβολή των TBARS και του LagTime το επόμενο διάστημα. Στο σχήμα 1 παρουσιάζονται τα επίπεδα των TBARS πριν την άσκηση, και τα επίπεδα TBARS στις 2, 24, 48 και 72 ώρες μετά την άσκηση.



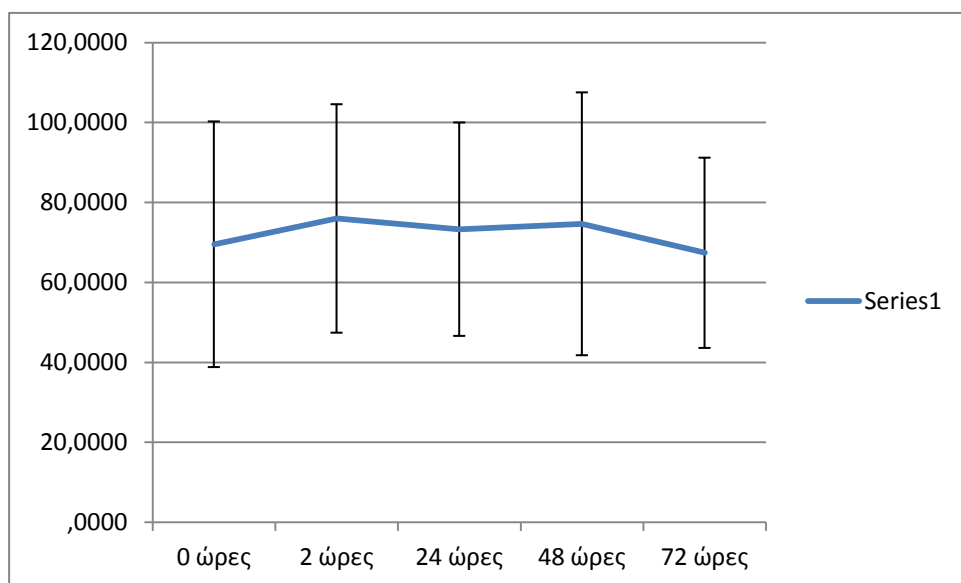
Σχήμα 4.1: Επίπεδα TBARS πριν και μετά την άσκηση

Στο σχήμα 2 παρουσιάζεται η ποσοστιαία μεταβολή των TBARS κατά τις αντίστοιχες χρονικές στιγμές ως προς τα επίπεδα TBARS πριν το πρωτόκολλο άσκησης.



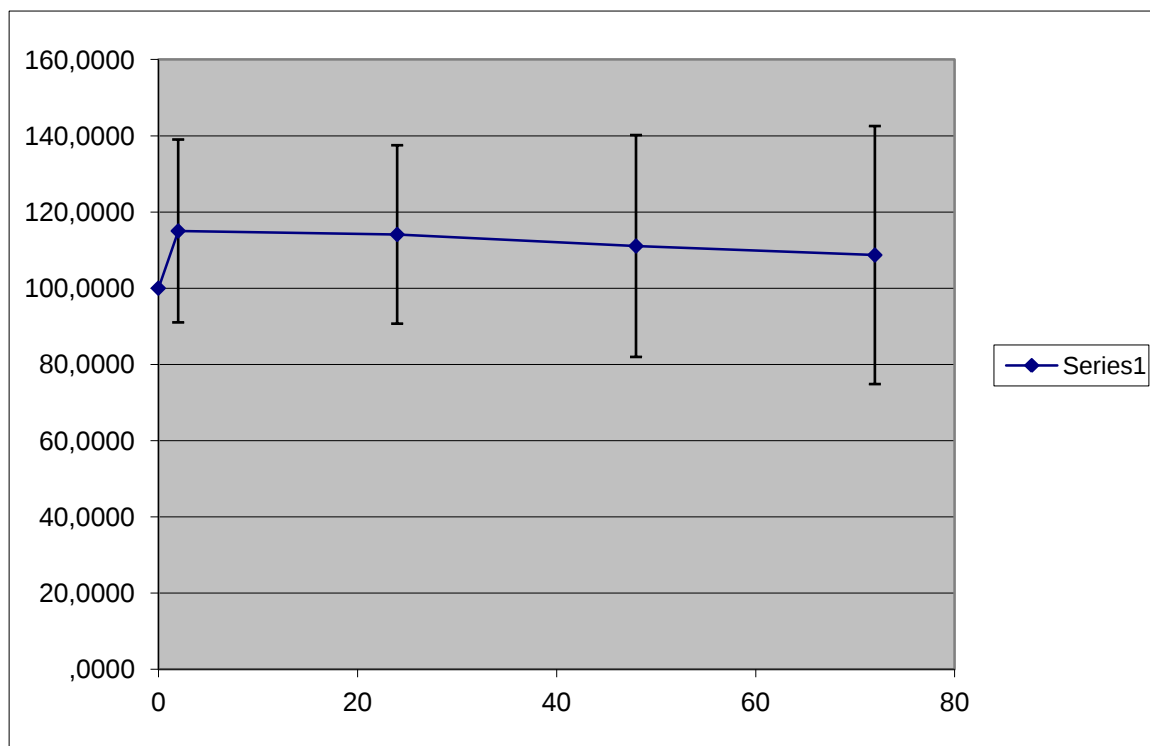
Σχήμα 4.2: Ποσοστιαία μεταβολή TBARS ως προς την τιμή στον χρόνο 0 (μηδέν)

Κατά αντίστοιχο τρόπο στο σχήμα 3 παρουσιάζεται ο χρόνος αντίστασης του ορού στην οξείδωση (LagTime) πριν την άσκηση και στις 2, 24, 48 και 72 ώρες μετά την άσκηση.



Σχήμα 4.3: Τιμές LagTime πριν και μετά την άσκηση

Τέλος στο σχήμα 4 φαίνεται η ποσοστιαία μεταβολή του LagTime κατά τις αντίστοιχες χρονικές στιγμές ως προς την τιμή του LagTime πριν την άσκηση.



Σχήμα 4.4: Ποσοστιαία μεταβολή Lagtime ως προς την τιμή στον χρόνο 0 (μηδέν)

4.1.3 Συσχέτιση βασικών ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών με TBARS και LagTime

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται ο έλεγχος που έγινε για πιθανές συσχετίσεις μεταξύ βασικών ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών και των επιπέδων TBARS και LagTime των εθελοντών πριν την παρέμβαση. Για τον έλεγχο χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής Pearson.

Πίνακας 4.3: πιθανές συσχετίσεις TBARS, LagTime με βασικά χαρακτηριστικά

		Επίπεδα TBARS πριν την άσκηση	LagTime πριν την άσκηση
Επίπεδα TBARS πριν την άσκηση	Pearson Correlation	1	0,501
	Sig. (2-tailed)		0,057
LagTime πριν την άσκηση	Pearson Correlation	0,501	1
	Sig. (2-tailed)	0,057	
Ηλικία	Pearson Correlation	-0,021	-0,275
	Sig. (2-tailed)	0,941	0,321
Ύψος εθελοντών	Pearson Correlation	0,219	-0,278
	Sig. (2-tailed)	0,433	0,315
Βάρος εθελοντών	Pearson Correlation	-0,064	-0,263
	Sig. (2-tailed)	0,822	0,344
BMI	Pearson Correlation	-0,248	-0,06
	Sig. (2-tailed)	0,372	0,831
Χρόνος άσκησης την εβδομάδα (min)	Pearson Correlation	0,357	0,102
	Sig. (2-tailed)	0,232	0,74
Χρόνος ασκήσεων Με αντιστάσεις την εβδομάδα (min)	Pearson Correlation	-0,419	-0,751
	Sig. (2-tailed)	0,349	0,052
Δραστικότητα CK πριν την άσκηση	Pearson Correlation	-0,391	-0,506
	Sig. (2-tailed)	0,149	0,054
Δραστικότητα LDH πριν την άσκηση	Pearson Correlation	0,174	-0,062
	Sig. (2-tailed)	0,534	0,826
Επίπεδα λευκοκυττάρων	Pearson Correlation	-0,095	-0,203

	Sig. (2-tailed)	0,735	0,469
Επίπεδα λεμφοκυττάρων	Pearson Correlation	-0,138	0,05
	Sig. (2-tailed)	0,639	0,866
Επίπεδα ουδετερόφιλων	Pearson Correlation	-0,136	-0,358
	Sig. (2-tailed)	0,642	0,209
Επίπεδα ερυθροκυττάρων	Pearson Correlation	0,086	-0,219
	Sig. (2-tailed)	0,761	0,432
Αιμοσφαιρίνη	Pearson Correlation	0,257	0,168
	Sig. (2-tailed)	0,355	0,55
Αιματοκρίτης	Pearson Correlation	0,46	0,24
	Sig. (2-tailed)	0,084	0,389
Επίπεδα αιμοπεταλίων	Pearson Correlation	0,046	-0,243
	Sig. (2-tailed)	0,871	0,383
Μέσος όγκος αιμοπεταλίων	Pearson Correlation	,706*	0,19
	Sig. (2-tailed)	0,033	0,624
Δραστικότητα υπεροξειδάσης γλουταθειόνης	Pearson Correlation	0,179	-0,309
	Sig. (2-tailed)	0,559	0,305
Λιπή μάζα κάτω άκρων	Pearson Correlation	0,059	-0,441
	Sig. (2-tailed)	0,834	0,1
Λιπή μάζα σώματος	Pearson Correlation	-0,096	-0,402
	Sig. (2-tailed)	0,733	0,138

4.1.4 Συσχέτιση επιπέδων TBARS και LAGTIME με ανθρωπομετρικά στοιχεία που προέκυψαν από την εξέταση DXA.

Όλοι οι εθελοντές πριν χωριστούν σε ομάδες υποβλήθηκαν σε εξέταση με την μέθοδο της απορροφησιομετρίας ακτινών Χ διπλής ενέργειας (DXA) από την οποία προέκυψαν 92 διαφορετικά στοιχεία που αφορούν την σύσταση σώματος του κάθε εθελοντή. Τα στοιχεία αυτά χρησιμοποιήθηκαν για τον έλεγχο συσχέτισης με τα επίπεδα TBARS και LAGTIME των εθελοντών πριν την έναρξη της παρέμβασης και πριν οι εθελοντές υποβληθούν στο πρώτο LIST.

Ο έλεγχος έγινε με τον συντελεστή Pearson. Δεν βρέθηκε καμία στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ των επιπέδων TBARS και των δεδομένων που προέκυψαν από την μέτρηση DXA. Αντίθετα στατιστικά σημαντική σχέση βρέθηκε ανάμεσα στο LAGTIME και στις άλιπη μάζα κάτω άκρων και την οστική πυκνότητα της σπονδυλικής στήλης.

Πίνακας 4.4: Συσχέτιση LAGTIME με ανθρωπομετρικά στοιχεία DXA

		LAGTIME πριν την παρέμβαση και το LIST
Άλιπη μάζα κάτω άκρων	Pearson Correlation	-0,441
	Sig. (2-tailed)	0,1
Οστική πυκνότητα σπονδυλικής στήλης	Pearson Correlation	-0,485
	Sig. (2-tailed)	0,057

4.1.5 Επίδραση βασικών ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών στην μεταβολή των TBARS

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται ο έλεγχος για πιθανές συσχετίσεις μεταξύ των βασικών ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών με την μεταβολή που προέκυψε στα επίπεδα TBARS μετά το πρωτόκολλο LIST. Η μεταβολή των TBARS συνοψίζεται στη μεταβλητή TBARS_AUC η οποία εκφράζει την περιοχή πάνω από την καμπύλη των επιπέδων TBARS και προέκυψε από τις μετρήσεις πριν καθώς και στις 2, στις 24, στις 48 και στις 72 ώρες μετά το πρωτόκολλο LIST. Για τον έλεγχο χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής Pearson.

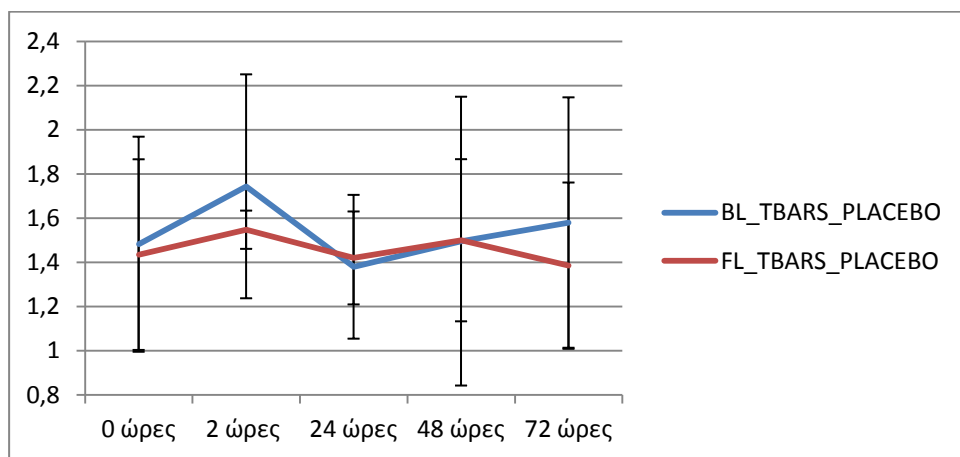
Πίνακας 4.5: Επίδραση βασικών ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών στην μεταβολή των TBARS

		TBARS_AUC
Ηλικία	Pearson Correlation	,170
	Sig. (2-tailed)	,544
Ύψος	Pearson Correlation	-,502
	Sig. (2-tailed)	,057
Βάρος	Pearson Correlation	,071

	Sig. (2-tailed)	,803
BMI	Pearson Correlation	,486
	Sig. (2-tailed)	,066
Χρόνος άσκησης την εβδομάδα (min)	Pearson Correlation	,009
	Sig. (2-tailed)	,975
Χρόνος ασκήσεων Με αντιστάσεις την εβδομάδα (min)	Pearson Correlation	-,509
	Sig. (2-tailed)	,243
Δραστικότητα CK πριν την άσκηση	Pearson Correlation	,128
	Sig. (2-tailed)	,649
Δραστικότητα LDH πριν την άσκηση	Pearson Correlation	-,226
	Sig. (2-tailed)	,418
Επίπεδα λευκοκυττάρων	Pearson Correlation	,177
	Sig. (2-tailed)	,528
Επίπεδα λεμφοκυττάρων	Pearson Correlation	,065
	Sig. (2-tailed)	,826
Επίπεδα ουδετερόφιλων	Pearson Correlation	,218
	Sig. (2-tailed)	,454
Επίπεδα ερυθροκυττάρων	Pearson Correlation	-,477
	Sig. (2-tailed)	,072
Αιμοσφαιρίνη	Pearson Correlation	,000
	Sig. (2-tailed)	1,000
Αιματοκρίτης	Pearson Correlation	-,094
	Sig. (2-tailed)	,738
Επίπεδα αιμοπεταλίων	Pearson Correlation	-,329
	Sig. (2-tailed)	,231
Λιπώδης μάζα κάτω άκρων	Pearson Correlation	,354
	Sig. (2-tailed)	,195
Άλιπη μάζα κάτω άκρων	Pearson Correlation	-,343
	Sig. (2-tailed)	,211
Συνολική λιπώδης μάζα	Pearson Correlation	,430
	Sig. (2-tailed)	,110
Συνολική άλιπη μάζα	Pearson Correlation	-,206
	Sig. (2-tailed)	,461

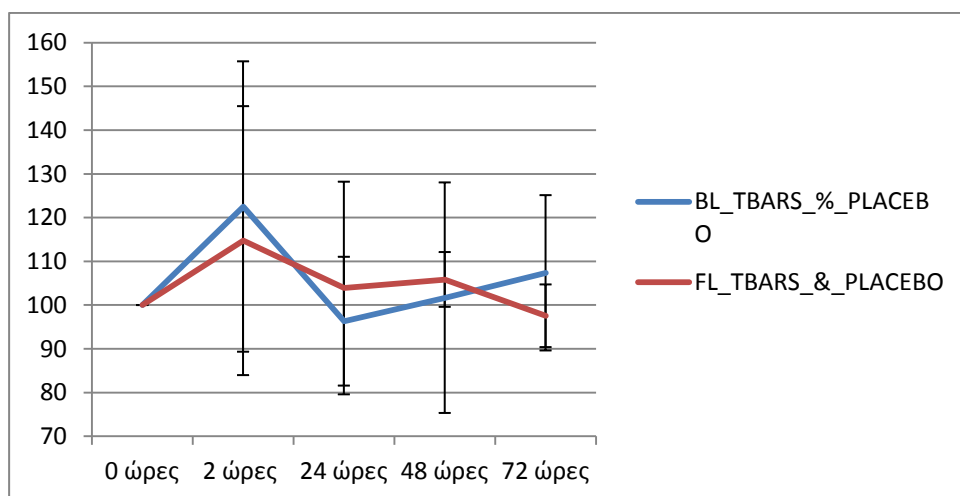
4.1.6 Επίδραση της παρέμβασης στα TBARS και LagTime στην ομάδα Placebo

Στο παρακάτω σχήματα παρουσιάζεται η σύγκριση της κινητικής των μετρήσεων των TBARS και LagTime της ομάδας Placebo πριν και μετά την παρέμβαση. Με BL (BASELINE) συμβολίζεται η σειρά μετρήσεων πριν την παρέμβαση και με FL (FOLLOW UP) η σειρά μετρήσεων μετά την παρέμβαση. Υπενθυμίζεται ότι κάθε σειρά περιλαμβάνει μετρήσεις στις 0, 2, 24, 48 και 72 ώρες. Για κάθε μία από τις δύο σειρές μετρήσεων κάθε εθελοντής υποβλήθηκε, ακριβώς μετά από την αιμοληψία στις 0 ώρες, στο πρωτόκολλο LIST. Μετά το τέλος του LIST έγιναν οι υπόλοιπες 4 αιμοληψίες στα αντίστοιχα χρονικά διαστήματα. Επίσης υπενθυμίζεται ότι οι εθελοντές της ομάδας Placebo λάμβαναν καθημερινά για έξι εβδομάδες (χρονικό διάστημα ανάμεσα στα δύο πρωτόκολλα LIST) 3,2γρ πρωτεϊνών ορού γάλακτος.



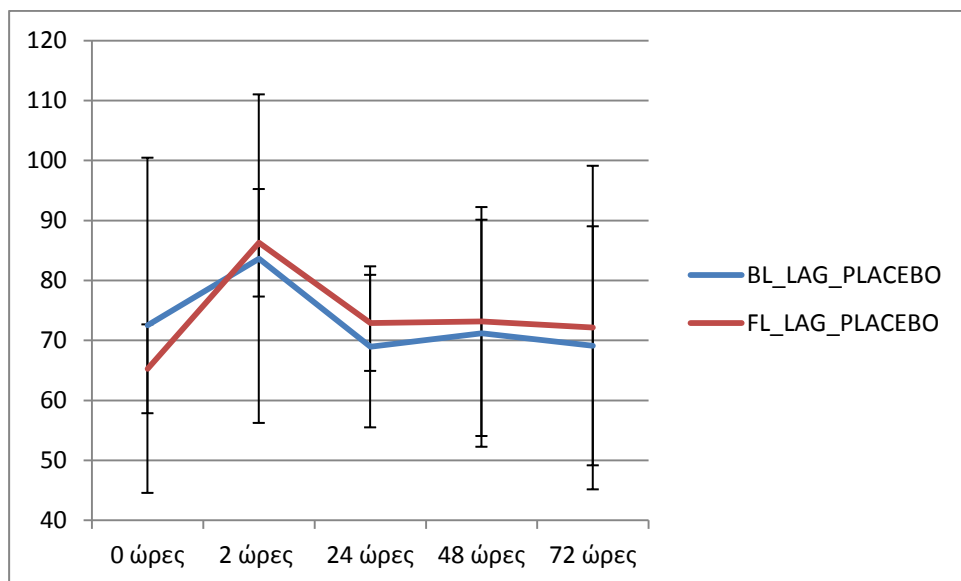
Σχήμα 4.5: Επίδραση παρέμβασης στα TBARS στην ομάδα Placebo

Στο επόμενο σχήμα γίνεται η ίδια σύγκριση με την διαφορά ότι τα επίπεδα TBARS στις 2, 24, 48 και 72 ώρες εκφράζονται ως ποσοστό μεταβολής σε σχέση με τα επίπεδα TBARS στις 0 (μηδέν) ώρες.



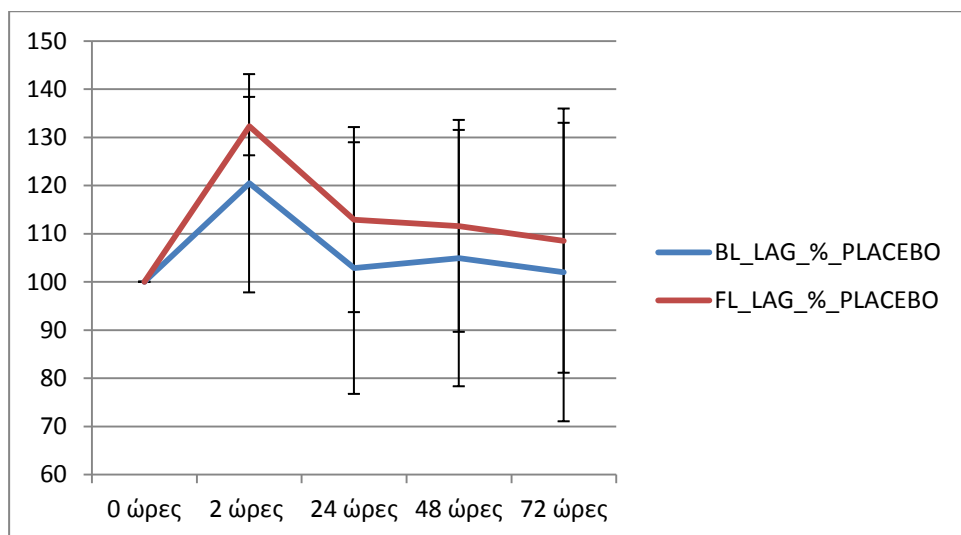
Σχήμα 4.6: Επίδραση παρέμβασης στα %TBARS στην ομάδα Placebo

Στην συνέχεια ακολουθεί παρουσίαση αντίστοιχης σύγκρισης του χρόνου αντίστασης του ορού στην οξείδωση (LAGTIME), της ομάδας Placebo στην αρχή και στο τέλος των έξι εβδομάδων.



Σχήμα 4.7: Επίδραση της παρέμβασης στο LAGTIME στην ομάδα Placebo

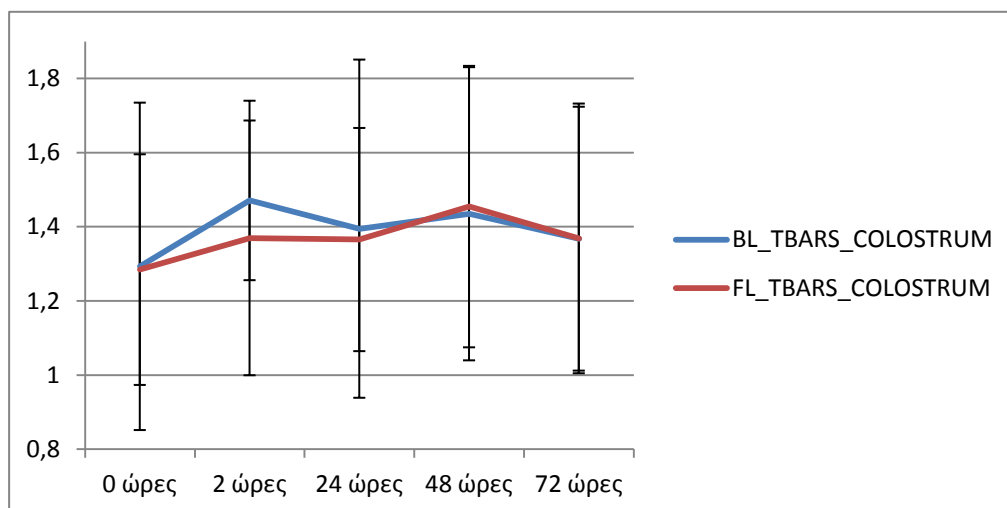
Τέλος η αντίστοιχη σύγκριση παρουσιάζεται και ως ποσοστιαία μεταβολή των τιμών του LAGTIME σε σχέση με την τιμή στην χρονική στιγμή 0 ώρες.



Σχήμα 4.8: Επίδραση της παρέμβασης στο LAGTIME στην ομάδα Placebo

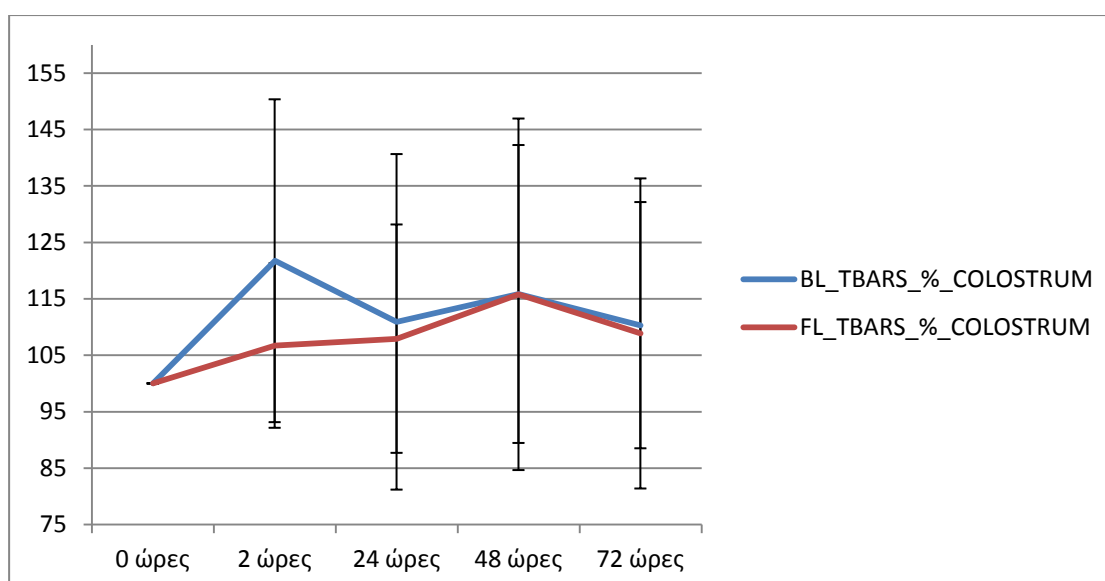
4.1.7 Επίδραση της παρέμβασης στα TBARS και LagTime στην ομάδα Colostrum

Στο παρακάτω σχήματα παρουσιάζεται η σύγκριση της κινητικής των μετρήσεων των TBARS και LagTime της ομάδας παρέμβασης (Colostrum) πριν και μετά την παρέμβαση. Με BL (BASELINE) συμβολίζεται η σειρά μετρήσεων πριν την παρέμβαση και με FL (FOLLOW UP) η σειρά μετρήσεων μετά την παρέμβαση. Υπενθυμίζεται ότι οι εθελοντές της ομάδας Placebo λάμβαναν καθημερινά για έξι εβδομάδες (χρονικό διάστημα ανάμεσα στα δύο πρωτόκολλα LIST) 3,2γρ Colostrum.



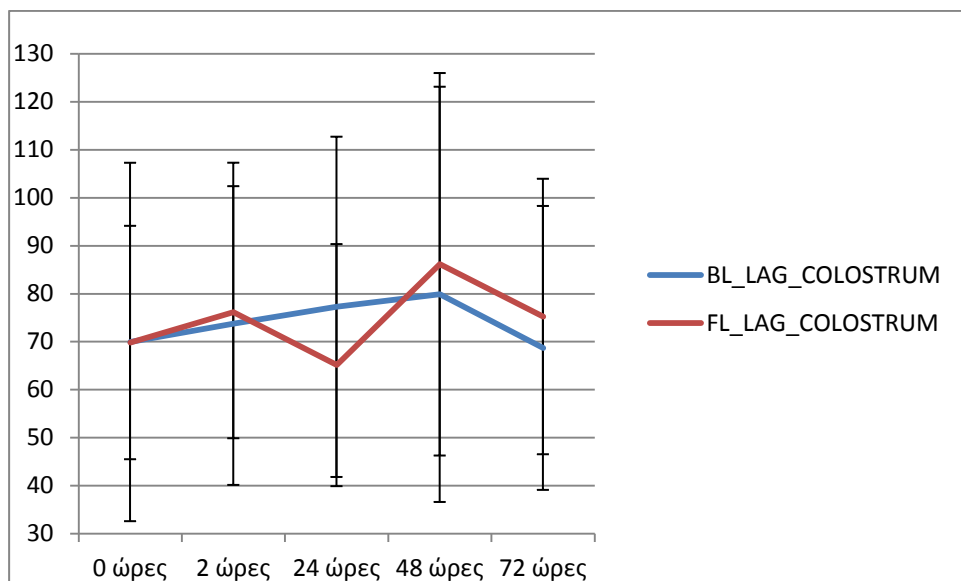
Σχήμα 4.9: Επίδραση παρέμβασης στα TBARS στην ομάδα Colostrum

Στο επόμενο σχήμα γίνεται η ίδια σύγκριση με την διαφορά ότι τα επίπεδα TBARS στις 2, 24, 48 και 72 ώρες εκφράζονται ως ποσοστό μεταβολής σε σχέση με τα επίπεδα TBARS στις 0 (μηδέν) ώρες.



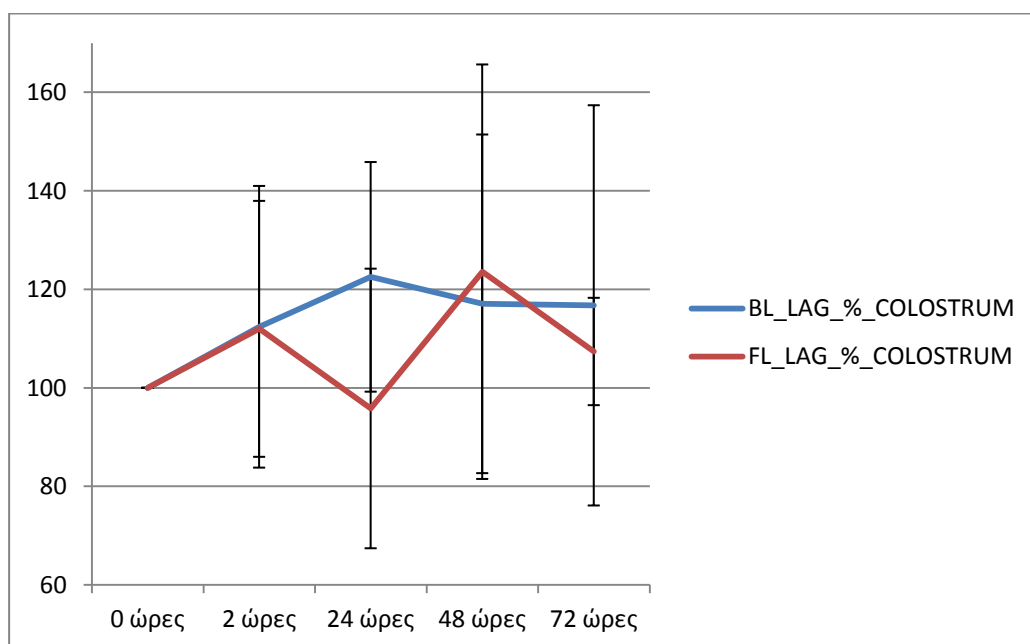
Σχήμα 4.10: Επίδραση παρέμβασης στα %TBARS στην ομάδα Colostrum

Στην συνέχεια ακολουθεί παρουσίαση αντίστοιχης σύγκρισης του χρόνου αντίστασης του ορού στην οξείδωση (LAGTIME), της ομάδας Colostrum στην αρχή και στο τέλος των έξι εβδομάδων.



Σχήμα 4.11: Επίδραση της παρέμβασης στο LAGTIME στην ομάδα Colostrum

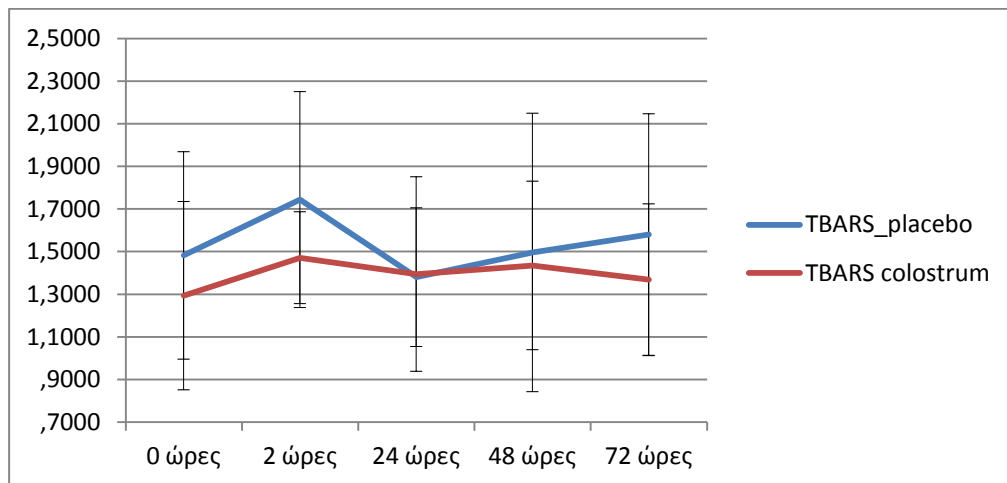
Τέλος η αντίστοιχη σύγκριση παρουσιάζεται και ως ποσοστιαία μεταβολή των τιμών του LAGTIME σε σχέση με την τιμή στην χρονική στιγμή 0 ώρες.



Σχήμα 4.12: Επίδραση της παρέμβασης στο LAGTIME στην ομάδα Colostrum

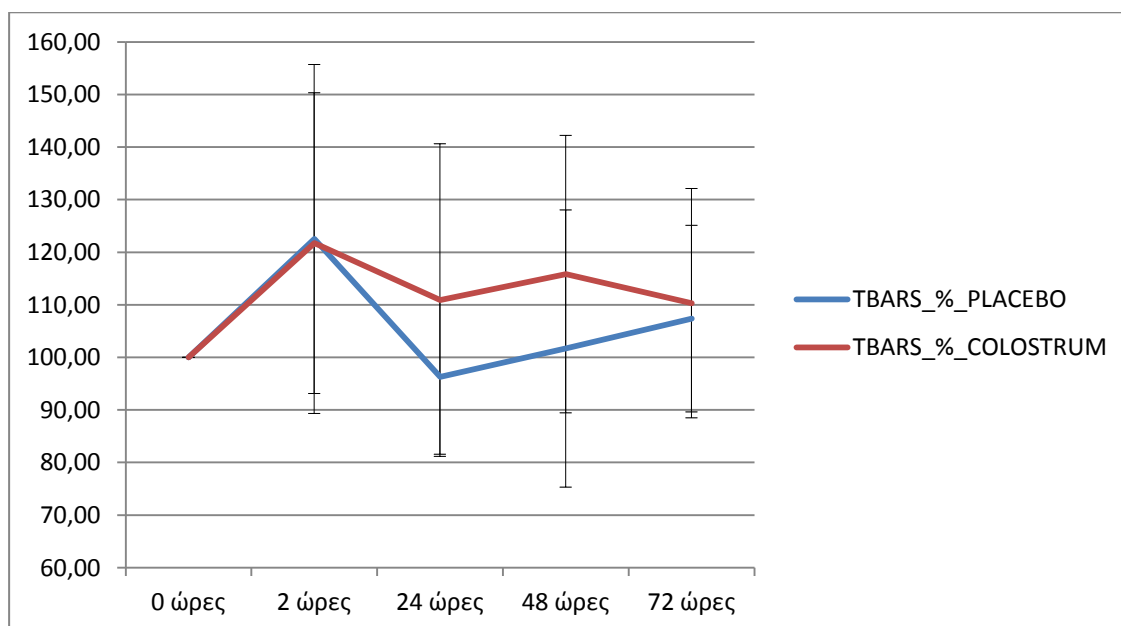
4.1.8 Σύγκριση της επίδρασης του LIST στην κινητική των TBARS και LAGTIME ανάμεσα στις ομάδες PLACEBO και COLOSTRUM πριν την παρέμβαση.

Σε αυτό το σημείο εξετάζεται το εάν διαφέρουν η κινητική των TBARS και LAGTIME ανάμεσα στις ομάδες ελέγχου και παρέμβασης στην αρχή των έξι εβδομάδων, δηλαδή πριν ξεκινήσει η χορήγηση WP (πρωτεΐνη ορού γάλακτος) στην ομάδα Placebo και BC στην ομάδα Colostrum. Στο ακόλουθο διάγραμμα παρουσιάζεται η κινητική των TBARS των δύο ομάδων πριν την παρέμβαση.



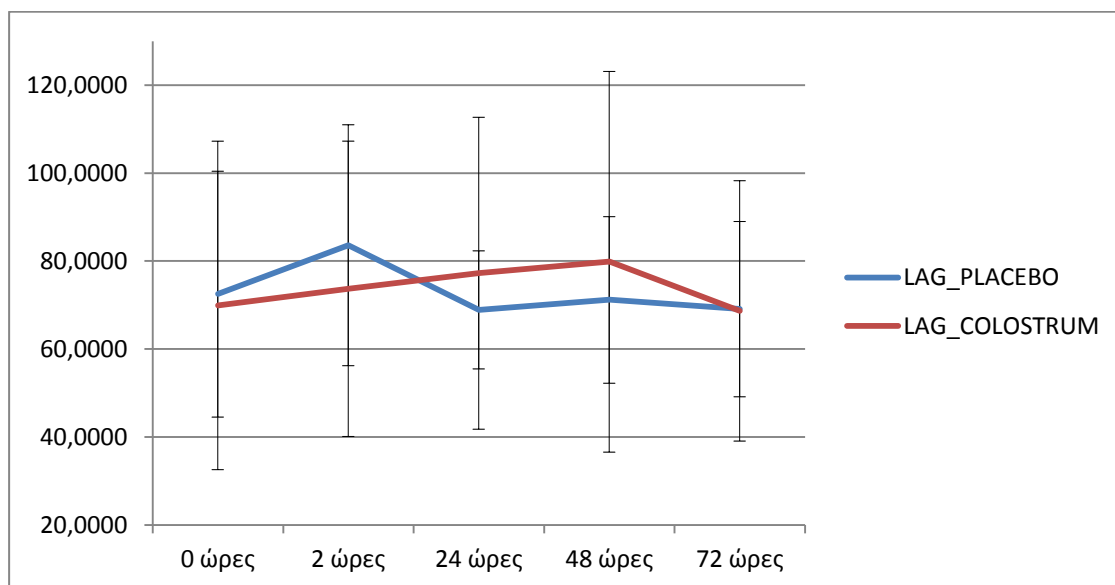
Σχήμα 4.13: Σύγκριση TBARS των δύο ομάδων πριν την παρέμβαση

Ακολούθως παρουσιάζεται η σύγκριση της κινητικής των TBARS των δύο ομάδων πριν την παρέμβαση με τις τιμές των TBARS στις 2, 24, 48 και 72 ώρες να εκφράζονται ως ποσοστό μεταβολής ως προς την τιμή στις 0 ώρες.



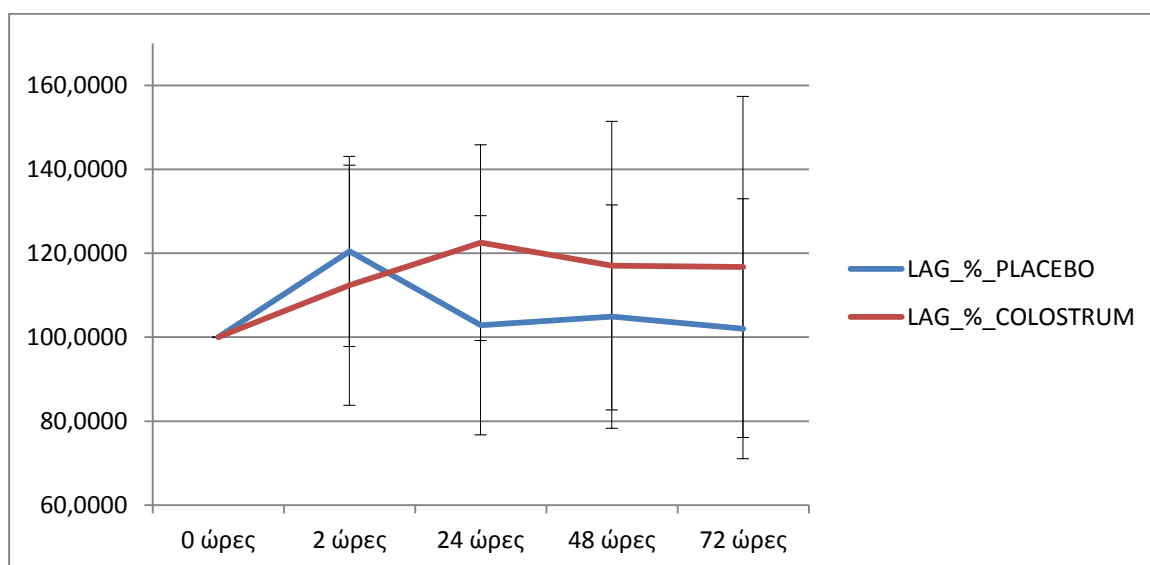
Σχήμα 4.14: Σύγκριση %TBARS των δύο ομάδων πριν την παρέμβαση

Αντίστοιχα έγινε σύγκριση των LAGTIME των δύο ομάδων πριν την παρέμβαση.



Σχήμα 4.15: Σύγκριση LAGTIME των δύο ομάδων πριν την παρέμβαση

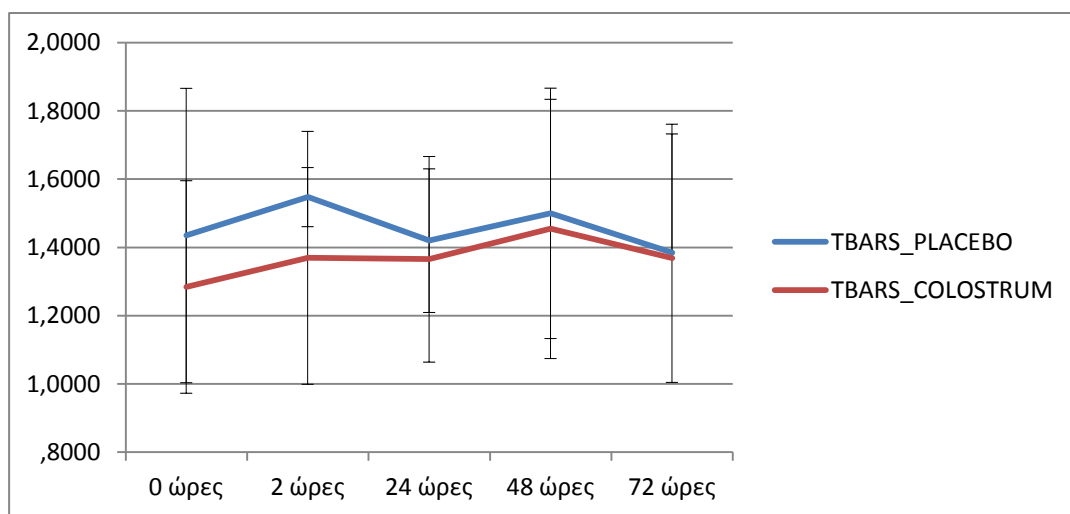
Τέλος παρουσιάζεται η παραπάνω σύγκριση ως ποσοστό μεταβολής των LAGTIME.



Σχήμα 4.16: Σύγκριση %LAGTIME των δύο ομάδων πριν την παρέμβαση

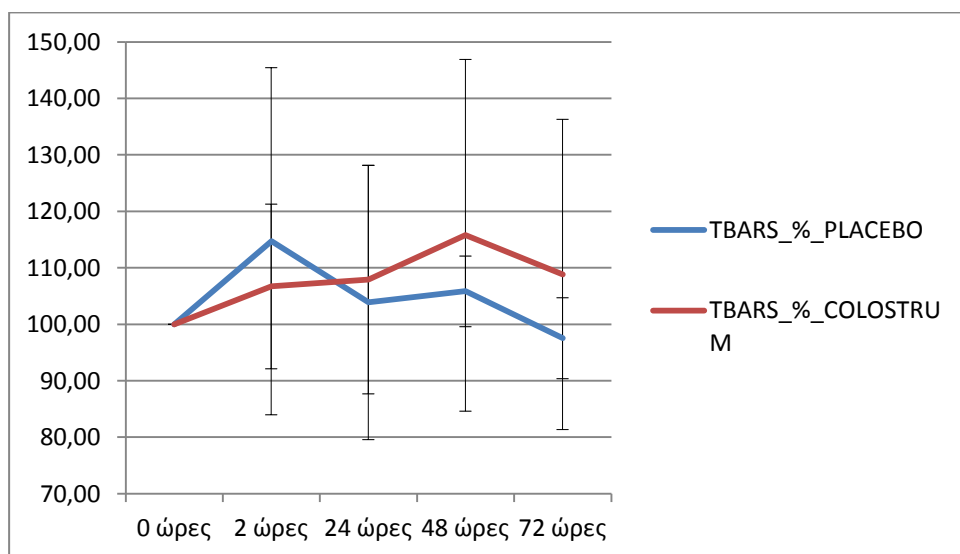
4.1.9 Σύγκριση της επίδρασης του LIST στην κινητική των TBARS και LAGTIME ανάμεσα στις ομάδες PLACEBO και COLOSTRUM μετά την παρέμβαση.

Σε αυτό το σημείο εξετάζεται το εάν διαφέρουν η κινητική των TBARS και LAGTIME ανάμεσα στις ομάδες Placebo και Colostrum στο τέλος της παρέμβασης, δηλαδή με το πέρας των 6 εβδομάδων διάστημα κατά το οποίο έλαβε χώρα η χορήγηση WP (πρωτεΐνη ορού γάλακτος) στην ομάδα Placebo και BC στην ομάδα Colostrum. Στο ακόλουθο διάγραμμα παρουσιάζεται η κινητική των TBARS των δύο ομάδων μετά την παρέμβαση.



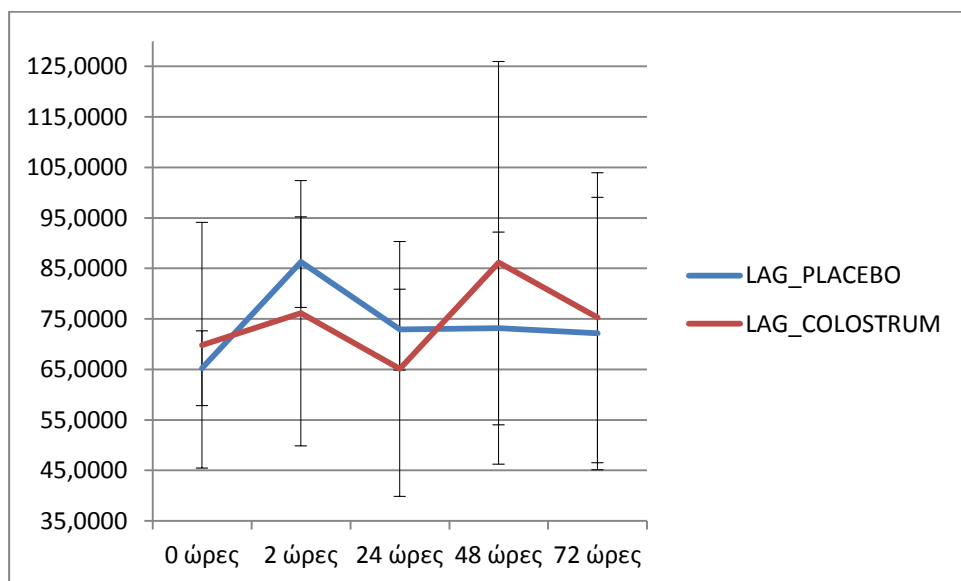
Σχήμα 4.17: Σύγκριση TBARS των δύο ομάδων μετά την παρέμβαση

Ακολουθώντας παρουσιάζεται η σύγκριση της κινητικής των TBARS των δύο ομάδων πριν την παρέμβαση με τις τιμές των TBARS στις 2, 24, 48 και 72 ώρες να εκφράζονται ως ποσοστό μεταβολής ως προς την τιμή στις 0 ώρες.



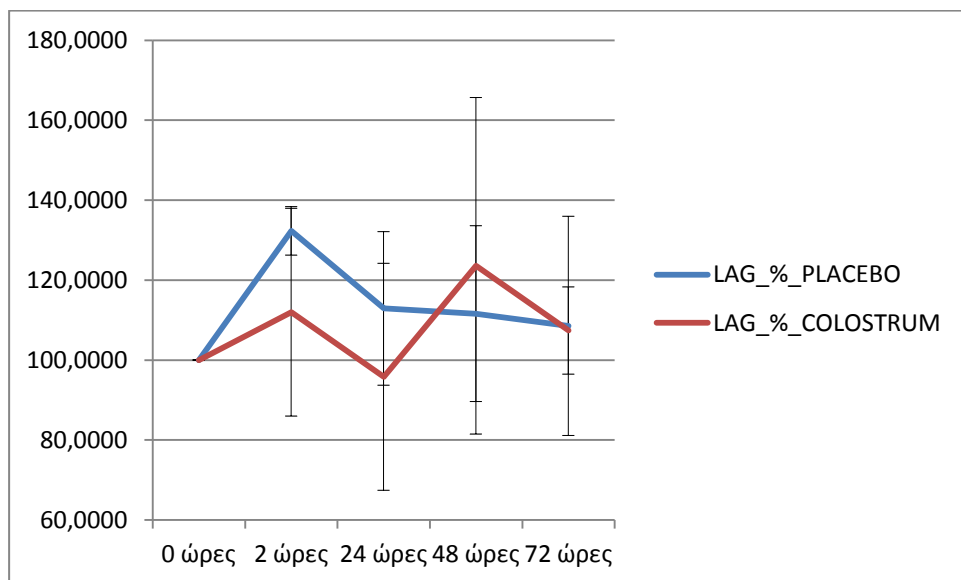
Σχήμα 4.18: Σύγκριση %TBARS των δύο ομάδων μετά την παρέμβαση

Αντίστοιχα έγινε σύγκριση των LAGTIME των δύο ομάδων μετά την παρέμβαση.



Σχήμα 4.19: Σύγκριση LAGTIME των δύο ομάδων μετά την παρέμβαση

Τέλος παρουσιάζεται η παραπάνω σύγκριση ως ποσοστό μεταβολής των LAGTIME.



Σχήμα 4.20: Σύγκριση %LAGTIME των δύο ομάδων μετά την παρέμβαση

4.1.10 Συσχέτιση της μεταβολής των επιπέδων TBARS και LAGTIME με τις μεταβολές ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών

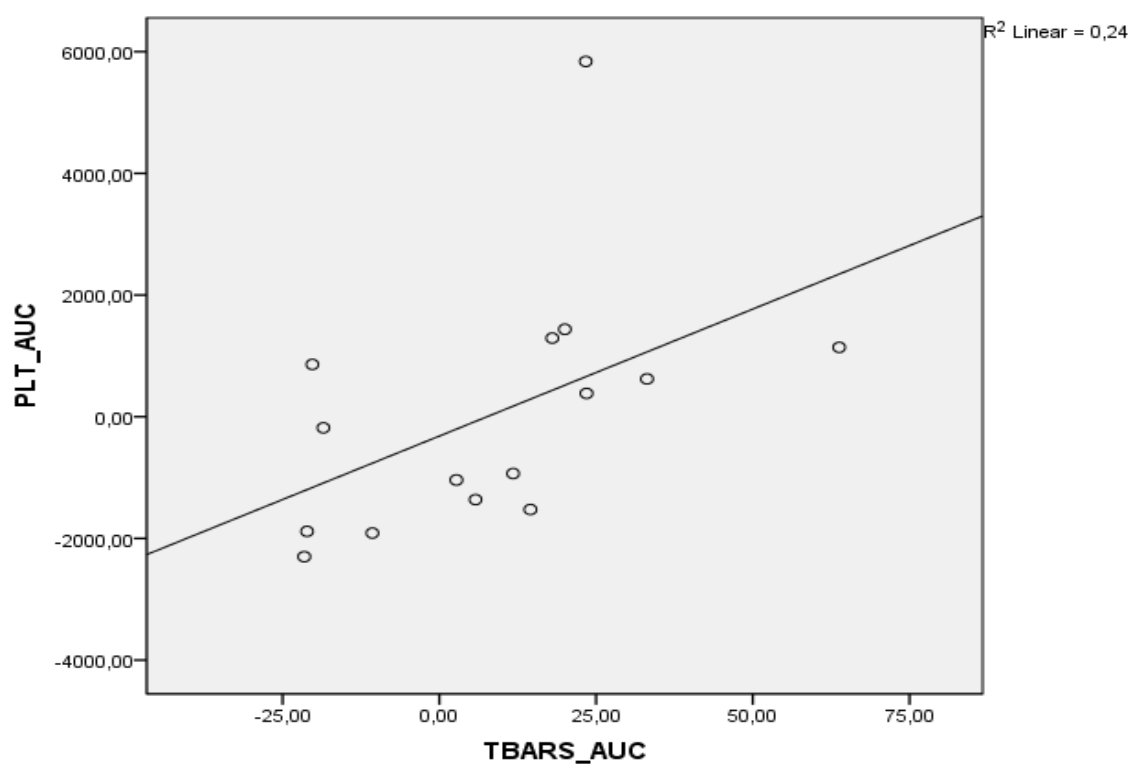
Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται ο έλεγχος για πιθανές συσχετίσεις μεταξύ των μεταβολών βασικών ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών με την μεταβολή που προέκυψε στα επίπεδα TBARS και LAGTIME. Οι μεταβολές στα χαρακτηριστικά αυτά προέκυψαν μετά το πρωτόκολλο LIST, πριν την έναρξη της παρέμβασης. Η μεταβολή των TBARS συνοψίζεται στη μεταβλητή TBARS_AUC η οποία εκφράζει την περιοχή πάνω από την καμπύλη των επιπέδων TBARS και προέκυψε από τις μετρήσεις πριν καθώς και στις 2, στις 24, στις 48 και στις 72 ώρες μετά το πρωτόκολλο LIST. Κατά παρόμοιο τρόπο όλες οι μεταβολές των χαρακτηριστικών εκφράζονται ως εμβαδόν κάτω από την καμπύλη. Για τον έλεγχο χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής Pearson.

Πίνακας 4.6 : Συσχέτιση AUC_TBARS και LAGTIME με μεταβολές άλλων χαρακτηριστικών

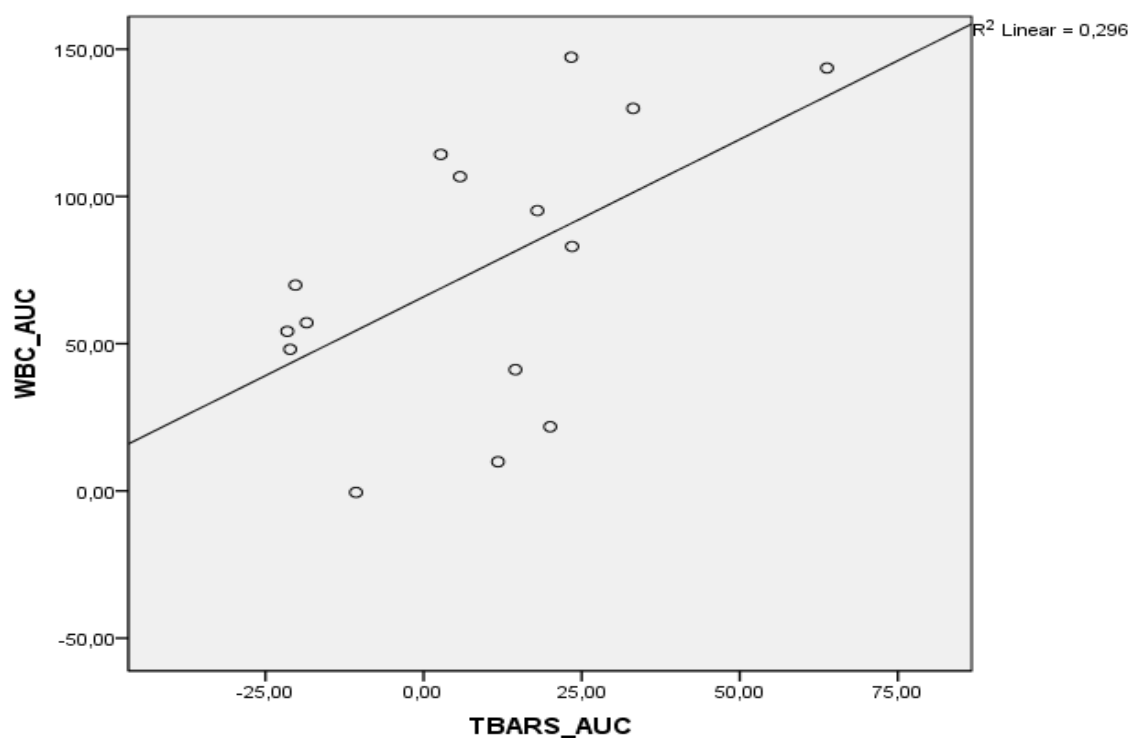
Μεταβολή στα επίπεδα		Μεταβολή TBARS	Μεταβολή LAGTIME
TBARS	Pearson Correlation	1	,119
	Sig. (2-tailed)		,672
LAGTIME	Pearson Correlation	,119	1
	Sig. (2-tailed)	,672	
Λευκοκυττάρων	Pearson Correlation	,544	-,002
	Sig. (2-tailed)	,036	,995
Ουδετερόφιλων	Pearson Correlation	,463	-,040
	Sig. (2-tailed)	,129	,901
Αιμοπεταλίων	Pearson Correlation	,489	,323
	Sig. (2-tailed)	,064	,240
Μέγιστης ροπής τετρακεφάλου	Pearson Correlation	,099	-,195
	Sig. (2-tailed)	,815	,643
Μέσης ροπής τετρακεφάλου	Pearson Correlation	-,098	-,210
	Sig. (2-tailed)	,818	,617
Μέσης ροπής τετρακεφάλου/βάρους	Pearson Correlation	-,096	-,240
	Sig. (2-tailed)	,820	,568
Αντίληψης πόνου τετρακεφάλου	Pearson Correlation	,189	,032
	Sig. (2-tailed)	,654	,940
Αντίληψης πόνου δικεφάλου	Pearson Correlation	-,554	,022
	Sig. (2-tailed)	,154	,959
VAS_AD_AUC	Pearson Correlation	-,604	-,684
	Sig. (2-tailed)	,113	,061
VAS_AB_AUC	Pearson Correlation	-,303	-,474
	Sig. (2-tailed)	,466	,235
Αντίληψης πόνου γαστροκνημίου	Pearson Correlation	,002	-,125
	Sig. (2-tailed)	,997	,769

CK	Pearson Correlation	,055	-,084
	Sig. (2-tailed)	,845	,765
LDH	Pearson Correlation	,256	-,044
	Sig. (2-tailed)	,358	,875
GPX3	Pearson Correlation	,009	,399
	Sig. (2-tailed)	,976	,177

Στον έλεγχο διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική σχέση ανάμεσα στην μεταβολή των TBARS με την μεταβολή των λευκών αιμοσφαιρίων ($r=0.535$, $p=0.036$) και των αιμοπεταλίων($r=0.489$, $p=0.064$) . Στα παρακάτω διαγράμματα παρουσιάζονται οι γραμμικές συσχετίσεις.



Σχήμα 4.21: Γραμμική σχέση μεταβολής TBARS με την μεταβολή αιμοπεταλίων



Σχήμα 4.22:Γραμμική σχέση μεταβολή TBARS με την μεταβολή λευκοκυττάρων

4.1.11 Σύγκριση ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών μεταξύ των ομάδων PLACEBO και COLOSTRUM πριν την παρέμβαση

Πριν την έναρξη της παρέμβασης έγινε έλεγχος (T-Test) για να διαπιστωθεί εάν υπάρχει κάποια διαφορά σε ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά των δύο ομάδων. Οι δύο ομάδες εμφανίστηκαν εξομοιωμένες καθώς δεν φάνηκε καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά σε οποιοδήποτε από τα χαρακτηριστικά τα οποία συμπεριλήφθηκαν στον έλεγχο. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του ελέγχου.

Πίνακας 4.7: Σύγκριση χαρακτηριστικών μεταξύ των δύο ομάδων πριν την παρέμβαση

Μεταβλητές	Ομάδα PLACEBO	Ομάδα COLOSTRUM	Pvalue
Ηλικία (έτη)	20 ± 2	20,78 ± 2 ,39	,531
Ύψος (m)	1,77 ± 0,5	1,79 ± 0,8	,558
Βάρος (kgr)	72,2 ± 5,1	74,5 ± 6,1	,464
B.M.I. (kg/m ²)	23,0 ± 0,4	23,2 ± 1,8	,692
VO2MAX (L/min)	51,8 ± 2,7	51,3 ± 2,4	,583
Χρόνος προπόνησης/εβδομάδα (min)	394 ± 171	372 ± 174	,829
Χρόνος προπόνησης με αντιστάσεις/εβδομάδα (min)	120 ± 84	157 ± 93	,662
Λευκοκύτταρα (10 ³ /μL)	6,46 ± 1,86	5,61 ± 1,2	,393

Ερυθροκύτταρα ($10^3/\mu\text{L}$)	$5,11 \pm 0,64$	$5,16 \pm 0,49$	,893
Αιμοσφαιρίνη (gr/dL)	$14,58 \pm 0,91$	$14,96 \pm 1,33$	,544
Αιματοκρίτης (%)	$40,52 \pm 3,$	$40,87 \pm 3,$	,855
Αιμοπετάλια ($10^3/\mu\text{L}$)	222 ± 36	226 ± 29	,856
Μέσος όγκος αιμοπεταλίων (fL)	$8,87 \pm 0,85$	$8,38 \pm 0,46$	,435
Μέγιστη ροπή τετρακεφάλου (nm)	288 ± 40	334 ± 67	,193
Μέση ροπή τετρακεφάλου (nm)	269 ± 36	306 ± 67	,262
Μέση ροπή τετρακεφάλου/ βάρος (100nm/kg)	363 ± 34	405 ± 88	,288
CK	$132,2 \pm 60,6$	$152,3 \pm 74,5$	,607
LDH	$355,7 \pm 78,4$	$276,2 \pm 75,9$	,108
TBARS (μM)	$1,48 \pm 0,49$	$1,29 \pm 0,44$	,501
LAGTIME (min)	72 ± 27	69 ± 37	,890
GPX3	$0,6 \pm 0,3$	$0,6 \pm 0,2$	,906
Λιπώδης μάζα σώματος (kg)	$8,4 \pm 2,3$	$9,3 \pm 1,8$	,507
Άλιπη μάζα σώματος (kg)	$60,8 \pm 3,9$	$62,1 \pm 4,6$	,606
Λιπώδης μάζα κάτω άκρων (kg)	$2,9 \pm 0,8$	$3,1 \pm 0,4$	,654
Άλιπη μάζα κάτω άκρων (kg)	20 ± 2	$21,3 \pm 1,9$	,435

4.1.12 Διαχωρισμός των εθελοντών ανάλογα με την επίδραση του LIST στα επίπεδα TBARS και περιγραφή των χαρακτηριστικών τους.

Κατά την διάρκεια της ανάλυσης των δεδομένων διαπιστώθηκε ότι έπειτα από την διενέργεια του πρώτου πρωτοκόλλου LIST τα επίπεδα των TBARS αυξήθηκαν σε ορισμένους εθελοντές ενώ στους υπόλοιπους έμειναν σχετικά αμετάβλητα ή μειώθηκαν. Στην συνέχεια ακολούθησε διαχωρισμός των εθελοντών σε δύο ομάδες. Στην ομάδα non-responders (N=6) κατατάχτηκαν οι εθελοντές των οποίων η AUC των TBARS μετά το πρώτο LIST ήταν αρνητική ή και η αύξηση των TBARS μέχρι τις δύο πρώτες ώρες μετά το LIST ήταν μικρότερη του 10%. Οι εναπομείναντες εθελοντές κατατάχτηκαν στην ομάδα responders (N=9).

Κατά την στατιστική ανάλυση βρέθηκε ότι οι εθελοντές της ομάδας non-responders ήταν σημαντικά υψηλότεροι σε σχέση με τους εθελοντές της ομάδας responders ($184 \pm 6\text{cm}$ vs. $177 \pm 5\text{cm}$, $p < 0.05$). Επίσης στατιστικώς σημαντική διαφορά βρέθηκε στα επίπεδα TBARS των δύο ομάδων πριν το πρώτο πρωτόκολλο LIST. Συγκεκριμένα η ομάδα non-responders εμφάνισε στατιστικώς σημαντικά υψηλότερα επίπεδα TBARS κατά την αρχική μέτρηση ($1,72 \pm 0,26\mu\text{M}$ vs. $1,12 \pm 0,38\mu\text{M}$, $p < 0.05$).

4.2 Δεύτερο πρωτόκολλο – Επίδραση διαφορετικών μορφών BC σε δείκτες οξειδωτικού στρες

Υπενθυμίζεται ότι σε αυτό το μέρος της έρευνας δεν χρησιμοποιήθηκε πρωτόκολλο πρόκλησης ασκησιογενούς βλάβης όπως προηγουμένως (LIST). Εδώ διερευνήθηκε η επίδραση της χορήγησης διαφορετικών μορφών BC στους δείκτες οξειδωτικού στρες TBARS και LAGTIME. Με την έναρξη της χορήγησης οι εθελοντές χωρίστηκαν σε 5 ομάδες και οι εθελοντές της κάθε ομάδας λάμβανε καθημερινά για 6 εβδομάδες κάποια μορφή BC ή placebo (πρωτεΐνη ορού γάλακτος). Οι μετρήσεις έλαβαν χώρα σε τρεις χρονικές στιγμές, στην αρχή της παρέμβασης (0w), ενδιάμεσα στις τρεις εβδομάδες (3w) και στο τέλος της παρέμβασης, δηλαδή στις έξι εβδομάδες (6w). Οι πέντε ομάδες παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 4.8: Περιγραφή ομάδων του 2^{ου} πρωτοκόλλου της μελέτης

	ΣΥΜΒΟΛΙΣΜΟΣ	Χορήγηση καθημερινώς για 6 εβδομάδες
ΟΜΑΔΑ Α - PLACEBO	WP 3,2	3,2γρ πρωτεΐνης ορού γάλακτος
ΟΜΑΔΑ Β - COLOSTRUM	BC 3,2	3,2γρ βόειου πρωτογάλακτος
ΟΜΑΔΑ Γ - PLACEBO	WP 0,8	0,8γρ πρωτεΐνης ορού γάλακτος
ΟΜΑΔΑ Δ - COLOSTRUM	BC 0,8	0,8γρ βόειου πρωτογάλακτος
ΟΜΑΔΑ Ε - COLOSTRUM	BCL 8	8ml πρωτογάλακτος σε υγρή μορφή

4.2.1 Συσχέτιση βασικών ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών με TBARS και LagTime

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται ο έλεγχος που έγινε για πιθανές συσχετίσεις μεταξύ βασικών ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών και των επιπέδων TBARS και LagTime των εθελοντών πριν την παρέμβαση (0W). Για τον έλεγχο χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής Pearson.

Πίνακας 4.9: πιθανές συσχετίσεις TBARS, LagTime με βασικά χαρακτηριστικά

		Επίπεδα TBARS	LAGTIME
Επίπεδα TBARS	Pearson Correlation	1	,301
	Sig. (2-tailed)		,067
LAGTIME	Pearson Correlation	,301	1

	Sig. (2-tailed)	,067	
Ηλικία	Pearson Correlation	,020	-,203
	Sig. (2-tailed)	,908	,227
Ύψος	Pearson Correlation	,217	-,024
	Sig. (2-tailed)	,191	,887
Βάρος	Pearson Correlation	,094	-,058
	Sig. (2-tailed)	,574	,728
BMI	Pearson Correlation	-,035	-,266
	Sig. (2-tailed)	,879	,244
Περίμετρος μέσης	Pearson Correlation	,180	-,210
	Sig. (2-tailed)	,424	,347
Περίμετρος ισχύων	Pearson Correlation	,108	-,269
	Sig. (2-tailed)	,631	,225
Λόγος περιμέτρου μέσης/ισχύων	Pearson Correlation	,205	-,083
	Sig. (2-tailed)	,503	,787
Συστολική πίεση	Pearson Correlation	-,427	-,235
	Sig. (2-tailed)	,021	,220
Χρόνος προπόνησης/εβδομάδα	Pearson Correlation	-,142	-,077
	Sig. (2-tailed)	,437	,675
Χρόνος ασκήσεων αντιστάσεων/εβδομάδα	Pearson Correlation	-,110	-,479
	Sig. (2-tailed)	,636	,028
Λευκοκύτταρα	Pearson Correlation	-,244	,030
	Sig. (2-tailed)	,139	,860
Λεμφοκύτταρα	Pearson Correlation	-,232	,118
	Sig. (2-tailed)	,166	,486
Ουδετερόφιλα	Pearson Correlation	-,226	-,026
	Sig. (2-tailed)	,179	,880
Ερυθροκύτταρα	Pearson Correlation	-,056	,190
	Sig. (2-tailed)	,739	,252
Αιμοσφαιρίνη	Pearson Correlation	,212	,166
	Sig. (2-tailed)	,202	,319
Αιματοκρίτης	Pearson Correlation	,339	,200
	Sig. (2-tailed)	,037	,228
Αιμοπετάλια	Pearson Correlation	,061	-,052

	Sig. (2-tailed)	,714	,758
Μέσος όγκος αιμοπεταλίων	Pearson Correlation	-,056	,166
	Sig. (2-tailed)	,761	,364
Δραστικότητα GPX3	Pearson Correlation	,306	-,216
	Sig. (2-tailed)	,074	,213

Επίσης έγινε έλεγχος με τον συντελεστή Pearson για πιθανές συσχετίσεις μεταξύ των TBARS και LAGTIME με τις 92 μεταβλητές σύστασης σώματος που προέκυψαν από την μέτρηση με την μέθοδο DXA. Κατά τον έλεγχο δεν παρουσιάστηκε καμία στατιστικώς σημαντική σχέση.

4.2.2 Σύγκριση ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών μεταξύ των ομάδων πριν την παρέμβαση

Πριν την έναρξη της παρέμβασης έγινε έλεγχος (T-Test) για να διαπιστωθεί εάν υπάρχει κάποια διαφορά σε ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά των πέντε ομάδων. Οι ομάδες εμφανίστηκαν εξομοιωμένες καθώς δεν φάνηκε καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά σε οποιοδήποτε από τα χαρακτηριστικά τα οποία συμπεριλήφθηκαν στον έλεγχο. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του ελέγχου.

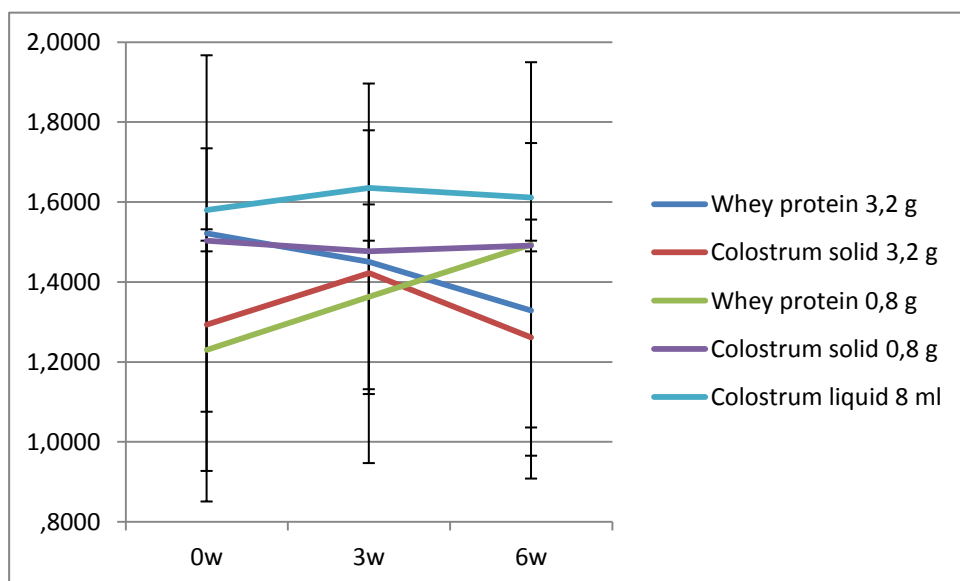
Πίνακας 4.10: Σύγκριση χαρακτηριστικών μεταξύ των δύο ομάδων πριν την παρέμβαση

	WP 3,6	BC 3,6	WP 0,8	BC 0,8	BCL 8	Pvalue
Ηλικία(έτη)	19,6 ± 1,9	20,7 ± 2,3	26 ± 6,9	21,8 ± 4	23 ± 6,5	,183
Υψος (m)	1,78 ± 0,05	1,79 ± 0,08	1,76 ± 0,04	1,795 ± 0,04	1,78 ± 0,1	,898
Βάρος(kgr)	73,5 ± 5,6	74,55 ± 6,1	74,83 ± 4,5	81,16 ± 10,9	76,65 ± 13,3	,477
BMI (kgr/m ²)	23,08 ± 0,47	23,47 ± 1,25	26,2 ± 1,55	25,92 ± 2,88	23,71 ± 2,31	,188
Περίμετρος μέσης (cm)	80 ± 2,1	81 ± 2,1	81,33 ± 5,2	90,25 ± 8,2	82,91 ± 7,4	,144
Περίμετρος ισχύων (cm)	92,5 ± 3	98 ± 3	97 ± 4	103 ± 7	99 ± 6	,387
WHR	0,86 ± 0,03	0,82 ± 0,03	0,82 ± 0,12	0,89 ± 0,02	0,81 ± 0,02	,375
Συστολική πίεση(mm Hg)	118 ± 17	127 ± 14	129 ± 5	129 ± 9	130 ± 6	,405

Διαστολική πίεση (mm Hg)	63 ± 14	72 ± 7	73 ± 10	74 ± 8	68 ± 9	,441
Λευκοκύτταρα (10 ³ /μL)	6,41 ± 1,6	5,61 ± 1,19	6,58 ± 0,98	5,78 ± 1,26	5,41 ± 1,06	,347
Λεμφοκύτταρα (10 ³ /μL)	2,55 ± 0,81	2,01 ± 0,38	2,41 ± 0,43	1,95 ± 0,29	1,97 ± 0,36	,066
Αιμοσφαιρίνη (gr/dL)	14,33 ± 1,01	14,95 ± 1,32	14,6 ± 0,61	14,86 ± 0,89	15,08 ± 0,9	,657
Αιματοκρίτης	40 ± 3	40 ± 3	40 ± 1	41 ± 2	41 ± 2	,829
Αιμοπετάλια (10 ³ /μL)	232 ± 40	226 ± 30	228 ± 49	210 ± 39	227 ± 45	,853
Μέσος όγκος αιμοπεταλίων	8,9 ± 0,69	8,38 ± 0,46	8,6 ± 0,76	8,54 ± 0,79	8,33 ± 0,6	,709
TBARS (μM)	1,52 ± 0,44	1,29 ± 0,44	1,23 ± 0,3	1,5 ± 0,21	1,58 ± 0,33	,273
LAGTIME (min)	69 ± 26	57 ± 31	40 ± 6	47 ± 15	45 ± 9	,110
Δραστικότητα GPX3	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,005	0,06 ± 0,009	0,06 ± 0,008	,874

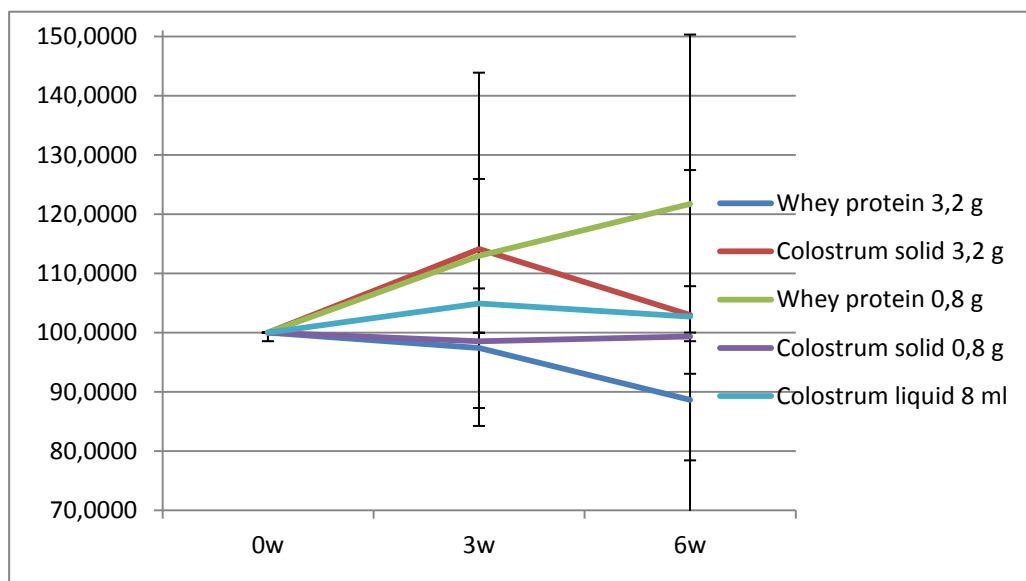
4.2.3 Σύγκριση της επίδρασης των παρεμβάσεων στα επίπεδα των TBARS

Σε αυτό το σημείο γίνεται η παρουσίαση της κινητικής των TBARS για κάθε ομάδα παρέμβασης σε κοινό διάγραμμα ώστε να καταστεί δυνατή η άμεση σύγκριση. Υπενθυμίζεται ότι η κινητική προέκυψε από τον προσδιορισμό των TBARS σε τρεις διαφορετικές στιγμές για κάθε ομάδα. Στην αρχή (0w), κατά την διάρκεια (3w) και στο τέλος της παρέμβασης (6w) δηλαδή στις 6 εβδομάδες από την αρχή της παρέμβασης.



Σχήμα 4.23: Κοινή παρουσίαση της κινητικής των TBARS σε κάθε ομάδα παρέμβασης

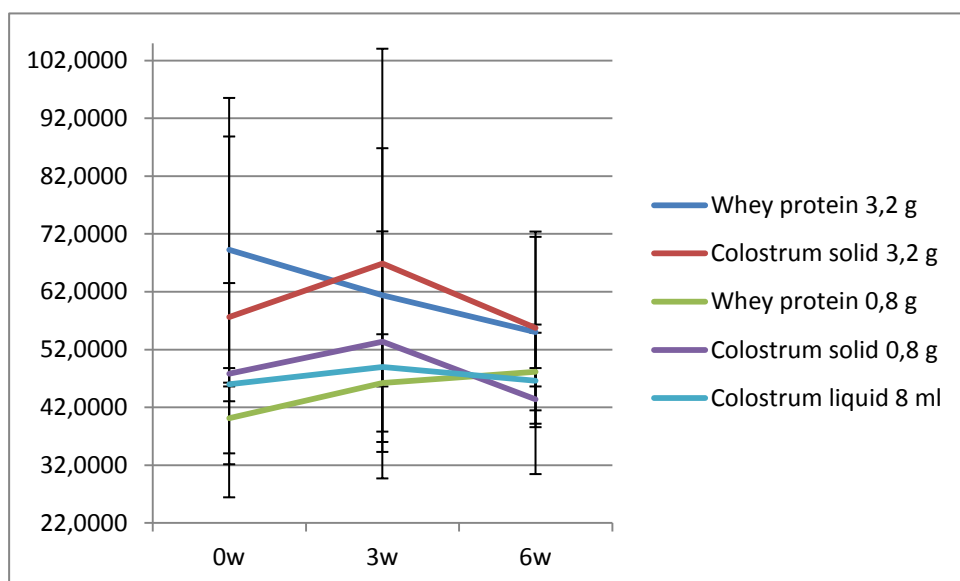
Ακολουθεί διάγραμμα στο οποίο τα επίπεδα των TBARS στις 3 και 6 εβδομάδες για κάθε ομάδα εκφράζονται ως ποσοστό επί των επιπέδων των TBARS στην αρχική μέτρηση (0w).



Σχήμα 4.24: Κοινή παρουσίαση της κινητικής των TBARS σε κάθε ομάδα παρέμβασης εκφρασμένη ως ποσοστό μεταβολής

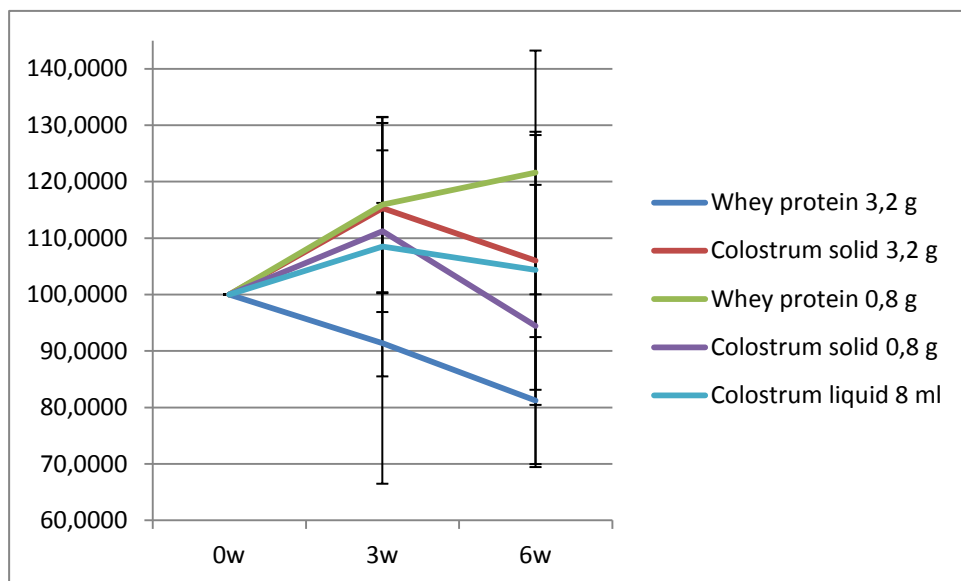
4.2.4 Σύγκριση της επίδρασης των παρεμβάσεων στο LAGTIME

Όπως και παραπάνω στο επόμενο διάγραμμα γίνεται κοινή παρουσίαση των επιπέδων του LAGTIME της κάθε ομάδας για τις χρονικές στιγμές 0w, 3w και 6w.



Σχήμα 4.25: Επίδραση των παρεμβάσεων στο LAGTIME

Στο επόμενο διάγραμμα γίνεται η ίδια σύγκριση με την διαφορά ότι τα επίπεδα LAGTIME για τις χρονικές στιγμές 3w και 6w εκφράζονται ως ποσοστό μεταβολής σε σχέση με τα επίπεδα των αρχικών τιμών (0w).



Σχήμα 4.26:Επίδραση των παρεμβάσεων στην ποσοστιαία μεταβολή του LAGTIME

5. Συζήτηση

Η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη (AMB) και ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος (ΚΜΠ) μπορεί να επέλθουν ακόμα και μέσω της συνήθους προπονητικής διαδικασίας ενός αθλητή. Η κορύφωση του πόνου εντοπίζεται στις 24 με 48 ώρες μετά την βλάβη και υποχωρεί μετά τις 4 μέρες. Παράλληλα παρατηρείται μείωση της παραγόμενης δύναμης και του εύρους κίνησης του μυ καθώς και της αλτικής ικανότητας. Οι αρνητικές επιδράσεις εμφανίζονται σε μεγαλύτερο βαθμό όταν οι αθλητές δεν είναι εξοικειωμένοι με τον τύπο άσκησης που καλούνται να εκτελέσουν ή όταν η άσκηση είναι υψηλής έντασης(7). Τα παραπάνω σε συνδυασμό με την δυσφορία που υπάρχει λόγω της αίσθησης του πόνου, υπονομεύουν το προπονητικό πρόγραμμα και την απόδοση τόσο των αθλητών όσο και των ερασιτεχνών αθλουμένων. Για αυτό το λόγο η αναζήτηση πρακτικών που περιορίζουν τις αρνητικές επιδράσεις της AMB είναι αντικείμενο πολλών ερευνών.

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε η επίδραση της χορήγησης BC σε δείκτες οξειδωτικού στρες έπειτα από ασκησιογενή μυϊκή βλάβη σε δείγμα 17 ποδοσφαιριστών Β' και Γ' εθνικής κατηγορίας και τοπικών πρωταθλημάτων. Θεωρήθηκε σκόπιμο το δείγμα της μελέτης να απαρτίζεται από αθλητές του συγκεκριμένου αθλήματος καθώς οι ποδοσφαιριστές ακολουθούν εβδομαδιαίο κύκλο προπονήσεων με ασκήσεις υψηλής έντασης, άλματα, μυϊκή ενδυνάμωση, με συχνές αγωνιστικές υποχρεώσεις και πολύ μικρά διαστήματα αποκατάστασης. Όλα τα παραπάνω συντελούν στην συχνή εμφάνιση ΚΜΠ στους συγκεκριμένους αθλητές (106). Επιπλέον το ποδόσφαιρο είναι από τα πιο δημοφιλή αθλήματα στην Ελλάδα και στην Ευρώπη γενικότερα, και πολύ άνθρωποι ασχολούνται επαγγελματικά ή ερασιτεχνικά με αυτό. Συνεπώς το αντικείμενο που πραγματεύεται η παρούσα έρευνα αφορά ένα σημαντικό αριθμό αθλητών και αθλουμένων.

Ως μέσω πρόκλησης ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης προτιμήθηκε το πρωτόκολλο LIST (Loughborough Intermittent Shuttle Test) καθώς είναι αδύνατο κανείς να εξασφαλίσει παρόμοιες συνθήκες στρες μέσω ενός ποδοσφαιρικού αγώνα πόσο μάλλον αν οι εθελοντές εξεταζόντουσαν σε διαφορετικό χρόνο δηλαδή σε διαφορετικούς αγώνες. Αντίθετα το πρωτόκολλο LIST προσομοιώνει σε ικανοποιητικό βαθμό ένα ποδοσφαιρικό αγώνα, σε αρκετά ελεγχόμενες συνθήκες και με καλή επαναληψιμότητα. Αν και στο πρωτόκολλο LIST δεν περιλαμβάνονται άλματα, τρέξιμο προς τα πίσω και πλαγίως καθώς και κίνηση με κατοχή

της μπάλας, διάφορες μελέτες έδειξαν ότι ο ΚΜΠ που εμφανίζεται λόγω LIST δεν διαφέρει από εκείνον που προκύπτει από ένα τυπικό αγώνα ποδοσφαίρου (107).

Για την διερεύνηση της επίδρασης BC σε δείκτες οξειδωτικού στρες μετά από ασκησιογενή μυϊκή βλάβη επιλέχτηκε ο σχεδιασμός μία “two-arm” κλινικής δοκιμής. Το ένα σκέλος της μελέτης αποτελούν οι εθελοντές της ομάδα PLACEBO (3,2γρ πρωτεΐνης ορού γάλακτος) με μετρήσεις πριν και 6 εβδομάδες μετά την παρέμβαση και το άλλο σκέλος αποτελούν οι εθελοντές της ομάδας παρέμβασης (3,2γρ BC) επίσης με μετρήσεις πριν και 6 εβδομάδες μετά την έναρξη της χορήγησης των συμπληρωμάτων. Ο συγκεκριμένος σχεδιασμός επιτρέπει τον έλεγχο την μεταβολής ανθρωπομετρικών, εργομετρικών και βιοχημικών παραμέτρων για κάθε εθελοντή ξεχωριστά και ταυτόχρονα επιτρέπει τον έλεγχο για επίδραση του placebo.

Στις περισσότερες μελέτες που διερεύνησαν την επίδραση της χορήγησης BC στην αθλητική απόδοση και αποκατάσταση χρησιμοποιήθηκαν πολύ μεγαλύτερες δόσεις BC (10-100γρ/ημέρα) απ’ ότι στην παρούσα μελέτη (3,2γρ BC)(93-103) . Επίσης ενώ φαίνεται ότι η χορήγηση BC για διάστημα 2 με 3 εβδομάδες επαρκεί για βελτίωση ανοσολογικών χαρακτηριστικών δεν φαίνεται να είναι αρκετό για την βελτίωση της αθλητικής απόδοσης καθώς φαίνεται να είναι απαραίτητη η καθημερινή χορήγηση για περίπου 8 εβδομάδες(82). Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της επίδρασης BC μέσω στοματικής χορήγησης σε ποσότητα τέτοια που να επιτρέπει την χρήση του από μεγάλη μερίδα αθλητών και αθλουμένων. Ακόμα και η δόση 3,2γρ BC την ημέρα αποτελείται από 8 δόσεις (8 ταμπλέτες των 400mg). Επίσης η παραγωγή βόειου πρωτογάλακτος είναι μία ιδιαίτερος δαπανηρή διαδικασία και για αυτό το λόγο η χορήγηση BC σε μεγαλύτερες δοσολογίες ίσως να είναι απαγορευτικές για μεγάλη μερίδα του πληθυσμού. Επιπλέον στον αρχικό σχεδιασμό της μελέτης είχε προληφθεί χορήγηση διάρκειας 8 εβδομάδων. Επειδή όμως παρατηρήθηκε δυσκολία συμμόρφωσης με το πρωτόκολλο της έρευνας από μέρος των εθελοντών, η διάρκεια της παρέμβασης περιορίστηκε στις 6 εβδομάδες.

Είναι γνωστό ότι κατά την άσκηση εμφανίζεται αύξηση του οξειδωτικού στρες λόγω του αυξημένου μεταβολισμού του οξυγόνου κυρίως στα μιτοχόνδρια αλλά φαίνεται ότι ελεύθερες ρίζες παράγονται σε σημαντικό βαθμό και σε άλλα σημεία του κυττάρου. Επιπλέον ενώ το οξειδωτικό στρες εμφανίζεται σχεδόν άμεσα, δεν σταματά με το τέλος της άσκησης και μπορεί να διαρκέσει μέχρι και 4 μέρες. Αυτό οφείλεται κυρίως στην φλεγμονώδη απόκριση που πραγματώνεται με την είσοδο και τη δράση των ουδετερόφιλων και των μακροφάγων στο μυ(17). Φαίνεται ότι η παραγωγή ελευθέρων ριζών από τα

λευκοκύτταρα στο μυ είναι μία απαραίτητη διαδικασία για την αφαίρεση του κατεστραμμένου ιστού και την προώθηση της μυϊκής αποκατάστασης και ανάπτυξης. Παρ' όλα αυτά θεωρείται πιθανό η αναπνευστική έκρηξη που παρατηρείται, να προκαλεί βλάβες σε παρακείμενο υγιή μυϊκό ιστό επιτείνοντας την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη(10)(11). Στην βιβλιογραφία υπάρχουν μελέτες οι οποίες ασχολούνται κυρίως με την επίδραση του BC στην αθλητική απόδοση. Αντίθετα δεν υπάρχουν πολλά δεδομένα όσον αφορά την επίδραση του στην ασκησιογενή μυϊκή βλάβη. Επιπλέον η επίδραση του BC στο ασκησιογενές οξειδωτικό στρες είναι ένα ερώτημα που μόνο μία έρευνα σε πειραματόζωα έχει επιχειρήσει μέχρι στιγμής να δώσει απάντηση (104). Το γεγονός ότι ανάμεσα στην πληθώρα των δυνητικά ευεργετικών συστατικών του βόειου πρωτογάλακτος περιλαμβάνονται και αντιοξειδωτικοί παράγοντες (λακτοφερίνη, SOD, αντιοξειδωτικές βιταμίνες κ.α.)(87) είναι ο λόγος του επιλέχθηκε να εξεταστεί το συγκεκριμένο θέμα στην παρούσα μελέτη.

Οι δείκτες οξειδωτικού στρες που εξετάστηκαν είναι τα TBARS και το LAGTIME. Τα TBARS είναι δείκτης του μεγέθους της λιπιδικής υπεροξείδωσης στον ορό και το LAGTIME είναι ο χρόνος αντίστασης του ορού στην οξείδωση και εμμέσως δείχνει την συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα του ορού. Η ανάλυση των δεδομένων έδειξε ότι η χορήγηση BC δεν είχε καμία επίδραση στους παραπάνω δείκτες στο πρώτο αλλά και στο δεύτερο πρωτόκολλο της μελέτης. Όμως το εύρημα αυτό δεν αποδεικνύει την απουσία επίδρασης της χορήγησης BC στο ασκησιογενές οξειδωτικό στρες. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω η δόση των 3,2γρ BC την ημέρα πιθανώς να μην επαρκεί για την εμφάνιση των ευεργετικών επιδράσεων της χορήγησης. Το ίδιο ενδεχομένως να ισχύει και για την χρονική διάρκεια της μελέτης καθώς στις περισσότερες έρευνες η χορήγηση BC διαρκούσε για 8 ή και περισσότερες εβδομάδες ενώ στην παρούσα μελέτη η διάρκεια ήταν 6 εβδομάδες.

Παρ' όλα αυτά η μοναδική έρευνα που έχει ασχοληθεί με την επίδραση της χορήγησης BC στο ασκησιογενές οξειδωτικό στρες έδειξε ότι υπήρξε θετική επίδραση. Η έρευνα έγινε σε πειραματόζωα. Η χρονική διάρκεια της παρέμβασης ήταν 42 μέρες δηλαδή περίπου όσο και στην παρούσα μελέτη και η δόση ήταν 50mg/kgρ σωματικού βάρους. Το τελευταίο αντιστοιχεί σε δόση 3,5γρ BC την ημέρα για έναν εθελοντή βάρους 70 kgr δηλαδή αρκετά κοντά στα 3,2γρ BC. Τα δεδομένα έδειξαν ότι η χορήγηση BC είχε ως αποτέλεσμα την μείωση της λιπιδικής υπεροξείδωσης και των επιπέδων του ενζύμου οξειδάση της ξανθίνης και αύξηση των επιπέδων της υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD) και των συνολικών αντιοξειδωτικών παραγόντων(104). Εκτός του γεγονότος ότι η έρευνα έγινε σε πειραματόζωα και όχι σε ανθρώπους, η μεγάλη διαφορά από την παρούσα μελέτη, που ενδεχομένως να εξηγεί τις διαφορές στα αποτελέσματα των δύο ερευνών, είναι ότι το

βιολογικό δείγμα που εξετάστηκε ήταν μυϊκός ιστός. Αντίθετα στην παρούσα έρευνα προτιμήθηκε η αιμοληψία από την μυϊκή βιοψία ως μία πιο ήπια παρέμβαση καθώς θεωρήθηκε αδύνατη η λήψη μυϊκού ιστού πέντε φορές μέσα σε τρεις μέρες.

Το οξειδωτικό στρες που προκαλείται στο αίμα λόγω άσκησης δεν συμπίπτει απόλυτα με το οξειδωτικό στρες στον εξασκούμενο μυ. Φαίνεται ότι ένα σημαντικό μέρος του οξειδωτικού στρες που ανιχνεύεται στο αίμα οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στο ίδιο το αίμα. Τα κύτταρα του αίματος (αιμοπετάλια, λευκά και ερυθρά αιμοσφαίρια) αποτελούν ταυτόχρονα πηγές αντιοξειδωτικών παραγόντων αλλά και υπόστρωμα προς οξείδωση. Κυρίως τα πολυακόρεστα λιπαρά των μεμβρανών των κυττάρων είναι ευαίσθητα στα οξείδωση και μέρος αντιοξειδωτικών παραγόντων από το εσωτερικό τους μπορεί να διαρρεύσει στο πλάσμα. Επίσης κατά την άσκηση τα κύτταρα του αίματος καθώς και εκείνα του ενδοθηλίου και τα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων συμμετέχουν στην παραγωγή ελευθέρων ριζών. Επιπλέον εκτός των εξωγενών αντιοξειδωτικών του πλάσματος όπως είναι οι αντιοξειδωτικές βιταμίνες που η συγκέντρωσή τους στο αίμα εξαρτάται από την σύσταση της τροφής, υπάρχουν και τα ενδογενή αντιοξειδωτικά όπως είναι η αλβουμίνη, το ουρικό οξύ, η χολερίθρην και άλλα, σε συγκεντρώσεις που διαφέρουν μεταξύ των ατόμων. Το αίμα διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της οξειδοαναγωγικής ισορροπίας μεταξύ των διαφόρων ιστών στο βαθμό που ο χρόνος ημιζωής των ελευθέρων ριζών και η διαπερατότητα των μεμβρανών το επιτρέπει. Πιο συγκεκριμένα κατά την διάρκεια της άσκησης μέρος των ελευθέρων ριζών που παράγεται εμφανίζει υψηλή δραστικότητα και αντιδρά σχεδόν ακαριαία με υπόστρωμα εβρισκόμενο μέσα στο μυ. Επιπλέον υπάρχει το ενδεχόμενο ορισμένες ελεύθερες ρίζες να μην μπορούν να διαπεράσουν τις μεμβράνες των μυϊκών κυττάρων. Συμπερασματικά λοιπόν γίνεται αντιληπτό ότι το οξειδωτικό στρες που εμφανίζεται στο μυ λόγω της άσκησης διαφέρει σε μεγάλο βαθμό από αυτό που ανιχνεύεται στο πλάσμα. Λαμβάνοντας υπ όψιν τα παραπάνω ίσως μπορεί να εξηγηθεί η ασυμφωνία των αποτελεσμάτων μεταξύ της παρούσας μελέτης με την μοναδική έρευνα που έχει εξετάσει μέχρι στιγμής την υπό συζήτηση υπόθεση(108).

Υπενθυμίζεται ότι οι δείκτες οξειδωτικού στρες που χρησιμοποιήθηκαν είναι τα TBARS και το LAGTIME. Στους περιορισμούς της παρούσας μελέτης είναι και η απουσία μετρήσεων για τα συνολικά λιπίδια ορού του κάθε εθελοντή καθώς το μέγεθος της λιπιδικής υπεροξείδωσης που εκφράζουν τα TBARS μεταβάλλεται και από αυτό τον παράγοντα. Επίσης ο χρόνος αντίστασης του ορού στην οξείδωση (LAGTIME) προφανώς και επηρεάζεται από τα προϋπάρχοντα αντιοξειδωτικά στον ορό. Η συγκέντρωση των τελευταίων στον ορό διαφέρουν από άτομο σε άτομο και το γεγονός ότι δεν κατέστη μέχρι στιγμής

δυνατός ο έλεγχος ως προς αυτούς τους παράγοντες ενδεχομένως να επισκιάζει την όποια επίδραση της χορήγησης BC. Άλλος ένας παράγοντας που δεν έγινε έλεγχος είναι ο βαθμός αιμόλυσης του ορού. Στα δείγματα που ο βαθμός αιμόλυσης ήταν μεγαλύτερος, πιθανό να εμφανίζουν ψευδώς μεγαλύτερο LAGTIME λόγω των αντιοξειδωτικών παραγόντων των ερυθροκυττάρων που διέρρευσαν στον ορό. Επιπλέον δεν έγινε έλεγχος για διαφορές του βαθμού αφυδάτωσης των εθελοντών κατά τις διαφορετικές χρονικές στιγμές των αιμοληψιών και ενδεχομένως να επηρεάζονται τα αποτελέσματα.

Επιπροσθέτως πρέπει να αναφερθεί ότι στην παρούσα μελέτη οι δείκτες οξειδωτικού στρες δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά ως αποτέλεσμα του πρωτοκόλλου LIST. Το μόνο που φάνηκε ήταν μία τάση αύξησης των TBARS στις δύο ώρες σε σχέση με τα προ άσκησης επίπεδα ($p < 0.1$). Συστημική αύξηση του οξειδωτικού στρες αμέσως μετά το ερέθισμα μέχρι τις 24 ώρες παρατηρείται έπειτα από άσκηση που δεν προκαλεί μυϊκή βλάβη(τρέξιμο). Αντίθετα ασκήσεις που προκαλούν μυϊκή βλάβη, έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση του οξειδωτικού στρες στην κυκλοφορία μέχρι και 4 μέρες(109). Το μέσω πρόκλησης AMB στην παρούσα μελέτη ήταν το πρωτόκολλο LIST καθώς ήταν η επιθυμητή η προσομοίωση με έναν αγώνα ποδοσφαίρου. Δεν είναι σαφές σε ποιο είδος άσκησης ανήκει το πρωτόκολλο LIST. Παρ' όλα αυτά ο στόχος της χρήσης του συγκεκριμένου πρωτοκόλλου επιτεύχθηκε καθώς παρουσιάστηκε AMB στην πλειοψηφία των εθελοντών όπως αποτυπώθηκε μέσω της αύξησης της δραστηριότητας της CK στον ορό και της αύξησης της υποκειμενικής αξιολόγησης του πόνου (VAS). Γίνεται λοιπόν αντιληπτό ότι είναι σχεδόν αδύνατη η οποιαδήποτε προσπάθεια ανίχνευσης της επίδρασης της παρέμβασης αφού ουσιαστικά δεν παρουσιάστηκε οξειδωτικό στρες στον ορό. Για την περαιτέρω διερεύνηση του παραπάνω ευρήματος, κατά την διάρκεια της επεξεργασίας των δεδομένων οι εθελοντές χωρίστηκαν σε δύο ομάδες ανάλογα με την μεταβολή του οξειδωτικού στρες ως αποτέλεσμα της επίδρασης του LIST πριν την έναρξη της χορήγησης συμπληρωμάτων. Πιο συγκεκριμένα οι εθελοντές κατατάχτηκαν στην ομάδα non_responders όταν η AUC_TBARS (μεταβολή των TBARS ως αποτέλεσμα του LIST) ήταν αρνητική ή και όταν η αύξηση των TBARS στις δύο ώρες σε σχέση με τα επίπεδα πριν το LIST αυξήθηκαν λιγότερο από 10%. Κατά την σύγκριση των δύο ομάδων βρέθηκε ότι οι εθελοντές της ομάδας non-responders ήταν σημαντικά υψηλότεροι σε σχέση με τους εθελοντές της ομάδας responders ($184 \pm 6\text{cm}$ vs. $177 \pm 5\text{cm}$, $p < 0.05$). Το εύρημα αυτό δύσκολα μπορεί να εξηγηθεί. Το πιο σημαντικό ίσως είναι ότι παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στα επίπεδα TBARS των δύο ομάδων πριν το πρώτο πρωτόκολλο LIST. Συγκεκριμένα η ομάδα non-responders εμφάνισε στατιστικώς σημαντικά υψηλότερα επίπεδα TBARS κατά την αρχική μέτρηση ($1,72 \pm 0,26\mu\text{M}$ vs.

1.12±0.38μM, p<0.05). Δηλαδή όσοι είχαν εξ' αρχής υψηλά επίπεδα TBARS το πρωτόκολλο LIST δεν προκάλεσε επιπλέον λιπιδική υπεροξείδωση και το αντίστροφο. Το εύρημα αυτό μάλλον δεν οφείλεται σε πρότερη ασκησιογενή μυϊκή βλάβη στους εθελοντές της ομάδας non_responders καθώς δεν εμφάνισαν υψηλές τιμές δραστηριότητας CK πριν από το πρώτο LIST. Στη συνέχεια ο έλεγχος για πιθανή επίδραση της χορήγησης BC στους εθελοντές της ομάδας responders δεν κατέστη δυνατός καθώς ο αποκλεισμός από την στατιστική ανάλυση των εθελοντών της ομάδας non_responders είχε ως αποτέλεσμα τον σημαντικό περιορισμό του αριθμού του δείγματος.

Σχεδόν κάθε μελέτη που απαντά κάποιες επιστημονικές υποθέσεις, ταυτοχρόνως γεννά επιπλέον ερωτήματα. Η κατακλείδα συνήθως είναι ότι το υπό εξέταση θέμα χρήζει περαιτέρω διερεύνησης. Αυτό ισχύει και για την παρούσα μελέτη η οποία όμως δεν έχει καταλήξει ακόμα. Είναι εν εξελίξει καθώς συνεχίζονται οι αναλύσεις και η συλλογή δεδομένων και με στόχο την αναζήτηση απαντήσεων στο πρόβλημα της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης.

Βιβλιογραφία

1. Close GL, Ashton T, McArdle A, MacLaren DPM. The emerging role of free radicals in delayed onset muscle soreness and contraction-induced muscle injury. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 2005 Jan 12;142(3):257–66.
2. Howatson G, Van Someren KA. The prevention and treatment of exercise-induced muscle damage. *Sports Medicine*. 2008;38(6):483–503.
3. Gissel H. The Role of Ca^{2+} in Muscle Cell Damage. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006;1066(1):166–80.
4. Peake J, Nosaka K, Suzuki K. Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. *Exercise immunology review*. 2005;11:64–85.
5. McHugh MP, Connolly DAJ, Eston RG, Gleim GW. Exercise-induced muscle damage and potential mechanisms for the repeated bout effect. *Sports Medicine*. 1999;27(3):157–70.
6. Cleak MJ, Eston RG. Muscle soreness, swelling, stiffness and strength loss after intense eccentric exercise. *British Journal of Sports Medicine*. 1992;26(4):267–72.
7. Connolly DAJ, Sayers SP, McHugh MP. Treatment and prevention of delayed onset muscle soreness. *Journal of Strength and Conditioning Research*. 2003;17(1):197–208.
8. Brancaccio P, Lippi G, Maffulli N. Biochemical markers of muscular damage. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2010;48(6):757–67.
9. Malm C, Nyberg P, Engström M, Sjodin B, Lenkei R, Ekblom B, et al. Immunological changes in human skeletal muscle and blood after eccentric exercise and multiple biopsies. *Journal of Physiology*. 2000;529(1):243–62.
10. Toumi H, F'guyer S, Best TM. The role of neutrophils in injury and repair following muscle stretch. *Journal of Anatomy*. 2006;208(4):459–70.
11. Chazaud B, Brigitte M, Yacoub-Youssef H, Arnold L, Gherardi R, Sonnet C, et al. Dual and beneficial roles of macrophages during skeletal muscle regeneration. *Exercise and Sport Sciences Reviews*. 2009;37(1):18–22.
12. O'Grady M, Hackney AC, Schneider K, Bossen E, Steinberg K, Douglas Jr. JM, et al. Diclofenac sodium (Voltaren) reduced exercise-induced injury in human skeletal muscle. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2000;32(7):1191–6.
13. Sies H, Cadenas E. Oxidative stress: damage to intact cells and organs. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological sciences*. 1985;311(1152):617–31.
14. Jones DP. Redefining oxidative stress. *Antioxidants and Redox Signaling*. 2006;8(9-10):1865–79.

15. Aruoma OI. Free radicals and antioxidant strategies in sports. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 1994;5(8):370–81.
16. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*. 1993;49(3):481–93.
17. POWERS SK, JACKSON MJ. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiological reviews*. 2008 Jan 12;88(4):1243–76.
18. Kirlin WG, Cai J, Thompson SA, Diaz D, Kavanagh TJ, Jones DP. Glutathione redox potential in response to differentiation and enzyme inducers. *Free Radical Biology and Medicine*. 1999;27(11-12):1208–18.
19. Reid MB, Khawli FA, Moody MR. Reactive oxygen in skeletal muscle. III. Contractility of unfatigued muscle. *Journal of Applied Physiology*. 1993;75(3):1081–7.
20. Kovacic P, Jacintho JD. Reproductive toxins: Pervasive theme of oxidative stress and electron transfer. *Current Medicinal Chemistry*. 2001;8(7):863–92.
21. Stocker R, Glazer AN, Ames BN. Antioxidant activity of albumin-bound bilirubin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1987;84(16):5918–22.
22. Novotný L, Vítek L. Inverse Relationship Between Serum Bilirubin and Atherosclerosis in Men: A Meta-Analysis of Published Studies. *Experimental Biology and Medicine*. 2003 Jan;228(5):568–71.
23. Fielding RA, Meydani M. Exercise, free radical generation, and aging. *Aging - Clinical and Experimental Research*. 1997;9(1-2):12–8.
24. St-Pierre J, Buckingham JA, Roebuck SJ, Brand MD. Topology of superoxide production from different sites in the mitochondrial electron transport chain. *Journal of Biological Chemistry*. 2002;277(47):44784–90.
25. Brand MD, Affourtit C, Esteves TC, Green K, Lambert AJ, Miwa S, et al. Mitochondrial superoxide: Production, biological effects, and activation of uncoupling proteins. *Free Radical Biology and Medicine*. 2004;37(6):755–67.
26. Di Meo S, Venditti P. Mitochondria in exercise-induced oxidative stress. *Biological Signals and Receptors*. 2001;10(1-2):125–40.
27. Smith JA. Exercise immunology and neutrophils. *International Journal of Sports Medicine, Supplement*. 1997;18(SUPPL. 1):S46–S55.
28. Malm C, Lenkei R, Sjödén B. Effects of eccentric exercise on the immune system in men. *Journal of Applied Physiology*. 1999;86(2):461–8.
29. Close GL, Ashton T, Cable T, Doran D, MacLaren DPM. Eccentric exercise, isokinetic muscle torque and delayed onset muscle soreness: The role of reactive oxygen species. *European Journal of Applied Physiology*. 2004;91(5-6):615–21.

30. Tidball JG. Inflammatory processes in muscle injury and repair. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*. 2005;288(2 57-2):R345–R353.
31. Jackson MJ. An overview of methods for assessment of free radical activity in biology. *Proceedings of the Nutrition Society*. 1999;58(4):1001–6.
32. Bryer SC, Goldfarb AH. Effect of high dose vitamin C supplementation on muscle soreness, damage, function, and oxidative stress to eccentric exercise. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*. 2006 Jun;16(3):270–80.
33. Kaminski M, Boal R. An effect of ascorbic acid on delayed-onset muscle soreness. *PAIN*. 1992;50(3):317–21.
34. Thompson D, Williams C, McGregor SJ, Nicholas CW, McArdle F, Jackson MJ, et al. Prolonged vitamin C supplementation and recovery from demanding exercise. *International Journal of Sport Nutrition*. 2001;11(4):466–81.
35. Connolly D a. J, Lauzon C, Agnew J, Dunn M, Reed B. The effects of vitamin C supplementation on symptoms of delayed onset muscle soreness. *Journal of sports medicine and physical fitness*. 46(3):462–7.
36. 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 radical biology & medicine*. 2001 Sep;31(6):745–53.
37. Close GL, Ashton T, Cable T, Doran D, Holloway C, McArdle F, et al. Ascorbic acid supplementation does not attenuate post-exercise muscle soreness following muscle-damaging exercise but may delay the recovery process. *British Journal of Nutrition*. 2006;95(5):976–81.
38. Zembron-Lacny A, Szyszka K, Sobanska B, Pakula R. Prooxidant-antioxidant equilibrium in rowers: Effect of a single dose of vitamin E. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*. 2006;46(2):257–64.
39. Avery NG, Kaiser JL, Sharman MJ, Scheett TP, Barnes DM, Gómez AL, et al. Effects of Vitamin E Supplementation on Recovery From Repeated Bouts of Resistance Exercise. *Journal of Strength and Conditioning Research*. 2003;17(4):801–9.
40. Sacheck JM, Milbury PE, Cannon JG, Roubenoff R, Blumberg JB. Effect of vitamin E and eccentric exercise on selected biomarkers of oxidative stress in young and elderly men. *Free Radical Biology and Medicine*. 2003;34(12):1575–88.
41. Shimomura Y, Suzuki M, Sugiyama S, Hanaki Y, Ozawa T. Protective effect of coenzyme Q10 on exercise-induced muscular injury. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1991;176(1):349–55.
42. Petersen EW, Ostrowski K, Ibfelt T, Richelle M, Offord E, Halkjær-Kristensen J, et al. Effect of vitamin supplementation on cytokine response and on muscle damage after strenuous exercise. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*. 2001;280(6 49-6):C1570–C1575.

43. Zoppi CC, Hohl R, Silva FC, Lazarim FL, Neto JM, Stancanneli M, et al. Vitamin C and E Supplementation Effects in Professional Soccer Players Under Regular Training. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2006 Dec;3(2):37.
44. Trombold JR, Barnes JN, Critchley L, Coyle EF. Ellagitannin consumption improves strength recovery 2-3 d after eccentric exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2010;42(3):493–8.
45. Trombold JR, Reinfeld AS, Casler JR, Coyle EF. The effect of pomegranate juice supplementation on strength and soreness after eccentric exercise. *Journal of Strength and Conditioning Research*. 2011;25(7):1782–8.
46. Connolly DAJ, McHugh MP, Padilla-Zakour OI. Efficacy of a tart cherry juice blend in preventing the symptoms of muscle damage. *British Journal of Sports Medicine*. 2006;40(8):679–83.
47. Howatson G, McHugh MP, Hill JA, Brouner J, Jewell AP, Van Someren KA, et al. Influence of tart cherry juice on indices of recovery following marathon running. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*. 2010;20(6):843–52.
48. Box W, Hill S, DiSilvestro RA. Soy intake plus moderate weight resistance exercise: Effects on serum concentrations of lipid peroxides in young adult women. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*. 2005;45(4):524–8.
49. Bassit RA, Pinheiro CHDJ, Vitzel KF, Sproesser AJ, Silveira LR, Curi R. Effect of short-term creatine supplementation on markers of skeletal muscle damage after strenuous contractile activity. *European Journal of Applied Physiology*. 2010;108(5):945–55.
50. Wall BT, Stephens FB, Constantin-Teodosiu D, Marimuthu K, Macdonald IA, Greenhaff PL. Chronic oral ingestion of l-carnitine and carbohydrate increases muscle carnitine content and alters muscle fuel metabolism during exercise in humans. *Journal of Physiology*. 2011;589(4):963–73.
51. Huang A, Owen K. Role of supplementary L-carnitine in exercise and exercise recovery. *Medicine and sport science*. 2012;59:135–42.
52. Nosaka K, Sacco P, Mawatari K. Effects of amino acid supplementation on muscle soreness and damage. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*. 2006 Dec;16(6):620–35.
53. Da Luz CR, Nicastro H, Zanchi NE, Chaves DFS, Lancha Jr AH. Potential therapeutic effects of branched-chain amino acids supplementation on resistance exercise-based muscle damage in humans. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2011;8.
54. Nunan D, Howatson G, Van Someren KA. Exercise-induced muscle damage is not attenuated by β -hydroxy- β -methylbutyrate and α -ketoisocaproic acid supplementation. *Journal of Strength and Conditioning Research*. 2010;24(2):531–7.

55. Panton LB, Rathmacher JA, Baier S, Nissen S. Nutritional supplementation of the leucine metabolite β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) during resistance training. *Nutrition*. 2000;16(9):734–9.
56. Nissen SL, Abumrad NN. Nutritional role of the leucine metabolite β -hydroxy β -methylbutyrate (HMB). *Journal of Nutritional Biochemistry*. 1997;8(6):300–11.
57. Slater G, Jenkins D, Logan P, Lee H, Vukovich M, Rathmacher JA, et al. β -Hydroxy- β -Methylbutyrate (HMB) supplementation does not affect changes in strength or body composition during resistance training in trained men. *International Journal of Sport Nutrition*. 2001;11(3):384–96.
58. Silva LA, Silveira PCL, Ronsani MM, Souza PS, Scheffer D, Vieira LC, et al. Taurine supplementation decreases oxidative stress in skeletal muscle after eccentric exercise. *Cell Biochemistry and Function*. 2011;29(1):43–9.
59. Roth E. Nonnutritive effects of glutamine. *Journal of Nutrition*. 2008;138(10):2025S–2031S.
60. Wernerman J. Clinical use of glutamine supplementation. *Journal of Nutrition*. 2008;138(10):2040S–2044S.
61. Street B, Byrne C, Eston R. Glutamine Supplementation in Recovery From Eccentric Exercise Attenuates Strength Loss and Muscle Soreness. *Journal of Exercise Science and Fitness*. 2011;9(2):116–22.
62. Mahé S, Roos N, Benamouzig R, Davin L, Luengo C, Gagnon L, et al. Gastrojejunal kinetics and the digestion of [15N]beta-lactoglobulin and casein in humans: the influence of the nature and quantity of the protein. *The American journal of clinical nutrition*. 1996 Apr;63(4):546–52.
63. Cribb PJ, Williams AD, Stathis CG, Carey MF, Hayes A. Effects of whey isolate, creatine, and resistance training on muscle hypertrophy. *Medicine and science in sports and exercise*. 2007 Feb;39(2):298–307.
64. Jackman SR, Witard OC, Jeukendrup AE, Tipton KD. Branched-chain amino acid ingestion can ameliorate soreness from eccentric exercise. *Medicine and science in sports and exercise*. 2010 May;42(5):962–70.
65. Buckley JD, Thomson RL, Coates AM, Howe PRC, DeNichilo MO, Rowney MK. Supplementation with a whey protein hydrolysate enhances recovery of muscle force-generating capacity following eccentric exercise. *Journal of science and medicine in sport / Sports Medicine Australia*. 2010 Jan;13(1):178–81.
66. White JP, Wilson JM, Austin KG, Greer BK, St John N, Panton LB. Effect of carbohydrate-protein supplement timing on acute exercise-induced muscle damage. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2008;5:5.
67. Close GL, Ashton T, Cable T, Doran D, Noyes C, McArdle F, et al. Effects of dietary carbohydrate on delayed onset muscle soreness and reactive oxygen species after contraction induced muscle damage. *British Journal of Sports Medicine*. 2005;39(12):948–53.

68. Nelson MR, Conlee RK, Parcell AC. Inadequate carbohydrate intake following prolonged exercise does not increase muscle soreness after 15 minutes of downhill running. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*. 2004 Apr;14(2):171–84.
69. Campbell C, Prince D, Braun M, Applegate E, Casazza GA. Carbohydrate-supplement form and exercise performance. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. 2008;18(2):179–90.
70. Millard-Stafford M, Lee Childers W, Conger SA, Kampfer AJ, Rahnert JA. Recovery nutrition: Timing and composition after endurance exercise. *Current Sports Medicine Reports*. 2008;7(4):193–201.
71. Flakoll PJ, Judy T, Flinn K, Carr C, Flinn S. Postexercise protein supplementation improves health and muscle soreness during basic military training in marine recruits. *Journal of Applied Physiology*. 2004;96(3):951–6.
72. Etheridge T, Philp A, Watt PW. A single protein meal increases recovery of muscle function following an acute eccentric exercise bout. *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism*. 2008;33(3):483–8.
73. Betts JA, Williams C. Short-term recovery from prolonged exercise: Exploring the potential for protein ingestion to accentuate the benefits of carbohydrate supplements. *Sports Medicine*. 2010;40(11):941–59.
74. Luden ND, Saunders MJ, Todd MK. Postexercise carbohydrate-protein-antioxidant ingestion decreases plasma creatine kinase and muscle soreness. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. 2007;17(1):109–23.
75. Valentine RJ, Saunders MJ, Todd MK, Laurent TGS. Influence of carbohydrate-protein beverage on cycling endurance and indices of muscle disruption. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. 2008;18(4):363–78.
76. Romano-Ely BC, Todd MK, Saunders MJ, St. Laurent T. Effect of an isocaloric carbohydrate-protein-antioxidant drink on cycling performance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 2006;38(9):1608–16.
77. Betts JA, Toone RJ, Stokes KA, Thompson D. Systemic indices of skeletal muscle damage and recovery of muscle function after exercise: Effect of combined carbohydrate-protein ingestion. *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism*. 2009;34(4):773–84.
78. Gilson SF, Saunders MJ, Moran CW, Moore RW, Womack CJ, Todd MK. Effects of chocolate milk consumption on markers of muscle recovery following soccer training: A randomized cross-over study. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2010;7.
79. Van Hooijdonk ACM, Kussendrager KD, Steijns JM. In vivo antimicrobial and antiviral activity of components in bovine milk and colostrum involved in non-specific defence. *British Journal of Nutrition*. 2000;84(SUPPL. 1):S127–S134.

80. Kaushik S, Trivedi SS, Jain A, Bhattacharjee J. Unusual changes in colostrum composition in lactating Indian women having medical complications during pregnancy - A pilot study. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2002;17(2):68–73.
81. Thapa BR. Health factors in colostrum. *Indian Journal of Pediatrics*. 2005;72(7):579–81.
82. Kelly GS. Bovine Colostrums: A Review of Clinical Uses. *Alternative Medicine Review*. 2003;8(4):378–94.
83. Solomons NW. Modulation of the immune system and the response against pathogens with bovine colostrum concentrates. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2002;56(SUPPL. 3):S24–S28.
84. Wheeler TT, Hodgkinson AJ, Prosser CG, Davis SR. Immune components of colostrum and milk - A historical perspective. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. 2007;12(4):237–47.
85. Kussendrager KD, Van Hooijdonk ACM. Lactoperoxidase: Physico-chemical properties, occurrence, mechanism of action and applications. *British Journal of Nutrition*. 2000;84(SUPPL. 1):S19–S25.
86. Playford RJ, Macdonald CE, Johnson WS. Colostrum and milk-derived peptide growth factors for the treatment of gastrointestinal disorders. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2000;72(1):5–14.
87. Przybylska J, Albera E, Kankofer M. Antioxidants in bovine colostrum. *Reproduction in Domestic Animals*. 2007;42(4):402–9.
88. Stelwagen K, Carpenter E, Haigh B, Hodgkinson A, Wheeler TT. Immune components of bovine colostrum and milk. *Journal of animal science*. 2009;87(13 Suppl):3–9.
89. Purup S, Vestergaard M, Pedersen LO, Sejrsen K. Biological activity of bovine milk on proliferation of human intestinal cells. *Journal of Dairy Research*. 2007;74(1):58–65.
90. Petschow BW, Talbott RD, Batema RP. Ability of lactoferrin to promote the growth of *Bifidobacterium* spp. in vitro is independent of receptor binding capacity and iron saturation level. *Journal of Medical Microbiology*. 1999;48(6):541–9.
91. Thapa BR. Therapeutic potentials of bovine colostrums. *Indian Journal of Pediatrics*. 2005;72(10):849–52.
92. Kim JH, Jung WS, Choi N-J, Kim D-O, Shin D-H, Kim YJ. Health-promoting effects of bovine colostrum in Type 2 diabetic patients can reduce blood glucose, cholesterol, triglyceride and ketones. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2009;20(4):298–303.
93. Mero A, Miikkulainen H, Riski J, Pakkanen R, Aalto J, Takala T. Effects of bovine colostrum supplementation on serum IGF-I, IgG, hormone, and saliva IgA during training. *Journal of Applied Physiology*. 1997;83(4):1144–51.

94. Mero A, Kähkönen J, Nykänen T, Parviainen T, Jokinen I, Takala T, et al. IGF-I, IgA, and IgG responses to bovine colostrum supplementation during training. *Journal of Applied Physiology*. 2002;93(2):732–9.
95. Crooks CV, Wall CR, Cross ML, Rutherford-Markwick KJ. The effect of bovine colostrum supplementation on salivary IgA in distance runners. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. 2006;16(1):47–64.
96. Davison G, Diment BC. Bovine colostrum supplementation attenuates the decrease of salivary lysozyme and enhances the recovery of neutrophil function after prolonged exercise. *British Journal of Nutrition*. 2010;103(10):1425–32.
97. Antonio J, Sanders MS, Van Gammeren D. The effects of bovine colostrum supplementation on body composition and exercise performance in active men and women. *Nutrition*. 2001;17(3):243–7.
98. Brinkworth GD, Buckley JD, Slavotinek JP, Kurmis AP. Effect of bovine colostrum supplementation on the composition of resistance trained and untrained limbs in healthy young men. *European Journal of Applied Physiology*. 2004;91(1):53–60.
99. Buckley JD, Brinkworth GD, Abbott MJ. Effect of bovine colostrum on anaerobic exercise performance and plasma insulin-like growth factor I. *Journal of Sports Sciences*. 2003;21(7):577–88.
100. Hofman Z, Smeets R, Verlaan G, Lugt RVD, Verstappen PA. The effect of bovine colostrum supplementation on exercise performance in elite field hockey players. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. 2002;12(4):461–9.
101. Brinkworth GD, Buckley JD, Bourdon PC, Gulbin JP, David AZ. Oral bovine colostrum supplementation enhances buffer capacity but not rowing performance in elite female rowers. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. 2002;12(3):349–63.
102. Buckley JD, Abbott MJ, Brinkworth GD, Whyte PBD. Bovine colostrum supplementation during endurance running training improves recovery, but not performance. *Journal of Science and Medicine in Sport*. 2002;5(2):65–79.
103. Shing CM, Jenkins DG, Stevenson L, Coombes JS. The influence of bovine colostrum supplementation on exercise performance in highly trained cyclists. *British Journal of Sports Medicine*. 2006;40(9):797–801.
104. Appukutty M, Radhakrishnan AK, Ramasamy K, Ramasamy R, Abdul Majeed AB, Ismail MN, et al. Colostrum supplementation protects against exercise - induced oxidative stress in the skeletal muscle in mice. 2012. p. 649.
105. Revill SI, Robinson JO, Rosen M, Hogg MIJ. The reliability of a linear analogue for evaluating pain. *Anaesthesia*. 1976;31(9):1191–8.
106. Fatouros IG, Chatzinikolaou A, Douroudos II, Nikolaidis MG, Kyparos A, Margonis K, et al. Time-course of changes in oxidative stress and antioxidant status responses following a soccer game. *Journal of Strength and Conditioning Research*. 2010;24(12):3278–86.

107. Magalhães J, Rebelo A, Oliveira E, Silva JR, Marques F, Ascensão A. Impact of Loughborough Intermittent Shuttle Test versus soccer match on physiological, biochemical and neuromuscular parameters. *European Journal of Applied Physiology*. 2010;108(1):39–48.
108. Nikolaidis M, Jamurtas A. Blood as a reactive species generator and redox status regulator during exercise. *Archives of biochemistry and biophysics*. 2009;490(2):77–84.
109. Nikolaidis MG, Kyparos A, Spanou C, Paschalis V, Theodorou AA, Vrabas IS. Redox biology of exercise: an integrative and comparative consideration of some overlooked issues. *The Journal of experimental biology*. 2012 May;215(Pt 10):1615–25.