



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ:
“ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ-ΔΙΑΤΡΟΦΗ”
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: “ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΑΔΚΗΣΗ”

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

*Η επίδραση της χορήγησης colostrum στις μεταβολές των επιπέδων
λιποειδικών μεσολαβητών φλεγμονής μετά από ασκησιογενή μυϊκή
βλάβη*

Μαργιώλα Παναγιώτα

A.M.: 4421103



Επιβλέπων Καθηγητής:

Νομικός Τζώρτζης, Επίκουρος Καθηγητής

Τριμελής επιτροπή:

Νομικός Τζώρτζης, Επίκουρος Καθηγητής

Αντωνοπούλου Σμαραγδή, Καθηγήτρια

Φραγκοπούλου Ελισάβετ, Επίκουρος Καθηγήτρια

Αθήνα, Ιούνιος 2014



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ:
“ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ-ΔΙΑΤΡΟΦΗ”
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: “ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΑΔΚΗΣΗ”

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

*Η επίδραση της χορήγησης colostrum στις μεταβολές των επιπέδων
λιποειδικών μεσολαβητών φλεγμονής μετά από ασκησιογενή μυϊκή
βλάβη*

Μαργιώλα Παναγιώτα

A.M.: 4421103

Αθήνα, Ιούνιος 2014

Ευχαριστίες

Με την ολοκλήρωση της μεταπτυχιακής μου εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου, **κ. Νομικό Τζώρτζη**, για την ευκαιρία που μου πρόσφερε να συμμετάσχω στο συγκεκριμένο ερευνητικό πρόγραμμα, για τη πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγηση κατά τη διάρκεια των εργαστηριακών αναλύσεων και μετρήσεων στα πλαίσια της παρούσας μελέτης και για τις γνώσεις και τη συμπαράσταση που μου προσέφερε κατά την συγγραφή της εργασίας μου.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τα μέλη της επιτροπής μου, την **κ. Αντωνοπούλου Σμαραγδή** και την **κ. Φραγκοπούλου Ελισάβετ** για τις γνώσεις που μου παρείχαν κατά τη διάρκεια των σπουδών μου, καθώς επίσης και τον υποψήφιο διδάκτορα **κ. Ιωάννη Κώτση** για τη διάθεση της πληθώρας των ανθρωπομετρικών, βιοχημικών και εργοφυσιολογικών δεδομένων.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να πω και στην οικογένειά μου, που είναι πάντα δίπλα μου, με βοηθούν, με στηρίζουν και χάρη σε αυτούς μπορώ και πραγματοποιώ τα όνειρά μου.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Ευχαριστίες	4
Περίληψη	8
Abstract	10
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΑΣΚΗΣΙΟΓΕΝΗΣ ΜΥΙΚΗ ΒΛΑΒΗ	12
1.1. Ασκησιογενής Μυϊκή Βλάβη - Ορισμός	12
1.2. Άσκηση που οδηγεί σε AMB	13
1.3. Δομικές και μορφολογικές αλλοιώσεις κατά την AMB	14
1.4. Μηχανισμοί AMB	15
1.4.1. Αρχική Φάση	15
1.4.2. Αυτογενή Φάση: Υπερφόρτωση Ca^{2+}	18
1.4.3. Φαγοκυτταρική φάση	22
1.4.4. Φάση Αναγέννησης	35
1.5. Κλινικά συμπτώματα AMB	36
1.5.1. Καθυστερημένος Μυϊκός Πόνος (ΚΜΠ)	36
1.5.2. Οίδημα	37
1.5.3. Απώλεια δύναμης	38
1.5.4. Μείωση στο εύρος κίνησης των αρθρώσεων [50]	40
1.6. Δείκτες Αξιολόγησης AMB	40
1.6.1. Κλινικοί δείκτες και δείκτες λειτουργικότητας του μυός [31, 50]	41
1.6.2. Βιοχημικοί Δείκτες	42
1.7. Επίδραση της AMB στην αθλητική απόδοση [57]	45
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΛΙΠΟΕΙΔΙΚΟΙ ΜΕΣΟΛΑΒΗΤΕΣ ΚΑΙ ΑΣΚΗΣΙΟΓΕΝΗΣ ΜΥΙΚΗ ΒΛΑΒΗ	48
2.1. Λιποειδικοί μεσολαβητές – Είδη, μεταβολισμός και δράσεις	49
2.1.1. Εικοσανοειδή	49
2.1.2. Παράγωγα EPA και DHA	54
2.1.3. Φωσφολιποειδικοί μεσολαβητές	54
3.1.4. Παράγωγα σφιγγολιπιδίων	59
3.1.5. Οξειδωμένα λιπίδια	59
3.2. Φωσφολιπάση A_2 συνδεδεμένη με λιποπρωτεΐνες (Lp-PLA ₂)	59
3.2.1. Καταλυτικές δράσεις της Lp-PLA ₂	60
2.3. Παραγωγή λιποειδικών μεσολαβητών κατά την AMB	62
2.4. Συσχέτιση λιποειδικών μεσολαβητών με βιοχημικά και κλινικά συμπτώματα AMB	67
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΡΟΛΗΨΗΣ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ AMB	70
3.1. Φυσιοθεραπευτικές Παρεμβάσεις	70
3.2. Φαρμακευτικές παρεμβάσεις	72

3.2.1. Μη στεροειδή, αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ)	72
3.2.2. Ανταγωνιστές διαύλων ασβεστίου (CCB-Calcium Channels Blockers).....	73
3.3. Διατροφικές παρεμβάσεις	74
3.3.1. Αντιοξειδωτικά.....	74
3.3.2. Αμινοξέα και παράγωγα αμινοξέων	80
3.3.3. ω-3 λιπαρά οξέα	83
3.3.4 Μακροθρεπτικά Συστατικά	84
3.3.5 Συμπεράσματα.....	86
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΡΩΤΟΓΑΛΑ	88
4.1. Βόειο και ανθρώπινο πρωτόγαλα.....	88
4.2. Σύσταση πρωτογάλατος – Βιοδραστικά συστατικά.....	90
4.2.1. Ανοσολογικοί και αντιμικροβιακοί παράγοντες	90
4.2.2. Αυξητικοί παράγοντες.....	95
4.2.3. Αντιοξειδωτικοί παράγοντες	97
4.3. Θεραπευτικές χρήσεις βόειου πρωτογάλατος	101
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΤΟ ΒΟΕΙΟ ΠΡΩΤΟΓΑΛΑ ΩΣ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΣΕ ΑΘΛΗΤΕΣ	105
5.1. Επίδραση του βόειου πρωτογάλατος στην αθλητικής απόδοση	105
5.1.1. Σύσταση σώματος, δύναμη και ισχύ	106
5.1.2. Απόδοση αντοχής.....	108
5.1.3. Αναερόβια απόδοση.....	109
5.2. Επίδραση του βόειου πρωτογάλατος στο ανοσοποιητικό σύστημα των αθλητών.....	110
5.3. Επίδραση βόειου πρωτογάλατος στη γαστρεντερική λειτουργία των αθλητών.....	112
5.4. Η επίδραση του βόειου πρωτογάλατος στο προκαλούμενο από την άσκηση οξειδωτικό στρες ..	113
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΚΟΠΟΣ	114
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	115
7.1. Πρωτόκολλα παρέμβασης.....	115
7.1.1. 1 ^ο Ερευνητικό πρωτόκολλο – Επίδραση χορήγησης colostrum σε δείκτες AMB μετά από πρωτόκολλο άσκησης που προσομοιάζει αγώνα ποδοσφαίρου (LIST)	115
7.1.2. 2ο Ερευνητικό πρωτόκολλο – Επίδραση χορήγησης διαφορετικών μορφών colostrum σε βιοχημικούς δείκτες.....	117
7.1.3. Το συμπλήρωμα πρωτογάλατος της εταιρείας LR Health and Beauty Systems	118
7.1.4. Πρωτόκολλο Loughborough Intermittent Shuttle Test (LIST)	119
7.2. Μέθοδοι και εργαλεία εκτίμησης των αποτελεσμάτων.....	120
7.2.1. Ανθρωπομετρία	120
7.2.2. Σύσταση σώματος	120
7.2.3. Υπολογισμός Μέγιστης Πρόσληψης Οξυγόνου.....	120
7.2.4. Προσδιορισμός μυϊκής δύναμης.....	121

7.2.5. Αντίληψη καθυστερημένου μυϊκού πόνου	121
7.2.6. Αιμοληψίες	122
7.2.7. Απομόνωση ορού και πλάσματος από το αίμα	122
7.2.8. Προσδιορισμός της δραστηριότητας της Lp-PLA ₂ σε ορό	123
7.2.9. Προσδιορισμός μεταβολιτών PGE	125
7.2.12. Στατιστική ανάλυση	129
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	130
8.1. Προσδιορισμός συγκέντρωσης μεταβολιτών προσταγλαδίνης E (PGEM)	130
8.2. 1 ^ο ερευνητικό πρωτόκολλο – Απόκριση LpPLA ₂ κατά την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη και επίδραση της χορήγησης συμπληρωμάτων βόειου πρωτογάλατος σε αυτούς.	131
8.2.1. Ανθρωπομετρικά, βιοχημικά και προπονητικά χαρακτηριστικά των εθελοντών της μελέτης.	132
8.2.2. Συσχέτιση των επιπέδων δραστηριότητας της LpPLA ₂ με ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά.	133
8.2.3. Συσχέτιση των αρχικών επιπέδων δραστηριότητας της LpPLA ₂ με δείκτες ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης μετά το LIST.....	135
8.2.4. Επίδραση του πρωτοκόλλου LIST στα επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA ₂ πριν τη παρέμβαση.....	137
8.2.5. Συσχέτιση των μεταβολών στα επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA ₂ με τις μεταβολές σε δείκτες AMB.	138
8.2.6. Διαφορές στα χαρακτηριστικά των δύο ομάδων παρέμβασης κατά την έναρξη της παρέμβασης.	140
8.2.7. Επίδραση της παρέμβασης στα επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA ₂ μετά από LIST.....	141
8.3. 2^ο ερευνητικό πρωτόκολλο –Επίδραση της χορήγησης διαφορετικών μορφών και ποσοτήτων βόειου πρωτογάλατος (ΒΠ) στα επίπεδα λιποειδικών μεσολαβητών.	146
8.3.1. Διαφορές στα χαρακτηριστικά των πέντε ομάδων παρέμβασης κατά την έναρξη της παρέμβασης.	147
8.3.2. Συσχέτιση βασικών ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών με τα επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA ₂	148
8.3.3. Σύγκριση της επίδρασης των διαφορετικών παρεμβάσεων στα επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA ₂	148
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9: ΣΥΖΗΤΗΣΗ	151
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	162

Περίληψη

Εισαγωγή: Η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη (AMB) αποτελεί ένα φαινόμενο αρκετό συχνό σε επαγγελματίες αθλητές που ακολουθούν έντονα προπονητικά προγράμματα με μικρούς χρόνους αποκατάστασης, όπως είναι οι ποδοσφαιριστές. Ως εκ τούτου, η εύρεση πρακτικών που θα μπορούσαν να επιταχύνουν και να μεγιστοποιήσουν τη διαδικασία ανάκαμψης είναι ζωτικής σημασίας για την ενίσχυση της απόδοσης των αθλητών αυτών. Στα πλαίσια της διατροφής, το βόειο πρωτόγαλα, λόγω των ανοσορυθμιστικών, αντιοξειδωτικών και αυξητικών παραγόντων αποτελεί ένα συμπλήρωμα που δυνητικά θα μπορούσε να επηρεάσει μηχανισμούς φλεγμονής και οξειδωτικού στρες, περιορίζοντας την ένταση ή/και διάρκεια των συμπτωμάτων της AMB. Μεταξύ των μεσολαβητών που φαίνεται ότι συμμετέχουν στους μηχανισμούς ασκησιογενούς φλεγμονής και θα μπορούσε να επηρεάσει η χορήγηση ΒΠ είναι λιποειδικοί μεσολαβητές όπως ο Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (PAF).

Σκοπός: Ο σκοπός της παρούσας ερευνητικής προσπάθειας ήταν να μελετηθεί η επίδραση της συμπληρωματική χορήγησης βόειου πρωτογάλατος στο αποικοδομητικό ένζυμο του PAF, LpPLA₂ μετά από πρόκληση AMB σε ποδοσφαιριστές. Παράλληλα διερευνήθηκε και η επίδραση διαφορετικών μορφών και ποσοτήτων βόειου πρωτογάλατος στο ίδιο ένζυμο.

Μεθοδολογία: Πρώτο πρωτόκολλο: Το δείγμα της μελέτης αποτελούταν από 11 ποδοσφαιριστές Δ' κατηγορίας και τοπικών πρωταθλημάτων (Μ.Ο. ηλικίας 20 έτη). Οι εθελοντές υποβλήθηκαν στο πρωτόκολλο άσκησης (LIST), το οποίο αποτελεί προσομοίωση ενός αγώνα ποδοσφαίρου, με σκοπό τη πρόκληση AMB σε βαθμό παρόμοιο με τον αντίστοιχο που θα προκαλούσε ένας ποδοσφαιρικό αγώνα. Δείγματα αίματος λήφθηκαν ακριβώς πριν την άσκηση και στις 2, 24, 48 και 72 ώρες μετά την ολοκλήρωση του πρωτοκόλλου. Στη συνέχεια, οι εθελοντές χωρίστηκαν τυχαία σε 2 ομάδες, την ομάδα παρέμβασης και την ομάδα ελέγχου. Στην ομάδα παρέμβασης (placebo) χορηγήθηκε εμπορικά διαθέσιμο συμπλήρωμα βόειου πρωτογάλατος σε ποσότητα 3,2γρ/ημέρα για χρονικό διάστημα 6 εβδομάδων. Η ομάδα ελέγχου (placebo) έλαβε πρωτεΐνη ορού γάλακτος στην ίδια ποσότητα (3,2γρ/ημέρα) και για το ίδιο χρονικό διάστημα (6 εβδομάδες). Στο τέλος της παρέμβασης, όλοι οι εθελοντές επανέλαβαν το πρωτόκολλο LIST και δείγματα αίματος παραλήφθηκαν στις αντίστοιχες χρονικές στιγμές. Σε κάθε δείγμα αίματος έγινε προσδιορισμός των επιπέδων δραστηριότητας της LpPLA₂, η οποία αποτελεί το ένζυμο αποικοδόμησης του φλεγμονώδη λιποειδικού μεσολαβητή PAF. Δεύτερο πρωτόκολλο: Το δείγμα της μελέτης αποτέλεσαν 42 ποδοσφαιριστές, οι οποίοι χωρίστηκαν τυχαία σε 5 ομάδες. Κάθε ομάδα λάμβανε για χρονικό διάστημα 6 εβδομάδων ένα από τα

ακόλουθα συμπληρώματα: α) πρωτεΐνη ορού γάλακτος (WP, 3,2γρ/ημέρα), β) βόειο πρωτόγαλα (BC, 3,2γρ/ημέρα), γ) πρωτεΐνη ορού γάλακτος (WP, 0,8γρ/ημέρα), δ) βόειο πρωτόγαλα (BC, 0,8γρ/ημέρα) και ε) βόειο πρωτόγαλα σε υγρή μορφή (BC, 8ml/ημέρα). Στις 3 και 6 εβδομάδες της παρέμβασης πραγματοποιήθηκε αιμοληψία και τα δείγματα αίματος αναλύθηκαν για προσδιορισμό των επιπέδων δραστηριότητας της LpPLA₂.

Αποτελέσματα: Στην ανάλυση των δεδομένων από το πρώτο πρωτόκολλο της μελέτης δε φάνηκε καμία στατιστικά σημαντική μεταβολή των επιπέδων δραστηριότητας της LpPLA₂ στις 2, 24, 48 και 72 ώρες μετά το πρωτόκολλο LIST (πριν τη παρέμβαση). Τα αρχικά επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA₂ (baseline, t=0) συσχετίστηκαν θετικά με το αντίσταση στην οξείδωση του ορού (lagtime) (baseline, t=0) και αρνητικά με την μεταβολή του lagtime (%) στις 2 ώρες μετά την άσκηση, την υποκειμενική αντίληψη πόνου στον απαγωγό μυ στις 2 ώρες και στον δικέφαλο μυ στις 48 ώρες μετά το LIST. Δε παρατηρήθηκαν διαφορές στα μετασκησιακά επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA₂, μεταξύ των δύο ομάδων παρέμβασης, αλλά ούτε στην κάθε ομάδα πριν και μετά τη παρέμβαση. Στο δεύτερο πρωτόκολλο της μελέτης δε παρατηρήθηκε καμία επίδραση των παρεμβάσεων στα επίπεδα του ενζύμου.

Συμπεράσματα: Η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη δε φάνηκε να επηρεάζει τα επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA₂, ωστόσο τα αρχικά επίπεδα του ενζύμου, πιθανότατα μέσω ρύθμισης των επιπέδων του PAF μπορούν να επηρεάσουν τον ασκησιογενή πόνο. Η συμπληρωματική χορήγηση πρωτογάλατος σε ποσότητα 3,2γρ/ημέρα για χρονικό διάστημα 6 εβδομάδων δεν φάνηκε να επιφέρει μεταβολές στα επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA₂ μετά από AMB.

Abstract

Introduction: Exercise-induced muscle damage (EIMD) is a phenomenon quite common in professional athletes following intense training programs with small recovery times, such as soccer players. Therefore, finding practices that could accelerate and maximize the recovery process is vital for enhancing the performance of these athletes. In terms of nutrition, bovine colostrum (BC), due to immunomodulatory, antioxidants and growth factors is a supplement that potentially could affect the mechanisms of inflammation and oxidative stress, reducing the intensity and / or duration of symptoms of EIMD. Lipid mediators, such as platelet activating factor (PAF), appear to be involved in the mechanisms of exercise-induced inflammation and could be affected by the administration of BC.

Purpose: The purpose of this research was to investigate the effect of bovine colostrum supplementation in degradative enzyme of PAF, LpPLA₂ after EIMD in soccer players. At the same time, we evaluated the effect of different forms and quantities of bovine colostrum in the same enzyme.

Methodology: First Protocol: The study sample consisted of 11 players of 4th national division and local championships (Age Average: 20 years). The volunteers were subject to an exercise protocol (LIST) that simulates a soccer match, with the aim of inducing muscle damage similar to what an actual soccer match would provoke. Blood samples were taken just before exercise and at 2, 24, 48 and 72 hours after the LIST protocol. Then the volunteers were randomly divided into 2 groups, the intervention group and the control group. The intervention group was administered with commercially available bovine colostrum supplement in an amount of 3.2 g / day for 6 weeks. The control group (placebo) received whey protein in the same amount (3.2 g / day) for the same period (6 weeks). At the end of the intervention, all subjects repeated the LIST protocol and blood samples were obtained at respective times. For each blood sample activity levels of LpPLA₂ were determined. Second Protocol: The sample of the study were 42 soccer players, which randomly divided into 5 groups. Each group received for a period of 6 weeks one of the following supplements: a) whey protein (WP, 3,2 g / day), b) bovine colostrum (BC, 3,2 g / day), c) whey protein (WP , 0.8 g / day), d) bovine colostrum (BC, 0,8 g / d) and e) bovine colostrum in liquid form (BC, 8ml/imera). At 3 and 6 weeks of intervention blood samples were collected and were analyzed for LpPLA₂ activity.

Results: On the first protocol, no statistically significant changes in LpPLA₂ activity were observed at 2, 24, 48 and 72 hours after the LIST protocol (before the intervention). Baseline

LpPLA₂ activity (baseline, t = 0) were correlated positively with the resistance of serum to oxidation (lagtime) (baseline, t = 0) and negatively with the percent change lagtime (%) at 2 h after exercise, subjective perception of pain in abductor muscle at 2 hours and biceps muscle at 48 hours after LIST. No differences were observed in LpPLA₂ activity after exercise, neither between the two intervention groups nor in each group before and after intervention. On the second study protocol, the interventions did not significantly affect the enzymatic activity of LpPLA₂.

Conclusions: Exercise-induced muscle damage does not appear to affect the activity of LpPLA₂. However, the initial levels of the enzyme can affect muscle soreness after exercise, probably by regulating the levels of PAF. The supplementation of colostrum in an amount of 3.2 g / day for 6 weeks did not appear to induce alterations in LpPLA₂ activity after EIMD.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΑΣΚΗΣΙΟΓΕΝΗΣ ΜΥΪΚΗ ΒΛΑΒΗ

1.1. Ασκησιογενής Μυϊκή Βλάβη - Ορισμός

Όπως είναι γνωστό, η τακτική σωματική δραστηριότητα δυναμώνει του μύες, κάνοντάς τους ανθεκτικότερους στην εμφάνιση κόπωσης. Ωστόσο, κατά τη διάρκεια έντονης ή παρατεταμένης άσκησης οι μύες εμφανίζουν κόπωση και αποδυναμώνουν προσωρινά. Αν η φυσική δραστηριότητα είναι ασυνήθιστη για το άτομο που την εκτελεί ή/και πολύ μεγάλης έντασης ή διάρκειας, μπορεί να προκληθεί βλάβη στους εμπλεκόμενους μύες, που πιθανόν να χρειαστεί μέρες για να αποκατασταθεί. Αυτό το είδος μυϊκής βλάβης αναφέρεται ως «Ασκησιογενή Μυϊκή Βλάβη» [1, 2].

Η Ασκησιογενής Μυϊκή Βλάβη (AMB) κατατάσσεται στην κατηγορία μυϊκών κακώσεων 1ου βαθμού, η οποία χαρακτηρίζεται από ελάχιστο βαθμό μικροσκοπικών ρήξεων χωρίς μόνιμο ελάττωμα. Εμφανίζεται με ένα σύνολο συμπτωμάτων, το πιο κοινό από τα οποία είναι ο Καθυστερημένος Μυϊκός Πόνος (ΚΜΠ). Ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος εμφανίζεται σε συγκεκριμένα σημεία του μυός τα οποία είναι ευαίσθητα στη πίεση, δύσκαμπτα κατά την ψηλάφηση ή την κίνηση και μπορεί να επηρεάσει όλους τους σκελετικούς μυς. Η αίσθηση που γίνεται αντιληπτή μπορεί να ποικίλει από ελαφριά μυϊκή δυσκαμψία, η οποία γρήγορα εξαφανίζεται κατά την διάρκεια των καθημερινών απλών δραστηριοτήτων, έως εξουθενωτικό πόνο ο οποίος περιορίζει την κίνηση [3]. Επίσης εμφανίζεται οίδημα, προσωρινή απώλεια της δύναμης, μείωση στο εύρος κίνησης των εμπλεκόμενων στην άσκηση αρθρώσεων, καθώς και αύξηση ενδομυϊκών πρωτεϊνών στο αίμα [4, 5]. Η βλάβη φαίνεται να χειροτερεύει τις ημέρες που ακολουθούν αμέσως μετά την άσκηση και στη συνέχεια αποκαθίσταται μέσα σε 2-3 εβδομάδες μετά την άσκηση [6].

Πρέπει να σημειωθεί ότι η AMB διαφοροποιείται από τη συνηθισμένη μυϊκή κόπωση, η οποία εμφανίζεται ως αδυναμία των μυών μετά από έντονη ή παρατεταμένη άσκηση, η οποία όμως αντιστρέφεται λίγα λεπτά ή ώρες μετά το πέρας της άσκησης. Οι μηχανισμοί μυϊκής κόπωσης βρίσκονται συνήθως μέσα στο μυοκύτταρο και επάγονται από συσσώρευση ή απώλεια, είτε ενδοκυτταρικά είτε εξωκυτταρικά, διαφόρων μεταβολιτών και ιόντων. Στην AMB η απώλεια δύναμης που εμφανίζεται μετά την άσκηση αντιστρέφεται αργά μέσα στις επόμενες ημέρες και σχετίζεται με δομικές αλλαγές μέσα στο μυοκύτταρο [7].

1.2. Άσκηση που οδηγεί σε AMB

Η εμφάνιση της AMB, καθώς και η σοβαρότητα της βλάβης και η ένταση των συμπτωμάτων της εξαρτώνται από το τύπο, την ένταση ή/και τη διάρκεια της εκτελούμενης άσκησης, καθώς και την εξοικείωση του ατόμου με τη συγκεκριμένη άσκηση.

Η AMB επέρχεται συνήθως είτε από μια ασυνήθιστη για το άτομο που την εκτελεί φυσική δραστηριότητα, είτε μετά από μια δραστηριότητα πολύ μεγάλης έντασης ή/και διάρκειας [8]. Συνήθως, η AMB προκύπτει μετά από φυσική δραστηριότητα που περιλαμβάνει κυρίως έκκεντρες μυϊκές συστολές, κατά τις οποίες η δύναμη που ασκείται στο μυ προκαλεί την ελεγχόμενη επιμήκυνσή του, όπως για παράδειγμα συμβαίνει σε μεγάλο βαθμό κατά το τρέξιμο με αρνητική (κατηφορικό) κλίση ή κατά το ‘κατέβασμα’ βαρών. Ασκήσεις όπου περιλαμβάνουν ομόκεντρες και ισόκεντρες μυϊκές συστολές συμβάλουν επίσης στην AMB αλλά σε μικρότερο βαθμό σε σχέση με την έκκεντρη συστολή [9, 10]. Ένας λόγος για τον οποίο οι έκκεντρες συστολές προκαλούν μεγαλύτερη μυϊκή βλάβη σε σχέση με τις ομόκεντρες και ισόκεντρες μυϊκές συστολές οφείλεται στο γεγονός ότι λιγότερες κινητικές μονάδες επιστρατεύονται κατά τη διάρκεια της έκκεντρης κίνησης, και έτσι μια μικρότερη εγκάρσια περιοχή του μυός είναι ενεργοποιημένη για να διαχειριστεί το ίδιο φορτίο, όπως θα γινόταν σε μια σύγκεντρη συστολή. Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι η διαδικασία επιμήκυνσης του μυός απαιτεί χαμηλότερη ενέργεια από τη διαδικασία βράχυνσης του, πιθανόν λόγω του ότι κινητοποιούνται λιγότερες κινητικές μονάδες, προτείνοντας ότι είναι περισσότερο πιθανό μηχανικοί και όχι μεταβολικοί παράγοντες να εμπλέκονται στη διαδικασία της AMB [11]. Οι μηχανισμοί αυτοί αναλύονται σε επόμενη ενότητα αυτού του κεφαλαίου.

Επιπλέον οι μυϊκές ίνες ταχείας συστολής φαίνεται να είναι πιο ευάλωτες στη βλάβη που προκαλείται από έκκεντρη άσκηση σε σύγκριση με τις μυϊκές ίνες βραδείας συστολής. Το γεγονός αυτό πιθανόν οφείλεται στη μειωμένη οξειδωτική ικανότητα των ινών αυτών, στα υψηλότερα επίπεδα έντασης που δημιουργούνται κατά τη διάρκεια της προπόνησης σε αυτού του τύπου μυϊκών ινών ή/και σε δομικές διαφορές μεταξύ των διαφόρων τύπων μυϊκών ινών [12].

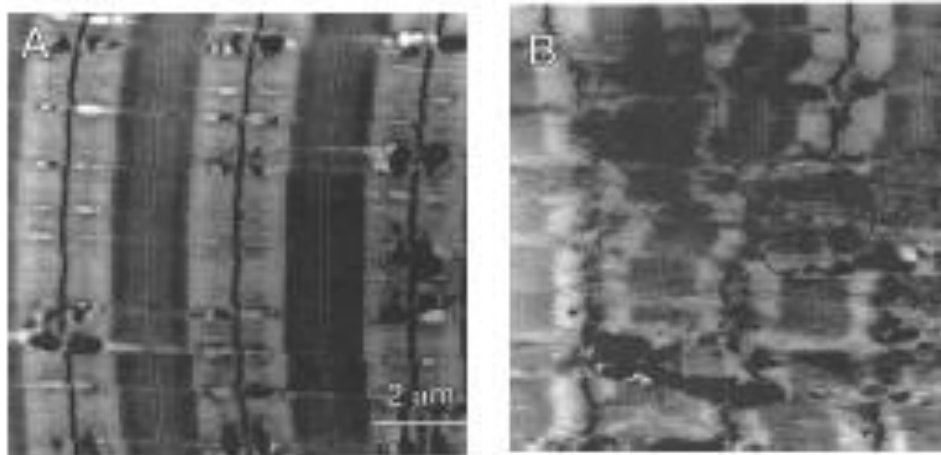
Είναι επίσης γνωστό ότι οι επαναλαμβανόμενες συνεδρίες της ίδιας άσκησης, εφόσον παρεμβάλλεται επαρκής χρόνος ανάρρωσης ανάμεσα στις συνεδρίες, οδηγούν σε μικρότερη μυϊκή βλάβη αμβλύνοντας τα συμπτώματα του ΚΜΠ, φαινόμενο το οποίο είναι γνωστό ως ‘επίδραση επαναλαμβανόμενων συνεδριών’ (repeated bout effect). Φαίνεται δηλαδή ότι οι σκελετικοί μύς έχουν την ικανότητα όχι μόνο να αποκαθιστούν την βλάβη που προκύπτει μετά

από άσκηση, αλλά και να προσαρμόζονται ώστε να προστατεύονται από μελλοντικές βλάβες. Θα πρέπει να τονιστεί ότι η προσαρμογή αυτή χάνεται όταν σταματήσουν οι συνεδρίες άσκησης και ο μυς είναι ξανά ευάλωτος σε AMB [11].

Οι ερευνητές που μελετούν τους μηχανισμούς της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, την προκαλούν χρησιμοποιώντας διάφορα πρωτόκολλα ασκήσεων με εκκεντρικού τύπου μυϊκές συστολές. Μια κοινή μέθοδος για πρόκληση AMB τεχνητά είναι μέσω πρωτοκόλλων που περιλαμβάνουν καθαρά έκκεντρες ασκήσεις. Αυτά τα πρωτόκολλα περιλαμβάνουν αντίσταση στη δράση ενός βάρους ή επιπέδου, όπως για παράδειγμα η ποδηλασία αντίστασης ή ασκήσεις με ισοκινητικά δυναμόμετρα. Άλλα πρωτόκολλα ασκήσεων που έχουν χρησιμοποιηθεί περιλαμβάνουν συνδυαστικά ομόκεντρες και έκκεντρες μυϊκές συστολές, με περισσότερη έμφαση στις έκκεντρες συστολές, όπως για παράδειγμα τρέξιμο σε κατηφορικό επίπεδο και άλματα [8].

1.3. Δομικές και μορφολογικές αλλοιώσεις κατά την AMB

Η ιστολογική και αρχιτεκτονική εξέταση του ασκούμενου μυ μετά από έκκεντρη συστολή έχει προσφέρει άμεσα στοιχεία για τη βλάβη στο εσωτερικό περιβάλλον της μυϊκής ίνας, του σαρκελήματος, των Τ-σωληναρίων, των μυοϊνιδίων και του κυτταροσκελετού. Το πιο κοινό χαρακτηριστικό της βλάβης που παρατηρείται μετά από άσκηση είναι η αλλοίωση στη γραμμή Z (Σχήμα 1.1.). Επιπλέον φαίνεται ότι και τα ενδοκυτταρικά οργάνδια, όπως μιτοχόνδρια και σαρκοπλασματικό δίκτυο (ΣΔ), επηρεάζονται από τη βλάβη. Δεν είναι μόνο τα μυϊκά κύτταρα που προσβάλλονται αλλά επίσης παρατηρείται μια αύξηση στους δείκτες διάσπασης του κολλαγόνου τις ημέρες μετά από έκκεντρη άσκηση, δηλώνοντας βλάβη και στον συνδετικό ιστό [6].



Σχήμα 1.1.: **A)** Δείγμα από μύ, ο οποίος έχει υποβληθεί σε ισομετρική συστολή και δείχνει το κανονικό μοτίβο ραβδώσεων και τους Z-δίσκους που είναι κάθετοι στον επιμήκη άξονα, **B)** Δείγμα από μύ, ο οποίος έχει υποβληθεί σε έκκεντρη συστολή και δείχνει την αλλοίωση στη γραμμή Z και επέκταση των Z-δίσκων σε γειτονικές A ζώνες [13].

1.4. Μηχανισμοί AMB

Η πρώτη αναφορά για την AMB έγινε το 1902 από τον Hough, ο οποίος παρατήρησε μια παρατεταμένη μείωση στη δύναμη και αυξημένο πόνο στους καμπτήρες μύες των δακτύλων, 8-10 ώρες μετά από ρυθμικής μορφής άσκηση, γεγονός που όπως πρότεινε οφειλόταν σε κάποια μορφής ρήξη στο εσωτερικό των μυών [14]. Στην αρχή της δεκαετίας του '80, με τη βοήθεια πιο εξελιγμένων τεχνικών, το ερευνητικό ενδιαφέρον για την AMB αυξήθηκε σημαντικά [4]. Οι Newman et al. με τη χρήση μικροσκοπίου ηλεκτρονίων παρατήρησαν σημαντικές αλλαγές στη δομή των μυϊκών κυττάρων αμέσως μετά την άσκηση. Ο αριθμός των κατεστραμμένων μυϊκών κυττάρων συνέχιζε να αυξάνεται ακόμα και 30 ώρες μετά την ολοκλήρωση της άσκησης [15]. Από εκεί και έπειτα ένας μεγάλος αριθμός ερευνών έχει πραγματοποιηθεί για τη διερεύνηση των μηχανισμών που εμπλέκονται στην AMB. Παρόλα αυτά, τα ευρήματα παραμένουν ασαφή και η ακριβής αλληλουχία των γεγονότων δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί [4]. Πολλοί ερευνητές έχουν εξετάσει τους μηχανισμούς AMB. Ο Armstrong (1990) πρότεινε ένα ολοκληρωμένο μοντέλο σύμφωνα με το οποίο η σειρά γεγονότων κατά την AMB πραγματοποιείται σε τέσσερα στάδια: 1) αρχική φάση, 2) αυτογενή φάση, 3) φαγοκυτταρική φάση και 4) φάση αναγέννησης [16].

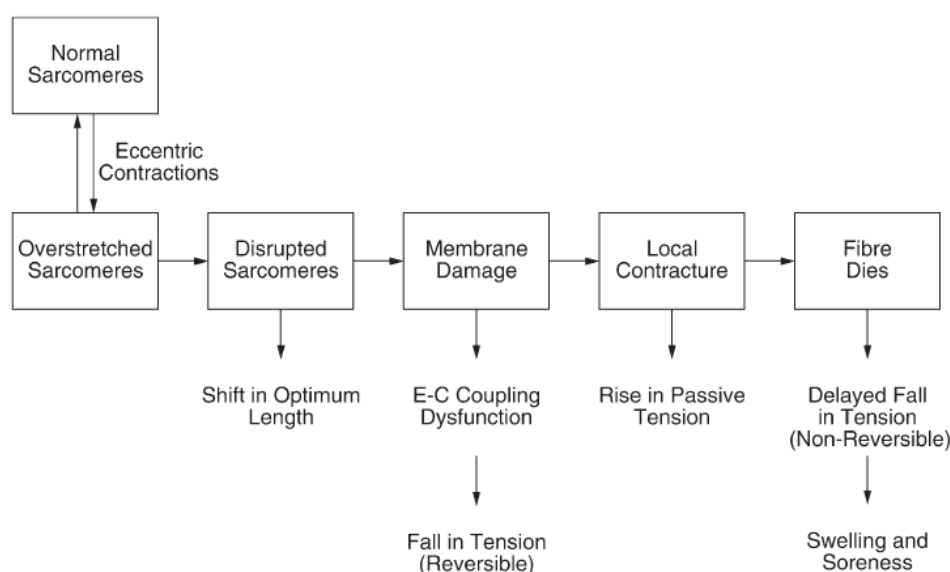
1.4.1. Αρχική Φάση

Η AMB, όπως αναφέρθηκε, είναι σύνηθες φαινόμενο ύστερα από εκτέλεση φυσικής δραστηριότητας με υψηλό περιεχόμενο έκκεντρων μυϊκών συστολών, όπως για παράδειγμα ασκήσεις αντιστάσεων, πλειομετρικές ασκήσεις, κατηφορικό τρέξιμο και παρατεταμένο

διαλειμματικό παλίνδρομο τρέξιμο [17-20]. Επίσης, άλλες μορφές φυσικής δραστηριότητας που δεν εμπεριέχουν υψηλό βαθμό έκκεντρων συστολών, όπως η ποδηλασία αντοχής, έχει βρεθεί ότι προκαλούν επίσης AMB [21, 22]. Το αρχικό γεγονός που ξεκινάει τη διαδικασία της AMB είναι ακόμα αμφιλεγόμενο. Υπάρχουν δύο βασικές υποθέσεις για το αρχικό αίτιο της βλάβης: το στρεσογόνο μηχανικό μοντέλο και το στρεσογόνο μεταβολικό μοντέλο [23, 24].

1.4.1.1. Στρεσογόνο μηχανικό μοντέλο

Το μηχανικό μοντέλο είναι το πλέον ευρέως αποδεκτό μοντέλο και αφορά τη ζημιά που προκαλείται από την άμεση μηχανική φόρτιση στις μυϊκές ίνες [8]. Το μοντέλο αυτό επικεντρώνεται στις διαφορετικές πτυχές των έκκεντρων συστολών σε σύγκριση με τις ομόκεντρες και ισόκεντρες μυϊκές συστολές [23]. Δύο εμφανή σημάδια βλάβης έχουν παρατηρηθεί στους μύες ύστερα από έκκεντρη άσκηση: αποδιοργάνωση των σαρκομεριών στα μυονημάτια και βλάβη στο σύστημα ζεύξης συστολής-διέγερσης [12]. Μια υπόθεση για τη σειρά των γεγονότων που οδηγούν σε μυϊκή βλάβη μετά από έκκεντρη συστολή δίνεται στο σχήμα 1.2.



Σχήμα 1.2.: Προτεινόμενη πορεία γεγονότων που οδηγούν σε μυϊκή βλάβη μετά από έκκεντρη συστολή [12].

Καθώς ο μυς επιμηκύνεται σε μια έκκεντρη συστολή, τα σαρκομέρια εκτείνονται μέχρι όσο η παθητική τάση που οφείλεται στη τιτίνη να μπορεί να αντισταθεί στη τάση που προκαλείται στο μυ. Έτσι τα περισσότερα σαρκομέρια επανέρχονται στο φυσιολογικό μήκος μετά την εφαρμογή της τάσης. Ωστόσο, κάποια σαρκομέρια εμφανίζονται λιγότερα ανθεκτικά στη διάταση σε σχέση με κάποια άλλα, με αποτέλεσμα κατά την επιμήκυνση να γίνονται όλο και

ασθενέστερα μέχρι το σημείο που χάνεται η αλληλοεπικάλυψη μεταξύ των νηματίων ακτίνης και μυοσίνης. Τα σαρκομέρια αυτά παραμένουν υπερεκτεταμένα και δε μπορούν να αναπτύξουν δύναμη σε επόμενες συστολές. Έτσι, η τάση επιμερίζεται στα υπόλοιπα σαρκομέρια, και τα επόμενα λιγότερο ανθεκτικά αρχίζουν να χάνουν την επικάλυψη τους. Καθώς συνεχίζονται οι έκκεντρες συστολές, πρώτα τα ασθενέστερα και στη συνέχεια τα πιο ισχυρά σαρκομέρια σταδιακά υπερεκτείνονται. Κατά τη φάση χαλάρωσης των μυών, τα μυονημάτια των υπερεκτεταμένων σαρκομερίων επανασυνδέονται, έτσι ώστε να μπορούν να εκτελέσουν πάλι τη φυσιολογική τους λειτουργία. Ωστόσο, κάποια αποτυγχάνουν να επανασυνδεθούν με αποτέλεσμα τη διάρρηξη τους. Εικόνες από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο αποκαλύπτουν περιοχές με υπερεκτεταμένα σαρκομέρια ή μισά σαρκομέρια, αλλοίωση των Z-δίσκων, τοπική αποδιοργάνωση των μυονηματίων και βλάβη των T-σωληναρίων. Αυτή η δομική αποδιοργάνωση μπορεί να εξαπλωθεί και σε παρακείμενες περιοχές τους μυός και να οδηγήσει τελικά σε βλάβη στις μεμβράνες του σαρκοπλάσματος, του σαρκοπλασματικού δικτύου και των σωληναρίων. Σε αυτό το σημείο φαίνεται ότι εμφανίζεται και η βλάβη στο σύστημα ζεύξης διέγερσης-συστολής [1, 12].

Έχει προταθεί από κάποιους ερευνητές ότι το αρχικό αίτιο που ξεκινάει τη διαδικασία της μυϊκής βλάβης είναι η διαταραχή στη λειτουργία του συστήματος ζεύξης διέγερσης-συστολής. Ωστόσο, τα διαθέσιμα στοιχεία δεν είναι επαρκή για να υποστηρίξουν αυτή τη θεωρία. Φαίνεται ότι η βλάβη στο σύστημα ζεύξης διέγερσης-συστολής προκύπτει σαν επακόλουθο της καταστροφής των μεμβρανών του κυττάρου εξαιτίας της αποδιοργάνωσης των σαρκομερίων [12].

1.4.1.2. Στρεσογόνο μεταβολικό μοντέλο [8]

Το μεταβολικό μοντέλο προτείνει ότι το αρχικό αίτιο την AMB προκαλείται από μεταβολικές ελλείψεις στους ασκούμενους μύες, ή ότι αυτές οι ελλείψεις αυξάνουν την ευαισθησία της μυϊκής ίνας στο μηχανικό στρες. Κατά τη διάρκεια της φυσικής δραστηριότητας, η ροή ηλεκτρονίων στην αναπνευστική αλυσίδα αυξάνεται με σκοπό να εξισορροπηστεί ο ρυθμός σύνθεσης και ο ρυθμός υδρόλυσης του ATP. Κατά τη διάρκεια χαμηλής ή μέτριας έντασης άσκησης η ισορροπία αυτή επιτυγχάνεται, επιτρέποντας στους δραστήριους μύες να διατηρούν της συγκεντρώσεις ATP σε σχετικά φυσιολογικά επίπεδα. Ωστόσο, υπάρχει πάντα μια μείωση στις συγκεντρώσεις των υψηλών ενεργειακών ενέσεων κατά τη διάρκεια του μυϊκού έργου και το γεγονός ότι αυτές οι ελλείψεις πιθανόν εντοπίζονται σε συγκεκριμένα διαμερίσματα της μυϊκής ίνας, θέτει μια εναλλακτική υπόθεση σχετικά με τα αρχικά γεγονότα της AMB.

Θεωρητικά, είναι πιθανόν τα πολύ χαμηλά επίπεδα ATP να οδηγούν σε μυϊκή βλάβη ιδιαίτερα σε συνθήκες έλλειψης μυϊκού γλυκογόνου. Αυτή η θεωρία υποστηρίζεται από τη μελέτη των Krustup et al., στην οποία παρατήρησαν ότι κατά τη διάρκεια ενός ποδοσφαιρικού αγώνα περίπου το 50% των μυϊκών ινών παρουσίαζαν εξάντληση στα αποθέματα μυϊκού γλυκογόνου. Ένας μηχανισμός που θα μπορούσε να εξηγήσει τη πρόκληση μυϊκής βλάβης από μεταβολικούς παράγοντες είναι η μειωμένη δραστηριότητα της Ca^{2+} -ATPάσης στα σαρκοπλασματικό δίκτυο ή σαρκεύλημα. Κάτι τέτοιο θα μπορούσε να διαταράξει τη φυσιολογική διαδικασία απομάκρυνσης του Ca^{2+} και να οδηγήσει σε αύξηση των επιπέδων του στο κυτταρόπλασμα με αποτέλεσμα τη πυροδότηση μιας σειράς μεταβολικών διαδικασιών που οδηγούν σε διάσπαση των μυϊκών ινών. Επιπλέον, έχει φανεί ότι η ισχαιμία απουσία οποιουδήποτε μηχανικού στρες προκαλεί δομικές βλάβες αντίστοιχες με αυτές που παρατηρούνται στην AMB. Επομένως, η μυϊκή βλάβη μπορεί να προκληθεί ανεξάρτητα από την ύπαρξη μηχανικού τραύματος.

Το μεταβολικό μοντέλο είναι λιγότερο αποδεκτό από το μηχανικό μοντέλο, μιας και τα διαθέσιμα επιστημονικά και πειραματικά στοιχεία για την υποστήριξή του είναι γενικά περιορισμένα. Ο βασικός λόγος είναι το μικρότερο ενεργειακό κόστος της έκκεντρης συστολής σε σχέση με την ομόκεντρη και ισόκεντρη για της ίδιας έντασης έργο. Φαίνεται ότι οι μεταβολικοί παράγοντες δε παίζουν ρόλο στην μυϊκή βλάβη που προκαλείται ύστερα από άσκηση με υψηλό περιεχόμενο έκκεντρων συστολών, αλλά είναι πιθανόν να συμβάλλουν στη βλάβη που συμβαίνει μετά από υψηλής έντασης ή/και μεγάλης διάρκειας άσκησης ομόκεντρης φύσης.

Όποιο και να είναι το αρχικό γεγονός (μηχανικής ή μεταβολικής φύσης) που ξεκινάει τη διαδικασία της μυϊκής βλάβης, το επόμενο βήμα στη διαδικασία του τραυματισμού είναι η αύξηση των ενδοκυττάρων συγκεντρώσεων Ca^{2+} στο κυτοσόλιο, η οποία ενεργοποιεί ταχεία μια αυτογενή καταστρεπτική διαδικασία στα μυϊκά κύτταρα [16].

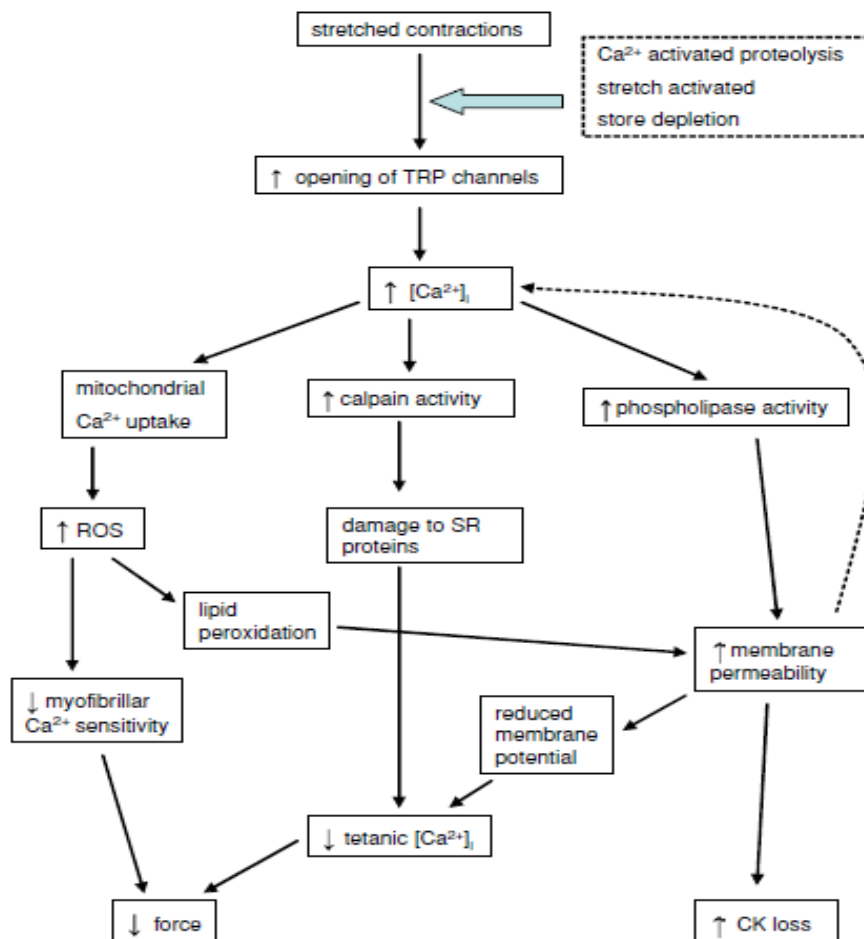
1.4.2. Αυτογενή Φάση: Υπερφόρτωση Ca^{2+}

Το ασβέστιο αποτελεί το κύριο ρυθμιστικό και σηματοδοτικό μόριο όλων των μυϊκών κυττάρων. Δρώντας ως δεύτερο αγγελιοφόρο μήνυμα εμπλέκεται σε μια μεγάλη ποικιλία διαδικασιών από την ενεργοποίηση της μυϊκής συστολής έως και την αποικοδόμηση των μυϊκών κυττάρων. Η συγκέντρωση του ελεύθερου ασβεστίου στο κυτοσόλιο [Ca^{2+}]_c υπόκειται σε αυστηρό κυτταρικό έλεγχο ώστε να διατηρείται σε χαμηλά επίπεδα (~50nM σε κατάσταση ηρεμίας Vs ~1mM στο εξωκυττάριο υγρό). Αυτό επιτυγχάνεται κυρίως μέσω των αντλιών ασβεστίου που υπάρχουν στις μεμβράνες του σαρκοπλασματικού δικτύου (SR Ca^{2+} -ATPases)

και του σαρκοπλάσματος/εγκάρσιων σωληναρίων (SL-ATPases), καθώς και μέσω αντλιών $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ που υπάρχουν στην σαρκοπλασματική μεμβράνη. Η κύρια αποθήκη ασβεστίου στο μυϊκό κύτταρο είναι το σαρκοπλασματικό δίκτυο, ωστόσο και τα μιτοχόνδρια έχουν τη δυνατότητα αποθήκευσης μεγάλων ποσοτήτων Ca^{2+} . Έτσι, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, παροδικές μεταβολές στη $[\text{Ca}^{2+}]_c$ (όπως για παράδειγμα συμβαίνει κατά τη διάρκεια της μυϊκής συστολής) αποκαθίσταται γρήγορα μέσω ενεργοποίησης των ομοιοστατικών αυτών μηχανισμών, που οδηγούν το ασβέστιο έξω από το μυϊκό κύτταρο ή στα ενδοκυτταρικά σωματίδια (αρχικά στο σαρκοπλασματικό δίκτυο και στη συνέχεια στα μιτοχόνδρια) για αποθήκευση [25].

Κατά τη διαδικασία της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, τα αρχικά γεγονότα οδηγούν σε αυξημένη και παρατεταμένη ροή Ca^{2+} στο κυτοσόλιο, σε βαθμό που ξεπερνάει την ικανότητα των ομοιοστατικών μηχανισμών να το απομακρύνουν, με αποτέλεσμα αύξηση της $[\text{Ca}^{2+}]_c$ και απώλεια της ομοιοστασίας του ασβεστίου στο μυϊκό κύτταρο [16]. Ενδείξεις για αυξημένη $[\text{Ca}^{2+}]_c$ κατά τη εξέλιξη της μυϊκής βλάβης παρέχονται από ένα πλήθος μελετών [26, 27]. Όπως έχει προταθεί, η αρχική απότομη αύξηση στη συγκέντρωση του ασβεστίου στο σαρκόπλασμα επέρχεται από τη καταστροφή της ακεραιότητας του σαρκείλημματος και του σαρκοπλασματικού δικτύου κατά την άσκηση, καθώς και από μεταβολικούς παράγοντες που συζητήθηκαν παραπάνω [28]. Η βλάβη στο σαρκείλημα οδηγεί σε αύξηση της διαπερατότητας του, επιτρέποντας έτσι την εισροή του εξωκυττάριου Ca^{2+} στο εσωτερικό του μυϊκού κυττάρου [7, 23]. Επιπλέον, η βλάβη στο σαρκοπλασματικό δίκτυο, και ειδικότερα στις μεμβράνες του, μπορεί να επιφέρει διαρροή Ca^{2+} από τον αυλό του σαρκοπλασματικού δικτύου στο σαρκόπλασμα, παράλληλα με μειωμένη ικανότητα του για επαναπρόσληψη Ca^{2+} , εκθέτοντας έτσι τις μυϊκές ίνες σε υψηλές $[\text{Ca}^{2+}]_c$ για μεγάλο χρονικό διάστημα [28]. Τέλος, έχει προταθεί ότι η αυξημένη διάταση των μυϊκών ινών προκαλεί διάταση των ευαίσθητων στη διάταση καναλιών (stretch-activated channels) στη σαρκοπλασματική μεμβράνη, που με τη σειρά του οδηγεί σε αυξημένη ροή ασβεστίου μέσα στο μυϊκό κύτταρο [29].

Τα αυξημένα ενδοκυττάρια επίπεδα Ca^{2+} και η απώλεια ομοιοστασίας ασβεστίου στο κύτταρο ενεργοποιούν ένα καταρράκτη γεγονότων που επιφέρουν ακόμα μεγαλύτερη βλάβη στα μυϊκά κύτταρα. (Σχήμα 1.3.) Το επόμενο διαδοχικό βήμα στη εξέλιξη της AMB είναι η ενεργοποίηση πρωτεολυτικών και λιπολυτικών ενδογενών μηχανισμών του κυττάρου [28].



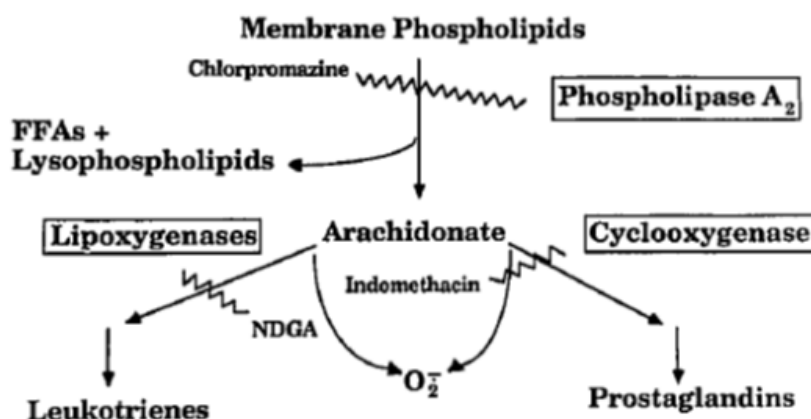
Σχήμα 1.3.: Γεγονότα που συνοδεύουν την αύξηση των ενδοκυττάρων συγκεντρώσεων ασβεστίου στο μυϊκό κύτταρο μετά από έκκεντρη συστολή που οδηγεί σε AMB [7].

Η αυξημένη $[Ca^{2+}]_i$ οδηγεί σε ενεργοποίηση μη λυσοσωμιακών πρωτεασών, όπως η καλπαΐνη, οι οποίες με τις πρωτεολυτικές τους ιδιότητες αποδομούν σημαντικές πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού, των μυονηματίων και των μεμβρανών [25, 30]. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα μείωση της δομικής σταθερότητας και αύξηση της διαπερατότητας του σαρκειλήμματος και των άλλων μεμβρανών του μυϊκού κυττάρου, που οδηγεί σε μεγαλύτερη αύξηση της ροής ασβεστίου από το εξωκυττάριο υγρό και τα ενδοκυττάρια οργανίδια. Επιπλέον, η καλπαΐνη, διεγείροντας τη παραγωγή των κυτταροκινών, πιθανώς δρα και ως χημειοτακτικός παράγοντας, προσελκύοντας τα ουδετερόφιλα στο σημείο της βλάβης αμέσως μετά την άσκηση. Με αυτό τον τρόπο συμβάλλει στην περαιτέρω αποδόμηση των μυϊκών πρωτεϊνών, μέσω ενεργοποίησης διάφορων αποικοδομητικών οδών που διεγείρονται από τις κυτταροκίνες [30].

Παράλληλα με την ενεργοποίηση των καλπαϊνών τα αυξημένα επίπεδα Ca^{2+} προκαλούν ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης A2, η οποία διασπά φωσφολιπίδια της μεμβράνης και απελευθερώνει από αυτά αραχιδονικό οξύ, το οποίο στη συνέχεια μεταβολίζεται είτε από

κυκλοοξυγονάσες προς προσταγλαδίνες και θρομβοξανία είτε από λυποξυγονάσες προς λευκοτριένια (Σχήμα 1.4.) [23, 28]. Η προσταγλαδίνη E2 προκαλεί άμεσα την αίσθηση του πόνου, διεγείροντας της τύπου III και IV προσαγωγές νευρικές ίνες του πόνου, ενώ τα λευκοτριένια αυξάνουν την αγγειακή διαπερατότητα, επιτρέποντας τη προσέλκυση των ουδετεροφίλων στο σημείο της βλάβης [31]. Η ενεργοποίηση της PLA2 οδηγεί σε αποδόμηση των μεμβρανικών φωσφολιποειδών, προκαλώντας επιπλέον αύξηση της διαπερατότητας του σαρκευλήμματος [32], ενώ η αύξηση του αραχιδονικού οξέος οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή ενεργών μορφών οξυγόνου (ROS) από τα μιτοχόνδρια, η οποίες με τη σειρά τους οδηγούν σε περαιτέρω μυϊκή καταστροφή [25].

LEUKOTRIENE AND PROSTAGLANDIN PRODUCTION

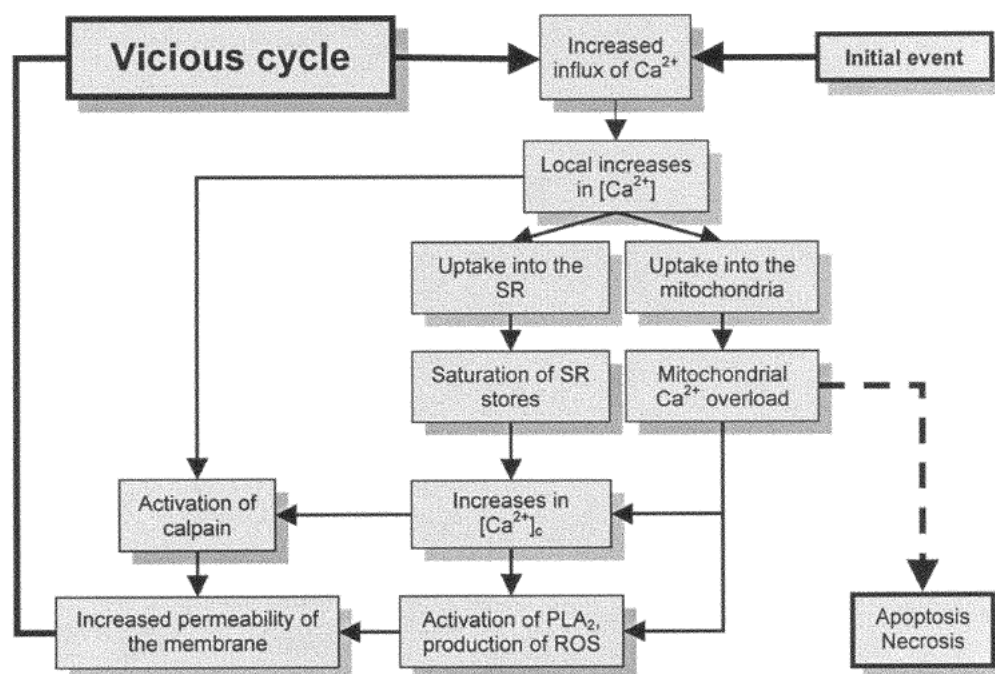


Σχήμα 1.4.: Σύνοψη των προϊόντων που προκύπτουν από την ενεργοποίηση της Φωσφολιπάσης A₂ [16].

Έτσι φαίνεται ότι η αρχική αύξηση της $[Ca^{2+}]_c$, μέσω ενεργοποίησης διαφόρων καταβολικών οδών στους οποίους εμπλέκονται πρωτεάσες και φωσφολιπάσες, οδηγεί σε περαιτέρω βλάβη στις μεμβράνες του μυϊκού κυττάρου και/ή του σαρκοπλασματικού δικτύου [25, 33]. Αυτό επιτρέπει την εκροή ενδοκυττάρων πρωτεϊνών και την είσοδο επιπλέον ασβεστίου μέσα στο κύτταρο, προκαλώντας μια δεύτερη αύξηση της $[Ca^{2+}]_c$. Η αυξημένη ροή ασβεστίου πιθανώς οδηγήσει σε αυξημένη εναπόθεση ασβεστίου στα μιτοχόνδρια [32]. Παρόλο που οι μικρές αυξήσεις (σε επίπεδα nM) των επιπέδων ασβεστίου στα μιτοχόνδρια δρουν ενισχυτικά διεγείροντας τη λειτουργία της αναπνευστικής αλυσίδας και τη παραγωγή ATP, οι μεγάλες αυξήσεις (σε επίπεδα μM) των επιπέδων του έχουν δυσμενείς συνέπειες στη λειτουργία των μιτοχονδρίων. Οδηγούν σε αυξημένη παραγωγή ROS που με τη σειρά τους προκαλούν οξείδωση των λιπιδίων των μεμβρανών, γεγονός που αποδυναμώνει το αυστηρό έλεγχο διαπερατότητας

της διπλής μεμβράνης των μιτοχονδρίων. Επιπλέον, η υπερφόρτωση των μιτοχονδρίων με ασβέστιο αυξάνει σημαντικά το κίνδυνο ενεργοποίησης του πόρου μετάπτωσης της μιτοχονδριακής διαπερατότητας (mPTP), το οποίο τελικά θα οδηγήσει σε απόπτωση ή νέκρωση του κυττάρου [25].

Η παραπάνω διαδικασία δημιουργεί ένα φαύλο κύκλο κατά τον οποίο η συνεχώς αυξανόμενη ροή ασβεστίου οδηγεί σε όλο και μεγαλύτερη καταστροφή των μυϊκών κυττάρων μέχρι το σημείο που η βλάβη γίνει τόσο σοβαρή ώστε να προκαλέσει διαρροή μεγάλων μορίων όπως CK, LDH, μυογλοβίνης στο εξωκυττάριο υγρό και το πλάσμα (Σχήμα 1.5.). Στη περίπτωση αυτή το μυϊκό κύτταρο υφίσταται νέκρωση και η φλεγμονώδης απόκριση ξεκινάει [7, 25].



Σχήμα 1.5.: Μοντέλο φαύλου κύκλου του ασβεστίου στο μυ [25].

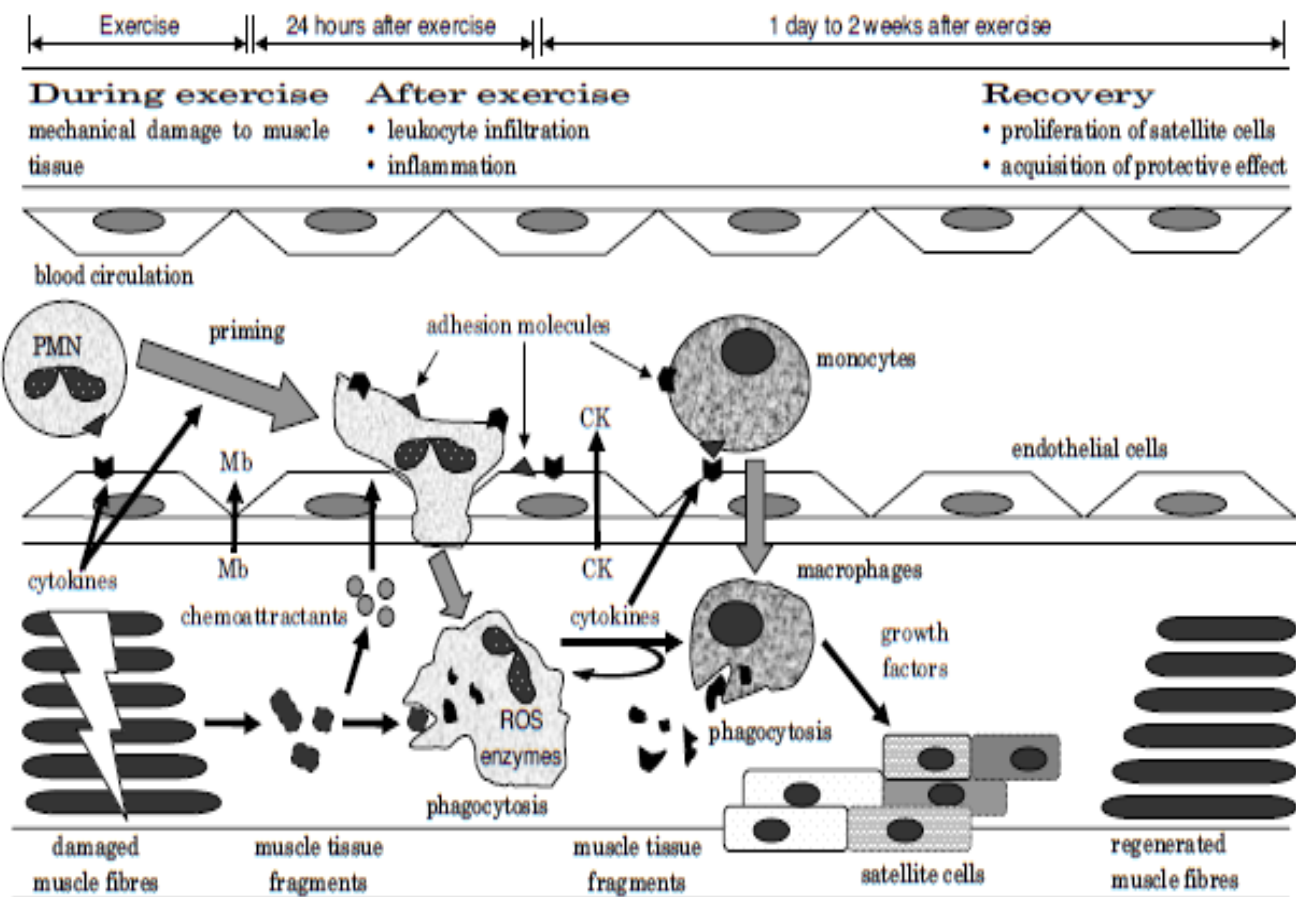
1.4.3. Φαγοκυτταρική φάση

Στο στάδιο αυτό, το οποίο ξεκινάει 2-4 ώρες μετά τα αρχικά γεγονότα, εμφανίζεται η φλεγμονώδης απόκριση, η οποία αποτελεί μια γενικευμένη προστατευτική απόκριση του σώματος στο μυϊκό τραυματισμό. Όπως περιγράφηκε παραπάνω, κατά την AMB τα αρχικά γεγονότα οδηγούν σε δομικές αλλαγές στα μυϊκά κύτταρα, που χαρακτηρίζονται από αποδιοργάνωση συστατικών δομών και κυτταροσκελετικών συστατικών, απώλεια δεσμίνης και

αύξηση της διαπερατότητας των κυτταρικών μεμβρανών, που οδηγούν σε σοβαρές βλάβες ή/και καταστροφή των μυϊκών ινών [34]. Η βλάβη αυτή επάγει μια οξεία φλεγμονώδη απόκριση, η οποία χαρακτηρίζεται από διήθηση φλεγμονωδών κυττάρων και υγρών από το αίμα στο κατεστραμμένο μυϊκό ιστό, με παράλληλη αύξηση φλεγμονωδών κυτταροκινών. Οι κυτταροκίνες είναι ρυθμιστικές πρωτεΐνες που παράγονται από διάφορους τύπους κυττάρων και επάγουν την ανοσολογική απόκριση. Αυτή η τοπική φλεγμονώδης απόκριση συνήθως συνοδεύεται από μια συστηματική απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος, γνωστή ως απόκριση οξείας φάσης. Το μέγεθος της φλεγμονώδους απόκρισης εξαρτάται από το μέγεθος της μυϊκής βλάβης και το βαθμό αγγείωσης του τραυματισμένου ιστού. Αυτή η ταχεία εισβολή φλεγμονωδών κυττάρων μπορεί να διαρκέσει από μερικές μέρες έως αρκετές εβδομάδες, έχοντας ως πρωταρχικό σκοπό την εκκαθάριση του τραυματισμένου μυϊκού ιστού και τη προετοιμασία του για επισκευή [35].

1.4.3.1. Η φλεγμονώδης απόκριση κατά την AMB

Η φλεγμονή αποτελεί μια παθολογική εκδήλωση, η οποία περιλαμβάνει μια σχετικά στερεότυπη και πολύ καλά αναγνωρισμένη χρονική αλληλουχία γεγονότων, η οποία ξεκινάει με τον τραυματισμό του ιστού (στη περίπτωση μας μυϊκού και συνδετικού ιστού) και τερματίζεται με την επιδιόρθωση του τραυματισμένου ιστού [34]. Η φλεγμονώδης απόκριση κατά την AMB περιγράφεται στο Σχήμα 1.6. Εν συντομία, μετά από άσκηση που οδηγεί σε AMB τα ουδετερόφιλα στη κυκλοφορία κινητοποιούνται γρήγορα και εισβάλλουν στο κατεστραμμένο μυϊκό ιστό. Τα NK κύτταρα (NK=Natural Killer=Φυσικοί φονείς) και τα λεμφοκύτταρα επίσης κινητοποιούνται, και παράλληλα παρατηρείται απελευθέρωση ανιφλεγμονωδών κυτταροκινών στη συστηματική κυκλοφορία κατά τη διάρκεια και αμέσως μετά από έκκεντρη άσκηση. Τα τοπικά αγγεία διαστέλλονται για να αυξηθεί η ροή του αίματος προς τη τραυματισμένη περιοχή με τη δράση είτε της ισταμίνης που εκκρίνεται από τα κύτταρα της περιοχής ή τη δράση του αυξητικού παράγοντα του ενδοθηλίου των αγγείων και του μονοξειδίου του αζώτου (VEGF-NO). Επίσης η αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα οδηγεί στη μεταφορά υγρού με πρωτεϊνικό περιεχόμενο μέσα στο μυ (εξίδρωμα). Μέσα σε μια μέρα μετά από την άσκηση, τα ουδετερόφιλα αντικαθίσταται στο τραυματισμένο ιστό από τα μακροφάγα και προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες παράγονται μέσα στο μυϊκό ιστό. Αυτή η φλεγμονώδης απόκριση είναι σημαντική για τη ρύθμιση της απόκρισης οξείας φάσης και την απομάκρυνση των θραυσμάτων του κατεστραμμένου μυϊκού ιστού μετά από AMB [1].



Σχήμα 1.6: Η φλεγμονώδης απόκριση κατά την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη [1].

1.4.3.2. Τοπική Φλεγμονώδης Απόκριση [1]

Η άσκηση που οδηγεί σε AMB έχει ως αποτέλεσμα την προσέλκυση των λευκοκυττάρων στο σημείο της βλάβης. Τα ουδετερόφιλα εισβάλλουν πρώτα στο τραυματισμένο μυϊκό ιστό σε μόλις 4 ώρες μετά την άσκηση και κυριαρχούν σε αυτό μέχρι και 24 ώρες μετά το τέλος της άσκησης. Τα μακροφάγα εμφανίζονται μετά τις 24 ώρες και ανιχνεύονται μέχρι και 14 μέρες μετά τη βλάβη. Και οι δύο αυτοί τύποι ουδετερόφιλων συνεισφέρουν στην εκφύλιση του τραυματισμένου μυϊκού ιστού μέσω της παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου και αζώτου, καθώς επίσης παράγουν και μια σειρά προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Οι προφλεγμονώδης κυτταροκίνες ιντερλευκίνη-1β (IL-1β) και ο παράγοντας νέκρωσης όγκων - α (TNF-α) ανιχνεύονται μέσα στο μυϊκό ιστό μέχρι και 5 μέρες μετά την άσκηση, και φαίνεται ότι παίζουν ρόλο στην έναρξη της αποικοδόμησης του κατεστραμμένου μυϊκού ιστού. Άλλες κυτταροκίνες,

όπως η ιντερλευκίνη-6 (IL-6) και ο αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού – $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), καθώς και φλεγμονώδη αντιγόνα όπως ο παράγοντας αναστολής λευχαιμίας (LIF) και ο υποξικός παράγοντας – 1β (HIF- 1β), επίσης εκφράζονται μέσα στο σκελετικό μυ τις επόμενες μέρες μετά από έκκεντρη άσκηση. Φαίνεται λοιπόν, ότι η τοπική φλεγμονώδης απόκριση μετά από AMB είναι κυρίως προφλεγμονώδη.

Ωστόσο, θα πρέπει να σημειωθεί ότι ένας σημαντικός περιορισμός όταν αξιολογούμε τη τοπική φλεγμονώδη απόκριση προκύπτει από το ίδιο το διαγνωστικό μέσο που χρησιμοποιείται. Η μυϊκή βιοψία αποτελεί μια επεμβατική διαδικασία που προκαλεί τραυματισμό στο μυ και πιθανώς συνεισφέρει στη φλεγμονώδη απόκριση, γεγονός που πρέπει να λαμβάνεται υπόψη όταν αξιολογείται η τοπική φλεγμονώδης απόκριση.

1.4.3.3. Συστηματική Φλεγμονώδης Απόκριση

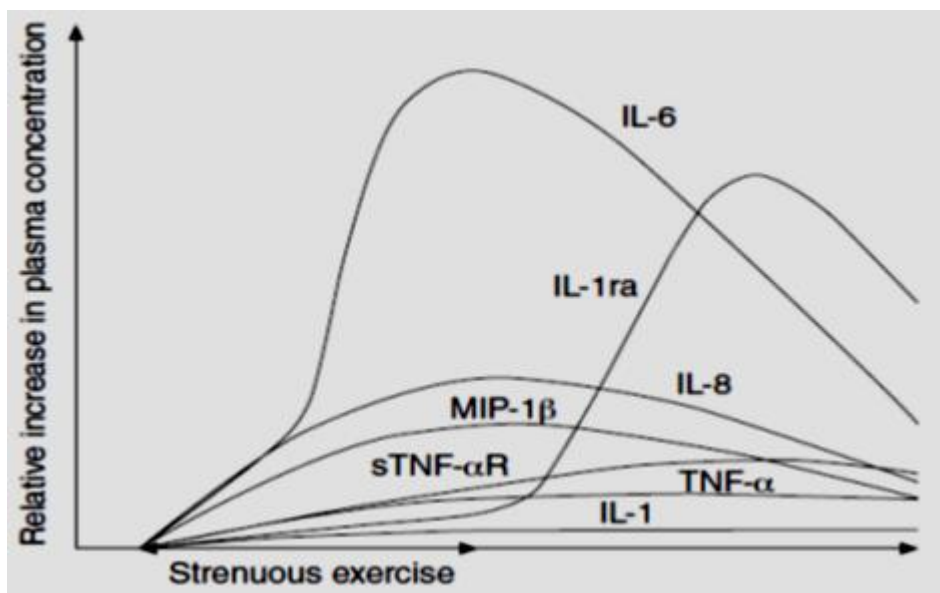
Παράλληλα με τη φλεγμονώδη απόκριση μέσα στο τραυματισμένο μυϊκό ιστό, ένας συμπληρωματικός καταρράκτης ενεργοποιείται στη συστηματική κυκλοφορία μετά από AMB, με κινητοποίηση των λευκοκυττάρων και αύξηση των συγκεντρώσεων κυτταροκινών. Θα πρέπει να αναφερθεί ότι τα δεδομένα που υπάρχουν σχετικά με τη συστηματική φλεγμονώδη απόκριση στην AMB είναι σαφώς περισσότερα από εκείνα που εξετάζουν τη τοπική απόκριση. Και αυτό διότι η αιμοληψία αποτελεί μια πιο απλή, εύκολη και αποδεκτή από τους εθελοντές διαδικασία σε σύγκριση με την αρκετά επεμβατική μυϊκή βιοψία. Επιπλέον, και για τους ερευνητές είναι πιο εύκολο να διαχειριστούν τα δείγματα αίματος σε σχέση με τα δείγματα μυϊκού ιστού, τα οποία απαιτούν αρκετά εξειδικευμένες αναλύσεις.

Ένας μεγάλος αριθμός δεδομένων είναι διαθέσιμα σχετικά με τις αλλαγές στη συγκέντρωση ουδετερόφιλων, μονοκύτταρων, NK κυττάρων, T και B λεμφοκυττάρων στη κυκλοφορία μετά από άσκηση που οδηγεί σε AMB. Τα στοιχεία αυτά προτείνουν ότι οι αλλαγές στον αριθμό των λευκοκυττάρων στη κυκλοφορία εξαρτάται από το είδος, το μέγεθος και τον αριθμό των μυϊκών ομάδων που εκτέλεσαν την έκκεντρη άσκηση, καθώς επίσης και από την ένταση της άσκησης. Γενικά, ο αριθμός των λευκοκυττάρων είναι μεγαλύτερος μετά από τρέξιμο σε κατηφορικό επίπεδο και έκκεντρη ποδηλασία σε σύγκριση με τις αλλαγές που παρατηρούνται μετά από ασκήσεις που επιστρατεύονται μεμονωμένες ή μικρότερες μυϊκές ομάδες, όπως το στεπ και οι τοπικές έκκεντρες συστολές του τετρακέφαλου. Προτείνεται ότι οι διαφορές αυτές στο κυκλοφορούντα ουδετερόφιλα οφείλονται στις ορμόνες του στρες (κορτιζόλη, επινεφρίνη), οι οποίες εκκρίνονται σε μεγάλο βαθμό όταν κινητοποιούνται μεγάλες μυϊκές ομάδες [1]. Επιπλέον, φαίνεται ότι η μυϊκή βλάβη τροποποιεί την έκφραση και τη λειτουργική

δραστηριότητα των υποδοχέων λευκοκυττάρων στην επιφάνεια των κυττάρων διευκολύνοντας με αυτό τον τρόπο τη διήθηση των λευκοκυττάρων και των μονοκυττάρων στο τραυματισμένο ιστό [36].

Πολλές μελέτες έχουν εξετάσει τις αλλαγές στη συγκέντρωση κυτταροκινών στη συστηματική κυκλοφορία μετά από άσκηση που οδηγεί σε AMB. Το κατηφορικό τρέξιμο και η έκκεντρη ποδηλασία σε υψηλές εντάσεις ($\geq 70\% \text{VO}_{2\text{max}}$) οδηγεί σε μεγαλύτερη αύξηση της συγκέντρωσης IL-6, IL-1 και IL-1ra στο πλάσμα σε σχέση με την αύξηση που παρατηρείται σε άλλες μορφές έκκεντρης συστολής όπως το κατηφορικό τρέξιμο μέτριας έντασης και οι τοπικές έκκεντρες συστολές των καμπτήριων μυών του αγκώνα. Οι διαφορές που παρατηρούνται φαίνεται ότι σχετίζονται περισσότερο με την ένταση και τη διάρκεια της εκτελούμενης άσκησης, καθώς και την αύξηση της θερμοκρασίας στο σημείο της μυϊκής βλάβης [37].

Επιπλέον, φαίνεται ότι μια ισχυρή συστηματική αντιφλεγμονώδη αντίδραση, η οποία επηρεάζει τη συγκέντρωση τόσο των προφλεγμονωδών όσο και των αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών, συμβαίνει στη κυκλοφορία μετά από AMB (Σχήμα 1.7.). 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 (sTNF- α R) εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα στη κυκλοφορία. Φαίνεται λοιπόν πως παρόλο που η ανοσολογική απόκριση μέσα στους μύες μετά από AMB είναι προφλεγμονώδης, η απελευθέρωση των προφλεγμονωδών κυτταροκινών στη κυκλοφορία του αίματος αναστέλλεται. Ο μηχανισμός που ευθύνεται για αυτή την αναστολή δεν είναι ακόμα ξεκάθαρος, αν και έχει προταθεί ότι εμπλέκεται σε αυτό η IL-6. Η IL-6 φαίνεται ότι περιορίζει έμμεσα τη φλεγμονή μέσω διέγερσης της παραγωγής αντιφλεγμονωδών παραγόντων, όπως IL-1ra, IL-10, sTNF- α R και κορτιζόλης. Έτσι, η απόκριση στη συστηματική κυκλοφορία είναι κυρίως αντιφλεγμονώδης [1, 37].



Σχήμα 1.7: Συστηματική απόκριση κυτταροκινών κατά την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη [37].

1.4.3.4. Φλεγμονώδη Κύτταρα: Ρόλος ουδετερόφιλων και μακροφάγων κατά την AMB

Έχει φανεί πως τρεις τουλάχιστον τύποι φλεγμονωδών κυττάρων εισέρχονται στη τραυματισμένη περιοχή μετά τον μυϊκό τραυματισμό, οι οποίοι είναι τα ουδετερόφιλα και τα μακροφάγα τύπου ED^{+1} και τύπου ED^{+2} (Πίνακας 1.1.). Τα κύτταρα αυτά επιτελούν ένα ευρύ φάσμα λειτουργιών κατά τη φλεγμονώδη αντίδραση που σχετίζεται με AMB. Οι τρεις βασικές λειτουργίες τους στη διαδικασία καταστροφής και επισκευής του μυός είναι: α) αποικοδόμηση του κατεστραμμένου ιστού (από τα ουδετερόφιλα και τα μακροφάγα), β) απομάκρυνση εκφυλισμένων κυττάρων (από τα μακροφάγα) και γ) αναγέννηση των κυττάρων (από τα μακροφάγα) [38].

Πίνακας 1.1.: Δράσεις φλεγμονωδών κυττάρων κατά τη μυϊκή επιδιόρθωση

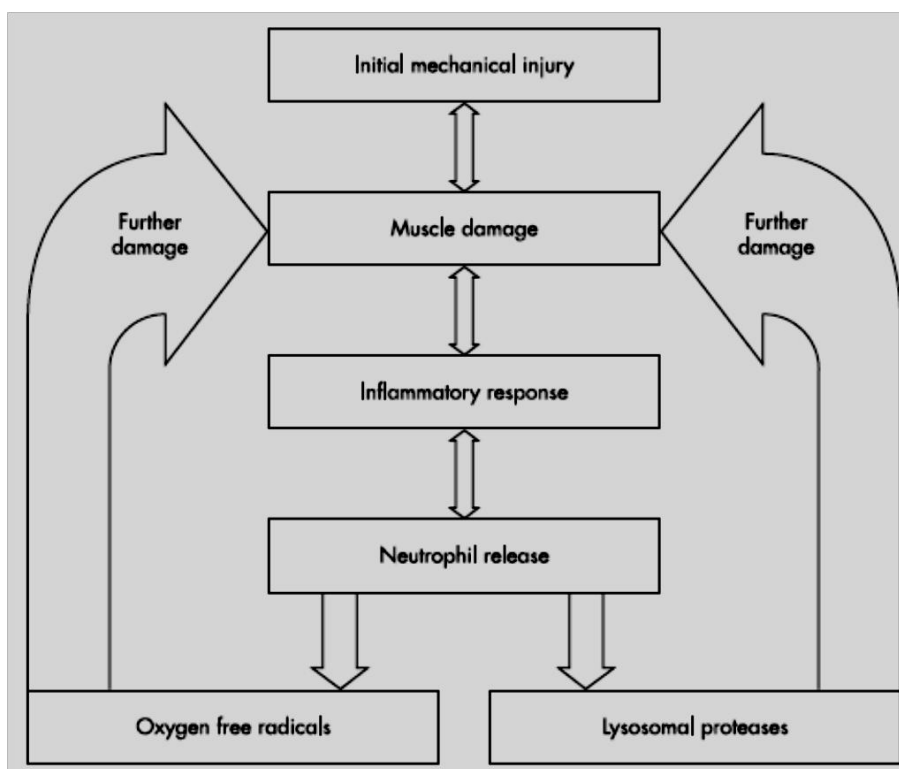
Τύπος κυττάρου	Δράση
Ουδετερόφιλα	Φαγοκυττάρωση Παραγωγή Κυτταροκινών Γένεση Ελευθέρων Ριζών
ED ⁺¹ μακροφάγα	Φαγοκυττάρωση κυτταρικών απομεινariών και μυοϊνδιακού υλικού
ED ⁺² μακροφάγα	Παροχή αυξητικών παραγόντων και κυτταροκινών

Ρόλος ουδετερόφιλων:

Τα ουδετερόφιλα είναι τα πρώτα κύτταρα που εμφανίζονται στη περιοχή μετά τη μυϊκή βλάβη. Παράγονται στο μυελό των οστών και εμφανίζονται στη κυκλοφορία του αίματος αντιπροσωπεύοντας το 50-60% των συνολικών κυκλοφορούντων λευκοκυττάρων [39]. Η είσοδος των ουδετερόφιλων έχει αποδειχθεί ότι λαμβάνει χώρα ήδη από τη πρώτη ώρα μετά τη πρόκληση AMB, ενώ η συγκέντρωσή τους κορυφώνεται στις 24 ώρες και παραμένει σε αυξημένα επίπεδα μέχρι και πέντε ημέρες μετά [40]. Χημειοτακτικοί παράγοντες είναι υπεύθυνοι για τη προσέλκυση των ουδετεροφίλων στο σημείο της βλάβης. Σε αυτούς περιλαμβάνονται οι κυτταροκίνες, όπως η IL-1, IL-8 και TNF-α, καθώς και παράγοντες που απελευθερώνονται στη κυκλοφορία από τον ίδιο το κατεστραμμένο μυϊκό ιστό όπως ο αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών (FGF) και ο αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγοντας (PDGF). Τα ουδετερόφιλα που εισέρχονται στη τραυματισμένη περιοχή απελευθερώνουν και αυτά χημειοτακτικούς παράγοντες (όπως προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες) προσελκύοντας περισσότερα ουδετερόφιλα και μονοκύτταρα στο σημείο της βλάβης, ενισχύοντας τη φλεγμονώδη απόκριση. Η συσσώρευση των ουδετερόφιλων φαίνεται ότι εξαρτάται από το σοβαρότητα της βλάβης, όσο μεγαλύτερη είναι η καταστροφή των μυϊκών ινών, τόσο μεγαλύτερη και η προσέλκυση των ουδετερόφιλων.

Μια βασική δράση των ουδετερόφιλων είναι η φαγοκυττάρωση των νεκρωτικών μυϊκών ινών και κυτταρικών «απομεινariών». Παράλληλα, έχει φανεί ότι τα ουδετερόφιλα έχουν την ικανότητα να απελευθερώνουν διάφορες πρωτεάσες και/ή να επάγουν την ενεργοποίηση

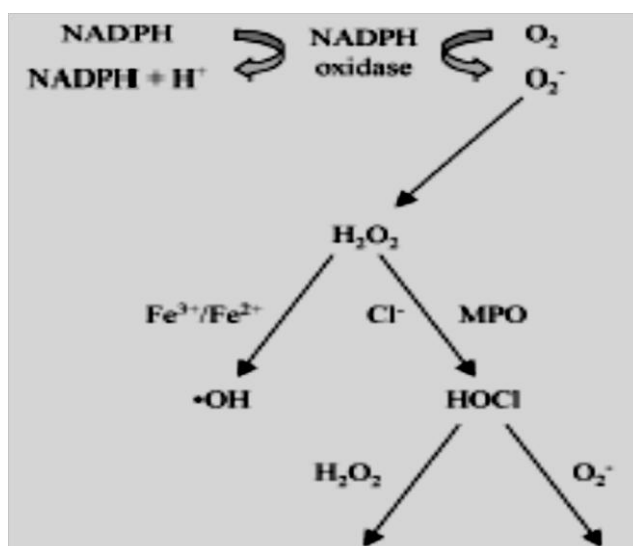
πρωτεολυτικών συστημάτων του κυττάρου που βοηθούν στην αποικοδόμηση των κυτταρικών υπολειμμάτων που προκύπτουν από το τραυματισμένο μυϊκό ιστό [41]. Παρόλα αυτά, στα πλαίσια αυτής της δράσης τους, που είναι σημαντική για την εκκαθάριση του κατεστραμμένου ιστού, απελευθερώνουν υψηλές συγκεντρώσεις κυτταροτοξικών μορίων που μπορούν να βλάψουν περαιτέρω το μυϊκό ιστό ακόμα και να επηρεάσουν παρακείμενες περιοχές υγιούς ιστού, οδηγώντας όπως έχει προταθεί σε μια δευτερογενή βλάβη του ήδη τραυματισμένου μυϊκού ιστού (Σχήμα 1.8.) [40]. Πρόσφατες μελέτες έχουν παρατηρήσει ότι η μέγιστη βλάβη στο μυϊκό ιστό συμπίπτει χρονικά με τη μέγιστη συσσώρευση ουδετερόφιλων στη περιοχή της βλάβης. Σε μελέτη ισχαιμίας-αιμάτωσης, η απουσία των ουδετερόφιλων από το αίμα είχε ως αποτέλεσμα μείωση της ιστικής βλάβης έως και 40%. Τα παραπάνω στοιχεία είναι υποστηρικτικά της ιδέας ότι τα εισερχόμενα ουδετερόφιλα συμβάλλουν στη περαιτέρω βλάβη του μυϊκού ιστού [41].



Σχήμα 1.8: Προτεινόμενος μηχανισμός μέσω του οποίου τα ουδετερόφιλα προκαλούν επιπλέον βλάβη στο μυϊκό ιστό [39].

Τα ουδετερόφιλα περιέχουν περισσότερα από 40 υδρολυτικά ένζυμα και τοξικά μόρια στα κοκκία τους και μπορούν να προκαλέσουν τη γένεση μιας ποικιλίας δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) και ελεύθερων ριζών (Σχήμα 1.9.) [39]. Η δραστηριοποίηση των ουδετερόφιλων οδηγεί σε «αναπνευστική έκρηξη», η οποία χαρακτηρίζεται από υπερκατανάλωση οξυγόνου. Οι οξειδωτικές αντιδράσεις που σχετίζονται με την «αναπνευστική

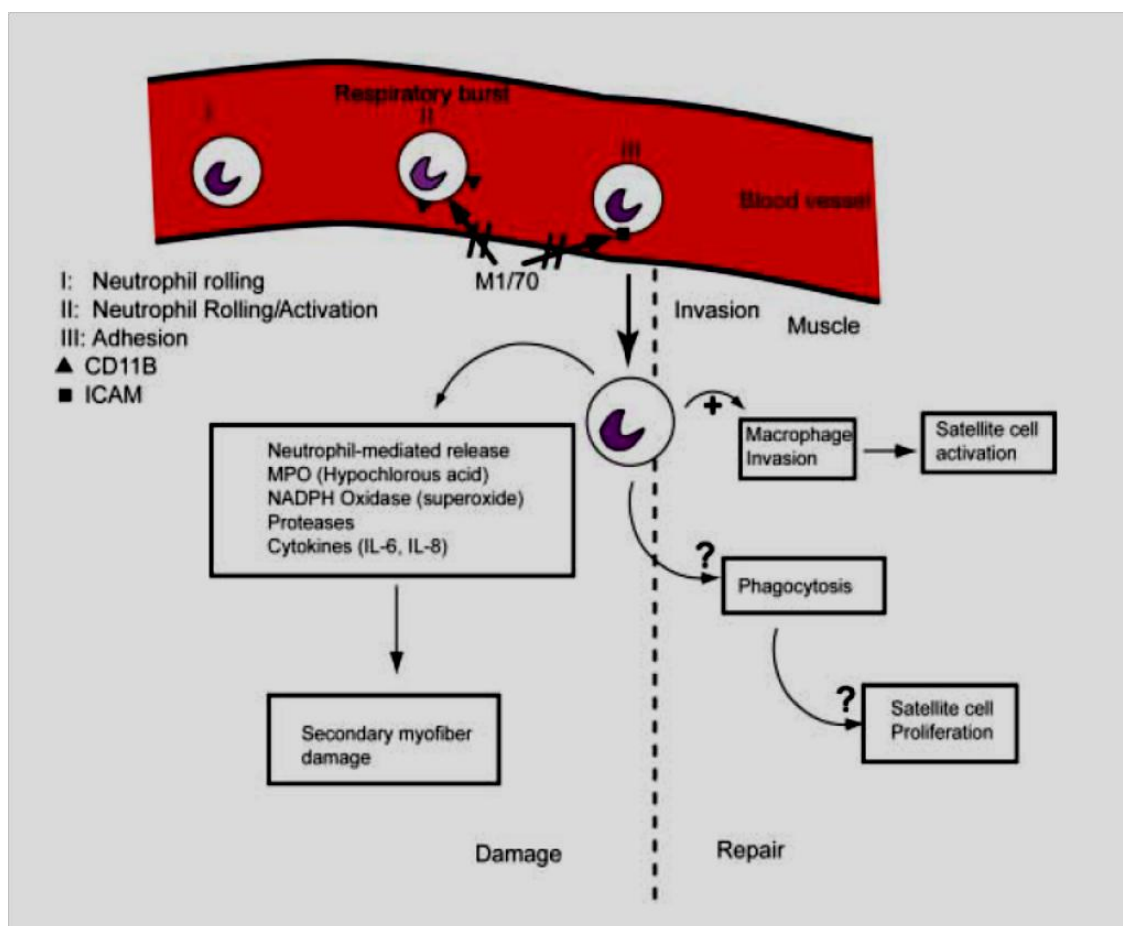
έκρηξη» πιθανόν ευθύνονται για τη δευτερογενή βλάβη του μυϊκού ιστού στη φλεγμονώδη αυτή φάση. Τα ουδετερόφιλα είναι ικανά να δημιουργούν υποχλωριώδες οξύ μέσω της μυελουπεροξειδάσης (MPO), καθώς και ανιόν υπεροξειδίου μέσω της ανηγμένης μορφής της υπεροξειδάσης του NADPH. Το O_2^- είναι ένα ήπιο οξειδωτικό, το οποίο γρήγορα αντιδρά με άλλες ελεύθερες ρίζες ή μετατρέπεται σε υπεροξείδιο του υδρογόνου από την υπεροξειδική δισμουτάση (SOD). Το H_2O_2 είναι πιο ισχυρό οξειδωτικό το οποίο μπορεί να μετατραπεί γρήγορα σε πολύ δραστικά οξειδωτικά, όπως οι ρίζες υδροξυλίου και το υποχλωριώδες οξύ [41]. Οι ROS που παράγονται από τα φλεγμονώδη κύτταρα προκαλούν άμεση κυτταρική βλάβη στα κύτταρα στόχους με τροποποιήσεις σε νουκλεϊκά οξέα, πρωτεΐνες και λιπίδια, βοηθώντας με αυτό τον τρόπο στην αποικοδόμηση του κατεστραμμένου μυϊκού ιστού. Ωστόσο, τα δραστικά αυτά μόρια μπορούν να επηρεάσουν με τον ίδιο τρόπο και τη λειτουργία των παρακείμενων υγιών κυττάρων επιδεινώνοντας τη μυϊκή βλάβη [11].



Σχήμα 1.9: Παραγωγή ROS από τα ουδετερόφιλα [42].

Από την άλλη μεριά, υπάρχουν ενδείξεις ότι τα ουδετερόφιλα συμμετέχουν και στην διαδικασία αποκατάστασης και επιδιόρθωσης του μυϊκού ιστού μετά το τραυματισμό. Έρευνα σε πειραματόζωα έδειξε ότι η απουσία ουδετερόφιλων είχε ως αποτέλεσμα ελλιπή απομάκρυνση των ιστικών υπολειμμάτων από το μυ και καθυστέρηση της διαδικασίας αναγέννησης. Φαίνεται ότι η φαγοκυττάρωση και/ή η δευτερογενής βλάβη μέσω της αναπνευστικής έκρηξης αποτελούν απαραίτητα σήματα για τη διαδικασία της αναγέννησης. Επιπλέον, έχει προταθεί ότι τα ουδετερόφιλα συμβάλλουν στην ενεργοποίηση των δορυφορικών κυττάρων, τα οποία είναι απαραίτητα για το σχηματισμό των νέων μυϊκών ινών. Ωστόσο, απαιτείται περισσότερη έρευνα

στο τομέα αυτό για να επιβεβαιωθούν οι παραπάνω παρατηρήσεις και να εξακριβωθεί ο ακριβής ρόλος των ουδετερόφιλων στην διαδικασία της αναγέννησης του μυϊκού ιστού (Σχήμα 1.10.) [41].



Σχήμα 1.10: Προτεινόμενος ρόλος των ουδετερόφιλων στην μυϊκή βλάβη και επιδιόρθωση [41].

Ρόλος μακροφάγων:

Εκτός από την έλευση των ουδετερόφιλων στη περιοχή της βλάβης, τα μονοκύτταρα είναι ένας ακόμη πληθυσμός κυττάρων που εμφανίζονται και στη συνέχεια ωριμάζουν και διαφοροποιούνται προς μακροφάγα. Η διέγερση των μυϊκών κυττάρων κατά τη μυϊκή βλάβη οδηγεί στην απελευθέρωση από αυτά χημειοτακτικών παραγόντων για τα κυκλοφορούντα μονοκύτταρα. Παρόλα αυτά, φαίνεται ότι η μεγαλύτερη ποσότητα των μονοκυττάρων/μακροφάγων που προσλαμβάνονται από το τραυματισμένο μυ προέρχεται από ένα συγκεκριμένο διαμέρισμα του μυϊκού ιστού, το επιμύιο/περιμύιο. Ιστολογικές αναλύσεις αυτού του συνδετικού ιστού έχουν δείξει ότι ένας συγκεκριμένος πληθυσμός μακροφάγων, τα μόνιμα μακροφάγα, προϋπάρχουν σε αυτό και σε περιπτώσεις μυϊκού τραυματισμού ενεργοποιούνται, απελευθερώνοντας τη χημειοτακτική πρωτεΐνη μονοκυττάρων 1 (MCP-1), η

οποία οδηγεί σε γρήγορη μετανάστευση των κυκλοφορούντων μονοκυττάρων και των μόνιμων μακροφάγων μέσα στο μυ. Έχει φανεί ότι ο πληθυσμός των μόνιμων μακροφάγων στο επιμύιο/περιμύιο παίζει σημαντικό ρόλο στη μετέπειτα προσέλκυση των κυκλοφορούντων μονοκυττάρων στο σημείο του τραυματισμού, καθώς επιλεκτική μείωση αυτού του πληθυσμού είχε ως αποτέλεσμα δραματική μείωση στη προσέλκυση των μονοκυττάρων από τη κυκλοφορία στο σημείο της μυϊκής βλάβης [43].

Τα μακροφάγα εμφανίζονται στο σημείο της βλάβης μια μέρα μετά το τραυματισμό και από εκεί και πέρα αποτελούν τον επικρατέστερο τύπο λευκοκυττάρων μέσα στο μυϊκό ιστό. Έχουν εντοπιστεί 2 υποπληθυσμοί μακροφάγων που παίζουν ρόλο στο μυϊκό τραυματισμό και στην αποκατάσταση. Ο πρώτος υποπληθυσμός είναι τα μακροφάγα που εκφράζουν το αντιγόνο ED+1, τα οποία δρουν ως φαγοκύτταρα συμβάλλοντας στη διαδικασία απομάκρυνσης του κατεστραμμένου ιστού. Εμφανίζονται στο σημείο της βλάβης 24 ώρες μετά το τραυματισμό και παραμένουν εκεί μέχρι και 3 ημέρες. Τα κύτταρα αυτά παρουσιάζουν φλεγμονώδη δράση μέσω της παραγωγής φλεγμονωδών κυτταροκινών και δραστικών μορφών οξυγόνου και αζώτου, συνεχίζοντας τη διαδικασία εκφύλισης του μυϊκού ιστού. Ο δεύτερος πληθυσμός είναι τα ED+2 μακροφάγα, τα οποία εμφανίζονται μετά τις 3 ημέρες, όταν έχει ολοκληρωθεί η διαδικασία εκκαθάρισης του μυϊκού ιστού από τα φαγοκύτταρα και ρυθμίζουν την ακολουθούσα διαδικασία αναγέννησης, προάγοντας τη μυϊκή ανάπτυξη. Τα μακροφάγα αυτά εμφανίζουν αντιφλεγμονώδη δράση και φαίνεται ότι προέρχονται από τον ίδιο πληθυσμό μακροφάγων που πριν εμφάνιζε διαφορετική δράση. Τα κύτταρα αυτά είναι παρόντα καθόλη την αναγεννητική διαδικασία και η κύρια λειτουργία τους είναι η δράση του ως πηγή αυξητικών παραγόντων και κυτταροκινών, όπως ο ινσουλινομιμητικός αυξητικός παράγοντας-1 (IGF-1), η IL-6 και ο αυξητικός παράγοντας προερχόμενος από τα αιμοπετάλια (PDGF), που μπορούν να ρυθμίσουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των μυοβλαστών. Υπάρχουν πολλές μελέτες που έχουν δείξει ότι η παρεμπόδιση εισόδου των μονοκυττάρων/μακροφάγων στο τραυματισμένο μυϊκό ιστό έχει αρνητικό αντίκτυπο στη διαδικασία ίσης, επιβεβαιώνοντας το σημαντικό ρόλο των μακροφάγων στη διαδικασία αναγέννησης μετά από μυϊκό τραυματισμό [43].

1.4.3.5. Οξειδωτικό στρες κατά την AMB

Οι ελεύθερες ρίζες (άτομα ή μόρια που περιέχουν ένα ή περισσότερα μονήρη-ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική τους στοιβάδα) και τα δραστικά είδη οξυγόνου και αζώτου (RONS) έχουν μελετηθεί αρκετά ως προς το ρόλο τους στη κυτταρική βλάβη. Δεδομένου ότι τα μόρια

αυτά είναι πολύ δραστικά, το σώμα έχει αναπτύξει ένα μεγάλο αριθμό ενζυμικών και μη-ενζυμικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών για την εξουδετέρωση τους. Οι σκελετικοί μύες αποτελούν μια σημαντική πηγή παραγωγής RONS στο σώμα. Κατά τη διάρκεια της άσκησης, οι RONS παράγονται σαν αποτέλεσμα του αερόβιου μεταβολισμού ή/και της ενεργοποίησης των φλεγμονωδών κυττάρων σε απόκριση στη μυϊκή βλάβη. Οι κύριες πηγές ελευθέρων ριζών και RONS μέσα στους μύες είναι [44]:

α) τα μιτοχόνδρια των μυϊκών κυττάρων, μέσω του συστήματος μεταφοράς ηλεκτρονίων που βρίσκεται στη μιτοχονδριακή μεμβράνη.

β) η οξειδάση της ξανθίνης στα ενδοθηλιακά κύτταρα

γ) η διεϊσδυση των φαγοκυτταρικών κυττάρων

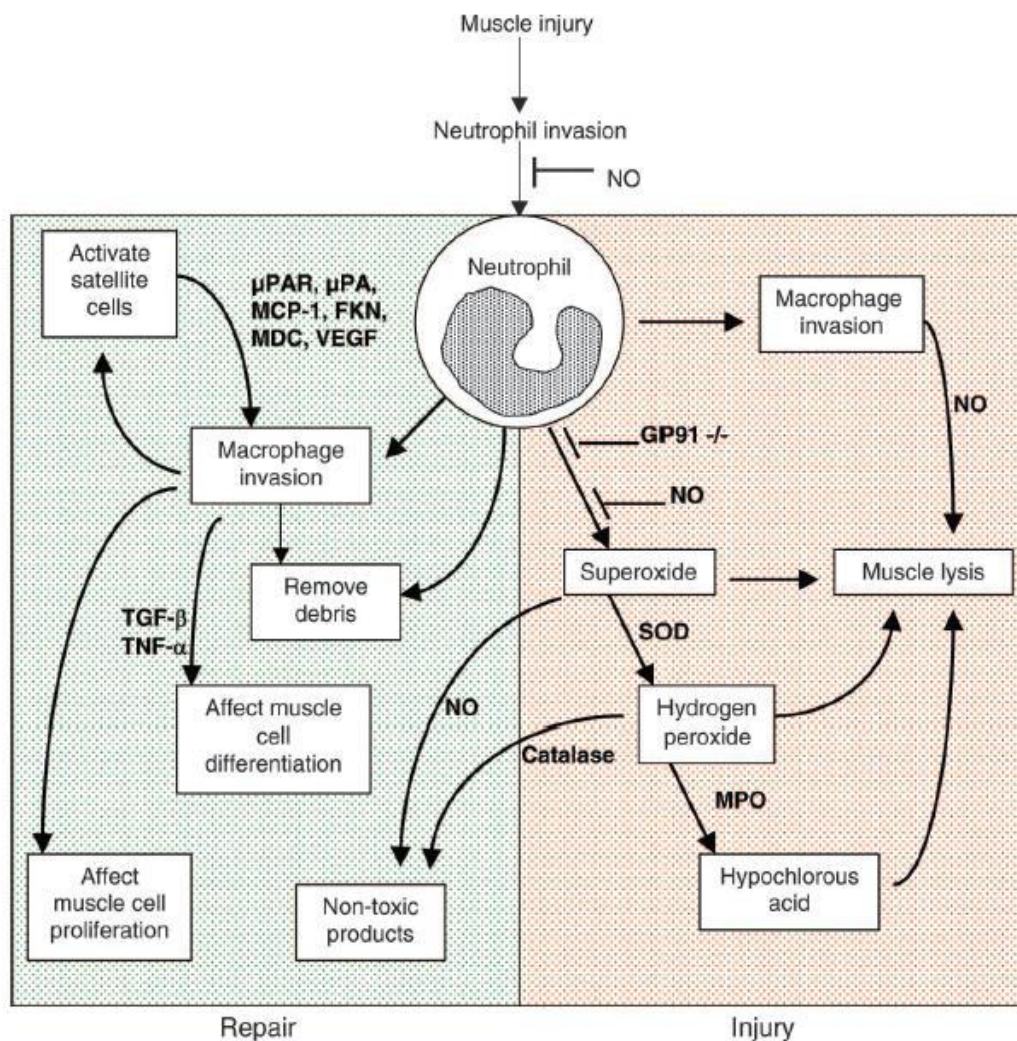
δ) αντιδράσεις που καταλύονται από το σίδηρο

Κατά τη διάρκεια εξαντλητικής φυσικής δραστηριότητας, η παροχή οξυγόνου στους μύες μειώνεται σημαντικά σε υψηλά επίπεδα πρόσληψης οξυγόνου. Την ίδια στιγμή, ο ρυθμός κατανάλωσης ATP ξεπερνάει το ρυθμό με τον οποίο αυτό αναγεννιέται, οδηγώντας σε διαρροή ηλεκτρονίων από τα μιτοχόνδρια των μυϊκών κυττάρων. Το γεγονός αυτό οδηγεί σε γρήγορη αύξηση των επιπέδων ελευθέρων ριζών, σε βαθμό που ξεπερνά την ικανότητα των αντιοξειδωτικών μηχανισμών να τις εξουδετερώσουν. Το αποτέλεσμα είναι η ανάπτυξη οξειδωτικού στρες και η επακόλουθη κυτταρική βλάβη [45]. Στα πλαίσια της AMB, θα πρέπει να αναφερθεί ότι οι μιτοχονδριακοί οδοί παραγωγής ROS, που περιγράφηκαν παραπάνω, σχετίζονται με αύξηση του αερόβιου μεταβολισμού. Ωστόσο, οι έκκεντρες συστολές είναι μεταβολικά λιγότερο απαιτητικές σε σχέση με τις ομόκεντρες συστολές, αν και σχετίζονται περισσότερο με την εμφάνιση AMB. Έτσι, είναι σχεδόν απίθανο, η αυξημένη μιτοχονδριακή παραγωγή ROS να αποτελεί τη πρωταρχική αιτία κυτταρικής βλάβης κατά την AMB [11].

Φαίνεται ότι κατά την AMB, η αρχική βλάβη που παρουσιάζεται στα μυϊκά κύτταρα οδηγεί σε ενεργοποίηση των ROS και αύξηση του οξειδωτικού στρες. Ο μυϊκός τραυματισμός χαρακτηρίζεται από φυσιολογικές μεταβολές στις οποίες συμπεριλαμβάνονται η διατάραξη της λειτουργίας των αντιοξειδωτικών συστημάτων του κυττάρου, η απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος, μεταλλικών ιόντων και αιμικών πρωτεϊνών, καθώς και η ενεργοποίηση των φλεγμονωδών κυττάρων. Όλα αυτά αποτελούν σημαντικές πηγές παραγωγής ελευθέρων ριζών και RONS [42]. Η ενεργοποίηση της PLA2 έχει ως αποτέλεσμα αυξημένη απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος από τις κυτταρικές μεμβράνες, το οποίο αποτελεί υπόστρωμα οξειδωτικών συστημάτων όπως οι

λιποξυγονάσες. Επιπλέον, έχει τη δυνατότητα να ενεργοποιεί την οξειδάση του NADP(H) και να διεγείρει τη παραγωγή ROS στα μιτοχόνδρια και το κυτταρόπλασμα [46].

Τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος έχουν τη δυνατότητα παραγωγής μεγάλων ποσοτήτων ελευθέρων ριζών και ROS. Η ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων και των μακροφάγων κατά τη φαγοκυτταρική φάση που περιγράφηκε παραπάνω, οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου, όπως ανιόν υπεροξειδίου (O_2^-), υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), υποχλωριώδες οξύ (HOCl) και ρίζες υδροξυλίου ($\bullet OH$). Η παραγωγή ROS από τα ουδετερόφιλα και τα μακροφάγα είναι σημαντική για την αποικοδόμηση των κατεστραμμένων μυϊκών ινών. Παρόλα αυτά, όταν παράγονται σε μεγάλες ποσότητες, τα τοξικά αυτά μόρια μπορεί να επιτεθούν και σε υγιή μυϊκά κύτταρα, προκαλώντας οξείδωση σε λιπίδια, πρωτεΐνες και νουκλεϊκά οξέα. Η δράση τους αυτή οδηγεί σε υπεροξείδωση λιπιδίων, διαταραχή στις φυσιολογικές λειτουργίες του κυττάρου και βλάβες στο DNA, επιδεινώνοντας με αυτό τον τρόπο τη μυϊκή βλάβη [11, 42]. Επιπλέον, οι ελεύθερες ρίζες και τα ROS πιθανόν συμβάλλουν έμμεσα στην ενεργοποίηση του μονοπατιού ουβικινόνης-πρωτεοσώματος μέσω ενεργοποίησης του μεταγραφικού παράγοντα NF- κ B, οδηγώντας σε αυξημένη πρωτεόλυση. Από την άλλη μεριά, υπάρχουν στοιχεία που δείχνουν ότι η παρεμπόδιση της δράσης των ουδετερόφιλων και των μακροφάγων έχει ως αποτέλεσμα τη καθυστέρηση της διαδικασίας αποκατάστασης. Έχει προταθεί ότι η φλεγμονώδης διαδικασία και η παραγωγή ROS είναι απαραίτητες για την ιδανική αποκατάσταση των μυών μετά από AMB και συμβάλλουν σημαντικά στην ανάπτυξη προσαρμογών του μυϊκού ιστού για πρόληψη μελλοντικής βλάβης [41, 43]. Στο σχήμα περιγράφεται η φλεγμονώδης απόκριση και η παραγωγή ROS κατά την AMB και πώς αυτές συμβάλλουν στην μυϊκή βλάβη και στη διαδικασία αποκατάστασης.



Σχήμα 1.11.: Η φλεγμονώδης απόκριση και η παραγωγή ROS κατά την AMB [40].

1.4.4. Φάση Αναγέννησης

Κατά το αναγεννητικό στάδιο γίνεται η μετάβαση από τη φάση της εκφύλισης σε αυτή της αναγέννησης. Οι μυϊκές ίνες έχουν την ικανότητα να αναγεννώνται μετά από μυϊκό τραυματισμό. Η πολύπλοκη διαδικασία της αναγέννησης που έχει ως σκοπό την επιδιόρθωση της βλάβης και τον επακόλουθο σχηματισμό νέων μυϊκών ινών έχει μελετηθεί αναλυτικά εδώ και πολλά χρόνια. Οι ώριμοι μύες αποτελούνται από μακριά κύτταρα που περιέχουν πολλούς πυρήνες. Για να αναπτυχθούν εκ νέου ή να ανακτήσουν τη λειτουργικότητα τους μετά από μυϊκό τραυματισμό τα ώριμα αυτά μυϊκά κύτταρα δε μπορούν να διαιρεθούν. Έτσι οι καινούριοι πυρήνες θα πρέπει να προέλθουν από κάποια άλλη πηγή. Κοντά στα ώριμα μυϊκά κύτταρα υπάρχει ένας πληθυσμός βλαστοκυττάρων, το οποία ονομάζονται δορυφορικά κύτταρα. Σε απόκριση στο μυϊκό τραυματισμό τα κύτταρα αυτά ενεργοποιούνται για το σχηματισμό νέων

μυϊκών ινών. Η διαδικασία αναγέννησης αρχίζει ταυτόχρονα με την ενεργοποίηση των δορυφορικών κυττάρων και τη φλεγμονώδη φάση [47]. Η είσοδος των μακροφάγων φαίνεται ότι είναι απαραίτητη για την έναρξη της διαδικασίας αναγέννησης και την ενεργοποίηση των δορυφορικών κυττάρων [43]. Έχει προταθεί ότι η ανάπλαση των μυϊκών κυττάρων πραγματοποιείται σε τέσσερα στάδια: α) ενεργοποίηση των δορυφορικών κυττάρων, β) πολλαπλασιασμός μυοβλαστών, γ) διαφοροποίηση και δ) επιστροφή στη κατάσταση ηρεμίας [47]. Επιπλέον, με την επακόλουθη νεύρωση και το σχηματισμό συνδετικού ιστού επιτυγχάνεται η βέλτιστη ανάκτηση της συσταλτικής λειτουργίας των μυϊκών ινών [48].

1.5. Κλινικά συμπτώματα AMB

Η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη εκδηλώνεται με μια πληθώρα συμπτωμάτων στα οποία περιλαμβάνεται η καθυστερημένη εμφάνιση μυϊκού πόνου, η δυσκαμψία, η μυϊκή ευαισθησία, το οίδημα, η αύξηση ενδομυϊκών πρωτεϊνών στο αίμα και η προσωρινή μείωση στη μυϊκή λειτουργία των εμπλεκόμενων στην άσκηση μυϊκών ομάδων, όπως φαίνεται από τη μείωση της δύναμης, της ικανότητας παραγωγής ισχύος κατά τη μυϊκή προσπάθεια και του εύρους κίνησης των αρθρώσεων.

1.5.1. Καθυστερημένος Μυϊκός Πόνος (ΚΜΠ)

Ο ΚΜΠ αποτελεί το πιο κοινό κλινικό σύμπτωμα της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, ο οποίος παρουσιάζεται ως μυϊκή ευαισθησία ή/και πόνος κατά τη ψηλάφηση ή/και τη κίνηση, καθώς επίσης και δυσκαμψία που οδηγεί σε πόνο όταν ο μυς ενεργοποιείται ή διατάσσεται παθητικά. Η εκδήλωση του ακολουθεί μια χαρακτηριστική χρονική πορεία. Συνήθως, ο πόνος εμφανίζεται 6-12 ώρες μετά την άσκηση και προοδευτικά αυξάνεται. Τυπικά, τα άτομα πηγαίνουν για ύπνο με μια ήπια δυσφορία και ξυπνούν το επόμενο πρωί με πολύ έντονο έως και εξουθενωτικό, σε μερικές περιπτώσεις, πόνο. Ο μέγιστος πόνος εμφανίζεται συνήθως 48-72 ώρες μετά την άσκηση, όπου αρχίζει να υποχωρεί, με ελάχιστό ή και καθόλου πόνο 5-7 ημέρες μετά την άσκηση [11, 49]. Όσον αφορά τον εντοπισμό του πόνου, μερικές μελέτες αναφέρουν ότι γίνεται αισθητός σε ολόκληρο το μύ, ενώ άλλες έχουν δείξει ότι ο πόνος εντοπίζεται στο άνω μέρος του μυός στη μυοτενόντια σύνδεση [50].

Αν και πολλές θεωρίες έχουν προταθεί σχετικά με την αλληλουχία γεγονότων που οδηγούν στην εμφάνιση του ΚΜΠ, δεν έχει ακόμα εδραιωθεί κάποιος συγκεκριμένος μηχανισμός που να εξηγεί τη πρόκληση του πόνου. Η εμφάνιση του ΚΜΠ έχει αποδοθεί στην ευαισθητοποίηση των

νευρικών απολήξεων τύπου III και IV. Μηχανικοί υποδοχείς πόνου είναι τυπικά οι τύπου III ίνες, ενώ οι τύπου I χαρακτηρίζονται ως πολύτροποι υποδοχείς πόνου, ανταποκρινόμενοι σε μηχανικά, χημικά και θερμικά σήματα. Οι βασικοί μηχανισμοί που διέπουν την αίσθηση του ΚΜΠ είναι το τοπικό οίδημα και η επακόλουθη αυξημένη πίεση μέσα στο μυ, η οποία ευαισθητοποιεί τους μηχανοϋποδοχείς του πόνου. Χημικές αλλαγές μέσα στο μυ έχει φανεί ότι συμβάλλουν επίσης στην εμφάνιση του ΚΜΠ. Έχει προταθεί ότι τα μακροφάγα που εισέρχονται στο τραυματισμένο μυϊκό ιστό, λόγω της έκθεσής τους σε φλεγμονώδες περιβάλλον, παράγουν προσταγλαδίνη E_2 (PGE_2) η οποία προκαλεί την αίσθηση του πόνου ευαισθητοποιώντας τις νευρικές απολήξεις τύπου III και IV σε μηχανικό, χημικό ή θερμικό ερεθισμό. Η συσσώρευση ισταμίνης, βραδυκινίνης, καλίου και κινινών που προέρχονται από την ενεργητική φαγοκυττάρωση και τη κυτταρική νέκρωση, σε συνδυασμό με την αυξημένη πίεση λόγω του τοπικού οιδήματος και την τοπικά αυξημένη θερμοκρασία, μπορούν κάλλιστα να ενεργοποιήσουν νευρικές απολήξεις του πόνου που βρίσκονται στο εσωτερικό των μυϊκών ινών και στην περιοχή της μυοτενόνιας σύνδεσης. Αυτά τα γεγονότα οδηγούν στην αίσθηση του ΚΜΠ. Ο πόνος αυτός μπορεί να αυξάνεται με τη κίνηση επειδή η αυξημένη ενδομυϊκή πίεση προκαλεί μηχανικό ερεθισμό για τους υποδοχείς του πόνου, οι οποίοι είναι ήδη ευαισθητοποιημένοι από τη PGE_2 [3, 50].

1.5.2. Οίδημα

Η εμφάνιση οιδήματος στον εμπλεκόμενο στην άσκηση μυ αποτελεί μια συνήθης εκδήλωση της AMB. Το μέγιστο οίδημα εμφανίζεται συνήθως 3-4 μέρες μετά την άσκηση και σταδιακά υποχωρεί στις επόμενες 10 μέρες [31]. Αρχικά εντοπίζεται μέσα στο μυ και στη συνέχεια διαχέεται στον υποδόριο χώρο τις πρώτες 5 ημέρες. Με τη χρήση μαγνητικής τομογραφίας έχει φανεί ότι αρχικά υπάρχει μια οξεία φάση πρηξίματος την πρώτη ώρα μετά την άσκηση, η οποία συνοδεύεται από μια φάση σταδιακής αύξησης του οιδήματος 1 με 6 ημέρες μετά την άσκηση [50]. Εμφανίζεται ως επακόλουθο της φλεγμονώδους απόκρισης μετά από AMB. Τα προϊόντα αποικοδόμησης του μυός (πρωτεϊνικά κλάσματα) που συσσωρεύονται, ως τη μεταφορά και την απομάκρυνσή τους που γίνεται αργά μέσω της λέμφου, κατακρατούν νερό, προκαλώντας τοπικό οίδημα [51].

Με τη χρήση μαγνητικής τομογραφίας έχει φανεί ότι το τοπικό οίδημα σχετίζεται με αυξήσεις στα επίπεδα μυϊκών πρωτεϊνών (π.χ. κρεατινική κινάση και μυογλοβίνη) στο εξωκυττάριο χώρο μετά από έκκεντρη άσκηση. Αλλαγές στα επίπεδα ενδομυϊκών λιπιδίων έχουν επίσης παρατηρηθεί μετά από έκκεντρη άσκηση και αυτή η συσσώρευση έχει προταθεί ότι πιθανόν συμβάλλει έμμεσα στην εμφάνιση τοπικού οιδήματος [50]. Επιπλέον, μελέτες σε πειραματόζωα

έχουν δείξει ότι οι έκκεντρες συστολές οδηγούν σε αύξηση της συγκέντρωσης Na^+ στο κυτταρόπλασμα $[\text{Na}^+]_c$. Η αύξηση της $[\text{Na}^+]_c$ φαίνεται να συμβαίνει μετά από συστολές επιμήκυνσης και φθάνει στη μέγιστη τιμή της μετά από 5-10 λεπτά. Η αύξηση της $[\text{Na}^+]_c$ είναι σημαντική και αναμένεται να συνοδεύεται από ωσμωτικά ισοδύναμο νερό που θα μπορούσε να συμβάλει στο οίδημα που σχετίζεται με τις έκκεντρες συστολές. Η αύξηση της $[\text{Na}^+]_c$ οδηγεί σε ενεργοποίηση της αντλίας Na^+-K^+ και εκροή νατρίου από το κύτταρο η οποία συνοδεύεται από ωσμωτική αύξηση του νερού [7].

1.5.3. Απώλεια δύναμης

Πολυάριθμες είναι οι μελέτες που αναφέρουν σημαντικές μειώσεις της δύναμης των εμπλεκόμενων μυών μετά από AMB. Οι μειώσεις αυτές έχουν παρατηρηθεί κυρίως στη παραγωγή έκκεντρης δύναμης αλλά και στη μειομετρική και ισομετρική δύναμη σε μικρότερο βαθμό. Η μείωση της δύναμης είναι πιο έντονη αμέσως μετά την άσκηση και μέσα στις πρώτες 24 με 48 ώρες μετά το τέλος της, ενώ η πλήρης ανάκτηση της δύναμης διαρκεί 8-10 ημέρες [3]. Το κατηφορικό τρέξιμο και η έκκεντρη ποδηλασία έχει φανεί ότι οδηγεί σε άμεση απώλεια της δύναμης 10-30%, που επανέρχεται στις 24 ώρες. Η μέτριας έντασης έκκεντρη άσκηση επιφέρει 30-50% μείωση στη δύναμη, ενώ πιο έντονα πρωτόκολλα οδηγούν σε μειώσεις της τάξης του 50-70%, με χρόνους ανάκαμψης από 7-10 μέρες μέχρι και αρκετές εβδομάδες [50].

Διάφοροι ερευνητές υπέθεταν ότι η μείωση της δύναμης μπορεί να οφείλεται σε παρεμπόδιση ψυχολογικής φύσεως που σχετίζεται με την αίσθηση του πόνου. Ωστόσο, αυτό μάλλον δεν ευσταθεί. Ο πόνος από μόνος του δε μπορεί να αποτελεί αίτιο της μειωμένης ικανότητας παραγωγής έργου καθώς όπως αναφέρθηκε οι μειώσεις στη δύναμη εμφανίζονται αμέσως μετά την άσκηση πριν ακόμα αρχίσει να γίνεται αισθητός ο πόνος, ενώ η απώλεια δύναμης συνεχίζει να υφίσταται μετά τη μείωση του αισθήματος του πόνου [3]. Επιπλέον, η βλάβη στην αρχιτεκτονική των μυοϊνιδίων όπως περιγράφηκε επιδεινώνεται 2-3 ημέρες μετά την άσκηση ενώ η δύναμη αρχίζει να επανέρχεται, και έτσι, η βλάβη αυτή δεν αποτελεί παράγοντα που εξηγεί την απώλεια της δύναμης [50]. Περιληπτικά, οι μηχανισμοί που έχουν προταθεί για τη μείωση της δύναμης είναι οι εξής:

-Ανακατανομή στο μήκος των σαρκομερίων

Έχει προταθεί ότι η έκκεντρες μυϊκές συστολές οδηγούν σε μια ανακατανομή στο μήκος των σαρκομερίων. Η επιμήκυνση του ενεργού μυός κατά τις συστολές επιμήκυνσης δεν συμβαίνει με ομοιόμορφη επιμήκυνση όλων των σαρκομεριών, αλλά με μια μη ομοιόμορφη αλλαγή του μήκους των σαρκομερίων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα ασθενέστερα σαρκομέρια να

υπερδιατάσσονται πέρα από το όριο αλληλοεπικάλυψης των μυονηματίων και να μη μπορούν να επανασυνδεθούν κατά τη φάση χαλάρωσης. Τα υπόλοιπα λειτουργικά σαρκομέρια προσαρμόζονται σε ένα μικρότερο μήκος για να αντισταθμίσουν την υπερέκταση και παρατηρείται μια μετατόπιση της σχέσης μήκους-διάτασης προς μεγαλύτερα μήκη μυών. Οι πρακτικές συνέπειες είναι ότι ένα μεγαλύτερο μήκος μυών απαιτείται για να επιτευχθεί η ίδια αλληλοεπικάλυψη μετά από έκκεντρη άσκηση σε σχέση με πριν, με αποτέλεσμα μετατόπιση της βέλτιστης γωνίας για παραγωγή δύναμης προς τα δεξιά και δυσανάλογη απώλεια δύναμης στους μικρού μήκους μύες [49].

-Μεταβολές στη σύζευξη διέγερσης-συστολής [49, 50]

Όπως αναφέρθηκε μια από τις πιο εμφανείς βλάβες κατά την AMB είναι η διατάραξη της λειτουργίας του συστήματος σύζευξης διέγερσης-συστολής. Η βλάβη αυτή μπορεί να εμφανιστεί σε οποιοδήποτε στάδιο της αλυσίδας των γεγονότων από την εκπόλωση της κυτταρική μεμβράνης των μυών μέχρι την απελευθέρωση του ασβεστίου από το σαρκοπλασματικό δίκτυο που απαιτείται για τη παραγωγή δύναμης στα μυοϊνίδια. Έχει αποδειχθεί ότι η απελευθέρωση ασβεστίου από το σαρκοπλασματικό δίκτυο είναι μειωμένη μετά από AMB. Οι έκκεντρες συστολές έχει φανεί ότι μεταβάλλουν τη δομή των T-σωληναρίων. Αυτές οι αλλαγές φαίνεται ότι είναι υπεύθυνες για τη βλάβη του συστήματος σύζευξης διέγερσης-συστολής.

-Εκφύλιση μυϊκών ινών [52]

Σε πολλούς μύες υπάρχουν ίνες πλήρως εκφυλισμένες που δε μπορούν να διεγερθούν. Κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες υπεύθυνες για τη δομή των σαρκομερίων της μυϊκής ίνας (όπως τιτίνη, δεσμίνη, δυστροφίνη) προσβάλλονται κατά τη διάρκεια έκκεντρης συστολής και οδηγούν σε εκφύλιση των μυϊκών ινών.

-Διαταραγμένη αποθήκευση γλυκογόνου

Μία άλλη καταστροφική επίπτωση της μυϊκής βλάβης που προκαλείται από την άσκηση, είναι ότι επηρεάζει την αποθήκευση του μυϊκού γλυκογόνου. Τα αποθέματα του γλυκογόνου εξαντλούνται μετά από παρατεταμένη πολύ έντονη άσκηση. Ο κατεστραμμένος μυϊκός ιστός παρουσιάζει μια διαταραγμένη ικανότητα για επανασύνθεση γλυκογόνου μετά από AMB, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της αναμενόμενης απόδοσης στην αντοχή σε ακόλουθες συνεδρίες άσκησης. Οι μηχανισμοί που ευθύνονται για αυτή τη μειωμένη σύνθεση γλυκογόνου μετά από AMB δεν έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως. Έρευνες έχουν δείξει μειωμένη περιεκτικότητα υποδοχέων GLUT-4 καθώς και ινσουλινοαντίσταση 1 με 2 μέρες μετά από

εκτέλεση έκκεντρης άσκησης στην οποία ο ασκούμενος δεν ήταν εξοικειωμένος. Είναι πολύ πιθανό η διαταραγμένη επανασύνθεση γλυκογόνου μετά από έκκεντρη άσκηση να οφείλεται σε μείωση της περιεκτικότητας των GLUT-4 στη μεμβράνη των τραυματισμένων μυϊκών κυττάρων ή/και σε παροδική ινσουλινοαντίσταση. Επιπλέον, η διήθηση των φλεγμονωδών κυττάρων κατά τη φλεγμονώδη φάση της AMB οδηγεί σε αυξημένη χρησιμοποίηση γλυκόζης από αυτά και αύξηση της παραγωγής γαλακτικού. Έχει προταθεί ότι η μειωμένη σύνθεση γλυκογόνου μπορεί να οφείλεται στην αυξημένη χρησιμοποίηση της γλυκόζης από τα φλεγμονώδη κύτταρα, καθώς λιγότερη γλυκόζη είναι διαθέσιμη από τα μυϊκά κύτταρα για σύνθεση γλυκογόνου [49, 53].

1.5.4. Μείωση στο εύρος κίνησης των αρθρώσεων [50]

Ένα ακόμα κλινικό σύμπτωμα της AMB είναι η μείωση του εύρους κίνησης (ROM) των εμπλεκόμενων στην άσκηση αρθρώσεων. Το ROM μειώνεται αμέσως μετά την άσκηση και μπορεί να μειωθεί κατά 20-45 μοίρες. Ενώ η ανάκαμψη ξεκινάει μέσα στις επόμενες 24 ώρες, η πλήρης ανάκτηση μπορεί να μην έχει πραγματοποιηθεί μέχρι και 10 μέρες μετά την άσκηση. Οι μηχανισμοί που ευθύνονται για αυτή τη μείωση του ROM απαιτούν περαιτέρω διερεύνηση. Παρόλα αυτά, έχει προταθεί ότι η αύξηση των θραυσμάτων των συστατικών μυϊκών ινών, η οποία σχετίζεται με αύξηση των επιπέδων κυτοσολικού ασβεστίου κατά την ηρεμία και υπερδομικές βλάβες, πιθανόν ευθύνεται για τη μείωση του ROM. Επιπλέον, η μείωση του ROM μπορεί να αποδοθεί εν μέρη στη ταυτόχρονη συσσώρευση υγρών, και την επακόλουθη εμφάνιση οιδήματος.

1.6. Δείκτες Αξιολόγησης AMB

Η μυϊκή βιοψία και η ιστολογική παρατήρηση του μυϊκού ιστού με τη χρήση ηλεκτρονικού ή οπτικού μικροσκοπίου αποτελεί τη μοναδική μέθοδο για άμεση αξιολόγηση της μυϊκής βλάβης μετά από άσκηση. Η μυϊκή βιοψία παρέχει άμεσες πληροφορίες για τη διάρρηξη της δομής των μυϊκών κυττάρων και την έκταση της βλάβης που παρατηρείται σε αυτά, αποτελώντας μια από τις καλύτερες μεθόδους για αξιολόγηση της AMB [2]. Μειονέκτημα της μεθόδου αποτελεί το γεγονός ότι εξετάζεται μια μικρή περιοχή του μυός που πιθανόν δεν ανταποκρίνεται στη συνολική εικόνα του. Επιπλέον, υπάρχουν στοιχεία που υποστηρίζουν ότι η ίδια η διαδικασία της μυϊκής βιοψίας λόγω της επεμβατικής της φύσης μπορεί να συμβάλλει επιπλέον στη μυϊκή βλάβη, προκαλώντας επιπλέον τραυματισμό στο μυ [54, 55]. Οι περιορισμοί αυτοί σε συνδυασμό με το υψηλό κόστος αναλύσεων και τη δυσκολία στη συλλογή των ιστικών δειγμάτων, έχει οδηγήσει τους ερευνητές στη χρήση διαφόρων έμμεσων δεικτών προκειμένου

να κατανοήσουν περισσότερο του μηχανισμού της AMB και των συμπτωμάτων της. Οι έμμεσοι δείκτες είναι λιγότερο επεμβατικοί από τις μυϊκές βιοψίες και επιτρέπουν τις επαναλαμβανόμενες μετρήσεις κατά τη διάρκεια πολλών ημερών, παρέχοντας μια εικόνα για τη λειτουργία των μυών ύστερα από AMB. Πολλές μεταβλητές έχουν χρησιμοποιηθεί στην προσπάθεια ποσοτικοποίησης της μυϊκής βλάβης. Ορισμένες επιλεγμένες μεταβλητές που αποτελούν και τους πιο συνήθεις δείκτες αξιολόγησης της μυϊκής βλάβης παρουσιάζονται στο Πίνακα 1.2.

Πίνακας 1.2.: Δείκτες αξιολόγησης μυϊκής βλάβης [31].

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

1.6.1. Κλινικοί δείκτες και δείκτες λειτουργικότητας του μυός [31, 50]

Ο πόνος και η ευαισθησία κορυφώνονται 1-3 ημέρες μετά την άσκηση και υποχωρούν μέσα σε περίπου 7 ημέρες. Η εκτίμησή του πόνου γίνεται συνήθως με τη χρήση ερωτηματολογίων όπου ζητείται η υποκειμενική αντίληψη του πόνου με τη χρήση αριθμητικών κλιμάκων, που ονομάζονται οπτικές αναλογικές κλίμακες (visual analogue scale, VAS). Η απώλεια δύναμης παρουσιάζει τη μέγιστη τιμή αμέσως μετά την άσκηση ή μέσα στις πρώτες 48 ώρες και αποκαθίσταται συνήθως σε περισσότερες από 5 ημέρες. Η εκτίμηση της δύναμης γίνεται συνήθως σε ισοκινητικά δυναμόμετρα με μέτρηση της μέγιστης ισομετρικής ροής. Το μέγιστο οίδημα εμφανίζεται συνήθως 3-4 μέρες μετά την άσκηση και σταδιακά υποχωρεί στις επόμενες 10 μέρες. Οι πιο κοινοί μέθοδοι που έχουν χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση του οιδήματος μετά από AMB περιλαμβάνουν τη μέτρηση περιφέρειας του μυός, τη χρήση υπερηχογραφίας για

τη μέτρηση του πάχους του μυός, καθώς επίσης τη μαγνητική τομογραφία (προσδιορισμός T2 χρόνου χαλάρωσης, T2 relaxation time). Η μείωση του εύρους κίνησης της άρθρωσης εμφανίζεται στο πρώτο 24ώρο και μπορεί να παραμείνει μέχρι και 10 μέρες μετά την άσκηση. Το εύρος κίνησης προσδιορίζεται από τη διαφορά της γωνίας μεταξύ της μεγαλύτερης κάμψης και έκτασης του συνδέσμου.

Από την έρευνα έχει προκύψει ότι οι πιο έγκυροι και αξιόπιστοι δείκτες μυϊκής βλάβης είναι αυτοί που εκτιμούν τη λειτουργική ικανότητα του μυός, όπως η ικανότητα παραγωγής δύναμης (π.χ. μέγιστη ισομετρική δύναμη). Μειώσεις στη δύναμη ύστερα από AMB έχουν συσχετιστεί υψηλά με τη διάρρηξη των μυοϊνιδίων (αποδιοργάνωση μυονηματίων ή βλάβη Z-δίσκων). Οι δείκτες αυτοί είναι σχετικά εύκολο να μετρηθούν και θεωρούνται γενικά αξιόπιστοι για την αξιολόγηση του μεγέθους της μυϊκής βλάβης. Αντιθέτως, μεγάλη προσοχή θα πρέπει να δίνεται όταν χρησιμοποιούνται οι βαθμίδες του ΚΜΠ ως δείκτες μυϊκής βλάβης, καθώς το μέγεθος του πόνου δε αντιπροσωπεύει το μέγεθος της μυϊκής βλάβης. Ο ΚΜΠ δε σχετίζεται πάντα καλά με άλλους δείκτες μυϊκής βλάβης, επομένως η χρήση του σα μοναδικό δείκτη αξιολόγησης του μεγέθους της μυϊκής βλάβης είναι λανθασμένη [2, 31].

1.6.2. Βιοχημικοί Δείκτες

1.6.2.1. Δείκτες μυϊκής διάρρηξης στο αίμα

Η δομική και λειτουργική κατάσταση του μυός μπορεί να προσδιοριστεί από το επίπεδο μυϊκών ενζύμων και πρωτεϊνών στο αίμα. Η διατάραξη της ακεραιότητας του σαρκελήματος ως αποτέλεσμα της AMB, οδηγεί σε εκροή μυϊκών πρωτεϊνών και ενζύμων στην κυκλοφορία του αίματος. Τα αυξημένα επίπεδα μυϊκών πρωτεϊνών στο αίμα έχουν χρησιμοποιηθεί ως ενδείξεις διάρρηξης των κυτταρικών μεμβρανών των μυϊκών ινών από τις οποίες οι ενδοκυτταρικές πρωτεΐνες εισέρχονται στη κυκλοφορία. Ένα πρόβλημα στη χρήση των πρωτεϊνών αυτών ως δεικτών μυϊκής βλάβης είναι το γεγονός ότι η μετρούμενη συγκέντρωση αντανακλά την απελευθέρωσή τους από το μυϊκό ιστό και την απομάκρυνσή τους από τη κυκλοφορία [50]. Στο πίνακα 1.3. παρουσιάζονται οι σημαντικότεροι βιοχημικοί δείκτες μυϊκής διάρρηξης που κυρίως μετρούνται μετά από AMB.

Πίνακας 1.3.: Βιοχημικοί δείκτες μυϊκής διάρρηξης μετά από AMB [56]

Biomarkers	Myoglobin	CK	LDH	AST	Troponin
Exercise	Up to 4-fold	Up to 4-fold	Up to 2-fold	Up to 2-fold	Slightly increase

Κίνηση της Φωσφοκρεατίνης (CK): Η CK αποτελεί το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο δείκτη μυϊκής διάρρηξης στο αίμα. Το ένζυμο αυτό βρίσκεται στο σαρκόπλάσμα και στα μιτοχόνδρια των μυϊκών κυττάρων και καταλύει την αλληλομετατροπή της κρεατίνης και του ATP σε φωσφοκρεατίνη και ADP. Η CK είναι παρούσα στο σώμα σε τρεις ισόμορφες: τη CK-MM που βρίσκεται στους σκελετικούς μύες, τη CK-BB που βρίσκεται στον εγκέφαλο και τη CK-MB που βρίσκεται στο καρδιακό μυ. Η αύξηση των επιπέδων CK στο αίμα χρησιμοποιείται ευρέως ως ένδειξη κυτταρικής βλάβης και αύξησης της διαπερατότητας της μυϊκής μεμβράνης. Σε φυσιολογική κατάσταση ξεκούρασης, τα επίπεδα της CK του πλάσματος είναι περίπου 100 IU/L. Ωστόσο, μετά από εκκεντρική άσκηση, τα κυκλοφορούντα επίπεδα της CK αυξάνουν αρκετά, ενώ έχει αναφερθεί και αύξηση μέχρι και 40000 IU/L, κάτι που φανερώνει σημαντική αύξηση της διαπερατότητας των μεμβρανών των μυϊκών κυττάρων που ακολουθεί την αποδιοργάνωση των Z – ζωνών [56]. Το μέγεθος αύξησης των επιπέδων της καθώς και η χρονική στιγμή που παρατηρούνται οι αυξήσεις στη κυκλοφορία φαίνεται ότι εξαρτώνται από το είδος της άσκησης που προκάλεσε τη μυϊκή βλάβη. Μετά από κατηφορικό τρέξιμο τα επίπεδα CK στο αίμα κορυφώνονται 12-24 ώρες μετά το τέλος της άσκησης φθάνοντας μόλις τα 300-600IU. Από την άλλη, η υψηλής έντασης έκκεντρη άσκηση οδηγεί σε μεγάλη αύξηση των επιπέδων CK στη κυκλοφορία (≥ 2500 IU), τα οποία φθάνουν στη μέγιστη τιμή στις 24-48 ώρες μετά την άσκηση. Η χρήση της CK περιπλέκεται περαιτέρω λόγω της μεγάλης ενδοατομικής μεταβλητότητας για παρόμοιου τύπου ασκήσεις. Η έρευνες έχουν δείξει ότι τα επίπεδα της CK μετά από υψηλής έντασης έκκεντρη άσκηση κυμαίνονται από 236 έως 34.500 UI. Η ηλικία, το φύλο, φυλετικές διαφορές, το μέγεθος της μυϊκής μάζας, τα επίπεδα φυσικής δραστηριότητας και γενετικές διαφορές (πολυμορφισμοί) έχουν εξεταστεί στην προσπάθεια να ερμηνευτούν οι διαφορές αυτές. Επίσης, ο προσδιορισμός της ολικής CK στο πλάσμα δεν αντικατοπτρίζει πιστά την έκταση της βλάβης, δεδομένου ότι αποτελείται από διαφορετικά ισοένζυμα (CK-MM, CK-BB, CK-MB). Λόγω της έλλειψη ευαισθησίας και επαναληψιμότητας, ο δείκτης αυτός θα πρέπει αν χρησιμοποιείται με ιδιαίτερη προσοχή όσον αφορά τη διεξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με την μυϊκή βλάβη [50].

Μυοσφαιρίνη (Mb) [56]: Η Mb είναι μια πρωτεΐνη χαμηλού μοριακού βάρους που αποτελείται από 153 αμινοξέα. Στα μυϊκά κύτταρα βρίσκεται σε τρεις ισομορφές. Εκτός από το σημαντικό ρόλο στη μεταφορά και στην αποθήκευση του οξυγόνου, φαίνεται ότι εμπλέκεται στη ρύθμιση του μονοξειδίου του αζώτου (NO) στο επίπεδο των μικροαγγείων και του μυϊκού ιστού, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση ιόντων σιδήρου από την αίμη της μυοσφαιρίνης, το οποίο προάγει την υπεροξειδωση των μεμβρανών. Τα επίπεδα μυοσφαιρίνης στο αίμα αυξάνονται ύστερα από έκκεντρη άσκηση. Μελέτες έχουν παρατηρήσει κορύφωση των επιπέδων της στη κυκλοφορία στις 24, 72 και 96 ώρες μετά το τέλος της άσκησης. Οι αναλύσεις που χρησιμοποιούνται για το προσδιορισμό των επιπέδων μυοσφαιρίνης στο αίμα δε μπορούν να διαχωρίσουν τη μυοσφαιρίνη που απελευθερώνεται από τη καρδιά και αυτή που απελευθερώνεται από το μυϊκό ιστό, έτσι τα αποτελέσματα αυτού του δείκτη θα πρέπει να αξιολογούνται με προσοχή.

Αφυδρογονάση του γαλακτικού οξέος (LDH) [56]: 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. Τα επίπεδα LDH στον ορό αυξάνονται 6-12 ώρες μετά από άσκηση που προκαλεί μυϊκή βλάβη, επιστρέφοντας στα φυσιολογικά επίπεδα 8-14 ημέρες λόγω του αργού καταβολισμού τους. Έχει προταθεί ότι η LDH είναι ένα σημάδι ότι η καταστροφή που έχει υποστεί το μυϊκό κύτταρο δεν είναι πλέον προσωρινή αλλά μη αναστρέψιμη.

1.6.2.2. Δείκτες φλεγμονής και Οξειδωτικού στρες στο αίμα [56]

Η AMB, όπως περιγράφηκε παραπάνω συνοδεύεται από φλεγμονώδη απόκριση και αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών. Πολλοί ερευνητές στη προσπάθεια διερεύνησης των μηχανισμών πρόκλησης της AMB και των συμπτωμάτων της έχουν χρησιμοποιήσει διάφορους δείκτες φλεγμονής και οξειδωτικού στρες. Για την αξιολόγηση της φλεγμονώδους απόκρισης οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι δείκτες είναι ο αριθμός λευκοκυττάρων και τα επίπεδα διαφόρων κυτταροκινών στο αίμα. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως η αύξηση της κυκλοφορούσας IL-1b και TNFa, είναι μικρή. Αντίθετα, η αύξηση των επιπέδων του διαλυτού ανταγωνιστή της IL-1 (IL-1ra), της IL-10 και του διαλυτού υποδοχέας του TNFa είναι σημαντικότερη. Σχετικά με την αξιολόγηση του οξειδωτικού στρες διάφοροι δείκτες έχουν χρησιμοποιηθεί, μεταξύ των οποίων δείκτες υπεροξειδωσης λιπιδίων (π.χ. TBARS), δείκτες πρωτεϊνικής οξείδωσης (π.χ. πρωτεϊνικά καρβονύλια), καθώς και δείκτες οξειδωτικής καταστροφής του DNA (π.χ. 8-ύδροξυ-2-δευδροξυγουανίνη). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι κανένας δείκτης δεν είναι ικανοποιητικός από

μόνος του στο να δείξει την επίδραση της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης στο οξειδωτικό στρες για αυτό και απαιτείται η μέτρηση ενός πάνελ δεικτών.

1.6.2.3. Δείκτες στα ούρα [56]

Σε εκτεταμένη ραβδομυόλυση, τα ούρα αποκτούν σκούρο χρώμα που οφείλεται σε αιματουρία, αιμοσφαιρινουρία και μυοσφαιρινουρία. Το σκούρο χρώμα των ούρων αποτελεί ένδειξη αποικοδόμησης του συνδετικού ιστού ως αποτέλεσμα άμεσης βλάβης και φλεγμονής. Το χρώμα εμφανίζεται 24-48 h και εξαφανίζεται μετά από 72 ώρες. Επιπλέον, ένας άλλος δείκτης μυϊκής βλάβης στα ούρα είναι η παρουσία των αμινοξέων υδροξυπρολίνη και υδροξυλυσίνη. Τα αμινοξέα αυτά αποτελούν συστατικά του ώριμου κολλαγόνου και η παρουσία τους στα ούρα είναι αποτέλεσμα αυξημένου καταβολισμού του κολλαγόνου, είτε λόγω υπερβολικής λειτουργίας, είτε λόγω κάποιας κάκωσης. Ωστόσο, η απέκκριση υδροξυπρολίνης και υδροξυλυσίνης μπορεί να αντανακλά, είτε αυξημένη σύνθεση, είτε καταβολισμό του κολλαγόνου.

1.7. Επίδραση της AMB στην αθλητική απόδοση [57]

Οι έκκεντροι τύπου μυϊκές συστολές απαντώνται συχνά σε πολλά αθλήματα (μαραθώνιος, ποδόσφαιρο, πολεμικές τέχνες, άλματα, ρίψεις) καθώς και σε πολλές μορφές άσκησης (τρέξιμο σε κατηφόρα, κατέβασμα βαρών, κοιλιακοί, κάμψεις), για αυτό και η εμφάνιση ΚΜΠ είναι συχνό φαινόμενο, τόσο σε αθλητές, όσο και σε άτομα που αθλούνται για λόγους αναψυχής. Εκτός από το μυϊκό πόνο, η δομική βλάβη στο μυϊκό και συνδετικό ιστό κατά την AMB μπορεί να επιφέρει αλλαγές στη λειτουργία των μυών και τη μηχανική συμπεριφορά των αρθρώσεων. Για έναν αθλητή, οι μεταβολές αυτές σε συνδυασμό με άλλους αντισταθμιστικούς μηχανισμούς για την ανακούφιση από το πόνο, μπορεί να προκαλέσουν σημαντική μείωση στην αθλητική απόδοση κατά τη διάρκεια αγωνιστικών περιόδων, καθώς επίσης και να υπονομεύσουν το προπονητικό του πρόγραμμα, οδηγώντας σε χαμηλότερη ένταση της προπόνησης.

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

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

Μυϊκή Δύναμη: Η μυϊκή δύναμη αποτελεί ένα σημαντικό παράγοντα απόδοσης σε πολλά αθλήματα. Είναι εμφανές από πολλές μελέτες ότι μετά από άσκηση που προκαλεί μυϊκή βλάβη παρουσιάζεται άμεσα μείωση της δύναμης σε επίπεδα που μπορεί να ξεπεράσουν και το 50%, η οποία αντιστρέφεται αργά μέσα στις επόμενες ημέρες μετά την άσκηση. Οι Clarkson και συν ανέφεραν μείωση 50% της μέγιστης ισομετρικής δύναμης του καμπτήριου μύες του αντιβραχίου αμέσως μετά από έκκεντρη άσκηση, μείωση που εξακολουθούσε να υφίσταται ακόμα και 10 μέρες μετά την άσκηση .

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

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

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

Δράση ινσουλίνης: Αρκετές μελέτες αναφέρουν ότι η έκκεντρη άσκηση μειώνει την ευαισθησία του οργανισμού στην ινσουλίνη. Άσκηση έκκεντρης μορφής οδήγησε σε μεγαλύτερη αύξηση της ινσουλίνης κατά τη περίοδο υπεργλυκαιμίας από ότι η μειομετρική άσκηση, αύξηση που ωστόσο δε συνοδευόταν από αυξημένη αποθήκευση γλυκόζης στους μυς. Η μείωση της

ινσουλινοευασθησίας έχει ως αποτέλεσμα μεταφορά λιγότερης γλυκόζης μέσα στα μυϊκά κύτταρα, γεγονός που πιθανόν συντελεί στη μειωμένη επανασύνθεση γλυκογόνου μετά από έκκεντρη άσκηση.

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

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΛΙΠΟΕΙΔΙΚΟΙ ΜΕΣΟΛΑΒΗΤΕΣ ΚΑΙ ΑΣΚΗΣΙΟΓΕΝΗΣ ΜΥΙΚΗ ΒΛΑΒΗ

Οι λιποειδικοί μεσολαβητές αποτελούν μια μεγάλη ομάδα βιοδραστικών μορίων σηματοδότησης που παράγονται ενδογενώς από τα απαραίτητα ω -3 και ω -6 λιπαρά οξέα. Οι λιποειδικοί μεσολαβητές εμπλέκονται σε ένα ευρύ φάσμα φυσιολογικών και παθολογικών διεργασιών, με χαρακτηριστική την συμμετοχή τους στη φλεγμονώδη απόκριση. Τα κλασσικά εικοσανοειδή, όπως οι προσταγλαδίνες και τα λευκοτριένια, αποτελούν ισχυρά προ-φλεγμονώδη μόρια που προκαλούν αγγειοδιαστολή, αυξάνουν την αγγειακή διαπερατότητα, προωθούν τη χημειοταξία/ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων και ευαισθητοποιούν της νευρικές απολήξεις μεσολαβώντας στην εμφάνιση των συμπτωμάτων της φλεγμονής. Πρόσφατα προσδιορίστηκαν και άλλα είδη λιποειδικών μεσολαβητών που εμφανίζουν αντιφλεγμονώδεις και φλεγμονωδείς ιδιότητες, όπως είναι οι λιποξίνες, οι ρεσολβίνες και οι προτεκτίνες. Τα μόρια αυτά ανταγωνίζονται τη δράση των προσταγλαδινών και λευκοτριενίων, εμποδίζουν τη παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών, αναστέλλουν την συσσώρευση/ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων και προωθούν τη προσέλκυση των μονοκυττάρων/μακροφάγων για έναρξη της φαγοκυττάρωσης και επούλωσης του τραύματος. Η αλλαγή στο προφίλ των λιποειδικών μεσολαβητών μπορεί να επιφέρει σημαντικές αλλαγές στο τύπο των φλεγμονωδών κυττάρων, στην έκκριση των κυτταροκινών και στη κυτταρική σηματοδότηση και να οδηγήσει σε μετατόπιση από μια προφλεγμονώδη κατάσταση σε ένα περιβάλλον που διευκολύνει την αποκατάσταση του ιστού [58]. Η έντονη ή/και ασυνήθιστη φυσική δραστηριότητα, κυρίως αυτή που περιλαμβάνει έκκεντρου τύπου μυϊκές συστολές, όπως περιγράφηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο, μπορεί να οδηγήσει σε μυϊκή βλάβη, η οποία συνοδεύεται από φλεγμονώδη απόκριση. Η μελέτη της απόκρισης των λιποειδικών μεσολαβητών κατά την οξεία φλεγμονή που παρατηρείται μετά από AMB αποτελεί ένα ενδιαφέρον ερευνητικό πεδίο και δίνει τη δυνατότητα καλύτερης κατανόησης των μηχανισμών που εμπλέκονται στη πρόκληση και εξέλιξη της AMB και των συνοδών συμπτωμάτων της, προτείνοντας παράλληλα πιθανές νέες και πιο αποτελεσματικές θεραπευτικές προσεγγίσεις.

2.1. Λιποειδικοί μεσολαβητές – Είδη, μεταβολισμός και δράσεις

Η ομάδα των λιποειδικών μεσολαβητών περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα βιοδραστικών λιπιδίων που παράγονται από μια ποικιλία κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος, καθώς και από πολλά άλλα κύτταρα κάτω από φυσιολογικές συνθήκες ή μετά από διέγερση τους. Μπορούν να λειτουργήσουν ως αυτακοειδή και ενδοκυττάριοι μεσολαβητές εφόσον απελευθερωθούν από τα κύτταρα παραγωγής τους ή εναλλακτικά να μεταγουν σήματα στο εσωτερικό των κυττάρων. Ασκούν τη δράση του μέσω πρόσδεσης σε ειδικούς υποδοχείς της κυτταροπλασματικής μεμβράνης ή αντίστοιχους πυρηνικούς υποδοχείς, ενεργοποιώντας έναν καταρράκτη ενδοκυττάρων οδών σηματοδότησης που οδηγούν στη τελική κυτταρική απόκριση. Με αυτό τον τρόπο, οι λιποειδικοί μεσολαβητές συμμετέχουν στη ρύθμιση διαφόρων φυσιολογικών διεργασιών, όπως η ανοσολογική απόκριση, η αγγειακή ομοιόσταση και η αιμόσταση. Διαταραχές στο μεταβολισμό και στη δράση τους έχουν συσχετιστεί με διάφορες παθολογικές καταστάσεις όπως υπερβολική και παρατεταμένη φλεγμονώδης απόκριση και θρομβωτικές διαταραχές που σχετίζονται με χρόνιες ασθένειες όπως η νόσος Alzheimer, οι φλεγμονώδεις παθήσεις του εντέρου, οι ρευματικές παθήσεις, η αρτηριοσκλήρωση, ο καρκίνος και ο διαβήτης [59].

Η ομάδα των λιποειδικών μεσολαβητών περιέχει μια πληθώρα μορίων με ποικίλες διαφορετικές δομές που μοιράζονται μια χαρακτηριστική λιπόφιλη ομάδα. Με βάση το σκελετό της ανθρακική τους αλυσίδας και τη βιοσυνθετική τους οδό μπορούν να ταξινομηθούν σε πέντε κατηγορίες: τα εικοσανοειδή, τα παράγωγα ω-3 λιπαρών οξέων, τα φωσφολιπίδια, τα παράγωγα σφινγγολιπιδίων και τα οξειδωμένα λιπίδια. Ανεξάρτητα από τη ταξινόμησή τους, όλοι οι λιποειδικοί μεσολαβητές προέρχονται από πρόδρομα μόρια λιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών [59].

2.1.1. Εικοσανοειδή [59, 60]

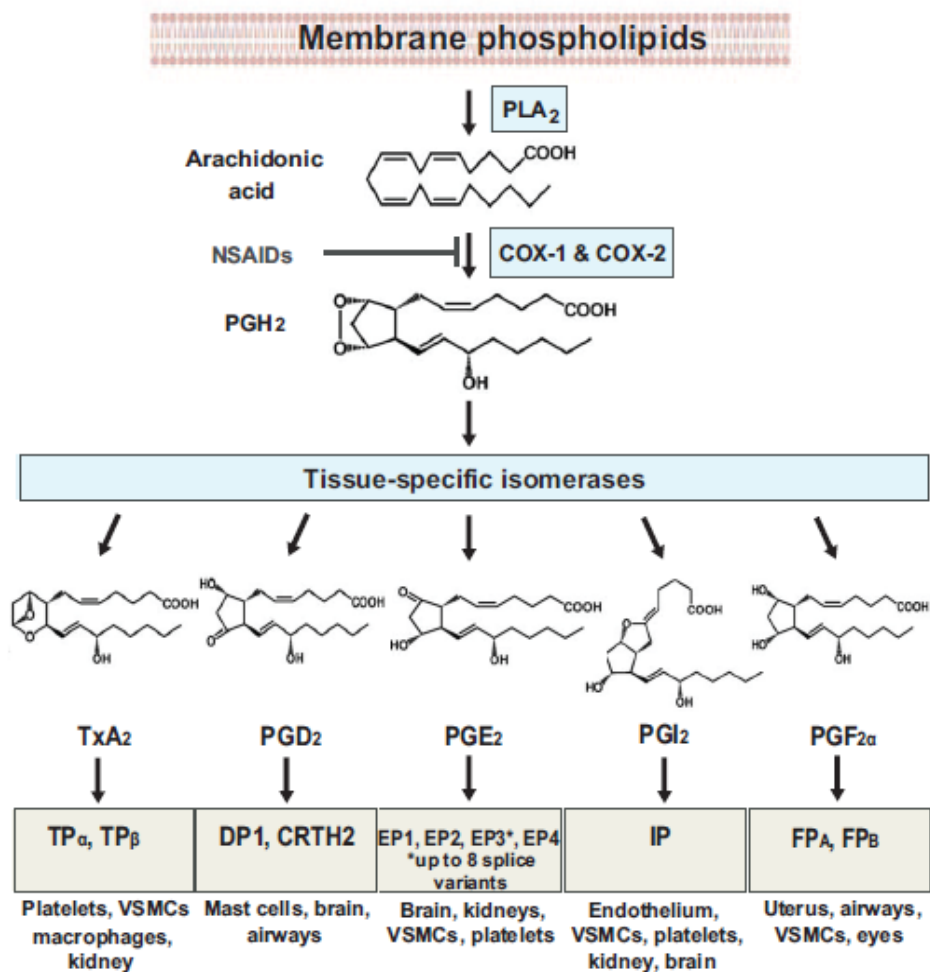
Ο όρος εικοσανοειδή αναφέρεται σε όλους του λιποειδικούς μεσολαβητές που είναι παράγωγα του αραχιδονικού οξέος (arachidonic acid, AA). Όλα τα εικοσανοειδή περιέχουν 20 άνθρακες στο σκελετό τους, αλλά διαφέρουν στον αριθμό και τη θέση των διπλών δεσμών και των υδροξυλομάδων. Τόσο τα κύτταρα του ανοσοποιητικού (κοκκιοκύτταρα, μονοκύτταρα, λεμφοκύτταρα), όσο και άλλα κύτταρα (ενδοθηλικά κύτταρα, λεία μυϊκά κύτταρα) μπορούν να παράγουν εικοσανοειδή σε κατάσταση ηρεμίας ή ύστερα από κατάλληλη διέγερση.

Το πρώτο βήμα για τη παραγωγή των εικοσανοειδών είναι η απελευθέρωση του αραχιδονικού οξέως από τα μεμβρανικά φωσφολιποειδή με τη δράση της φωσφολιπασών A_2 (PLA₂s). Η

υπεροικογένεια των PLA₂s περιλαμβάνει τουλάχιστον 20 διαφορετικά ένζυμα που υδρολύουν λιπαρά οξέα από τη θέση 2 (sn-2) του σκελετού γλυκερόλης των φωσφολιπιδίων. Με βάση τα δομικά τους χαρακτηριστικά και τις ενζυματικές τους ιδιότητες ταξινομούνται σε 4 βασικές κατηγορίες: α) χαμηλού μοριακού βάρους εκκριτικές PLA₂s (s PLA₂s), β) κυτοσολικές PLA₂s (cPLA₂s), γ) Ca²⁺-εξαρτώμενες PLA₂s και δ) PLA₂s που υδρολύουν χαμηλού μοριακού βάρους λιπαρά οξέα ή οξειδωμένα λιπαρά οξέα, όπως είναι η PAF-ακετυλουδρολάση. Η δράση των PLA₂s οδηγεί στη παραγωγή δύο πρόδρομων ουσιών των λιποειδικών μεσολαβητών, του AA που αποτελεί πρόδρομο μόριο για τη παραγωγή των εικοσανοειδών και της λυσο-φωσφατιδυλοχολίνης (LPC) ή του ανάλογού της λυσο-PAF, που αποτελούν φωσφολιπιδικούς μεσολαβητές αλλά και πρόδρομες ενώσεις για τη παραγωγή άλλων φωσφολιπιδικών μεσολαβητών όπως ο PAF και το λυσο-φωσφατιδικό οξύ (LPA). Ανάλογα με τη μεταβολική τύχη του AA μπορούν να παραχθούν 5 κατηγορίες εικοσανοειδών, που αναλύονται στη συνέχεια.

α) Προσταγλαδίνες (PGs)

Το AA που απελευθερώνεται από τη πυρηνική μεμβράνη και τις μεμβράνες του ενδοπλασματικού δικτύου με τη δράση των PLA₂s μετατρέπεται από τις κυκλοξυγονάσες (COXs) στο ενδιάμεσο PGG₂ και στη συνέχεια στο ασταθές ενδοϋπεροξειδίο PGH₂. Με τη δράση διαφόρων συνθασών προσταγλαδίνης το PGH₂ μπορεί να μετατραπεί σε διάφορες PG, όπως PGD₂, PGE₂, PGF_{2α}, PGI₂ (προστακυκλίνη) και θρομβαξανή A₂ (TXA₂) (Σχήμα 2.1). Τα είδη PGs που θα παραχθούν σε κάθε περίπτωση καθορίζεται από το τύπο των κυττάρων και το ερέθισμα που προκαλεί τη παραγωγή τους.



Σχήμα 2.1.: Βιοσύνθεση προσταγλαδινών [61]

Οι COXs είναι ένζυμα που περιέχουν στο μόριό τους δακτύλιο αίμης. Στα θηλαστικά έχουν ταυτοποιηθεί δύο ισομορφές του ενζύμου: η κυκλοξυγονάση-1 (COX-1) και η κυκλοξυγονάση-2 (COX-2). Η COX-1 υπάρχει σαν δομικό ένζυμο σε όλα σχεδόν τα κύτταρα του οργανισμού εκτός των ερυθρών αιμοσφαιρίων και παράγει τις PGs που είναι υπεύθυνες για την φυσιολογική λειτουργία των κυττάρων, ρυθμίζοντας με αυτό τον τρόπο την ομοιόσταση των κυττάρων. Η COX-2 δεν υπάρχει φυσιολογικά στα κύτταρα αλλά παράγεται σε μεγάλες ποσότητες ύστερα από διέγερση από προ-φλεγμονώδη ερεθίσματα ή μιτογενετικούς μεσολαβητές. Οι αντιφλεγμονώδης κυτταροκίνες, όπως η IL-4 και η IL-10 μπορούν να περιορίσουν σημαντικά τη δραστηριότητάς της. Η υπερέκφραση της COX-2 συμβάλλει στη παθογένεση διαφόρων φλεγμονωδών ασθενειών και του καρκίνου. Σε συγκεκριμένες περιπτώσεις φλεγμονής των αγγείων ή του γαστρικού βλεννογόνου η υπερπαραγωγή COX-2 μπορεί να συνεισφέρει στη προστασία του ιστού και στη λύση της φλεγμονής.

Οι PGs μετά τη παραγωγή τους από τα κύτταρα μπορούν να δράσουν με αυτοκρινή ή παρακρινή τρόπο μέσω δέσμευσης σε συγκεκριμένους υποδοχείς που είναι συζευγμένοι με G-πρωτεΐνες (GPCR). Οι υποδοχείς των PGs είναι συζευγμένοι με μια σειρά ενδοκυττάρων μονοπατιών μεταγωγής σήματος που μεσολαβούν τη τελική κυτταρική απόκριση. Θα πρέπει να αναφερθεί ότι η ίδια PG μπορεί να ασκήσει τόσο φλεγμονώδη όσο και αντι-φλεγμονώδη δράση, ανάλογα με τη ενδοκυτταρική οδό που ενεργοποιεί. Οι PGs ρυθμίζουν τα κύρια κλινικά συμπτώματα της φλεγμονής, όπως το ερύθημα, το πόνο, το πυρετό και το πρήξιμο. Ελέγχουν τις λειτουργίες τόσο του τραυματισμένου ιστού όσο και των λευκοκυττάρων και των αιμοπεταλίων που εισέρχονται στη τραυματισμένη περιοχή, συμμετέχοντας με αυτό τον τρόπο στη ρύθμιση της αιμόστασης και στην ανάπτυξη της οξείας και χρόνιας φλεγμονής.

β) Λευκοτριένια (LTs)

Τα LTs παράγονται κυρίως από φλεγμονώδη κύτταρα, όπως τα ιστιοκύτταρα, τα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα (PMN) και τα μακροφάγα ως απόκριση σε διάφορα ερεθίσματα. Με τη δράση της 5-λιποξυγενάσης (5-LO) προστίθεται ένα ενεργό μόριο οξυγόνου στο AA, σχηματίζοντας την ασταθή ένωση 5-υδροϋπεροξυ-εικοσατετραενοϊκό οξύ (5-HPETE), η οποία στη συνέχεια μετατρέπεται είτε σε 5-υδροξυ-εικοσατετραενοϊκό οξύ (5-HETE) ή σε LTA₄. Ανάλογα με το τύπου του κυττάρου το LTA₄ μπορεί περαιτέρω να υδρολυθεί προς LTB₄ από την υδρολάση του LT₄ ή μπορεί να συζευχθεί με την ανηγμένη γλουταθειόνη με τη δράση της συνθάσης του LTC₄ και να δώσει LTC₄. Το LTC₄ μπορεί να απελευθερωθεί εξωκυτταρικά και να μετατραπεί σε LTD₄ και LTE₄ από τη γ-γλουτάμυλο-τρανσπεπτιδάση και διπεπτιδάση, αντίστοιχα. Τα LTC₄, LTD₄ και LTE₄ είναι όλα συζευγμένα με πεπτίδια και ονομάζονται κυστεϊνυλικά λευκοτριένια (cysLTs). Εναλλακτικά, το LTA₄ χρησιμεύει ως διακυτταρικός μεσολαβητής που εκκρίνεται από τα λεμφοκύτταρα και προσλαμβάνεται από γειτονικά κύτταρα, όπου και μεταβολίζεται σε LTC₄. Αυτό αποτελεί ένα κλασικό παράδειγμα του διακυτταρικού μεταβολισμού που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αγγειακή φλεγμονή.

Σήμερα είναι γνωστό ότι τα LTs μπορεί να ασκήσουν διάφορες φλεγμονώδεις δράσεις, δεδομένου ότι ενισχύουν τη παραγωγή των κυτταροκινών, την αγγειακή διαπερατότητα και τη φαγοκυττάρωση από τα PMN, ενώ επίσης δρουν και ως χημειοελκτικά μόρια για τα λευκοκύτταρα.

γ) Λιποξίνες (LXs) – Λιποξίνες που ενεργοποιούνται από την ασπιρίνη (ATL)

Οι LXs αποτελούν παράγωγα του AA που συντίθενται από τη συντονισμένη δράση της 5-LO, της 12-LO και της 15-LO. Δύο διακυτταρικές βιοσυνθετικές πορείες μεταξύ

λευκοκυττάρων/αιμοπεταλίων και επιθηλιακών κυττάρων-μονονυττάρων-ηωσινοφίλων/PMN έχουν αποσαφηνιστεί μέχρι τώρα. Η σύνθεση των ATL επάγεται από τη μη αναστρέψιμη ακετυλίωση της COX-2 από την ασπιρίνη κάτω από κατάλληλο φλεγμονώδες ερέθισμα. Η ακετυλιωμένη COX-2 παράγει το επιμερικό 15R-HETE, το οποίο αποτελεί πρόδρομο μόριο για τη βιοσύνθεση των επιμερικών LXs με τη δράση της 5-LO. Τόσο οι LXs όσο και οι ATLs ασκούν τη δράση τους μέσω GPCR και παρουσιάζουν αντι-φλεγμονώδη δράση μέσω της αναστολής διαενδοθηλιακής και διαεπιθηλιακής μετανάστευσης των PMN και τη διέγερση της αποπτωτικής πρόσληψης των PMN από τα μακροφάγα.

δ) Υδροξυ-εικοσατετραενικά οξέα (HETEs)

Τα HETEs είναι υδροξυλιωμένα παράγωγα του AA που παράγονται από τη δράση των LOs και των ενζύμων του κυτοχρώματος P450 (CYP) σε αυτό. Η 5-LO μετατρέπει το AA 5-HETE και LTs, τα οποία αποτελούν ισχυρά χημειοελκτικά μόρια. Η 12-LO καταλύει το σχηματισμό των heparanases, που συμβάλλουν στην αγγειακή διαπερατότητα και στην ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων, ενώ η 15-LO παράγει το αντι-φλεγμονώδες 15-HETE. Διαφορετικά ένζυμα του κυτοχρώματος P450 καταλύουν είτε τη υδροξυλίωση του AA σε 20-υδροξυεικοσατετραενοϊκό οξύ (20-HETE) ή τη μετατροπή του σε εποξυεικοσατετραενοϊκά οξέα (EETs). Τα HETEs και EETs παράγονται κυρίως στο αγγειακό σύστημα, στα νεφρά και στους πνεύμονες.

ε) Ενδοκανναβινοειδή

Τα ενδοκανναβινοειδή είναι αμίδια ή εστέρες πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs) και ως ενδογενή προσδέματα των κανναβινοειδών υποδοχέων. Τα κύρια ενδοκανναβινοειδή των ανθρώπινων κυττάρων είναι η 2-αραχιδοδοϋλοαιθανολαμίνη (AEA) ή αναδραμίδιο και η 2-αραχιδονοϋλογλυκερόλη (2-AG). Η AEA βιοσυντίθεται από φωσφολιπίδια που περιέχουν ινσιτόλη ή από φωσφατιδυλοχολίνη που περιέχει AA, μέσω τις συνδυαστικής δράσης της φωσφολιπάσης C (PLC), των λιπασών διακυλογλυκερόλης, της φωσφολιπάσης D (PLD) και άλλων φωσφατασών. Τα ενδοκανναβινοειδή παράγονται από διάφορα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και συνδέονται με του CB1 και CB2 κανναβινοειδείς υποδοχείς που είναι συζευγμένοι με Gi πρωτεΐνες. Η αυξημένη έκφραση και ενεργοποίηση των υποδοχέων CB2 σε συνθήκες φλεγμονής έχει ως αποτέλεσμα τη παραγωγή των προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών, τη μετανάστευση των φλεγμονωδών κυττάρων, την αναδιάρθρωση της ακτίνης και μορφολογικές μεταβολές που οδηγούν σε αυξημένη φλεγμονώδη απόκριση.

2.1.2. Παράγωγα EPA και DHA [62]

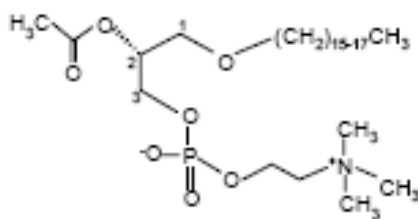
Τα ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs) εικοσιεντανοϊκό οξύ (EPA, 20:5) και δοκοσαεξανοϊκό οξύ (DHA, 22:6) μοιράζονται τα ίδια μεταβολικά μονοπάτια με το AA που οδηγεί στη παραγωγή των λιγότερο φλεγμονωδών PGs και TXs της σειράς 3 και των LTs της σειράς 5. Επιπλέον, τα τελευταία χρόνια μια νέα κατηγορία λιποειδικών μεσολαβητών που προέρχονται από τα ω-3 λιπαρά οξέα έχει προσδιοριστεί. Στη κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται τα αποξυγονωμένα παράγωγα του EPA και DHA, τα οποία ονομάζονται ρεσολβίνες της σειράς E και D, αντίστοιχα. Παράγονται από τη συνεργιστική δράση δύο τύπων κυττάρων (π.χ. ενδοθηλιακών κυττάρων και ουδετερόφιλων), μέσω της συντονισμένης δράσης κυκλοξυγενασών, λιποξυγενασών και οξυγενασών του κυτοχρώματος P450. Οι ρεσολβίνες δρουν ως αυτακοειδή και παίζουν καθοριστικό ρόλο στη λύση της φλεγμονής. Τα παράγωγα του συζευγμένου με τριένιο DHA ονομάζονται νευροπροτεκτικές και ασκούν ανοσοτροποποιητική και νευροπροστατευτική δράση. Η ασπιρίνη προωθεί τη βιοσύνθεση και των δύο ρεσολβινών και των επιμερών του που ονομάζονται ρεσολβίνες που ενεργοποιούνται από την ασπιρίνη, τα οποία αποτελούν ισχυρούς αντι-φλεγμονώδεις μεσολαβητές.

2.1.3. Φωσφολιποειδικοί μεσολαβητές

Οι φωσφολιποειδικοί μεσολαβητές συντίθενται από την αναδιαμόρφωση των φωσφολιπιδικών μορίων των μεμβρανών. Οι πλέον γνωστοί ισχυροί φωσφολιποειδικοί μεσολαβητές είναι: ο Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (PAF), το φωσφατιδικό οξύ (PA), τα λυσο-φωσφατιδικό οξύ (λυσο-PAF) και η λυσο-φωσφοτιδυλοχολίνη (λυσο-PC) [59].

α) Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (PAF)

Ο Παράγοντας Ενεργοποίησης των Αιμοπεταλίων (PAF) αποτελεί τη κοινή ονομασία ενός φωσδολιποειδικού μεσολαβητή, της 1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνης. Ο PAF είναι ένα γλυκεριναιθερικό φωσφολιποειδές. Στη πρώτη θέση του γλυκερινικού σκελετού συνδέεται με αιθερικό δεσμό μια λιπαρή αλυσίδα, που συνήθως περιλαμβάνει 16 ή 18 άτομα άνθρακα και είναι κορεσμένη ή ακόρεστη με έναν ή δύο διπλούς δεσμούς. Στη δεύτερη θέση του γλυκερινικού σκελετού βρίσκεται εστεροποιημένο ένα οξικό οξύ και στη τρίτη θέση υπάρχει μια ομάδα φωσφοχολίνης (Σχήμα 2.2) [63].

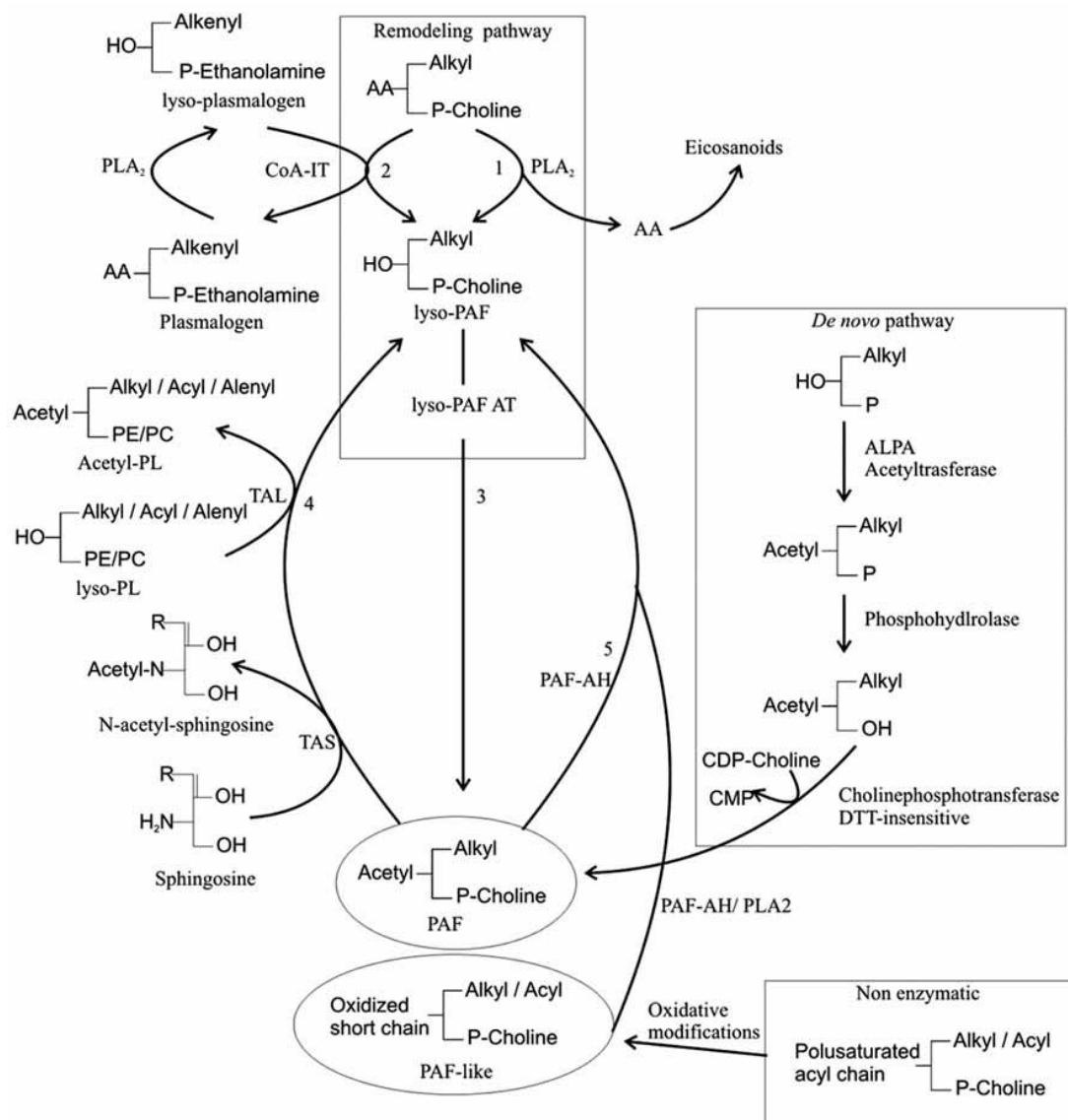


Σχήμα 2.2.: Χημική δομή του PAF [63]

Βιοσύνθεση του PAF

Διάφορα κύτταρα (αιμοπετάλια, PMN, μονοκύτταρα/μακροφάγα, ουδετερόφιλα, λεμφοκύτταρα, βασεόφιλα, ηωσινόφιλα, μαστοκύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα) παράγουν PAF στη βασικής τους κατάσταση ή ύστερα από κατάλληλη διέγερση. Ο PAF συντίθεται μέσω δύο βασικών ενζυματικών πορειών που απεικονίζονται στο Σχήμα 2.3 [64]. Η *de novo* πορεία βιοσύνθεσης του PAF περιλαμβάνει μια συγκεκριμένη αλληλουχία αντιδράσεων που αρχίζουν με την ακετυλίωση του αλκυλο-λυσω-φωσφατιδικού οξέος (ALPA) προς σχηματισμό 1-Ο-αλκυλο-2-ακέτυλο-sn-γλυκερύλο-3-φωσφορικό οξύ (AAPA), το οποίο στη συνέχεια αποφωσφορυλιώνεται σε 1-Ο-αλκυλο-2-ακέτυλο-γλυκερόλη (AAG) με τη δράση μιας φωσφορυλάσης. Το AAG μετατρέπεται στη συνέχεια σε PAF με τη δράση μιας DTT ανεξάρτητης φωσφοχολινوترασφοράσης (CPT), που μεταφέρει την ομάδα φωσφορυλοχολίνης, ενεργοποιημένης υπό τη μορφή κιτύδιλο-διφωσφορικής χολίνης (CDP-χολίνης), στη θέση sn-3 του γλυκερινικού σκελετού. Αντίθετα, η βιοσυνθετική πορεία ανασχηματισμού περιλαμβάνει δομική μετατροπή των γλυκεριναιθερικών φωσφολιποειδών, που προϋπάρχουν στις μεμβράνες των κυττάρων, σε PAF. Πρόδρομη ένωση του PAF στη πορεία αυτή είναι το μεμβρανικό γλυκεριναιθερικό φωσφολιποειδές αλκυλοακυλογλυκερυλοφωσφοχολίνη (AAGPC). Μετά από διέγερση των κυττάρων, ενεργοποιείται η cPLA₂, συνδέεται στη μεμβράνη των κυττάρων και υδρολύει το εστεροποιημένο λιπαρό οξύ στη θέση sn-2 των μεμβρανικών φωσφολιποειδών. Το 2-λυσω-φωσfolipίδιο (λυσω-PC) που δημιουργούνται χρησιμεύουν ως υποστρώματα για τη λυσω-PAF ακετυλοτράσφεραση (λυσωPAF-AT), ένζυμο που μεταφέρει μια ομάδα ακετυλίου από το ακέτυλο-CoA στο λυσω-PC δίνοντας PAF. Τα μακράς αλυσού λιπαρά οξέα στη θέση sn-2 του γλυκερινικού σκελετού των AAGPC είναι στο μεγαλύτερο ποσοστό πολυακόρεστα, που αποτελούνται κυρίως από AA. Έτσι κατά το σχηματισμό του PAF μέσω της πορείας ανασχηματισμού απελευθερώνεται AA και άλλα εικοσανοειδή, τα οποία στη συνέχεια μπορούν να μετατραπούν σε μια ποικιλία ισχυρών βιοδραστικών μεσολαβητών [65]. Πιστεύεται ότι η βιοσυνθετική πορεία ανασχηματισμού διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη παραγωγή PAF σε φλεγμονώδεις καταστάσεις, ενώ η *de novo* πορεία βιοσύνθεσής του φαίνεται να έχει

φυσιολογική σημασία, συμβάλλοντας στη διατήρηση των επιπέδων ηρεμίας του PAF σε διάφορους ιστούς και στο αίμα [59].



Step	Inhibition	Activation
1	DHA diet, flavonoids, curcumin, vitamin E	
2	α -LA diet	
3	EPA-DHA diet, flavonoids, tea phenols, resveratrol, lycopene	Se-deficiency
4		Flavonoids, resveratrol, lycopene
5		Olive oil diet

Σχήμα 2.3.: Πορείες βιοσύνθεσης και καταβολισμού του PAF [59]

Ετερογένεια των μορίων PAF και λιπίδια που μοιάζουν με τον PAF [59]

Παρόλο που ο PAF θεωρείται γενικά ως μοναδικό μόριο, είναι πλέον σαφές ότι υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός δομικά παρόμοιων φωσφολιπιδίων που ανήκουν στην οικογένεια των παραγόντων ενεργοποίησης αιμοπεταλίων και των λιπιδίων που μοιάζουν με τον PAF. Μία από

αυτές τις κατηγορίες PAF αναλόγων είναι λιπίδια που προκύπτουν από την υπεροξειδωση των διπλών δεσμών ενός PUFA (AA) που είναι εστεροποιημένο στη θέση sn-2 της άκυλο-PC και της αλκυλο-PC. Αυτά τα οξειδωμένα φωσφολιποειδή σχετίζονται δομικά με τον PAF και εκδηλώνουν παρόμοιες βιολογικές δράσεις με τον PAF. Τέλος, έχει φανεί ότι η οξειδωση των λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας (LDL) οδηγεί επίσης στη παραγωγή αυτών των οξειδωμένων μορίων PC, διαδικασία η οποία έχει ουσιώδη παθοφυσιολογική σημασία.

Καταβολισμός PAF [59, 65]

Το πιο σημαντικό ένζυμο αποικοδόμησης του PAF είναι μια ειδική για τον PAF ακετυλοϋδρολάση (PAF-AH), η οποία διασπά τα βραχείας αλυσού ακύλια από τη θέση sn-2 με αποτέλεσμα τη παραγωγή λυσο-PAF, που είναι βιολογικά αδρανές μόριο (Σχήμα 2.2). Έχουν ταυτοποιηθεί διάφορες ισομορφές PAF-AH στο πλάσμα και στους διάφορους ιστούς. Στους ανθρώπους, η PAF-AH του πλάσματος βρίσκεται συνδεδεμένη στις LDL και HDL. Επιπλέον, έχουν βρεθεί και δύο ενδοκυττάρια PAF-AH, η PAF-AH Ib και η PAF-AH II [59].

Υποδοχείς PAF και οδοί μεταγωγής σήματος [66, 67]

Ο νεοσυντιθέμενος PAF μπορεί, είτε να μεταβολιστεί άμεσα, είτε να δράσει στο εσωτερικό του κυττάρου και ύστερα να μεταβολιστεί, είτε να εκκριθεί στον εξωκυττάριο χώρο και να δράσει σε γειτονικά κύτταρα. Ο PAF ασκεί τις δράσεις του μέσω της σύνδεσής τους σε ειδικούς υποδοχείς στη μεμβράνη του κυττάρου. Πρόσφατα, βρέθηκε ότι οι υποδοχείς PAF εκφράζονται όχι μόνο στην επιφάνεια των κυττάρων αλλά και στις μεμβράνες του πυρήνα και των μεγάλων ενδοσωμάτων, κάτι που υποδηλώνει το πιθανό ρόλο του PAF ως ενδοκυττάριο μεσολαβητή. Ο υποδοχέας του PAF (PAFR) είναι μέλος της υπεροικογένειας επτά διαμεμβρανικών υποδοχέων και είναι συζευγμένος με G-πρωτεΐνες, οι οποίες κινούν ενδοκυτταρικά σήματα και πορείες που ρυθμίζουν τη κυτταροπλασματική συγκέντρωση Ca^{2+} , τις μεταβολικές πορείες της ινοσιτόλης, τα επίπεδα κυκλικού-AMP και τη κατάσταση φωσφορυλίωσης σημαντικών πρωτεϊνών. Το είδος του μηχανισμού μεταγωγής σήματος εξαρτάται από το είδος του κυττάρου και βρίσκεται υπό αυστηρή ρύθμιση ενώ πολλές φορές η σύνδεση του PAF στο υποδοχέα του ενεργοποιεί παραπάνω από έναν μηχανισμό που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους.

β) Φωσφατιδικό οξύ (PA) [59]

Το PA αποτελεί ενδιάμεση ένωση για τη σύνθεση των μεμβρανικών λιπιδίων καθώς και μόριο σηματοδότησης. Συντίθεται από τα μεμβρανικά φωσφολιπίδια, αλλά είναι επίσης και πρόδρομη ένωση για τη βιοσύνθεση άλλων λιπιδικών μεσολαβητών, όπως η διακυλογλυκερόλη (DAG), η

LPA και η πυροφωσφατάση της DAG. Το PA ρυθμίζει το πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των φλεγμονωδών κυττάρων, τη διακίνηση κυστιδίων και την οξειδωτική έκρηξη των PMN, ελέγχοντας με αυτό τον τρόπο τη καταστροφή των παθογόνων παραγόντων από αυτά.

γ) Λυσο-φωσφατιδικό οξύ (Λυσο-PA) [59]

Το λυσο-PA παράγεται τόσο ενδοκυτταρικά όσο και εξωκυτταρικά. Η εξωκυττάρια παραγωγή του λυσο-PA επιτυγχάνεται με υδρόλυση της λυσο-PC από την εκκρινόμενη λυσο-PLD. Το PA, η λυσο-PA και μονογλυκερίδια συμβάλλουν ως πρόδρομα μόρια για τη παραγωγή του λυσο-PA ενδοκυτταρικά. Μέχρι σήμερα έχουν προσδιοριστεί τουλάχιστον τρεις GPCR που έχουν υψηλή συγγένεια για τη λυσο-PA. Η ενεργοποίηση αυτών των υποδοχέων προάγει σήματα που ρυθμίζουν το κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και μορφογένεση. Το λυσο-PA εμπλέκεται επίσης και στην επούλωση των τραυμάτων μέσω της πολλαπλασιαστικής του δράσης, την ενεργοποίηση του NF-κB και την έκφραση της IL-8 και της χημειοτακτικής πρωτεΐνης-1 των μονοκυττάρων (MCP-1). Επιπλέον, το λυσο-PA μπορεί να δράσει ως θρομβογόνο παράγοντας δεδομένου ότι επάγει την έκφραση του ιστικού παράγοντα στα λεία μυϊκά κύτταρα και την επακόλουθη ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων.

δ) Λυσο-φωσφατιδυλοχολίνη (λυσο-PC) [59]

Η παραγωγή της λυσο-PC εξωκυτταρικά προκύπτει από οξείδωση της LDL ή ενζυματική υδρόλυση της LDL-PC από τη PLA₂ συνδεόμενη με apoB ή την ακυλοτρανσφεράση λεκιθίνης-χοληστερόλης (LCAT). Υποδοχείς GPCR που ονομάζονται G2A ενεργοποιούνται από τη λυσο-PC για τη ρύθμιση του πολλαπλασιασμού των κυττάρων, τη μιτογένεση των μικροφάγων, την ενεργοποίηση των Τα-λεμφοκυττάρων και τη χημειοταξία των μονοκυττάρων. Η λυσο-PC εμπλέκεται στο σχηματισμό της αθηρωματικής πλάκας, μέσω προσέλκυσης των φλεγμονωδών κυττάρων στο αγγειακό σύστημα και ενεργοποίηση της έκκρισης κυτταροκινών από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μακροφάγα. Επιπλέον, ενεργοποιεί τη παραγωγή λιπιδικών μεσολαβητών από τα μακροφάγα, ρυθμίζει τον αγγειακό τόνο και τη πήξη και μπορεί να επάγει αγγειακή δυσλειτουργία.

3.1.4. Παράγωγα σφιγγολιπιδίων [59]

Στην ομάδα αυτή περιλαμβάνονται το 1-φωσφορικό κεραμίδιο (C1P), η 1-φωσφορική σφιγγοσίνη (S1P), η σφιγγοζυλ-φωσφορυλοχολίνη (SPC), το γλυκοζυλ-κηραμίδιο και η D-γαλακτόζυλο-β-1,1-σφιγγοσίνη. Τα παράγωγα σφιγγολιπιδίων αποτελούν σημαντικούς ενδοκύτταριους μεσολαβητές της φλεγμονής, της κυτταρικής απόπτωσης, διαφοροποίησης και πολλαπλασιασμού. Ρυθμίζουν το οξειδωαναγωγικό δυναμικό των κυττάρων, τη βιοσύνθεση των εικοσανοειδών, την ενεργοποίηση των μονοκυττάρων και την ενδοθηλιακή μετανάστευση.

3.1.5. Οξειδωμένα λιπίδια [59]

Τα οξειδωμένα λιπίδια αποτελούν προϊόντα οξειδωτική τροποποίησης των μεμβρανικών λιπιδίων ή των λιπιδίων των λιποπρωτεϊνών. Τα οξειδωμένα λιπίδια εκτός από τη μετάδοση οξειδωτικού στρες έχουν επίσης και ρόλο σηματοδότησης. Τα οξειδωμένα παράγωγα των προσταγλαδινών ονομάζονται ισοπροστάνια. Εκτός του ότι αποτελούν δείκτες οξειδωτικού στρες, τα ισοπροστάνια είναι μεσολαβητές της αγγειασύσπασης, της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και της μιτογένεσης στα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων. Η οξειδωτική τροποποίηση των φωσφολιπιδίων είτε από οξειδωτικό στρες ή από λιποξυγενάσες αποδίδει βιοδραστικά φωσφολιπίδια με χαμηλού μοριακού βάρους οξειδωμένα τμήματα εστεροποιημένα στην θέση sn-2. Οι οξυ-στερόλες είναι μια άλλη ομάδα οξειδωμένων λιπιδίων που περιέχουν οξειδωμένα παράγωγα χοληστερόλης. Κυκλοφορούν συνδεδεμένες με λιποπρωτεΐνες και παρά τα χαμηλά επίπεδά τους στο αίμα μπορούν να ασκήσουν προ-αθηρωγόνο δράση. Από την άλλη πλευρά, τα οξειδωμένα λιπίδια και η οξειδωμένη LDL μπορούν επίσης να δράσουν ως αντι-φλεγμονώδη μόρια, κυρίως μέσω της αναστολής της μεταγραφικής οδού NF-κΒ.

3.2. Φωσφολιπάση A₂ συνδεδεμένη με λιποπρωτεΐνες (Lp-PLA₂)

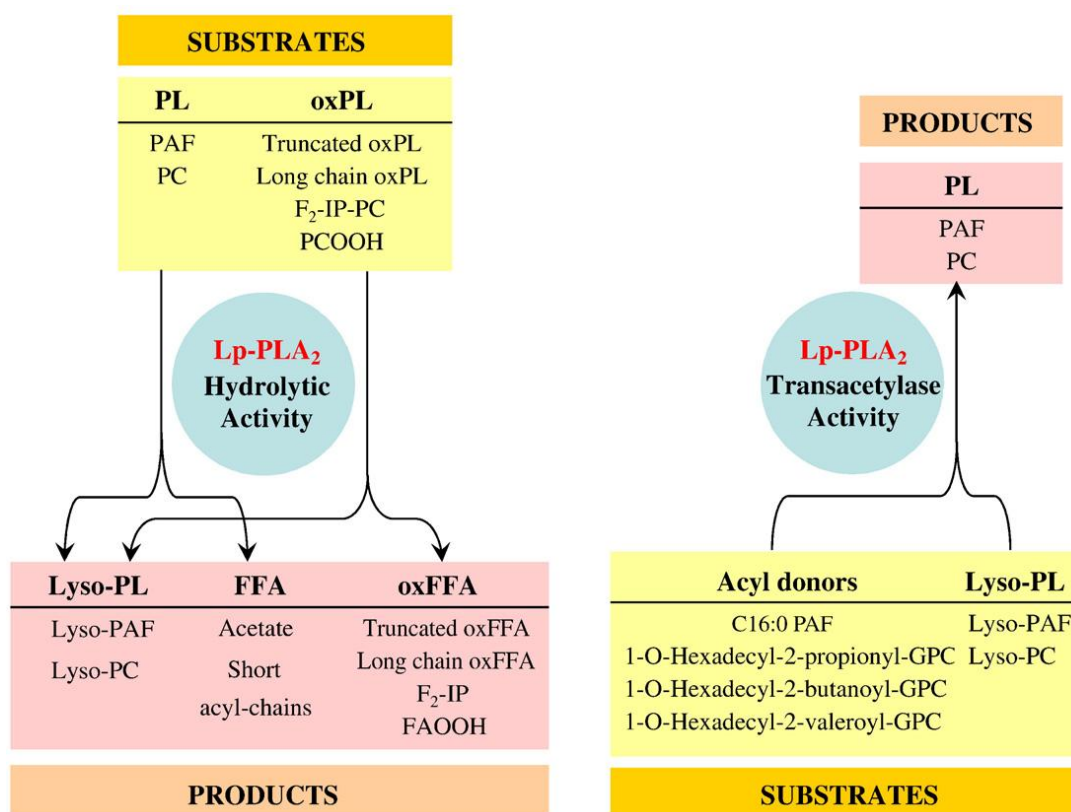
Το ένζυμο Lp-PLA₂ ανήκει στην ευρεία οικογένεια των ενζύμων που ονομάζονται φωσφολιπάσες A₂. Κλωνοποιήθηκε, πρώτη φορά, το 1995 και αποτελεί ένα πολυπεπτίδιο 45-kDa που αποτελείται από 441 αμινοξέα. Σε αντίθεση με τις άλλες φωσφολιπάσες A₂, η Lp-PLA₂ δε απαιτεί τη παρουσία ασβεστίου για να εκδηλώσει τη δράση της και δρα κατά προτίμηση στα υδατοδιαλυτά πολικά φωσφολιπίδια που έχουν οξειδωμένες λιπαρές αλυσίδες στη θέση sn-2, ενώ φαίνεται να μη παρουσιάζει ενζυμική δραστικότητα επί των μακράς αλύσου λιπαρών οξέων των φωσφολιποειδών που συναντούνται στις κυτταρικές μεμβράνες [68].

Μέχρι σήμερα έχουν προσδιοριστεί δύο βασικές μορφές του ενζύμου, η εκκρινόμενη (πλάσμα) και η ενδοκυτταρική (κυτταρόπλάσμα). Η εκκρινόμενη μορφή, η οποία αναφέρεται και ως GVIIA PLA₂, εντοπίστηκε αρχικά ως το ένζυμο που αποικοδομεί τον PAF, για αυτό και είναι γνωστή και ως PAF-ακετυλοϋδρολάση. Παρόλο που η Lp-PLA₂ εκφράζεται σε πολλούς ιστούς, το ένζυμο που εντοπίζεται στη κυκλοφορία προέρχεται κυρίως από τα αιμοποιητικά κύτταρα. Το ένζυμο κυκλοφορεί στο πλάσμα συνδεδεμένο με λιποπρωτεΐνες, γεγονός στο οποίο οφείλεται και η ονομασία του «φωσφολιπάση A₂ συνδεδεμένη με λιποπρωτεΐνες (Lp-PLA₂)». Στο ανθρώπινο πλάσμα η Lp-PLA₂ βρίσκεται συνδεδεμένη κυρίως στις χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες-LDL (70-80%) αλλά και στις υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες-HDL σε μικρότερο βαθμό. Επιπλέον, μικρό ποσοστό της εκκρινόμενης Lp-PLA₂ έχει βρεθεί και στις πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες-VLDL, στις ενδιάμεσης πυκνότητας λιποπρωτεΐνες-IDL, καθώς επίσης και στην λιποπρωτεΐνη α-Lp(a). Η σύνδεση του ενζύμου με την LDL γίνεται με αλληλεπίδραση πρωτεΐνης-πρωτεΐνης μεταξύ του αμινοτελικού άκρου της Lp-PLA₂ και του καρβοξυτελικού άκρου της apoB. Περίπου 1 στα 1.00 μόρια LDL μεταφέρουν Lp-PLA₂. Το ένζυμο έχει τη τάση να συνδέεται ισχυρότερα με τις μικρές και πυκνές LDL, αλλά η δραστηριότητά του είναι περίπου 2-4 φορές χαμηλότερη όταν συνδέεται με αυτά τα κλάσματα σε σύγκριση με τα μεγαλύτερα κλάσματα LDL. Επίσης, η δραστηριότητα του ενζύμου είναι σημαντικά μειωμένη όταν συνδέεται με τη HDL. Επιπλέον, η κατανομή της Lp-PLA₂ στις δύο βασικές λιποπρωτεΐνες LDL και HDL μπορεί να επηρεαστεί από τη παρουσία της Lp(a), στις περιπτώσεις που η συγκέντρωσή της στο πλάσμα υπερβαίνει τα 30mg/dl [68, 69].

3.2.1. Καταλυτικές δράσεις της Lp-PLA₂

Η Lp-PLA₂ υδρολύει ειδικά τα βραχέας αλύσου ακύλια (μέχρι 9 μεθυλενικές ομάδες) στη θέση sn-2 των φωσφολιπιδικών υποστρωμάτων. Το πρώτο υποστρώμα για την Lp-PLA₂ που περιγράφηκε ήταν ο PAF, ο οποίος με τη δράση του ενζύμου υδρολύεται σε λυσο-PAF και οξικό οξύ (Σχήμα 2.4). Μια σημαντική πρόοδος στο πεδίο έρευνας σχετικά με τη Lp-PLA₂, ήταν η ανακάλυψη ότι το ένζυμο αυτό μπορεί να υδρολύσει αποτελεσματικά οξειδωμένα φωσφολιπίδια (oxPL) που παράγονται με μη ενζυμική, μεσολαβούμενη από ελεύθερες ρίζες οξείδωση των PCs, οι οποίες περιέχουν στη θέση sn-2 πολυακόρεστες λιπαρές αλυσίδες. Τα oxPL αποτελούν υποστρώματα για την Lp-PLA₂ παρόλο που περιέχουν αλυσίδες με περισσότερα από 9 άτομα άνθρακα. Η υδρόλυση των oxPL οδηγεί στη παραγωγή οξειδωμένων ελεύθερων λιπαρών οξέων (oxFFA) και λυσο-PC (Σχήμα 2.4). Ένα ευρύ φάσμα oxPL έχουν βρεθεί στα οξειδωμένα σωματίδια LDL, πολλά από τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο σε διάφορες πτυχές της αθηρογένεσης. Η Lp-PLA₂ εμφανίζει επίσης υδρολυτική δράση έναντι των φωσφολιπιδίων που περιέχουν F₂-ισοπροσάνια εστεροποιημένα στη θέση sn-2 (F₂-IP-PC). Εκτός από δραστηριότητα

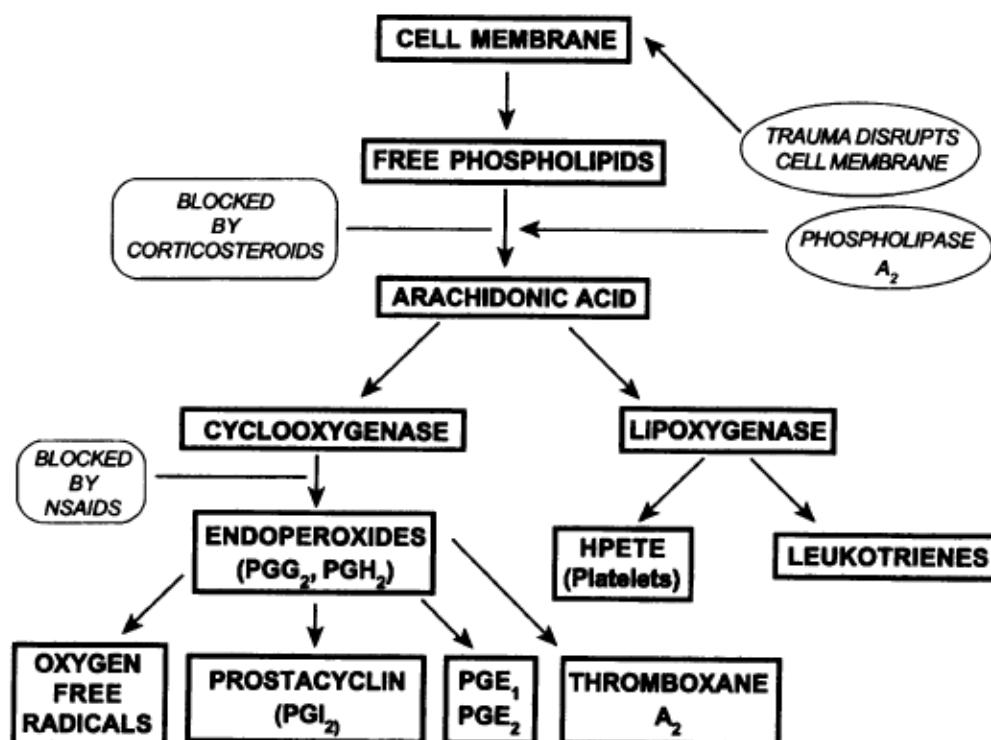
λιπάσης και εστεράσης, η Lp-PLA₂ εμφανίζει και δραστικότητα τρανσακυλάσης. Η δράση αυτή εντοπίζεται στις LDL, όπου το ένζυμο καταλύει τη μεταφορά του οξικού οξέος και των μακράς αλύσου λιπαρών οξέων από τον PAF και τα αίθερο/έστερο συνδεδεμένα ανάλογά του στα αίθερο/έστερο συνδεδεμένα φωσφολιπίδια (Σχήμα 2.4) [69]. Η δράση αυτή της Lp-PLA₂ σε τρανσακετυλάση, αν και δεν έχει μελετηθεί επαρκώς, φάνηκε πρόσφατα ότι εκδηλώνεται στο αρτηριακό τοίχωμα, γεγονός που υποδηλώνει πιθανό ρόλο του ενζύμου στη ρύθμιση των επιπέδων PAF και λυσο-PL κατά τη διαδικασία της αθηρογένεσης [70]. Τέλος, η Lp-PLA₂ εκδηλώνει δράση και επί της γκερλίνης που είναι συνδεδεμένη στην LDL. Η γκερλίνη είναι μια πεπτιδική ορμόνη που παράγεται κυρίως από το στομάχι και διεγείρει το αίσθημα της πείνας και την έκκριση αυξητικής ορμόνης [71]. Τα περισσότερα από τα υποστρώματα της Lp-PLA₂ που περιγράφηκαν παραπάνω παράγονται σε καταστάσεις οξειδωτικού στρες, ωστόσο και το ίδιο το ένζυμο είναι επιρρεπές σε οξειδωτική αδρανοποίηση. Η απενεργοποίηση αυτή του ενζύμου κατά την οξείδωση είναι μη αντιστρεπτή διαδικασία και πιθανόν διευκολύνει τη συσσώρευση των υποστρωμάτων του ενζύμου σε καταστάσεις οξειδωτικού στρες [69].



Σχήμα 2.4: Καταλυτικές δράσεις της Lp-PLA₂ [69]

2.3. Παραγωγή λιποειδικών μεσολαβητών κατά την AMB

Όπως αναφέρθηκε στο πρώτο κεφάλαιο, κατά την AMB η διάσπαση της κυτταρικής μεμβράνης επιδρά στην ομοιοστασία του ασβεστίου, επιτρέποντας την είσοδό του στο κυτταρόπλασμα. Η αύξηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης ασβεστίου ενεργοποιεί τη φωσφολιπάση A_2 , η οποία αποσπά AA από τις κυτταρικές μεμβράνες. Τα AA οξύ στη συνέχεια μεταβολίζεται είτε από κυκλοξυγονάσες προς προσταγλαδίνες, θρομβοξανία και προστακυκλίνη, είτε από λιποξυγονάσες προς λευκοτριένια [31] (Σχήμα 2.5). Επιπλέον, ένας άλλος ισχυρός λιποειδικός μεσολαβητής της φλεγμονής, ο οποίος επάγεται από τη δράση της φωσφολιπάσης A_2 και περιγράφηκε σε προηγούμενη ενότητα αυτού του κεφαλαίου, είναι ο PAF [72].



Σχήμα 2.5.: Απελευθέρωση AA και παραγωγή λιπιδικών μεσολαβητών κατά την AMB [73]

Παρόλο που πολλοί ερευνητές έχουν εξετάσει διάφορες πτυχές της ανοσολογικής απόκρισης στην AMB (π.χ. λευκοκύτταρα, κυτταροκίνες), λίγες είναι οι μελέτες που έχουν διεξαχθεί με σκοπό να ερευνήσουν την απόκριση των λιποειδικών μεσολαβητών ύστερα από άσκηση που οδηγεί σε μυϊκή βλάβη. Πολύ πρόσφατη μελέτη, που διεξήχθη από τους Markworth και συν (2013) [58], εξέτασε την απόκριση ενός μεγάλου αριθμού λιπιδικών μεσολαβητών στην AMB και στη θεραπεία με ιμπουπροφαίνη (ΜΣΑΦ). Στη μελέτη συμμετείχαν 16 μη προπονημένοι

υγιείς άνδρες, οι οποίοι χωρίστηκαν σε δύο ομάδες: ομάδα παρέμβασης (n=8, χορήγηση 400mg ιμπουπροφαίνης * 3 φορές την ημέρα της δοκιμασίας) και ομάδα placebo (n=8, χορήγηση εικονικού φαρμάκου). Το πρωτόκολλο άσκησης που πραγματοποιήσαν περιλάμβανε μια συνεδρία ασκήσεων αντίστασης (80% 1-RM). Δείγματα φλεβικού αίματος συλλέχθηκαν στους χρόνους 0, 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3 και 24 ώρες μετά το τέλος της δοκιμασίας και ο προσδιορισμός των λιποειδικών μεσολαβητών στον ορό πραγματοποιήθηκε με τη τεχνική LC-MS. Στη περίοδο αποκατάστασης μετά την άσκηση βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα προστανοειδών που προέρχονται από την ενζυμική δράση των COX-1 και COX-2 (PGE₂, PGD₂, PGF_{2α}, PGI₂ και TXB₂), λευκοτριένια (π.χ. LTB₄) και HETEs που προέρχονται από τη δράση λιποξυγανασών (5-LOX, 12-LOX και 15-LOX) και εποξυ/διωδροξυ εικοσιπεντανοϊκά οξέα (EpETrEs/DiHETrEs) που προέρχονται από τη δράση της εποξυγενάσης (CYP). Επιπλέον, εντοπίστηκαν αυξημένα επίπεδα βιοδραστικών λιποειδικών μεσολαβητών με αντιφλεγμονώδεις και φλεγμονωλυτικές ιδιότητες συμπεριλαμβανομένων λιποξινών (LXA₄ και LXB₄) που προέρχονται από το AA, καθώς και ρεσολβινών (RvD₁ και RvE₁) και προτεκτινών (PD₁ isomer 10S, 17S-diHDoHE) που προέρχονται από το EPA (E-σειρά) και το DHA (D-σειρά). Η μέγιστη συγκέντρωση των προφλεγμονωδών προσταγλαδινών και λευκοτριενίων παρατηρήθηκε 1-2 ώρες μετά την άσκηση. Τα αυξημένα επίπεδα φλεγμονωλυτικών μεσολαβητών σημειώθηκαν τόσο κατά τη πρώτη φάση (0-3 ώρες) της αποκατάστασης (LXA₄, LXB₄, RvD₁ και RvE₁), όσο και αργότερα στις 24 ώρες (15-HETE, PD₁ isomer 10S, 17S-diHDoHE). Η θεραπεία με ιμπουπροφαίνη εμπόδισε την αύξηση των επιπέδων προσταγλαδινών αλλά επίσης οδήγησε σε μειωμένη σύνθεση λευκοτριενίων και φλεγμονωλυτικών λιποειδικών μεσολαβητών. Τα ευρήματα της συγκεκριμένης μελέτης προσφέρουν πληροφορίες για την απόκριση των λιποειδικών μεσολαβητών στο αίμα μετά από AMB και δείχνουν ότι τα προφλεγμονώδη σήματα σχετίζονται με επαγωγή μια ενεργούς διαδικασίας λύσης της φλεγμονής, η οποία ρυθμίζεται από φλεγμονωλυτικούς λιποειδικούς μεσολαβητές κατά τη διάρκεια της αποκατάστασης μετά από άσκηση.

Μέχρι σήμερα, η παραπάνω μελέτη είναι η μοναδική που έχει εξετάσει την απόκριση ενός μεγάλου αριθμού λιποειδικών μεσολαβητών στην AMB. Η πλειοψηφία των υπόλοιπων μελετών έχουν εστιάσει σε συγκεκριμένους λιποειδικούς μεσολαβητές και κυρίως στα φλεγμονώδη εικοσανοειδή, με την PGE₂ να αποτελεί το πιο κοινό μελετώμενο δείκτη, λόγω των προφλεγμονωδών/υπεραλγητικών ιδιοτήτων της και της πιθανής συσχέτισης της με τη συμπτωματολογία του ΚΜΠ.

Προσταγλανδίνες

Τα επίπεδα της PGE₂ στο αίμα έχει φανεί ότι αυξάνονται σημαντικά 2 ώρες μετά από άσκηση που περιλάμβανε άλματα μετά από πτώση σε καθιστή θέση σε ειδική συσκευή [74], καθώς και 48-72 ώρες μετά από άσκηση πιέσεων στήθους σε προπονημένα άτομα [75, 76]. Μάλιστα, οι έκκεντρες πιέσεις στήθους με τη μεγαλύτερη επιβάρυνση (110% 1-RM) επέφεραν σημαντικότερες αυξήσεις στα επίπεδα PGE₂ στον ορό σε σχέση με χαμηλότερες εντάσεις (50% 1-RM, 75% 1RM, 90% 1RM) [76]. Μελέτη σε απροπόνητα άτομα έδειξε ότι η έκκεντρη άσκηση (στεπ με το βάρος του σώματος) οδηγεί σε σταδιακή αύξηση των επιπέδων PGE₂ στο πλάσμα αμέσως μετά (63,7 pg/mL Vs 41,7 pg/mL), στις 24 (154,2 pg/mL) και 48 (314,9 pg/mL) ώρες μετά το τέλος της άσκησης [77]. Οι Lapointe και συν, εφαρμόζοντας συγκεκριμένο πρωτόκολλο έκκεντρης άσκησης σε τρωκτικά για πρόκληση AMB, παρατήρησαν αύξηση των επιπέδων PGE₂ στον ορό κατά 5 φορές σε σχέση με τις τιμές ηρεμίας και η αύξηση αυτή παρέμεινε ακόμα και 7 ημέρες μετά το τέλος της δοκιμασίας [78]. Ο Peake και συν έδειξαν ότι το κατηφορικό τρέξιμο (45 λεπτά στο 60%VO_{2max}) αυξάνει σημαντικά (36%) τα επίπεδα PGE₂ στο πλάσμα αμέσως μετά την άσκηση, αλλά όχι 1 ώρα μετά το πέρας αυτής. Η ίδια τάση στα επίπεδα PGE₂ φάνηκε επίσης και για το τρέξιμο υψηλής έντασης, όπου παρατηρήθηκε αύξηση 50% των επιπέδων της αμέσως μετά την άσκηση [79]. Ωστόσο, στη συγκεκριμένη μελέτη οι μετρήσεις λήφθηκαν μέχρι τη πρώτη ώρα, οπότε πιθανές διαφορές μπορεί να εντοπιζόνταν σε μετέπειτα χρονικές στιγμές. Επιπλέον, οι Cannon και συν ανέφεραν σημαντικά αυξημένη παραγωγή PGE₂ από τα μονοκύτταρα 1 και 2 ημέρες μετά από 45λεπτο κατηφορικό τρέξιμο στο 75% της VO_{2max} [80]. Στη μελέτη των Markworth και συν που περιγράφηκε παραπάνω, τα επίπεδα PGE₂, όπως και των περισσότερων φλεγμονωδών μεσολαβητών, αυξήθηκαν τις πρώτες 1-3 ώρες μετά την άσκηση και επανήλθαν στα φυσιολογικά μετά από 24 ώρες. Αν και δε μετρήθηκαν δείκτες μυϊκής βλάβης, το πρωτόκολλο άσκησης που εφαρμόστηκε στη συγκεκριμένη μελέτη ήταν ικανό να επιφέρει μια μέτρια μυϊκή βλάβη. Πιο έντονα πρωτόκολλα πιθανόν να οδηγούσαν σε μακρύτερης διάρκειας απόκρισης αυτών των μεσολαβητών [58].

Άλλες μελέτες δεν έχουν βρει σημαντικές διαφορές στα επίπεδα PGE₂ μέχρι και 4 ημέρες μετά από έκκεντρη άσκηση έκτασης αγκώνα [81-83] και έκτασης γονάτου [84, 85]. Οι Blank και συν δεν εντόπισαν καμία διαφορά στα επίπεδα PGE₂ στις 24, 48 και 72 ώρες μετά από συνεδρία άσκησης που περιλάμβανε έκκεντρες συστολές έκτασης αγκώνα σε απροπόνητα άτομα [86]. Παρομοίως, σε μελέτη όπου έλαβαν μέρος νέες και προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες το πρωτόκολλο έκκεντρης άσκησης (5 σετ από έξι μέγιστες επαναλήψεις έκτασης αγκώνα) δε οδήγησε σε στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα PGE₂ στο πλάσμα στις διάφορες χρονικές στιγμές (0, 24, 48 και 72 ώρες μετά την άσκηση) [87]. Οι Burford και συν έδειξαν ότι

το κατηφορικό τρέξιμο (45λεπτά στο 60%VO_{2max}) δε επιφέρει μεταβολές στα επίπεδα PGE₂ στις 3, 24 και 48 ώρες [88]. Οι λόγοι για αυτά τα αντιφατικά ευρήματα μεταξύ των διαφορετικών πρωτοκόλλων άσκησης δεν είναι ξεκάθαροι, ωστόσο μπορεί να σχετίζονται με διαφορές στην ένταση των ασκήσεων και την επιβάρυνση των μυών (κατηφορικό τρέξιμο Vs ασκήσεις αντιστάσεων) και στον όγκο της μυϊκής μάζας που ενεργοποιείται σε κάθε περίπτωση (μονομερής/απομονωμένη Vs διμερής/συνδυαστική άσκηση) [58].

Εκτός από τις μελέτες που έχουν μετρήσει τις συστηματικές συγκεντρώσεις προσταγλαδινών στο φλεβικό αίμα, κάποιες μελέτες έχουν ερευνήσει τη τοπική απόκριση προσταγλαδινών στο μυ μετά από άσκηση. Αυξημένη έκφραση του COX-2 mRNA έχει βρεθεί σε μυϊκές βιοψίες που λήφθηκαν 4 και 24 ώρες μετά από μια συνεδρία ασκήσεων αντιστάσεων [89] και 3 ώρες μετά από κατηφορικό τρέξιμο [88]. Επιπλέον, αυξημένα ενδομυϊκά επίπεδα PGF_{2α} (77%) έχουν προσδιοριστεί σε μυϊκές βιοψίες 24 ώρες μετά από άσκηση αντιστάσεων που περιλάμβανε εκτάσεις γονάτου. Τα ενδομυϊκά επίπεδα PGE₂ στο ασκούμενο πόδι αυξήθηκαν 60%, ωστόσο η αύξηση αυτή δε θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική [90]. Επιπλέον, η συγκέντρωση PGE₂ στο διάμεσο υγρό του ασκούμενου μυ, που προσδιορίστηκε με τη τεχνική της μικροδιάλυσης, δε παρουσίασε καμία διαφορά, σε σύγκριση με τον μυ ελέγχου, στις 2, 24 και 48 ώρες μετά από έκκεντρη άσκηση εκτάσεων αγκώνα [91], αν και οι Tegedel και συν ανέφεραν αυξημένη απελευθέρωση PGE₂ στο πόδι που είχε εμφανίσει DOMS 24 ώρες μετά την άσκηση [92]. Οι Trappe και συν ανέφεραν αυξημένη συγκέντρωση PGF_{2α} (5-6 φορές) στο διάμεσο υγρό του μυ 8-9 ώρες μετά από άσκηση αντιστάσεων, η οποία επέστρεψε στα αρχικά επίπεδα 24 ώρες μετά το τέλος της άσκησης [93].

Αρκετές μελέτες έχουν επίσης δείξει ότι η σύνθεση προσταγλαδινών είναι αυξημένη μετά από μέτριας έντασης αερόβια άσκηση, η οποία πιθανώς δεν οδηγεί σε μυϊκή βλάβη ή τραυματισμό. Υψηλά επίπεδα PGE₂, PGF_{2α} και 6-κετο-PGF_{1α} έχουν παρατηρηθεί κατά τη διάρκεια συνεχόμενης υπομέγιστης άσκησης. Έχει προταθεί ότι οι λιποειδικοί μεσολαβητές πιθανόν να παίζουν σημαντικό ρόλο στις προσαρμοστικές αποκρίσεις στην άσκηση ανεξάρτητα από το ρόλο τους στη μυϊκή βλάβη και το τραυματισμό [58].

Η επίδραση της άσκησης στη σύνθεση TXB₂ είναι λιγότερο ξεκάθαρη. Αυξημένες συγκεντρώσεις TXB₂ έχουν βρεθεί μετά από μέγιστη, αλλά όχι υπομέγιστη, αερόβια άσκηση [94-96] και πιθανώς αντανακλούν μια οξεία προθρομβωτική καρδιαγγειακή απόκριση [58].

Λευκοτριένια

Τα λευκοτριένια παράγονται και αυτά από την ενεργοποίηση της PLA₂ και αποτελούν ισχυρούς φλεγμονώδεις μεσολαβητές που αυξάνουν την αγγειακή διαπερατότητα και δρουν ως χημειοελκτικοί παράγοντες για τα ουδετερόφιλα. Ωστόσο το διαθέσιμα στοιχεία για τη πιθανή εμπλοκή τους στην AMB είναι περιορισμένα. Ο Peake και συν ανέφεραν ότι το κατηφορικό τρέξιμο δεν επιφέρει κάποιες αλλαγές στην συγκέντρωση LTB₄ στο πλάσμα [79]. Παρόλα αυτά, οι μετρήσεις στη συγκεκριμένα έρευνα πραγματοποιήθηκαν αμέσως και 1 ώρα μετά το τέλος της άσκησης και είναι πιθανό τα επίπεδα να μεταβλήθηκαν σε μετέπειτα χρονικές στιγμές.

PAF

Ο PAF αποτελεί έναν άλλο λιποειδικό μεσολαβητή, η σύνθεση του οποίου επάγεται από την ενεργοποίηση της PLA₂. Μέχρι σήμερα μόνο μια έρευνα έχει μελετήσει την απόκριση του PAF μετά από άσκηση που οδηγεί σε μυϊκή βλάβη. Στην έρευνα συμμετείχαν 13 υγιείς και ενεργά δραστήριοι άνδρες. Το πρωτόκολλο άσκηση περιλάμβανε εκούσιες (μέγιστος αριθμός 36) έκκεντρες εκτάσεις αγκώνα σε δυναμόμετρο. Στα αποτελέσματα της μελέτης φάνηκε ότι τα επίπεδα του ελεύθερου (free PAF), δεσμευμένου (bound PAF) και ολικού PAF (total PAF) αυξήθηκαν στατιστικά σημαντικά στις 48, στις 24 και 48 και στις 24, 48 και 72 ώρες μετά την άσκηση αντίστοιχα [72].

Ένα άλλο σημαντικό θέμα είναι οι πιθανές κυτταρικές πηγές των κυκλοφορούντων λιποειδικών μεσολαβητών που προσδιορίστηκαν στις παραπάνω μελέτες. Ο μυϊκός ιστός αποτελεί μια πιθανή πηγή ορισμένων λιποειδικών μεσολαβητών, ιδιαίτερα των προσταγλαδινών, οι οποίες είναι γνωστό ότι συντίθενται τοπικά από τα μυϊκά κύτταρα. Άλλες πιθανές μη μυϊκές πηγές παραγωγής τους επίσης υπάρχουν, στις οποίες συμπεριλαμβάνονται τα ουδετερόφιλα (PGs και LTs), τα αιμοπετάλια (TXB₂ και 12-HETE), τα μονοκύτταρα/μακροφάγα (15-HETE), τα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα (PGI₂) και οι διακυτταρικές αλληλεπιδράσεις (λιποξίνες και ρεσολβίνες). Αναφορές για αυξημένη έκφραση COX-2 και 5-LOX στα λευκοκύτταρα, αυξημένη έκφραση του COX-2 mRNA σε ανθρώπινες μυϊκές βιοψίες μετά από άσκηση και έκφραση της 5-LOX στο σκελετικό μυϊκό ιστό κατά τη φάση ανάπαυσης υποδηλώνουν ότι τα λευκοκύτταρα και ο μυϊκός ιστός που ενεργοποιήθηκε κατά την άσκηση αποτελούν τις πιθανές πηγές των αυξημένων LTs και PGs. Θα πρέπει επίσης να αναφερθεί ότι στις περισσότερες μελέτες οι λιπιδικοί μεσολαβητές έχουν προσδιοριστεί στη κυκλοφορία του αίματος. Ωστόσο, τα συστατικά αυτά που παράγονται τοπικά στο μυ μπορεί να απενεργοποιηθούν ή να

μεταβολιστούν πριν εισέλθουν στη κυκλοφορία του αίματος, κάτι το οποίο θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη κατά την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων αυτών των μελετών [58].

2.4. Συσχέτιση λιποειδικών μεσολαβητών με βιοχημικά και κλινικά συμπτώματα AMB

Όπως έχει αναφερθεί, η φλεγμονώδης απόκριση μετά από έκκεντρη άσκηση εμπλέκεται σημαντικά στην εξέλιξη της AMB και στη πρόκληση των συνοδών συμπτωμάτων της. Οι προσταγλαδίνες, δεδομένου του ρόλου τους στην φλεγμονή, έχει προταθεί ότι συμβάλουν στην εκδήλωση του ΚΠΜ και την απώλεια της λειτουργικότητας μετά από έκκεντρη άσκηση. Η PGE₂ αποτελεί βασικό μόριο της φλεγμονώδους απόκρισης που δρα ως αγγειοδιασταλτικός παράγοντας και σε συνεργασία με άλλους μεσολαβητές (ισταμίνη, βραδυκινίνη) προκαλεί αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας [76]. Επιπλέον, η PGE₂ αυξάνει την ευαισθητοποίηση των τύπου III και IV νευρικών απολήξεων σε χημικά ή μηχανικά ερεθίσματα. Έτσι, έχει προταθεί ότι η σχετιζόμενη με τη μυϊκή βλάβη και φλεγμονή απελευθέρωση PGE₂ πιθανόν ενισχύει το φαινόμενο του ΚΜΠ κατά την AMB [87].

Αυξημένα επίπεδα PGE₂ στη κυκλοφορία ταυτόχρονα με έναρξη του ΚΠΜ έχουν αναφερθεί στις 24-72 ώρες μετά από ασκήσεις αντιστάσεων που περιλάμβαναν πιέσεις στήθους (50-110% 1-RM) [75, 76], καθίσματα [97] και στεπ (με το βάρος του σώματος) [76]. Επιπλέον, οι Tegeder και συν μελέτησαν την απελευθέρωση PGE₂ στο γαστροκνήμιο με τη τεχνική της μικροδιάλυσης και βρήκαν αυξημένα επίπεδα PGE₂ στο μυ που εμφάνισε ΚΜΠ 24 ώρες μετά την άσκηση [92]. Παρομοίως, το περιεχόμενο του μυ σε PGE₂ αυξήθηκε 60% μετά από έκκεντρη άσκηση έκτασης του γονάτου [90]. Τα ευρήματα αυτά προτείνουν ότι η έκκριση της PGE₂ τοπικά σχετίζεται με την εμφάνιση του ΚΜΠ. Παρόλα αυτά, άλλες μελέτες απέτυχαν να εντοπίσουν αυξήσεις στα επίπεδα PGE₂ στη κυκλοφορία έως και 4 ημέρες μετά από έκκεντρη άσκηση έκτασης του γονάτου [84, 85] ή του αγκώνα [81, 83, 86]. Επίσης, το κατηφορικό τρέξιμο έχει φανεί ότι δεν έχει καμία επίδραση (0, 24, 48 ώρες μετά την άσκηση) [88] ή κάποια επιπλέον επίδραση (αμέσως μετά την άσκηση) σε σύγκριση με το υψηλής έντασης τρέξιμο σε επίπεδη επιφάνεια στα κυκλοφορούντα επίπεδα PGE₂ [79]. Οι Uchida και συν βρήκαν σημαντική αύξηση των επιπέδων PGE₂ στο πλάσμα ύστερα από άσκηση πιέσεων στήθους και μια ασθενής αλλά στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του ΚΜΠ και της μέγιστης συγκέντρωσης PGE₂ [76]. Αντιθέτως, σε μελέτη όπου έλαβαν μέρος γυναίκες (νέες και προεμμηνοπαυσιακές) δε παρατηρήθηκε συσχέτιση του μυϊκού πόνου με τα επίπεδα PGE₂.

Ωστόσο, στη συγκεκριμένη μελέτη φάνηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ της ηλικίας και της PGE₂, στοιχεία που επιβεβαιώνουν τα ευρήματα προηγούμενων μελετών για αύξηση της φλεγμονής καθώς αυξάνεται η ηλικία [87]. Η ασυμφωνία αυτή στα αποτελέσματα των μελετών πιθανώς σχετίζεται με το τύπο άσκησης που εφαρμόστηκε σε κάθε περίπτωση, με εμπλοκή διαφορετικών μυϊκών ομάδων και διαφορετικού όγκου άσκησης.

Επιπλέον στοιχεία για το ρόλο των προσταγλαδινών στα βιοχημικά και κλινικά συμπτώματα που σχετίζονται με την AMB μπορούν να ληφθούν από μελέτες που έχουν χρησιμοποιήσει αναστολείς της σύνθεσης προσταγλαδινών. Η χορήγηση πιροξαμίνης (Piroxamin) οδήγησε σε μείωση των επιπέδων PGE₂ στο πλάσμα μετά από έκκεντρη άσκηση, ωστόσο δε παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές σε δείκτες μυϊκής βλάβης και στον ΚΜΠ [85]. Σε άλλη μελέτη, η χορήγηση celecoxib (αναστολέας COX-2) φάνηκε να είναι αποτελεσματική στη μείωση του ΚΜΠ μετά από έκκεντρη άσκηση έκτασης αγκώνων, η οποία όμως δε συσχετίστηκε με διαφορές στα επίπεδα PGE₂ και άλλων φλεγμονωδών δεικτών [91]. Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η φλεγμονή κατά τη διάρκεια της AMB δεν αποτελεί το βασικό μηχανισμό πρόκλησης ΚΜΠ. Επιπλέον, οι Black και συν μελέτησαν την επίδραση συμπληρωμάτων τζίντζερ στην AMB. Το τζίντζερ έχει φανεί ότι εμποδίζει τη δραστηριότητα των COX-1 και COX-2, τη σύνθεση λευκοτριενίων και τη παραγωγή κυτταροκινών από τα ενεργοποιημένα μακροφάγα. Τα συμπληρώματα τζίντζερ φάνηκαν αποτελεσματικά στη μείωση του μυϊκού πόνου μετά από έκκεντρη άσκηση, ωστόσο δεν επηρέασαν σημαντικά τα επίπεδα της PGE₂ [86].

Επίσης, οι Buford και συν μελέτησαν την επίδραση συμπληρωμάτων πρωτεασών στη μυϊκή λειτουργία μετά από έκκεντρη άσκηση. Τα συμπληρώματα πρωτεασών οδήγησαν σε σημαντική μείωση των επιπέδων COX-2 μετά την άσκηση (κατηφορικό τρέξιμο) και περιόρισαν σημαντικά την απώλεια μυϊκής δύναμης στις 24 και 48 ώρες. Ωστόσο, δε παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα PGE₂, αν και φάνηκε μια τάση (P=0,084) για μείωση. Οι ερευνητές πρότειναν ότι η πιθανή μεταβολή στην έκκριση άλλων προσταγλαδινών μπορεί να εμπλέκεται στις βελτιώσεις της μυϊκής λειτουργίας [88]. Σε άλλη μελέτη σε πειραματόζωα φάνηκε ότι η μείωση τη μυϊκής δύναμης τη 2^η και 3^η ημέρα μετά από έκκεντρη άσκηση σχετίζεται με την αύξηση της παραγωγής PGE₂, προτείνοντας ότι η φλεγμονώδης απόκριση κατά την AMB οδηγεί σε δεύτερη μυϊκή βλάβη [78]. Επίσης, οι Cannon και συν ανέφεραν σημαντικά αυξημένη έκκριση PGE₂ από τα μονοκύτταρα μετά από κατηφορικό τρέξιμο και οι αυξήσεις αυτές συσχετίστηκαν με αυξημένη μυϊκή αποικοδόμηση, όπως προσδιορίστηκε από τα επίπεδα της 3-μεθυλοκυστεΐνης στα ούρα, προτείνοντας ένα πιθανό ρόλο της PGE₂ στη πρωτεόλυση που συμβαίνει μετά από AMB [80].

Τέλος, στη μελέτη των Milias και συν τα αυξημένα επίπεδα PAF μετά από έκκεντρη άσκηση που οδήγησε σε μυϊκή βλάβη σχετίστηκαν θετικά με διάφορους δείκτες μυϊκής βλάβης (CK, LHD, περιφέρεια χεριού) και αρνητικά με δείκτες μυϊκής λειτουργίας (μέγιστη ισομετρική δύναμη). Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν πιθανό ρόλο του PAF στις διεργασίες που εμπλέκονται κατά την AMB [72].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΡΟΛΗΨΗΣ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ AMB

Η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη συνοδεύεται από ένα σύνολο αρνητικών επιδράσεων που μπορεί να δημιουργήσουν σημαντικά προβλήματα στη προπόνηση και την απόδοση των αθλητών, αλλά και των ατόμων που αθλούνται για λόγους αναψυχής. Ο μυϊκός πόνος, η προσωρινή απώλεια δύναμης, ο περιορισμός στη κίνηση και η μειωμένη ικανότητα πραγματοποίησης άσκησης στην επιθυμητή ένταση επηρεάζουν σημαντικά τις συνεδρίες άσκησης που ακολουθούν μετά την AMB [5]. Μάλιστα πολλοί αθλητές συχνά καλούνται να προπονηθούν και να αγωνιστούν αρκετές φορές σε σχετικά σύντομο χρονικό διάστημα, χωρίς να μεσολαβεί επαρκής χρόνος για φυσική αποκατάσταση. Αυτό είναι εμφανές σε μια ποικιλία αθλημάτων, και είναι ίσως πιο εμφανές σε αθλήματα όπως το ράγκμπι και το ποδόσφαιρο, όπου τα άτομα αγωνίζονται και προπονούνται καθημερινά. Σε μερικές περιπτώσεις, και ανάλογα με το χρονικό διάστημα της σεζόν, οι παίκτες μπορούν να αγωνιστούν περισσότερες από μία φορές κατά τη διάρκεια μιας εβδομάδας, και μερικές φορές είναι πιθανό να συμμετάσχουν σε τρία με τέσσερα παιχνίδια σε λιγότερο από δύο εβδομάδες. Ως εκ τούτου, η μεγιστοποίηση και η επιτάχυνση της διαδικασίας ανάκαμψης είναι ζωτικής σημασίας για την ενίσχυση της απόδοσης των αθλητών [98]. Μια ποικιλία παρεμβάσεων με στόχο τη πρόληψη, θεραπεία ή περιορισμό των αρνητικών συμπτωμάτων της AMB έχει χρησιμοποιηθεί. Αυτές οι παρεμβάσεις μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις ευρείες κατηγορίες: α) παρεμβάσεις με εφαρμογή φυσιοθεραπευτικών μεθόδων, β) φαρμακευτικές παρεμβάσεις και γ) παρεμβάσεις με χρήση διατροφικών συμπληρωμάτων [31]. Θα πρέπει να αναφερθεί ότι αυτές οι παρεμβάσεις ποικίλλουν σημαντικά όσον αφορά το τύπο άσκησης, τη μυϊκή ομάδα που χρησιμοποιείται, τη διάρκεια και τη συχνότητα της θεραπείας καθώς και το μέγεθος του δείγματος, κάτι το οποίο δημιουργεί μερικές φορές προβλήματα στη εξαγωγή συμπερασμάτων [5]. Στις επόμενες ενότητες παρουσιάζεται η καθεμία από αυτές τις κατηγορίες, δίνοντας μεγαλύτερη έμφαση στη διατροφική διαχείριση της AMB.

3.1. Φυσιοθεραπευτικές Παρεμβάσεις

Ένας μεγάλος αριθμός φυσιοθεραπευτικών παρεμβάσεων έχει προταθεί για την ανακούφιση από το ΚΜΠ και των συνοδών συμπτωμάτων. Αν και πολλές ερευνητικές εργασίες έχουν πραγματοποιηθεί στο χώρο αυτό, πολύ μικρή είναι η ομοφωνία ανάμεσα στους θεράποντες σχετικά με την πιο αποτελεσματική μέθοδο αντιμετώπισης των συμπτωμάτων της AMB. Η

εμμονή σε μη δημοσιευμένα στοιχεία ή σε εργασίες με κακό πειραματικό σχεδιασμό μπορεί να διαιωνίζει μη αποτελεσματικές μεθόδους, όπου στη καλύτερη περίπτωση κυριαρχεί η δράση του placebo. Οι κυριότερες φυσιοθεραπευτικές παρεμβάσεις που έχουν χρησιμοποιηθεί είναι οι εξής [31]:

- Ζέσταμα
- Διατάσεις (πριν και μετά την άσκηση)
- Μασάζ
- Ελαφριά άσκηση Vs Ξεκούραση
- Ακινητοποίηση

Καθώς και πιο εναλλακτικές θεραπείες, στις οποίες περιλαμβάνονται:

- Κρυοθεραπεία
- Συμπίεση
- Ηλεκτροδιέγερση
- Υπέρηχοι
- Υπερβαρικό οξυγόνο
- Βελονισμός
- Προστατευτικό ύφασμα για τα ηλεκτρομαγνητικά κύματα

Αναμφισβήτητα, οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες τεχνικές για τη θεραπεία του ΚΜΠ είναι το μασάζ και οι διατάσεις. Αποτελεί έκπληξη όμως το γεγονός πως παρά την ευρεία χρήση τους πολύ λίγα επιστημονικά στοιχεία υποστηρίζουν την αποτελεσματικότητά τους [31].

3.2. Φαρμακευτικές παρεμβάσεις

3.2.1. Μη στεροειδή, αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ)

Τα μη στεροειδή, αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ) χρησιμοποιούνται ευρέως για την ανακούφιση των συμπτωμάτων του ΚΜΠ και την επανάκτηση της μυϊκής λειτουργίας μετά από AMB. Εκτιμάται ότι 30 εκατομμύρια άνθρωποι σε όλο τον κόσμο χρησιμοποιούν ΜΣΑΦ σε καθημερινή βάση και η κατανάλωσή τους είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη μεταξύ των αθλητών και ατόμων που συμμετέχουν σε έντονη φυσική δραστηριότητα[99].

Μια ισχυρή θεωρητική βάση υπάρχει σχετικά με την αποτελεσματικότητα των ΜΣΑΦ στην αντιμετώπιση των συμπτωμάτων που σχετίζονται με AMB, δεδομένου ότι η AMB οδηγεί σε φλεγμονή. Τα ΜΣΑΦ δρουν αναστέλλοντας το μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος μέσω της οδού της κυκλοξυγονάσης (COX), εμποδίζοντας με αυτό τον τρόπο τη παραγωγή προσταγλαδινών. Κατατάσσονται σε δυο κατηγορίες, τα μονής και διπλής δράσης. Τα ΜΣΑΦ όπως η ασπιρίνη, το ναπροξέν (naproxen), το ιμπουπροφέν (ibuprofen) και το φλουρμπιπροφέν (flurbiprofen) είναι αποκλειστικά αναστολείς της COX και συγκαταλέγονται στα μονή δράσης. Άλλα όπως το κετοπροφέν (ketoprofen) και το ντικλοφενάκ (diclofenac) είναι διπλής δράσης και παράλληλα με την αναστολή της COX αναστέλλουν και την οδό της λιποξυγονάσης (LOX), επιδεικνύοντας πιθανόν μια ισχυρότερη αντιφλεγμονώδη δράση σε σχέση με τα ΜΣΑΦ μονής δράσης. Τα κορτικοστεροειδή, όπως για παράδειγμα τα γλυκοκορτικοειδή, αναστέλλουν τη δράση της φωσφολιπάσης A_2 εμποδίζοντας με αυτό τον τρόπο την αρχική αποδέσμευση του αραχιδονικού οξέος από τις κυτταρικές μεμβράνες, επιδεικνύοντας μια πιο ολοκληρωμένη αντιφλεγμονώδη δράση σε σχέση με τα ευρέως χρησιμοποιούμενα ΜΣΑΦ μονής δράσης. Παρόλα αυτά, λόγω των πολλών παρενεργειών τους (μείωση οστική πυκνότητας, απώλεια μυϊκής μάζας, οίδημα, υπέρταση), η χρήση τους ως αντιφλεγμονωδών παραγόντων θα πρέπει να είναι περιορισμένη. Τα ΜΣΑΦ εμφανίζουν και αυτά παρενέργειες (γαστρεντερικές ενοχλήσεις, νεφρικές και υπερτασικές επιδράσεις), οι οποίες όμως είναι λιγότερο συχνές και μικρότερης σοβαρότητας σε σχέση με τις παρενέργειες των γλυκοκορτικοειδών για αυτό η χρήση τους είναι πιο διαδεδομένη. Τα ΜΣΑΦ σε χαμηλές δόσεις παρουσιάζουν αναλγητική δράση, ενώ σε υψηλότερες εκδηλώνουν αντιφλεγμονώδη δράση, πιθανόν λόγω του ότι σε υψηλές δόσεις επηρεάζουν την δράση ουδετερόφιλων και μακροφάγων. Φαίνεται δηλαδή ότι τα ΜΣΑΦ μπορούν να έχουν άμεση ανασταλτική δράση στη φλεγμονή, ανεξάρτητα από την αναλγητική τους δράση μέσω αναστολής της PGE_2 [31].

Παρά την ευρεία κατανάλωση τους ως αναλγητικοί και αντιφλεγμονώδεις παράγοντες και την ύπαρξη ισχυρής θεωρητικής βάσης για αυτή τους τη δράση, η αποτελεσματικότητά των ΜΣΑΦ στην AMB παραμένει αμφιλεγόμενη, καθώς τα διαθέσιμα επιστημονικά στοιχεία είναι μικτά και συχνά αντικρουόμενα. Αν και αρκετοί ερευνητές έχουν δείξει ότι η χορήγηση ΜΣΑΦ διευκολύνει την ανάκτηση της μυϊκής λειτουργίας μετά από AMB [100] [101], αρκετοί έχουν αποτύχει να δείξουν βελτιώσεις σε σύγκριση με το placebo γκρουπ [102] [103]. Ομοίως, ενώ μερικές μελέτες αναφέρουν μειώσεις στην αντίληψη του πόνου μετά από χορήγηση ΜΣΑΦ [91], μια πρόσφατη ανασκόπηση από τους Connolly και συν έδειξε ότι η πλειοψηφία των επιστημονικών στοιχείων δεν αποκαλύπτει κάποιο θεραπευτικό αποτέλεσμα από τη χρήση τους. Η ασυμφωνία αυτή μεταξύ των αποτελεσμάτων μπορεί να αποδοθεί στο διαφορετικό τύπο ΜΣΑΦ, τη δοσολογία και τη διάρκεια της θεραπείας που χρησιμοποιούνται σε κάθε μελέτη, καθώς επίσης και τα διαφορετικά πρωτόκολλα άσκησης για τη πρόκληση AMB [31].

Επιπλέον, υπάρχουν στοιχεία που δείχνουν ότι η χρήση ΜΣΑΦ επιβραδύνει τη διαδικασία αποκατάστασης μετά από μυϊκό τραυματισμό και επηρεάζει τη ανάπτυξη προσαρμογών στην άσκηση. Συγκεκριμένα, έχει φανεί ότι οι COX είναι απαραίτητες για τη μέγιστη ανάπτυξη των μυϊκού ιστού ως απόκριση στη λειτουργική υπερφόρτωση [104]. Οι υπερτροφικές επιδράσεις των COX φαίνεται να σχετίζονται με τη σύνθεση διαφόρων προσταγλαδινών, οι οποίες διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των δορυφορικών κυττάρων και αυξάνουν τη σύνθεση των μυϊκών πρωτεϊνών [105].

Από τα στοιχεία που παρατέθηκαν φαίνεται ότι η χρήση ΜΣΑΦ για την αντιμετώπιση των συμπτωμάτων που σχετίζονται με την AMB δε αποτελεί τη βέλτιστη θεραπευτική επιλογή [31].

3.2.2. Ανταγωνιστές διαύλων ασβεστίου (CCB-Calcium Channels Blockers)

Όπως περιγράφηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο η αυξημένη ροή ασβεστίου στο κυτταρόπλασμα και η αύξηση των $[Ca^{2+}]_c$ ως αποτέλεσμα των αρχικών γεγονότων που συμβαίνουν κατά την AMB εκκινεί ένα καταρράκτη ενεργοποιήσεων που τελικά οδηγεί σε περαιτέρω βλάβη στο μυϊκά κύτταρα. Ένας προφανής τρόπος για πρόληψη της βλάβης που προκαλείται από την υπερφόρτωση ασβεστίου είναι η αναστολή ή μείωση της αύξησης της $[Ca^{2+}]_c$. Ένας τρόπος για να γίνει αυτό είναι η μείωση της ροής Ca^{2+} μέσω των διαύλων Ca^{2+} στο σαρκείλημα και στις μεμβράνες το σαρκοπλασματικού δικτύου [25]. Οι μελέτες που έχουν εξετάσει την αποτελεσματικότητα των CCB αν και είναι πολύ περιορισμένες έχουν δείξει μείωση στη μυϊκή βλάβη που προκαλείται από άσκηση τόσο σε πειραματόζωα όσο και σε ανθρώπους. Πιο συγκεκριμένα, η χορήγηση νιφεντιπίνης (nifedipine) σε ποντίκια έδειξε προστατευτική δράση

στην AMB, μειώνοντας τη ροή Ca^{2+} στο κυτταρόπλασμα [106]. Επίσης, μελέτη σε τρωκτικά έδειξε ότι η χορήγηση νιφεντιπίνης (nifedipine) ανέστειλε τη μυϊκή βλάβη μετά από έκκεντρη άσκηση, μέσω βελτίωσης της μυϊκής μικροκυκλοφορίας [107]. Τέλος, σε μελέτη που έγινε σε ανθρώπους, φάνηκε ότι η αμλοντιπίνη (amlodipine) βελτιώνει τα ιστολογικά χαρακτηριστικά της AMB, και πιο συγκεκριμένα τη καταστροφή της δεσμίνης και την αλλοίωση στη ζώνη Z [108].

3.3. Διατροφικές παρεμβάσεις

Ένας μεγάλος αριθμός παρεμβάσεων έχει πραγματοποιηθεί με σκοπό τη διερεύνηση του ρόλου της διατροφής στα γεγονότα που συμβαίνουν κατά την AMB. Όπως περιγράφηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο, η AMB προκύπτει αρχικά λόγω μηχανικής βλάβης των μυϊκών ινών, η οποία οδηγεί σε ένα σύνολο γεγονότων (φλεγμονή, οξειδωτικό στρες) που επιφέρουν επιπλέον βλάβη στο μυϊκά κύτταρα. Επομένως, είναι εύλογο να θεωρηθεί ότι συγκεκριμένοι διατροφικοί παράγοντες θα μπορούσαν να δράσουν περιορίζοντας αυτές τις δευτερογενείς διεργασίες ή/και ενισχύοντας της διαδικασίες επούλωσης που ακολουθούν, οδηγώντας σε χαμηλότερο βαθμό μυϊκής βλάβης ή/και ταχύτερη αποκατάσταση ύστερα από AMB. Μια γρήγορη και αποτελεσματική αποκατάσταση θα επιτρέψει στους αθλητές να ανταποκριθούν επαρκώς στις απαιτήσεις του προπονητικού προγράμματος, κάτι που θα επιφέρει τις αναμενόμενες βελτιώσεις στην απόδοσή τους. Είναι ευρέως αποδεκτό, ότι κατά τη διάρκεια της αποκατάστασης μετά την άσκηση, η βέλτιστη διατροφική πρόσληψη είναι απαραίτητη προκειμένου να διευκολυνθεί η επιδιόρθωση των μυών και η αναγέννησή τους [109]. Για το σκοπό αυτό, πολλοί ερευνητές έχουν εξετάσει το ρόλο συγκεκριμένων διατροφικών συμπληρωμάτων και τροφίμων στη μείωση της μυϊκής βλάβης και των συνοδών συμπτωμάτων της.

3.3.1. Αντιοξειδωτικά

Τα διατροφικά αντιοξειδωτικά είναι μη ενζυμικά συστατικά, στα οποία περιλαμβάνονται η λιποδιαλυτή βιταμίνη E, τα καροτενοειδή, το συνέζυμο Q10 (CoQ10), η υδατοδιαλυτή βιταμίνη C, η γλουταθειόνη και το ουρικό οξύ. Τα αντιοξειδωτικά αυτά δρουν είτε μετατρέποντας τα ROS σε λιγότερα δραστικά μόρια, είτε προλαμβάνοντας τη μετατροπή τους σε πιο δραστικές μορφές, έχοντας εξωκυτταρικά και ενδοκυτταρικά σημεία δράσης [110].

Η αναστολή της παραγωγής ελευθέρων ριζών με τη χρήση αντιοξειδωτικών ενώσεων ή ενώσεων που ενισχύουν τους ενδογενείς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς θα μπορούσε να οδηγήσει σε

μείωση των κλινικών φαινομένων που συνοδεύουν την AMB [5]. Διάφορα συμπληρώματα αντιοξειδωτικών, είτε μόνα τους, είτε σε συνδυασμό, καθώς και τρόφιμα με αντιοξειδωτικές ιδιότητες έχουν κατά καιρούς μελετηθεί ως προς αυτή τους τη δράση. Παρά το μεγάλο όγκο μελετών που έχουν πραγματοποιηθεί, τα αποτελέσματα παραμένουν αντικρουόμενα και μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν ισχυρά στοιχεία για να αποδείξουν σημαντικές επιδράσεις των αντιοξειδωτικών στις δομικές και λειτουργικές βλάβες που σχετίζονται με την AMB. Η ασυνέπεια των ευρημάτων οφείλεται εν μέρει στην ανομοιογένεια των μελετών όσον αφορά το είδος, τη δοσολογία και τη χρονική στιγμή χορήγησης των συμπληρωμάτων, το πρωτόκολλο άσκησης που χρησιμοποιήθηκε για την πρόκληση AMB, τη προπονητική κατάσταση των εθελοντών καθώς και τους επιλεγόμενους δείκτες για την εκτίμηση και ποσοτικοποίηση της μυϊκής βλάβης.

3.3.1.1. Συμπληρώματα βιταμίνης C ή/και βιταμίνης E

Οι πλειοψηφία των μελετών που εξετάζουν την επίδραση των αντιοξειδωτικών στην AMB έχουν επικεντρωθεί στην επίδραση των βιταμινών E και C, παρατηρώντας αλλαγές στις συγκεντρώσεις CK και LDH στο πλάσμα και σε δείκτες οξειδωτικού στρες. Πολλοί λιγότερες είναι οι μελέτες που εκτιμούν άμεσους δείκτες μυϊκής βλάβης, όπως η απώλεια μυϊκής δύναμης, ο ΚΜΠ και δομικές αλλαγές στις μυϊκές ίνες [111, 112].

Σχετικά με τη βιταμίνη C, παρά το πλήθος των ερευνών που έχουν διεξαχθεί μέχρι σήμερα, υπάρχουν πολύ περιορισμένα στοιχεία για να υποστηρίξουν την υπόθεση ότι η παρατεταμένη ή οξεία συμπληρωματική χορήγησή της πριν ή/και μετά την άσκηση θα μπορούσε να προλάβει ή να περιορίσει την AMB. Παρόλο που η μακροχρόνια συμπληρωματική χορήγηση βιταμίνης C πριν την άσκηση έχει δείξει αντικρουόμενα αποτελέσματα, μερικά από αυτά αναφέρουν θετικές επιδράσεις στην υπεροξειδωση των λιπών και στη φλεγμονή [113], πιθανόν μέσω ενίσχυσης του αρχικού αντιοξειδωτικού προφίλ [114]. Ωστόσο, σε καμία έρευνα δεν έχει αναφερθεί σαφής επίδραση στη μυϊκή βλάβη. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί ύστερα από οξεία συμπληρωματική χορήγηση βιταμίνης C πριν ή/και μετά την άσκηση [115, 116]. Επιπλέον, σε μελέτη που χορηγήθηκε συνδυασμός βιταμίνης C και ακετυλοκυστεΐνης για 7 ημέρες μετά από έκκεντρου τύπου άσκηση, η βιταμίνη C εκδήλωσε προοξειδωτική δράση.

Η βιταμίνη E αποτελεί την πιο σημαντική λιποδιαλυτή αντιοξειδωτική βιταμίνη. Είναι γνωστή για την ικανότητάς της να σταματάει την αλυσιδωτή αντίδραση υπεροξειδωσης των λιπιδίων, ενώ επίσης δρα και ως εκκαθαριστής της ανιοντικής ρίζας σουπεροξειδίου (O_2^-), της ρίζας υδροξυλίου (OH) και της υπεροξ-ρίζας λιποειδούς ($\text{LOO}\cdot$). Η βιταμίνη E αναγεννιέται από την

ανηγμένη μορφή της με τη βοήθεια της βιταμίνης C και σε μικρότερο βαθμό από άλλα αντιοξειδωτικά (γλουταθειόνη, CoQ, κυστεΐνη, α-λιποϊκό οξύ) και είναι σημαντικό ότι απουσία αυτών των αντιοξειδωτικών η βιταμίνη E παρουσιάζει προοξειδωτική δράση. Είναι φανερό επομένως η άμεση εξάρτηση της βιταμίνης E από την βιταμίνη C και γενικότερα η απαίτηση για τη ταυτόχρονη παρουσία όλων των βασικών αντιοξειδωτικών ώστε να μπορεί να γίνει επιτυχώς η δέσμευση των ελευθέρων ριζών [110]. Οι περισσότερες μελέτες που έχουν εξετάσει την επίδραση της βιταμίνης E στην AMB έχουν χρησιμοποιήσει στρατηγικές συμπληρωματικής χορήγησής της πριν την άσκηση, βασιζόμενοι στη παραδοχή ότι η βιταμίνη E, σε αντίθεση με την βιταμίνη C, λόγω της λιποδιαλυτής της φύσης μπορεί να αποθηκευτεί στους ιστούς. Στις περισσότερες από αυτές τις περιπτώσεις δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς άμεσοι δείκτες μυϊκής βλάβης και τα διαθέσιμα αποτελέσματα, παρότι προτείνουν μια μικρή προστατευτική επίδραση των συμπληρωμάτων βιταμίνης E στην οξείδωση, στη καταστροφή των μεμβρανών και στη φλεγμονή, δε παρέχουν αρκετά στοιχεία ώστε να υποστηριχθεί κάποια προστατευτική επίδραση στην AMB [117, 118].

Μια πρόσφατη αναλυτική ανασκόπηση από τους McGinley και συν σχετικά με τις επιδράσεις της συμπληρωματικής χορήγησης των δύο αυτών αντιοξειδωτικών, μόνα τους ή σε συνδυασμό, κατέληξε ότι μέχρι σήμερα υπάρχουν πολύ λίγα στοιχεία για να υποστηρίξουν κάποια προστατευτική επίδραση των βιταμινών αυτών στη μυϊκή βλάβη, παρόλο ότι υπάρχουν στοιχεία που δείχνουν ότι και τα δύο μπορούν να μειώσουν δείκτες οξειδωτικού στρες. Επιπλέον, οι συνηθισμένες μεγάλες δοσολογίες μπορούν να επιφέρουν αρνητικές επιπτώσεις στις διαδικασίες προσαρμογής και αποκατάστασης μετά από άσκηση, δεδομένου ότι μπορεί να παρεμβαίνουν στις διαδικασίες σηματοδότησης των ROS [111].

3.3.1.2. Καροτενοειδή

Τα καροτενοειδή είναι αποτελεσματικά αντιοξειδωτικά και αποτελούν ένα σημαντικό συστατικό του αντιοξειδωτικού αμυντικού συστήματος του ανθρώπου, προστατεύοντας από το οξειδωτικό στρες, εξουδετερώνοντας το μονήρες μοριακό οξυγόνο και τις ελεύθερες ρίζες και εμποδίζοντας την υπεροξείδωση των λιπιδίων [119]. Μέχρι σήμερα, υπάρχει μόνο μια μελέτη που χρησιμοποιεί αποκλειστικά συμπληρώματα καροτενοειδών ως αντιοξειδωτική θεραπεία. Τα αποτελέσματά της έδειξαν προστατευτική επίδραση των συμπληρωμάτων στη CK και στην ολική αντιοξειδωτική κατάσταση (TAS), αλλά όχι στη SOD [120].

3.3.1.3. Συνένζυμο Q10 (CoQ10)

Το CoQ10 αποτελεί βασικό συστατικό της μιτοχονδριακής αναπνευστικής αλυσίδας αλλά είναι επίσης γνωστό και για τις αντιοξειδωτικές του ιδιότητες. Πιο συγκεκριμένα, το CoQ10 στην ανηγμένη του μορφή είναι ένα αποτελεσματικό αντιοξειδωτικό έχοντας την ικανότητα να προστατεύει από την υπεροξείδωση των λιπών, την οξείδωση του DNA και των πρωτεϊνών, καθώς επίσης να αναγεννά τη βιταμίνη E και C [121].

Σε μελέτη των Diaz-Castro και συν (2012), η συμπληρωματική χορήγηση CoQ10 μείωσε δείκτες οξειδωτικού στρες, αύξησε αντιοξειδωτικούς δείκτες και είχε θετική επίδραση σε δείκτες φλεγμονής [122]. Ωστόσο, άλλη μελέτη, δεν έδειξε κάποια επίδραση των συμπληρωμάτων CoQ10 σε δείκτες οξειδωτικού στρες και στη CK, σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου [123]. Σε μια τρίτη μελέτη φάνηκε ότι η συμπληρωματική χορήγηση CoQ10 οδήγησε σε μείωση της CK, της Mb και της υπεροξείδωσης των λιπιδίων (LPO), χωρίς όμως να έχει κάποια επίδραση στον αριθμό ουδετερόφιλων μετά των άσκηση [124].

3.3.1.4. N-ακετυλοκυστεΐνη

Η N-ακετυλοκυστεΐνη είναι μια υδατοδιαλυτή πρόδρομη ένωση της γλουταθειόνης. Η γλουταθειόνη είναι μια ενδογενή αντιοξειδωτική θειόλη, η οποία αντιδρά με τα ROS άμεσα ή έμμεσα ως συμπαράγοντας του αντιοξειδωτικού ενζύμου υπεροξειδάση της γλουταθειόνης [42].

Οι Hupponen και συν χορήγησαν συμπληρωματικά σε απροπόνητους άνδρες 200mg N-ακετυλοκυστεΐνης/ ημέρα για 2 ημέρες πριν από άσκηση που περιλάμβανε ποδηλασία μέχρι εξάντλησης. Η N-ακετυλοκυστεΐνη εμπόδισε οποιαδήποτε αύξηση στην ικανότητα των ουδετερόφιλων να παράγουν ROS [125]. Σε μια άλλη μελέτη σε κωπηλάτες, η χορήγηση 6gr N-ακετυλοκυστεΐνης για 3 ημέρες πριν από δοκιμασία μέγιστης άσκησης 6 λεπτών σε κωπηλατοεργόμετρο, φάνηκε ότι μείωσε σημαντικά τη παραγωγή ROS από τα ουδετερόφιλα [126].

3.3.1.5. α-λιποϊκό οξύ (LA)

Το α-λιποϊκό οξύ (LA) είναι μια υδατοδιαλυτή και λιποδιαλυτή ένωση, η οποία συντίθεται στον ανθρώπινο οργανισμό και υπάρχει σε ζώα και φυτά. Το LA λειτουργεί ως χηλικό αντιδραστήριο μετάλλων, επαγωγέας της σύνθεσης γλουταθειόνης και εκκαθαριστής ελευθέρων ριζών. Η ανηγμένη του μορφή, γνωστή ως διυδρολιποϊκό οξύ (DHLA), είναι αυτή που αντιδρά κυρίως με τα ROS, ωστόσο και η οξειδωμένη μορφή του LA μπορεί να απενεργοποιήσει τις ελεύθερες

ρίζες. Το DHLA έχει επίσης την ικανότητα να ανάγει τις οξειδωμένες μορφές πολλών σημαντικών αντιοξειδωτικών, όπως η βιταμίνη C και E, το CoQ10 και η γλουταθειόνη. Λόγω αυτών των δράσεων του το λιποϊκό οξύ αναγνωρίζεται πλέον ως ένα από τα πιο ισχυρά βιολογικά αντιοξειδωτικά [121].

Σε μελέτη των Zembron-Lancy και συν (2009), η συμπληρωματική χορήγηση LA δεν επέφερε αλλαγές στη CK και LDH, ενώ φάνηκε ότι επηρέασε τα επίπεδα γλουταθειόνης, ολικών θειολών, TBARS και πρωτεϊνικών καρβονυλίων (PC). Ωστόσο, δε παρατηρήθηκε κάποια αλλαγή σε παραμέτρους προπόνησης, όπως η μέγιστη ροπή, το συνολικό έργο και η μέση παραγόμενη ισχύ [127]. Στα ίδια αποτελέσματα κατέληξε και δεύτερη μελέτη από την ίδια ομάδα ερευνητών [128]. Σε μια τρίτη μελέτη, η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα αυξήθηκε ως αποτέλεσμα της συμπληρωματικής χορήγησης LA, ενώ οι βλάβες στο DNA, η υπεροξειδωση των λιπών και το υπεροξείδιο του υδρογόνου αυξήθηκαν μετά την άσκηση στην ομάδα που δεν έλαβε τα συμπληρώματα [129].

3.3.1.6. Πολυφαινόλες

Οι πολυφαινόλες αποτελούν τη μεγαλύτερη ομάδα φυτοχημικών και είναι γνωστές λόγω της ισχυρής αντιοξειδωτικής τους δράσης. Τα φλαβονοειδή είναι μια μεγάλη κατηγορία πολυφαινολών και μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί 4000 ενώσεις. Έχει προταθεί από μεγάλο αριθμό δημοσιεύσεων ότι τα συστατικά αυτά έχουν ισχυρές ανοσολογικές, αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδης ιδιότητες [121].

Το φλαβονοειδές κερκετίνη έχει χρησιμοποιηθεί σε κάποιες μελέτες στα πλαίσια της AMB, χωρίς ωστόσο να φανεί κάποια θετική επίδραση στη μυϊκή δύναμη, μυϊκή βλάβη, φλεγμονή, επίπεδα κυττοκινών και ορμονών [121]. Ένα άλλα φλαβονοειδές, η επιγαλλοκατεχίνη (epigallocatechin gallate, EGCG), η οποία είναι μια κατεχίνη που βρίσκεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στο πράσινο τσάι, έχει επίσης μελετηθεί σχετικά με την επίδρασή της στη μυϊκή βλάβη. Η συμπληρωματική χορήγησή της οδήγησε σε μείωση του ΚΜΠ, χωρίς ωστόσο να επηρεάσει άλλους παραμέτρους, όπως CK, LDH, μέγιστη ροπή και αριθμό λευκοκυττάρων [130]. Επίσης, η επίδραση των πολυφαινολών στην AMB έχει μελετηθεί και μέσω χορήγησης τροφίμων με υψηλή περιεκτικότητα σε αυτά τα συστατικά. Τα κεράσια και τα μούρα είναι πλούσια σε πολυφαινολικό περιεχόμενο, κυρίως ανθοκυανίνες και κερκετίνη και έχουν χρησιμοποιηθεί ως θεραπεία στα πλαίσια της AMB, με όλες τις μελέτες να έχουν δείξει θετικά αποτελέσματα όσον αφορά την αποκατάσταση της μυϊκής δύναμης [121]. Πιο συγκεκριμένα, ο χυμός μιας ποικιλίας ξινών κερασιών (tart cherry), έχει φάνει ότι είναι ικανό να μειώσει τα

συμπτώματα της AMB, μέσω μείωσης του οξειδωτικού στρες, της φλεγμονώδους απόκρισης, της αίσθησης του πόνου, καθώς και μέσω περιορισμού της απώλειας δύναμης μετά από έκκεντρη συστολή [131, 132]. Επιπλέον, το ρόδι, το οποίο είναι πλούσιο σε επιγαλλοκατεχίνη, έχει χρησιμοποιηθεί σε κάποιες μελέτες με μορφή χυμού ή εκχυλίσματος για τη διερεύνηση του ρόλου του στη μυϊκή βλάβη. Τα αποτελέσματα των μελετών αυτών έχουν δείξει θετική επίδραση στην εμφάνιση του πόνου και στην απώλεια της μυϊκής δύναμης, χωρίς να έχει φανεί κάποια αλλαγή σε δείκτες όπως CK, Mb, CRP και IL-6. Τα θετικά αποτελέσματα αυτών των μελετών, οι οποίες χρησιμοποίησαν τροφή σαν συμπληρωματική αγωγή, ενισχύουν την άποψη ότι είναι προτιμότερη η πρόσληψη αντιοξειδωτικών σε φυσιολογικές ποσότητες, όπως αυτές ανευρίσκονται στα διάφορα τρόφιμα, προκειμένου να επιφέρουν τις θετικές επιδράσεις τους, σε σύγκριση με τις συνήθεις υπερδοσολογίες που χορηγούνται μέσω των συμπληρωμάτων [121].

Γενικότερα, όσον αφορά το ρόλο των συμπληρωμάτων αντιοξειδωτικών στην AMB, φαίνεται ότι η δοσολογία και το είδος των αντιοξειδωτικών παίζουν σημαντικό ρόλο και εξαρτώνται από το είδος, την ένταση της άσκησης και την κλινική και προπονητική κατάσταση των αθλουμένων. Τα μίγματα αντιοξειδωτικών φαίνεται ότι έχουν καλύτερη δράση από τα μεμονωμένα αντιοξειδωτικά και οι θετικές επιδράσεις είναι περισσότερο έντονες στα μη γυμνασμένα άτομα σε σύγκριση με τα προπονημένα. Μέχρι σήμερα υπάρχουν πολύ λίγα στοιχεία για να υποστηριχθεί ότι η χορήγησή αντιοξειδωτικών μπορεί να ανακουφίσει από τα διάφορα συμπτώματα, όπως το ΚΜΠ και να βελτιώσει παραμέτρους απόδοσης. Ωστόσο, υπάρχει ένας συνεχώς αυξανόμενος όγκος στοιχείων που δείχνουν ότι τα συμπληρώματα αντιοξειδωτικών μπορούν να μειώσουν την έκταση των βλαβών που προκύπτουν από το οξειδωτικό στρες, βελτιώνοντας το αντιοξειδωτικό προφίλ. Σε μια τέτοια περίπτωση, τα συμπληρώματα αυτά θα μπορούσαν να φανούν ωφέλιμα σε κάποιον αθλητή κατά τη διάρκεια έντονων προπονητικών περιόδων, δίνοντας του τη δυνατότητα να ανταποκρίνεται στις υψηλές απαιτήσεις τις προπόνησης εμφανίζοντας λιγότερη κόπωση. Ωστόσο, είναι γνωστό ότι η προπόνηση επιφέρει από μόνη της προσαρμογές που αυξάνουν την ενδογενή αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού και πιθανόν μια επιπλέον συμπληρωματική χορήγηση να μην είναι απαραίτητη ή ακόμα και ασφαλής. Υπάρχουν ανησυχίες σχετικά με πιθανές αρνητικές επιδράσεις των μεγάλων δόσεων αντιοξειδωτικών όταν χορηγούνται σε συμπλήρωμα σε αθλητές, καθώς έχει φανεί ότι αυξάνουν δείκτες ασκησιογενούς οξειδωτικού στρες, παρουσιάζοντας προοξειδωτική αντί για οξειδωτική δράση. Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι η προστατευτική επίδραση μιας διατροφής που περιλαμβάνει φυσικές πηγές αντιοξειδωτικών δε μπορεί να θεωρηθεί ισοδύναμη με την αντίστοιχη επίδραση που παρατηρείται μέσω της λήψης συμπληρωμάτων. Δεδομένου αυτού και λόγω των περιορισμένων στοιχείων για ασφαλή σύσταση των αντιοξειδωτικών

συμπληρωμάτων, προτείνεται σήμερα ότι οι αθλητές θα πρέπει κυρίως να επικεντρώνονται στη κατανάλωση μιας ισορροπημένης και ενεργειακά επαρκούς διατροφής, η οποία τους παρέχει τρόφιμα υψηλής περιεκτικότητας σε αντιοξειδωτικές ουσίες [121].

3.3.2. Αμινοξέα και παράγωγα αμινοξέων

3.3.2.1. L-καρνιτίνη

Η καρνιτίνη επιτελεί πολύ σημαντικό ρόλο σε βασικές φυσιολογικές βιοχημικές λειτουργίες των σκελετικών μυών (οξείδωση μακράς αλύσου λιπαρών οξέων, απομάκρυνση ακυλομάδων από τα μιτοχόνδρια, αποτοξίνωση) και έτσι η διαθεσιμότητά της μπορεί να αποτελέσει περιοριστικό παράγοντα αυτών των διαδικασιών. Στηριζόμενοι σε αυτό, έχει προταθεί από πολλούς ερευνητές ότι η κατανάλωση καρνιτίνης μπορεί να βελτιώσει την απόδοση ή/και την αποκατάσταση μετά από άσκηση, με κάποιες μελέτες να επιβεβαιώνουν αυτές τις θεωρίες, δείχνοντας βελτίωση στη μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου, μείωση της συσσώρευσης γαλακτικού και αύξηση της απόδοσης σε υψηλής έντασης άσκηση, τόσο σε επαγγελματίες αθλητές όσο και σε μη, ιδιαίτερα όταν η L-καρνιτίνη δόθηκε ως συμπλήρωμα για μεγάλες χρονικές περιόδους και σε υψηλές δόσεις. Παρόλα αυτά κάποιες άλλες μελέτες έχουν βρει αντιφατικά αποτελέσματα [133]. Τα τελευταία χρόνια ένα μεγάλο μέρος της έρευνας έχει προσφέρει στοιχεία για υποστήριξη της θεωρίας σχετικά με το ρόλο των συμπληρωμάτων L-καρνιτίνης στην αποκατάσταση μετά από άσκηση. Οι μελέτες αυτές έδειξαν ότι η συμπληρωματική χορήγηση καρνιτίνης είναι αποτελεσματική στο περιορισμό της μυϊκής βλάβης, όπως αυτή προσδιορίστηκε με τη χρήση μαγνητικής τομογραφίας, αξιολόγηση του μυϊκού πόνου και μέτρηση δεικτών μεταβολικού στρες ύστερα από έκκεντρη προπόνηση ή έντονη άσκηση με αντιστάσεις, οδηγώντας σε ταχύτερη αποκατάσταση (2-3γρ/ημέρα στοιχειακής καρνιτίνης που παρέχεται από L-καρνιτίνη L-τρυγικό, LCLT). Τα ευρήματα αυτά έχουν αποδοθεί στην δράση της καρνιτίνης ως αντιοξειδωτικό, καθώς και στην ικανότητα της να περιορίζει την ασκησιογενή υποξία. Η καρνιτίνη βελτιώνει την ενδοθηλιακή λειτουργία των αγγείων, αυξάνοντας με αυτό τον τρόπο την αιματική ροή στους μύες και μειώνοντας το υποξικό στρες[134].

3.3.2.2. Κρεατίνη

Η κρεατίνη είναι ένα αζωτούχο οργανικό οξύ που έχει σημαντική συμβολή στον αναερόβιο μεταβολισμό. Συνήθως χρησιμοποιείται συμπληρωματικά ως εργογόνο βοήθημα κυρίως για αναερόβια αθλήματα υψηλής έντασης, καθώς έχει φανεί ότι η συμπληρωματική χορήγησή της

οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων κρεατίνης και φωσφοκρεατίνης ενδομυϊκά, ταχύτερη ανασύνθεση της φωσφοκρεατίνης και πιο αποτελεσματική μεταβολική λειτουργία των μυών [135]. Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια μελετάται ο ρόλος της στη μυϊκή βλάβη. Αν και κάποιες από τις αρχικές μελέτες απέτυχαν να δείξουν κάποια θετική επίδραση των συμπληρωμάτων κρεατίνης σε παραμέτρους μυϊκής βλάβης και αποκατάστασης μετά από άσκηση αντιστάσεων (CK, LDH, μυϊκός πόνος, μέγιστη δύναμη, απώλεια μυϊκής δύναμης, εύρος κίνησης, περιφέρεια μυός) [136] [137], τα αποτελέσματα πιο πρόσφατων ερευνών είναι περισσότερο ενθαρρυντικά. Ο Cooke και συν. έδειξαν ότι η χορήγηση κρεατίνης για 5 ημέρες πριν και 14 ημέρες μετά από μια συνεδρία άσκησης αντιστάσεων που προκαλεί AMB οδηγεί σε αύξηση της μέγιστης ισομετρικής και ισοκινητικής έκτασης του γονάτου κατά τη φάση αποκατάστασης, καθώς και σε χαμηλότερα επίπεδα CK. Η θετική αυτή επίδραση της κρεατίνης αποδόθηκε σε δύο πιθανούς μηχανισμούς. Ο πρώτος είναι ότι τα συμπληρώματα κρεατίνης πριν την άσκηση μπορούν να ενισχύσουν την ικανότητα ρύθμισης ασβεστίου των μυών, μέσω τροφοδότησης της αντλίας $SR\ Ca^{2+}$ -ATP, οδηγώντας σε μείωση των ενδοκυττάρων επιπέδων ασβεστίου και της ενεργοποίησης αποικοδομητικών οδών, όπως η καλπαΐνη. Έτσι, μια μείωση της συγκέντρωσης των πρωτεασών που ενεργοποιούνται από το ασβέστιο θα οδηγούσε σε ελαχιστοποίηση των επιπλέον βλαβών στα σαρκείλημα και της περαιτέρω εισροής ασβεστίου μέσα στο μυ. Ο δεύτερος μηχανισμός που προτάθηκε είναι ότι η συμπληρωματική χορήγηση κρεατίνης μετά την άσκηση μπορεί να ενισχύσει ένα ή περισσότερα από τα βασικά στάδια της φάσης αναγέννησης μετά από AMB (π.χ. αύξηση πρωτεϊνολύσης, μείωσης πρωτεϊνικού καταβολισμού), δημιουργώντας ένα περιβάλλον που διευκολύνει το πολλαπλασιασμό των δορυφορικών κυττάρων και το σχηματισμό νέων μυϊκών ινών [138]. Σε θετικά αποτελέσματα κατέληξε και η μελέτη των Bassit και συν., στην οποία φάνηκε ότι η χορήγηση κρεατίνης μειώνει την AMB (μείωση πόνου, επιπέδων CK και LDH, περιορισμός της απώλειας δύναμης), κάτι που αποδόθηκε στην ικανότητα της κρεατίνης να σταθεροποιεί τις κυτταρικές μεμβράνες, να καθιστά πιο αποτελεσματικό τον ενεργειακό μεταβολισμό, καθώς επίσης και στην αντιοξειδωτική της δράση [135].

3.3.2.3. Αμινοξέα διακλαδισμένης αλυσού (BCAA)

Τα ΒΠΑΑ (βαλίνη, λευκίνη, ισολευκίνη) ανήκουν στα απαραίτητα για τον ανθρώπινο οργανισμό αμινοξέα. Τα αμινοξέα αυτά, και ειδικότερα η λευκίνη, παρουσιάζουν αναβολική δράση διεγείροντας τη μεταγραφή πρωτεϊνών, ενώ παράλληλα περιορίζουν το μυϊκό καταβολισμό. Επιπλέον, το προϊόν τρσαμίνωσης της λευκίνης α -κετοϊσοκαπροϊκό οξύ (α -KIC), αναστέλλει τη δραστηριότητα του ενζυμικού συμπλόκου της αφυδρογονάσης των διακλαδισμένων α -κετοξέων (branched-chain α -keto dehydrogenase complex-BCKDH), το

οποίο οδηγεί σε οξείδωση των BCAA. Έτσι, έχει προταθεί ότι η συμπληρωματική χορήγηση BCAA θα μπορούσε να αποτελέσει μια αποτελεσματική διατροφική παρέμβαση στο περιορισμό των δυσμενών επιδράσεων της AMB προωθώντας τη μυϊκή αποκατάσταση μέσω μείωσης της οξείδωσης των πρωτεϊνών, διέγερση της μυϊκής αναγέννησης και βελτίωση της μυϊκής λειτουργικής κατάστασης [139].

Πρόσφατη ανασκόπηση κατέληξε στο συμπέρασμα ότι τα συμπληρώματα BCAA παρέχουν θεραπευτικά αποτελέσματα ύστερα από άσκηση που οδηγεί σε μυϊκή βλάβη [139]. Πράγματι, μελέτες που έχουν εξετάσει την αποκατάσταση ύστερα από έντονη φυσική δραστηριότητα παρέχουν στοιχεία ότι τα BCAA είναι ευεργετικά στη μείωση της μυϊκής βλάβης και στη ταχύτερη αποκατάσταση. Οι Howatson et al. (2012) σε πρόσφατη τυχαιοποιημένη διπλά τυφλή μελέτη έδειξαν ότι η χορήγηση BCAA πριν και μετά από έκκεντρη άσκηση οδήγησε σε μειώσεις των επιπέδων CK και μυϊκού πόνου [140]. Σε άλλη μελέτη, φάνηκε ότι η χορήγηση BCAA πριν και τέσσερις μέρες μετά την άσκηση είναι αποτελεσματική στη μείωση των επιπέδων CK, μυοσφαιρίνης, αλδολάσης και μυϊκού πόνου [141]. Επιπλέον, οι Shimomura και συν σε σχετική μελέτη τους ανέφεραν ότι η χορήγηση BCAA πριν από άσκηση αντίστασης μειώνει τον μυϊκό πόνο και το αίσθημα κόπωσης στις επόμενες ημέρες που ακολουθούν την άσκηση [142]. Παρόλα αυτά, οι Jackman και συν (2010) σε σχετική μελέτη έδειξαν ότι η συμπληρωματική χορήγηση BCAA πριν και τρεις ημέρες μετά από έκκεντρη άσκηση, αν και περιορίζει το μυϊκό πόνο δεν έχει κάποια επίδραση στη CK, Mb, IL-6 και μέγιστη ισομετρική δύναμη [143].

3.3.2.4. *β-ύδροξυ-β-μέθυλοβουτυρικό οξύ (HMB)*

Το HMB έχει γίνει ιδιαίτερα δημοφιλές τα τελευταία χρόνια ως συμπλήρωμα διατροφής, ιδιαίτερα στους αθλητές δύναμης. Το HMB αποτελεί μεταβολίτη του αμινοξέος διακλαδισμένης αλύσου λευκίνη και του κετοξέος του α-κετοισοκαπροϊκού οξέος και έχει προταθεί ότι ασκεί προφυλακτική δράση περιορίζοντας την αποικοδόμηση των μυϊκών πρωτεϊνών και την AMB κατά τη διάρκεια έντονης φυσικής δραστηριότητας [5]. Πολλές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί με σκοπό τη διερεύνηση αυτής του της δράσης, η οποία επιβεβαιώνεται σε κάποιες [144], όχι όμως σε όλες [145]. Ο Διεθνής Οργανισμός Αθλητικής Διατροφής (ISSN), ύστερα από πρόσφατη αναλυτική ανασκόπηση όλων των διαθέσιμων στοιχείων, καταλήγει στο ότι η χρήση συμπληρωμάτων HMB επιταχύνει την αποκατάσταση μετά από άσκηση, περιορίζοντας την AMB τόσο σε προπονημένα όσο και σε απροπόνητα άτομα. Η επίδραση αυτή φαίνεται ότι σχετίζεται με τη χρονική διάρκεια της αγωγής, τη δοσολογία, τη χρονική στιγμή λήψης των συμπληρωμάτων σε σχέση με την άσκηση, τη μορφή του συμπληρώματος, καθώς και τη προπονητική κατάσταση του ατόμου. Γενικά, τα συμπληρώματα θα πρέπει να λαμβάνονται σε

δοσολογία 1-2γρ 30-60 λεπτά πριν την άσκηση, όταν δίνονται στη μορφή HMB-FA και 60-120 λεπτά πριν όταν χορηγούνται στη μορφή HMB-Ca. Επιπλέον, το HMB φαίνεται ότι είναι πιο αποτελεσματικό όταν καταναλώνεται σε δόσεις των 3γρ για χρονικό διάστημα 2 εβδομάδων πριν από άσκηση υψηλής έντασης που οδηγεί σε AMB. Στους προτεινόμενους μηχανισμούς δράσης του HMB περιλαμβάνεται η αναστολή της επαγόμενης από την άσκηση πρωτεόλυσης μέσω αναστολής του δρόμου της ουβικιμόνης, καθώς επίσης και η παράλληλη ενεργοποίηση της πρωτεϊνσύνθεσης μέσω ενεργοποίησης της πρωτεΐνης mTOR (mammalian target of rapamycin) [146]. Επιπλέον, το HMB αποτελεί και υπόστρωμα για τη παραγωγή χοληστερόλης και λειτουργεί ως σταθεροποιητής της κυτταρικής μεμβράνης. Μια τέτοια δράση θα μπορούσε να ενισχύσει την ακεραιότητα της κυτταρικής μεμβράνης και κατ' επέκταση να περιορίσει τη μυϊκή βλάβη ύστερα από ασυνήθιστη ή έντονη άσκηση [5].

3.3.2.5. Ταυρίνη

Η ταυρίνη είναι ένα οργανικό οξύ παράγωγο του αμινοξέος κυστεΐνη. Η ταυρίνη υπάρχει σε μεγάλες συγκεντρώσεις στους σκελετικούς μύες και έχει αναφερθεί ότι παρουσιάζει πολλές φυσιολογικές και φαρμακολογικές δράσεις, στις οποίες συμπεριλαμβάνονται η αντιοξειδωτική δράση, η ρύθμιση της οσμωτικής λειτουργίας των κυττάρων, η σταθεροποίηση των μεμβρανών, ο έλεγχος της ομοιόστασης Ca^{2+} , καθώς επίσης και ο ρόλος της ως νευροδιαβιβαστής [147]. Πιο συγκεκριμένα, έρευνες σε πειραματόζωα έχουν δείξει ότι η συμπληρωματική χορήγηση ταυρίνης οδηγεί σε μείωση του οξειδωτικού στρες που προκύπτει από την άσκηση και περιορίζει τη μυϊκή βλάβη που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες [148, 149]. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχουν τα αποτελέσματα μιας πρόσφατης μελέτης όπου φάνηκε ότι η χορήγηση 2γρ ταυρίνης σε συνδυασμό με 3,2γρ BCAA τρεις φορές την ημέρα για 2 εβδομάδες πριν και τρεις ημέρες μετά από έκκεντρη άσκηση οδηγούν σε μείωση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου και της μυϊκής βλάβης. Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η ταυρίνη πιθανώς ενισχύει τις ευεργετικές επιδράσεις των BCAA [147].

3.3.3. ω-3 λιπαρά οξέα

Τα ω-3 πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (ω-3 PUFA), στα οποία περιλαμβάνονται το εικοσιπεντανοϊκό οξύ (EPA) και το δοκοσαεξανοϊκό οξύ (DHA), έχουν εκτεταμένα συσχετιστεί με αντιφλεγμονώδεις και ανοσολογικές δράσεις [150]. Πλούσιες πηγές ω-3 λιπαρών οξέων στη διατροφή αποτελούν τα λιπαρά ψάρια (σολομός, τόνος, σκουμπρί), τα ιχθυέλαια και τα καρύδια.

Τυπικά, τα φωσφολιπίδια των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος περιέχουν αναλογικά περισσότερο AA, ένα ω-6 λιπαρό οξύ, από ό,τι άλλα μακράς αλύσου λιπαρά οξέα, συμπεριλαμβανομένων και των ω-3 PUFAs. Ως εκ τούτου, το AA αποτελεί το κύριο υπόστρωμα για τη σύνθεση των εικοσανοειδών, τα οποία αποτελούν το κύριο μεσολαβητή και ρυθμιστή της φλεγμονής. Τα εικοσανοειδή που προέρχονται από το AA (PGE₂ και 4 σειρές LTs), θεωρείται γενικά ότι έχουν προ-φλεγμονώδη δράση, αν και πρόσφατα ανακαλύφθηκε ότι η PGE₂ μπορεί να παρουσιάσει και αντι-φλεγμονώδεις δράσεις. Παρόλα αυτά, έχει φανεί ότι η περιεκτικότητα της μεμβράνης των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος σε EPA και DHA μπορεί να τροποποιηθεί ύστερα από στόματος χορήγησης αυτών των λιπαρών οξέων. Ένας τέτοιος χειρισμός έχει ως αποτέλεσμα μείωση της παραγωγής εικοσανοειδών από το AA, αύξηση της παραγωγής εναλλακτικών ουσιών (όπως PGE₃, η οποία είναι λιγότερο ισχυρή από την PGE₂ και resolvins, οι οποίοι αποτελούν ισχυρούς αντιφλεγμονώδης μεσολαβητές) και επίσης αλλαγή στη γονιδιακή έκφραση λόγω άμεσης επίδρασης των ω-3 λιπαρών οξέων στα μονοπάτια σηματοδότησης. Μέσω αυτών των μηχανισμών, τα ω-3 λιπαρά οξέα φαίνεται ότι έχουν την ικανότητα να επηρεάζουν τη φαγοκυττάρωση, τη σηματοδότηση των T-κυττάρων και την ικανότητα παρουσίασης αντιγόνου και να οδηγούν σε μείωση της παραγωγής κυτταροκινών και ROS, καθώς επίσης και της έκφρασης των μορίων προσκόλλησης. Για το λόγο αυτό τα ω-3 μπορεί να αποτελούν μια χρήσιμη διατροφική βοήθεια για ρύθμιση της ασκησιογενούς φλεγμονής και της δυσλειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος που προκύπτουν μετά από AMB [121]. Μια πρόσφατη ανασκόπηση, σχετικά με το ρόλο των ω-3 λιπαρών οξέων στην αθλητική απόδοση, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι συμπληρωματική χορήγηση ω-3 PUFAs μπορεί να βοηθήσει στην ανακούφιση των συμπτωμάτων του ΚΜΠ που προκύπτει από AMB, πιθανόν λόγω της ικανότητας αυτών των λιπαρών οξέων να αυξάνουν τη ροή του αίματος. Ωστόσο, ο συγγραφέας αναφέρει ότι τα υπάρχοντα στοιχεία από μελέτες σε ανθρώπους δεν είναι επαρκή ώστε να υποστηριχθεί μια ευεργετική επίδραση των ω-3 λιπαρών οξέων στο περιορισμό της φλεγμονώδους και ανοσολογικής απάντησης ως απόκριση στην άσκηση [151].

3.3.4 Μακροθρεπτικά Συστατικά

3.3.4.1. Συμπληρώματα πρωτεϊνών

Λίγες μελέτες έχουν διεξαχθεί για να εξετάσουν το ρόλο των συμπληρωμάτων πρωτεϊνών (PRO) στη πρόληψη ή/και ανακούφιση των συμπτωμάτων που σχετίζονται με την AMB, η πλειοψηφία των οποίων έχουν χρησιμοποιήσει αμινοξέα διακλαδισμένης αλύσου (BCAA). Όπως

αναφέρθηκε σε προηγούμενη ενότητα, τα αποτελέσματα αυτών των μελετών έχουν δείξει ότι η πρόσληψη PRO μπορεί να μειώσει τη μυϊκή βλάβη μετά από άσκηση - όπως έχει φανεί από μείωση των επιπέδων CK, αλδολάσης, LDH – να περιορίσει το αίσθημα του πόνου και να επιταχύνει την αποκατάσταση της μυϊκής λειτουργίας [121].

Είναι ευρέως αποδεκτό ότι ένα θετικό ισοζύγιο πρωτεϊνών στους μυς είναι απαραίτητο προκειμένου να διευκολυνθεί η επιδιόρθωση των μυών και η ανάπτυξη προσαρμογών μετά από AMB [121]. Σχετικά με τη πρωτεϊνοσύνθεση, είναι γνωστό ότι ενισχύεται με την γρήγορη κατανάλωση πρωτεϊνών μετά την άσκηση. Συγκεκριμένα, με βάση τα πρόσφατα δεδομένα για την επίτευξη μέγιστης πρωτεϊνοσύνθεσης συστήνεται κατανάλωση 20-25γρ υψηλής βιολογικής αξίας πρωτεΐνης, η οποία περιλαμβάνει τουλάχιστον 8-10γρ απαραίτητων αμινοξέων (EAA) το συντομότερο μετά το τέλος της άσκησης [152].

3.3.4.2. Συμπληρώματα Υδατανθράκων

Η επανασύνθεση γλυκογόνου φαίνεται να είναι διαταραγμένη μετά από AMB. Η κατανάλωση υδατανθράκων (CHO) κατά τη φάση αποκατάστασης μετά από άσκηση αυξάνει το ρυθμό σύνθεσης γλυκογόνου, και μάλιστα έχει φανεί ότι οι υψηλές δόσεις CHO (8,5γρ/κιλό ΣΒ/ημέρα) μετά από έκκεντρη άσκηση οδηγούν σε μεγαλύτερη αύξηση της αποθήκευσης γλυκόζης ενδομυϊκά σε σχέση με χαμηλότερες δόσεις (4,5γρ/κιλό ΣΒ/ημέρα) [121]. Ωστόσο, από τα μέχρι τώρα στοιχεία φαίνεται ότι η συμπληρωματική χορήγηση CHO είτε πριν είτε μετά την άσκηση έχει πολύ μικρή επίδραση ή και καθόλου στο περιορισμό των συμπτωμάτων που σχετίζονται με AMB [5]. Η μη επαρκής πρόσληψη υδατανθράκων θα μπορούσε να επηρεάσει τη μυϊκή βλάβη, σε περιπτώσεις που επέφερε εξάντληση μυϊκού γλυκογόνου κάτι που θα έκανε τις μυϊκές ίνες λιγότερο εύκαμπτες και πιο ευάλωτες σε μυϊκή βλάβη μετά από έκκεντρη άσκηση [153].

3.3.4.3. Συμπληρώματα υδατανθράκων και πρωτεϊνών

Υπάρχει ένας ισχυρός όγκος επιστημονικών στοιχείων που αποδεικνύουν ότι η ταυτόχρονη πρόσληψη CHO και PRO μπορεί να μετριάσει τη μυϊκή βλάβη, γεγονός που υποδηλώνει ότι ο συνδυασμός αυτών των δύο μακροθρεπτικών συστατικών μπορεί να αποτελεί μια πολύτιμη στρατηγική. Η κατανάλωση CHO και PRO έχει φανεί ότι μειώνει δείκτες μυϊκής βλάβης στο πλάσμα, όπως CK, Mb και LDH, περιορίζει το μυϊκό πόνο και βελτιώνει τη μυϊκή λειτουργία [22, 154, 155]. Ωστόσο, ορισμένες μελέτες δεν υποστηρίζουν αυτά τα ευρήματα [156].

Η κατανάλωση υδατανθράκων μετά την άσκηση έχει φανεί ότι βελτιώνει το ισοζύγιο πρωτεΐνης, περιορίζοντας την μυϊκή αποικοδόμηση που προκαλείται από την άσκηση, κάτι το οποίο

πιθανόν οφείλεται στην αύξηση των επιπέδων ινσουλίνης. Παρόλα αυτά, όταν χορηγείται μια υψηλή δόση πρωτεΐνης, η συνδυαστική χορήγηση υδατανθράκων δε φαίνεται να επιφέρει επιπλέον όφελος στη πρωτεϊνوسύνθεση και μυϊκή αποικοδόμηση. Ωστόσο, θα πρέπει να αναφερθεί ότι η ποσότητα υδατανθράκων που χρησιμοποιήθηκε σε αυτές τις μελέτες ήταν πολύ μικρή: 0,15 ή 0,6 γρ/κilo ΣΒ/ώρα και 50γρ. Παρά τα αντικρουόμενα στοιχεία για επιπλέον όφελος της συνδυαστικής χορήγησης CHO και PRO σε σύγκριση με τη χορήγηση μόνο πρωτεϊνών, φαίνεται ότι η εφαρμογή μιας τέτοιας τακτικής δεν έχει κάποια αρνητική επίδραση. Επίσης, η συνδυαστική χορήγηση αυτών των συστατικών φαίνεται ότι οδηγεί και σε ταχύτερο ρυθμό επανασύνθεσης γλυκογόνου, τα χαμηλά επίπεδα του οποίου έχουν συσχετιστεί με μειωμένη πρωτεϊνوسύνθεση και αύξηση της μυϊκής αποικοδόμησης. Μια πρόσφατη ανασκόπηση στο θέμα αυτό, αξιολογώντας τα υπάρχοντα στοιχεία, κατέληξε ότι η χορήγηση 0,8-1,2γρ CHO/κilo ΣΒ/ώρα και 0,2-0,4γρ PRO/κilo ΣΒ/ώρα (με ελάχιστο πρωτεϊνικό περιεχόμενο 20γρ), κατά προτίμηση σύντομα μετά το τέλος της άσκησης, συμβάλλει στην ενίσχυση των διαδικασιών επούλωσης και αποκατάστασης μετά από AMB [121].

3.3.5 Συμπεράσματα

Ένας μεγάλος αριθμός διατροφικών παρεμβάσεων έχουν πραγματοποιηθεί με σκοπό τη διερεύνηση του ρόλου διαφόρων διατροφικών συστατικών, τόσο μακροθρεπτικών όσο και μικροθρεπτικών, στην ελαχιστοποίηση της μυϊκής βλάβης που προκύπτει ύστερα από άσκηση και στο περιορισμό των συνοδών συμπτωμάτων. Τα μέχρι τώρα διαθέσιμα στοιχεία για την αποτελεσματικότητα διαφόρων διατροφικών πρακτικών είναι αντικρουόμενα, κάτι που δεν επιτρέπει την ασφαλή διεξαγωγή συμπερασμάτων. Τα πρωτόκολλα των ερευνών που έχουν χρησιμοποιηθεί διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους όσον αφορά τα χαρακτηριστικά των εθελοντών, το είδος της άσκησης που προκάλεσε τη μυϊκή βλάβη, τη δοσολογία των συμπληρωμάτων, το χρονοδιάγραμμα χορήγησής τους, τη συνδυαστική χρήση διατροφικών συστατικών, καθώς και τους χρησιμοποιούμενους δείκτες για αξιολόγηση της AMB, κάτι που εξηγεί σε μεγάλο βαθμό τα διφορούμενα αποτελέσματα.

Από τη μέχρι τώρα υπάρχουσα βιβλιογραφία μπορούν να εξαχθούν τα εξής γενικά συμπεράσματα όσον αφορά το ρόλο των διατροφικών συμπληρωμάτων στην AMB:

α) κάποια συμπληρώματα (κρεατίνη, BCAA) φαίνεται να εμφανίζουν κάποια ήπια θετική επίδραση, κυρίως στη μείωση των συμπτωμάτων που σχετίζονται με την AMB

β) τα συμπληρώματα αυτά δε μπορούν να εξαλείψουν αποτελεσματικά τη μυϊκή βλάβη, μόνο να προκαλέσουν ύφεση κάποιων συμπτωμάτων

γ) προς το παρόν είναι ασαφές ποια είναι η βέλτιστη δοσολογία των θεραπευτικών αυτών συστατικών, η χρονική διάρκεια αγωγής και ο ακριβής χρόνος χορήγησής τους και αν θα πρέπει να χορηγούνται μεμονωμένα ή σε συνδυασμό,

δ) η αποτελεσματικότητα τους έχει αποδειχθεί σε μεγάλο βαθμό κυρίως σε άτομα που δεν ακολουθούν συστηματική άσκηση αντίστασης [157].

ε) προς το παρόν είναι άγνωστες οι μακροχρόνιες επιδράσεις των υψηλών δόσεων συμπληρωμάτων που χρησιμοποιούνται στις περισσότερες μελέτες και παραμένει αδιευκρίνιστο κατά πόσο κρίνεται απαραίτητη η συμπληρωματική χορήγησης τους εφόσον οι απαιτούμενες δοσολογίες καλύπτονται μέσω της διατροφής [121].

Έτσι, αν και έχει φανεί ότι κάποια θεραπευτικά συστατικά μπορούν να έχουν κάποια θετική επίδραση στους μηχανισμούς που εμπλέκονται στην εμφάνιση της AMB, η τελική αποτελεσματικότητα και ασφάλεια αυτών των συμπληρωμάτων απαιτεί επιπλέον έρευνα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΡΩΤΟΓΑΛΑ

4.1. Βόειο και ανθρώπινο πρωτόγαλα

Το πρωτόγαλα ή πύαρ (colostrum) είναι το πρώτο υγρό που μοιάζει με γάλα, το οποίο παράγεται από τους μαστικούς αδένες των θηλαστικών αμέσως μετά το τοκετό και προορίζεται για κατανάλωση από το νεογνίτη κατά τις πρώτες ώρες της ζωής του. Το πρωτόγαλα είναι ένα πηχτό, υποκίτρινο υγρό με κολλώδη υφή. Η παραγωγή του διαρκεί 2-4 ημέρες και αντικαθίσταται σταδιακά από το μητρικό γάλα [158]. Το πρωτόγαλα είναι πολύ σημαντικό στοιχείο του μητρικού θηλασμού, καθώς συμβάλλει στη σωστή ανάπτυξη του νεογνού και στη λειτουργία του ανοσοποιητικού του συστήματος [159]. Λόγω της υψηλής διατροφικής του αξίας – πλούσια πηγή πρωτεϊνών, υδατανθράκων, λιπιδίων, βιταμινών και ινχστοιχείων – παρέχει στο νεογνό την απαιτούμενη ενέργεια και τα θρεπτικά συστατικά που χρειάζεται κατά τις πρώτες ώρες της ζωής του [160, 161]. Επιπλέον, το πρωτόγαλα είναι πλούσιο σε ανοσολογικούς, αντιμικροβιακούς και αυξητικούς παράγοντες, οι οποίοι ουσιαστικά προωθούν την αύξηση των σωματικών ιστών, την ανάπτυξη του πεπτικού συστήματος και την υποστήριξη της ανοσολογικής λειτουργίας, παρέχοντας παθητική ανοσία στο νεογνό για προστασία από λοιμώξεις καθώς το ανοσοποιητικό του σύστημα αναπτύσσεται [158, 159, 162].

Η σύνθεση και η φυσικές αναλογίες του πρωτογάλατος εξαρτώνται από διάφορους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένου της ηλικίας του ζώου, της διατροφής του και τυχόν ασθένειες από τις οποίες μπορεί να είναι προσβεβλημένο. Παθολογικές καταστάσεις κατά τη διάρκεια της κύησης, όπως εκλαμψία, διαβήτης και αναιμία, καθώς και συμπεριφοριστικοί παράγοντες όπως η κακή διατροφή, το κάπνισμα και η κατανάλωση αλκοόλ μπορεί να επηρεάσουν αρνητικά τη σύσταση και τη ποιότητα του ανθρώπινου πρωτογάλατος [160]. Το ανθρώπινο πρωτόγαλα παρουσιάζει αρκετές ομοιότητες ποιοτικά στη σύστασή του με το βόειο πρωτόγαλα, εφόσον και τα δύο εξυπηρετούν τον ίδιο σκοπό. Ωστόσο, ποσοτικές διαφορές σε αρκετά συστατικά παρατηρούνται μεταξύ των δύο πρωτογαλάτων, διαφορές που οφείλονται στις ιδιαιτερότητες και συγκεκριμένες ανάγκες του κάθε είδους. Στους πίνακες 3.1 που ακολουθεί, συνοψίζονται οι κυριότερες διαφορές του ανθρώπινου και βόειου πρωτογάλατος, όσον αφορά τη διατροφική τους σύσταση και τη περιεκτικότητά τους σε ανοσολογικούς και αυξητικούς παράγοντες. Όπως παρατηρούμε, το ανθρώπινο πρωτόγαλα έχει υψηλότερες συγκεντρώσεις αυξητικών παραγόντων σε σύγκριση με το βόειο πρωτόγαλα, το οποίο με τη σειρά του περιέχει πολύ υψηλότερες ποσότητες ανοσοσφαιρινών [159].

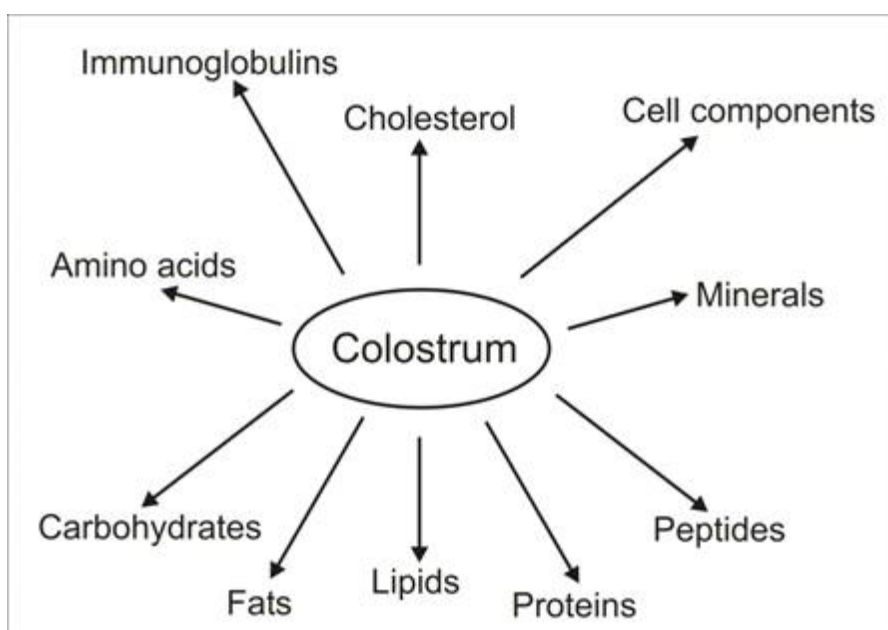
Πίνακας 4.1: Διαφορές στη σύσταση ανθρώπινου και βόειου πρωτογάλατος [163]

	<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	++++	++

Το πρωτόγαλα, λόγω των μοναδικών διατροφικών και βιολογικών ιδιοτήτων του, έχει χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα ως συμπλήρωμα διατροφής στους ανθρώπους για την αντιμετώπιση διαφόρων προβλημάτων υγείας. Το ανθρώπινο πρωτόγαλα παράγεται σε μικρές ποσότητες που επαρκούν μόνο για τη κάλυψη των αναγκών του βρέφους, ενώ όπως αναφέρθηκε παράγοντες όπως το κάπνισμα και η κατανάλωση αλκοόλ από τη μητέρα μπορεί να επηρεάσουν αρνητικά τη σύστασή του. Αντιθέτως, το βόειο πρωτόγαλα παράγεται σε μεγαλύτερες ποσότητες από αυτές που χρειάζονται τα νεογνά και έτσι είναι εφικτή η συλλογή του. Επιπλέον, έχει φανεί ότι το ΒΠ είναι σχεδόν ισοδύναμο με το ανθρώπινο πρωτόγαλα όσον αφορά τις ευεργετικές του επιδράσεις και η χορήγησή του είναι εξίσου αποτελεσματική στους ανθρώπους, χωρίς να εγκυμονεί κινδύνους για την υγεία. Η χρήση του ΒΠ ως συμπλήρωμα διατροφής έχει αυξηθεί σημαντικά τις τελευταίες δεκαετίες. Το ΒΠ συλλέγεται τις πρώτες ώρες μετά το τοκετό. Τα ζώα βρίσκονται υπό αυστηρή παρακολούθηση καθ' όλη τη διάρκεια της κύησης, ώστε να εξασφαλιστεί η καλή κατάσταση υγιεινής και η αποχή έκθεσης σε αντιβιοτικά και φυτοφάρμακα. Το πρωτόγαλα που συλλέγεται τις πρώτες 24 ώρες έχει τη μέγιστη περιεκτικότητα συστατικών αλλά είναι λιγότερο σε ποσότητα, ενώ το πρωτόγαλα που λαμβάνεται αργότερα είναι περισσότερο αλλά έχει χαμηλότερη σύσταση σε ανοσοσφαιρίνες [159, 160].

4.2. Σύσταση πρωτογάλατος – Βιοδραστικά συστατικά

Μέχρι σήμερα έχουν προσδιοριστεί περίπου 90 διαφορετικά συστατικά στο πρωτόγαλα, κάποια από τα οποία παρουσιάζονται στην εικόνα 3.1. Δεδομένου ότι το πρωτόγαλα αποτελεί τη πρώτη τροφή που λαμβάνει το νεογνό αμέσως μετά τη γέννησή του, αποτελεί σημαντική πηγή πρωτεϊνών, υδατανθράκων, λιπιδίων, βιταμινών και ιχνοστοιχείων, τα οποία εξασφαλίζουν την κάλυψη των αναγκών θρέψης του κατά τη χρονική αυτή περίοδο. Επιπλέον, το πρωτόγαλα περιέχει πλήθος βιοδραστικών συστατικών, όπως συγκεκριμένα αμινοξέα, πρωτεΐνες και πεπτίδια, τα οποία είναι απαραίτητα για την υποστήριξη της ανάπτυξης και επιδιόρθωσης των κυττάρων και των ιστών, την εξασφάλιση της σωστής λειτουργίας του μεταβολισμού και την ενίσχυση και υποστήριξη του ανοσοποιητικού συστήματος. Το βιοδραστικά αυτά συστατικά του πρωτογάλατος μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις βασικές κατηγορίες με βάση τη πτυχή της υγείας που ασκούν τη μεγαλύτερη επιρροή: ανοσολογικοί και αντιμικροβιακοί παράγοντες, αυξητικοί παράγοντες και αντιοξειδωτικοί παράγοντες [158, 160].



Εικόνα 4.1: Σύσταση πρωτογάλατος [158]

4.2.1. Ανοσολογικοί και αντιμικροβιακοί παράγοντες

Συγκεκριμένα αντισώματα: Αυτά τα αντισώματα παράγονται από το ανοσοποιητικό σύστημα της μητέρας ως απάντηση στην έκθεσή της σε διάφορα μικρόβια, ιούς, βακτήρια και μύκητες κατά τη διάρκεια της ζωής της. Τα αντισώματα αυτά μεταφέρονται στο πρωτόγαλα, προσφέροντας με αυτό τον τρόπο προστασία στο νεογνό, του οποίου το ανοσοποιητικό σύστημα δεν έχει

αναπτυχθεί πλήρως. Μέχρι σήμερα έχουν προσδιοριστεί στο πρωτόγαλα περίπου 20 διαφορετικά αντισώματα έναντι διαφόρων μικροβίων, όπως η E.coli, η σαλμονέλα, ο στρεπτόκοκκος, ο σταφυλόκοκκος, το ελικοβακτήριο του πυλωρού κ.α [160].

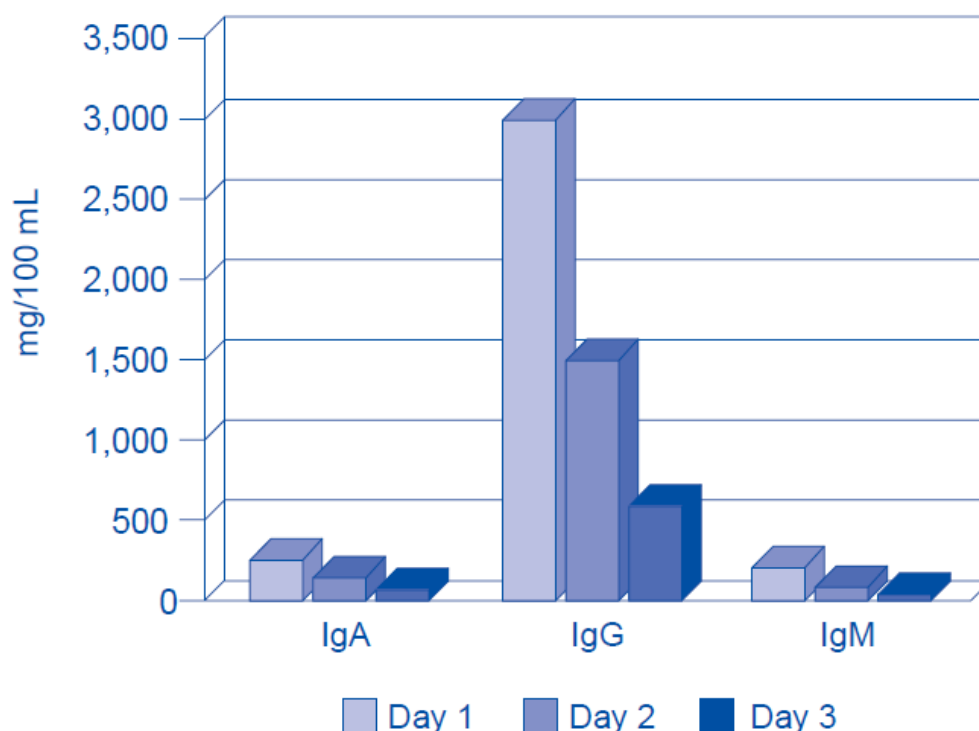
Ανοσοσφαιρίνες [161, 164]: Οι ανοσοσφαιρίνες είναι πρωτεϊνικά μόρια, που ανήκουν στην οικογένεια των σφαιρινών και παρουσιάζουν αντιμικροβιακές και άλλες προστατευτικές βιολογικές δράσεις. Υπάρχουν 5 κύριες τάξεις ανοσοσφαιρινών: οι IgA, IgD, IgE, IgG και IgM. Δρουν κυρίως στο αίμα, σίελο, δάκρυα και γαστρεντερικό σωλήνα, προσφέροντας προστασία έναντι ιογενών και βακτηριακών λοιμώξεων, αλλεργιών και μυκητιάσεων. Το πρωτόγαλα αποτελεί πλούσια πηγή ανοσοσφαιρινών. Στο πίνακα 3.2 παρουσιάζονται οι κύριες τάξεις ανοσοσφαιρινών (IgA, IgG και IgM) που ανιχνεύονται στο βόειο και ανθρώπινο πρωτόγαλα. Η ποιοτική και ποσοτική σύστασή του σε ανοσοσφαιρίνες διαφέρει μεταξύ των ειδών αλλά εξαρτάται και από τη χρονική περίοδο συλλογής του. Τα μέγιστα επίπεδα παρατηρούνται τη πρώτη ημέρα μετά το τοκετό, ενώ μειώνονται ραγδαία τη δεύτερη και τρίτη μέρα κατά τη μετάβαση στο ώριμο γάλα (σχήμα 3.1) .

Πίνακας 4.4: Ανοσοσφαιρίνες στο ανθρώπινο και βόειο πρωτόγαλα και γάλα [161]

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

Στο βόειο πρωτόγαλα, η ανοσοσφαιρίνη IgG, και πιο συγκεκριμένα η IgG1, αποτελεί τη κύρια μορφή ανοσοσφαιρίνης (>80% του συνολικού περιεχομένου σε ανοσοσφαιρίνες), ενώ οι ανοσοσφαιρίνες IgA και IgM επίσης είναι παρούσες αλλά σε πολύ χαμηλότερες συγκεντρώσεις. Αντιθέτως, στο ανθρώπινο πρωτόγαλα κυρίαρχη ανοσοσφαιρίνη είναι η IgA, ενώ η IgG περιέχεται σε μικρότερες ποσότητες. Στα βοειδή, η ανοσοσφαιρίνη IgG1, μεταφέρεται στα εκκρίματα των μαστικών αδένων κυρίως από το πλάσμα. Οι IgG2, IgA και IgM προέρχονται είτε από το πλάσμα, είτε από τις εκκρίσεις των επιθηλιακών κυττάρων των μαστικών αδένων. Οι

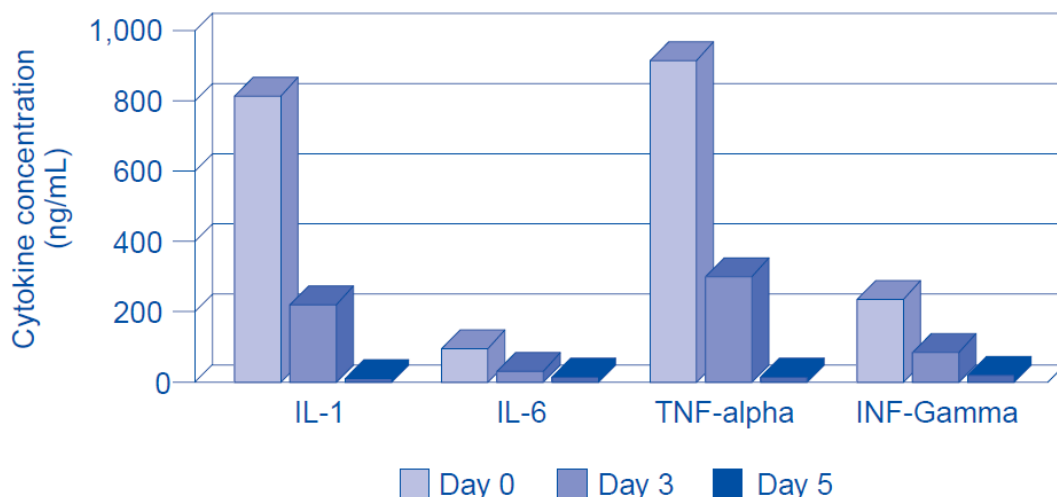
ανοσοσφαιρίνες συσσωρεύονται στο μαστικό αδένι πριν από το τοκετό και στη συνέχεια εναποτίθενται στο πρωτόγαλα και στο γάλα.



Σχήμα 4.1: Μείωση ανοσοσφαιρινών στο βόειο πρωτόγαλα [162]

Οι ανοσοσφαιρίνες στο πρωτόγαλα προσφέρουν παθητική ανοσία στο νεογνό και το προστατεύουν από εντερικές μικροβιακές μολύνσεις. Η ανοσοσφαιρίνη IgG παρουσιάζει πολυλειτουργική δράση, συμπεριλαμβανομένου της ενεργοποίησης του συμπληρώματος, καθώς επίσης και ενίσχυση της κυτταροτοξικής δραστηριότητας των φυσικών κυττάρων δολοφόνων (NK) και της φαγοκυττάρωσης μέσω της σύνδεσης της με τα μακροφάγα και τα ουδετερόφιλα.

Κυτταροκίνες: Το πρωτόγαλα περιλαμβάνει μια σειρά ανοσορυθμιστικών και φλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως οι ιντερλευκίνες (IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-17), ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων α (TNF- α) και η ιντερφερόνη- γ , που είναι σημαντικές για την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος του νεογνού, δρώντας παράλληλα και ως αγγελιοφόροι στο ανθρώπινο ανοσοποιητικό σύστημα [165]. Η συγκέντρωση κυτταροκινών στο βόειο πρωτόγαλα είναι υψηλή την πρώτη ημέρα μετά το τοκετό και σταδιακά μειώνεται μέσα στις επόμενες 5 ημέρες (σχήμα 3.2) [162].



Σχήμα 4.2: Μείωση κυτταροκινών στο βόειο πρωτόγαλα [162]

Πολυπεπίδια πλούσια σε προλίνη (PRP): Τα PRP είναι πρωτεΐνες μικρού μοριακού βάρους που δρουν σαν ορμόνες στο θύμο αδένες και άλλα όργανα που σχετίζονται με το ανοσοποιητικό σύστημα. Τα PRP ενεργοποιούν το εξασθετισμένο ανοσοποιητικό σύστημα σε περιπτώσεις ανάγκης, καθώς επίσης καταστέλλουν την υπερδραστηριότητά του σε περιπτώσεις αυτοάνοσων νοσημάτων και αλλεργικών αντιδράσεων [160].

Λυσοζύμη: Η λυσοζύμη είναι ένα υδρολυτικό ένζυμο με ισχυρή αντιμικροβιακή δράση που συμβάλλει στην μη ειδική ανοσολογική απόκριση του οργανισμού. Έχει τη δυνατότητα να καταστρέφει συγκεκριμένα παθογόνα βακτήρια και κάποιους ιούς με το να προκαλεί βλάβη στα κυτταρικά τοιχώματα επιτιθέμενη στις πεπτιδογλυκάνες, κυρίως των gram+ βακτηρίων, οδηγώντας σε βακτηριακή λύση [160, 165]. Σε αντίθεση με το ανθρώπινο πρωτόγαλα και γάλα, η συγκέντρωση λυσοζύμης στο βόειο πρωτόγαλα και γάλα είναι αρκετά χαμηλότερη για να συμβάλλει σημαντικά στην συνολική βακτηριοκτόνο δράση [166].

Λευκοκύτταρα: Οι τρεις κύριοι τύποι λευκών αιμοσφαιρίων που έχουν εντοπιστεί στο πρωτόγαλα είναι τα ουδετερόφιλα, μακροφάγα και πολυμορφοπύρρηνα κύτταρα. Τα κύτταρα αυτά που διηθούν το μαστικό αδένες συμβάλλουν στην άμυνα του οργανισμού έναντι παθογόνων μικροοργανισμών, τόσο άμεσα μέσω της φαγοκυττάρωσης, αλλά και έμμεσα, μέσω της παραγωγής διαφόρων ουσιών, όπως κυτταροκινών, δραστικών μορφών οξυγόνου και αντιμικροβιακών πεπτιδίων και πρωτεϊνών (ιντερφερόνη, λακτοφερίνη, ντεφενσίνες, καθεδικιλίνες) [161].

Λεμφοκίνες: Οι λεμφοκίνες είναι πεπτίδια διαφόρων μεγεθών που παράγονται από διάφορους τύπους λευκών αιμοσφαιρίων και εμπλέκονται στην ανοσολογική απόκριση, ενεργοποιώντας τα

αντίστοιχα κύτταρα να παράγουν ουσίες ικανές να καταστέψουν τους παθογόνους μικροοργανισμούς [160].

Ολιγοσακχαρίτες και συζευγμένα σάκχαρα: Είναι σύνθετοι υδατάνθρακες, οι οποίοι παρέχουν προστασία έναντι των παθογόνων μικροοργανισμών δρώντας ως ανταγωνιστικοί αναστολείς στις θέσεις δέσμευσης των επιθηλιακών κυττάρων του γαστρεντερικού σωλήνα, εμποδίζοντας με αυτό τον τρόπο την προσκόλληση των μικροοργανισμών και την είσοδό τους στην επιφάνεια του βλεννογόνου. Επίσης, τα διαθέσιμα στοιχεία δείχνουν ότι κάποιοι από αυτούς του πολυσακχαρίτες δρουν και σα πρεβιοτικά, προωθώντας την ανάπτυξη της φυσιολογικής μικροχλωρίδας του εντέρου [167].

Γλυκοπρωτεΐνες και αναστολείς της θρυψίνης: Τα συστατικά αυτά εξασφαλίζουν την ακεραιότητα των βιοδραστικών συστατικών του πρωτογάλατος, εμποδίζοντας την αποκοδόμησή τους στο έντερο, ώστε να μπορεί να εκδηλωθεί η ευεργετική τους δράση [160].

Λακτοαλβουμίνες: Οι λακτοαλβουμίνες είναι πρωτεΐνες που ανήκουν στην ομάδα των αλβουμινών και έχουν την ικανότητα να καταστρέφουν καρκινικά κύτταρα και ιούς. Επίσης, έχει φανεί ότι οι λακτοαλβουμίνες αυξάνουν τα επίπεδα σεροτονίνης, μειώνουν τα επίπεδα κορτιζόλης και βελτιώνουν τη διάθεση κάτω από συνθήκες στρες [160].

Λακτοφερίνη: Η λακτοφερίνη είναι μια γλυκοπρωτεΐνη που παρουσιάζει αντιβακτηριακές, αντικές και αντιφλεγμονώδεις δράσεις. Δύο βασικές βιοχημικές ιδιότητες της λακτοφερίνης συμβάλλουν στη συμμετοχή της στην άμυνα του ξενιστή: η εξαιρετική ικανότητα δέσμευσης ιόντων σιδήρου και η δυνατότητα ισχυρής αλληλεπίδρασης με άλλα μόρια και επιφάνειες. Οι ανιμικροβιακές επιδράσεις της μπορεί να είναι άμεσες (βακτηριοστατική και βακτηριοκτόνο δράση) ή έμμεσες μέσω ενεργοποίησης μια σειράς πολύπλοκων αντιδράσεων που οδηγούν σε προστατευτική ανοσολογική απόκριση μετά από μόλυνση. Η άμεση βακτηριοστατική δράση της λακτοφερίνης είναι καλά τεκμηριωμένη από πολλές μελέτες που έχει αποδειχθεί ότι η δράση της αυτή οφείλεται στην ισχυρή ικανότητάς της να δεσμεύει τα ιόντα σιδήρου, μειώνοντας τη συγκέντρωσή τους στο περιβάλλοντα χώρο, εμποδίζοντας έτσι την ανάπτυξη των παθογόνων μικροοργανισμών. Επιπλέον, η λακτοφερίνη παρουσιάζει και βακτηριοκτόνο δράση με μηχανισμό που δε σχετίζεται με το σίδηρο. Η δράση της αυτή οφείλεται στην ικανότητά της να προσδένεται άμεσα στην επιφάνεια των μικροοργανισμών, προκαλώντας μεταβολές στη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης και κατ' επέκταση κυτταρικό θάνατο [166].

Λακτουπεροξειδάση: Η λακτουπεροξειδάση είναι ένζυμο που ανήκει στην οικογένεια των υπεροξειδασών, μια ομάδα ενζύμων που απαντώνται ευρέως στα φυτά και τα ζώα,

συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου. Η κύρια λειτουργία της είναι η συμμετοχή της στην άμυνα του οργανισμού έναντι βακτηρίων και ιών. Το ενζυμικό σύστημα της λακρουπεροξειδάσης περιλαμβάνει υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) και θειοκυανικό ανιόν (SCN^-). Σε περίπτωση μικροβιακής μόλυνσης, η παραγωγή H_2O_2 από τα λευκοκύτταρα οδηγεί σε ενεργοποίηση του ενζυμικού συστήματος. Η λακτουπεροξειδάση χρησιμοποιεί το H_2O_2 για την οξείδωση του SCN^- , με αποτέλεσμα τη παραγωγή διαφόρων προϊόντων με αντιμικροβιακή δράση [168].

4.2.2. Αυξητικοί παράγοντες

Το πρωτόγαλα περιέχει ένα πλήθος παραγόντων με αυξητική δράση, στους οποίους περιλαμβάνονται διάφορες κυτταροκίνες, ορμόνες και αυξητικοί παράγοντες. Όλα αυτά τα μόρια είναι σημαντικά για την ανάπτυξη, ωρίμανση και επισκευή διαφόρων τύπων κυττάρων στα νεογνά αλλά και στους ενήλικες. Αποτελούν μόρια σηματοδότησης που απελευθερώνονται από τα κύτταρα και συμμετέχουν στη διακυτταρική επικοινωνία. Στη συνέχεια παρουσιάζονται οι πιο σημαντικοί αυξητικοί παράγοντες που έχουν εντοπιστεί στο πρωτόγαλα. Αν και η γενική σύσταση παρουσιάζει ομοιότητες στα διάφορα είδη, υπάρχουν πολλές διαφορές όσον αφορά τη φύση και τη συγκέντρωση διαφόρων αυξητικών παραγόντων στα πρωτογάλατα διαφορετικών ειδών. Για παράδειγμα, το ανθρώπινο πρωτόγαλα περιέχει πολύ υψηλότερες συγκεντρώσεις EGF σε σύγκριση με το βόειο πρωτόγαλα, το οποίο με τη σειρά του περιέχει μεγαλύτερες ποσότητες IGF I και II [169].

Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF): Πρόκειται για ένα πεπτίδιο αποτελούμενο από 53 αμινοξέα, το οποίο παράγεται στους ενήλικες από τους σιελογόνους αδένες και τους αδένες του δωδεκαδακτύλου. Περιέχεται σε μεγάλες ποσότητες στο ανθρώπινο πρωτόγαλα (200 mg/L), ενώ ανευρίσκεται και στο βόειο πρωτόγαλα σε σημαντικά χαμηλότερες συγκεντρώσεις [169]. Ο EGF διεγείρει το πολλαπλασιασμό επιδερμικών, επιθηλιακών και εμβρυικών κυττάρων και δρα ως παράγοντας διαφοροποίησης σε ορισμένους τύπους κυττάρων [170]. Ενεργοποιεί τη διαδικασία αποκατάστασης του εντέρου στα σημεία τραυματισμού και με τη παρουσία του στο πρωτόγαλα παίζει σημαντικό ρόλο στη πρόληψη της βακτηριακής μετανάστευσης και στην ανάπτυξη του εντέρου των νεογνών [169].

Τροποποιητικός αυξητικός παράγοντας α (TGF-α): Είναι ένα πεπτίδιο 50 αμινοξέων το οποίο περιέχεται στο πρωτόγαλα σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις από τις αντίστοιχες που εντοπίζονται στο γάλα. Η βασικός του ρόλος είναι η διατήρηση της λειτουργίας και ακεραιότητας του

επιθηλίου του εντέρου [165]. Δρα διεγείροντας την ανάπτυξη και αποκατάσταση των κυττάρων του γαστρεντερικού συστήματος, περιορίζοντας την έκκριση γαστρικών υγρών και συμβάλλοντας σημαντικά στην αποκατάσταση του εντερικού βλεννογόνου μετά από τραυματισμό [169].

Τροποποιητικός αυξητικός παραγόντας β (TGF- β): Αποτελεί μια οικογένεια (5 διαφορετικές ισομορφές) πολυπεπτιδικών αυξητικών παραγόντων και περιέχεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στο βόειο πρωτόγαλα (20-40mg/L) και γάλα (1-2mg/L). Ο TGF- β παίζει σημαντικό ρόλο τόσο στην εμβρυογένεση και ιστική ανάπτυξη, ρυθμίζοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και τη σύνθεση της θεμέλιας ουσίας, όσο και στη μετεμβρυική ζωή, ρυθμίζοντας τα στάδια της φλεγμονής, της ανοσολογικής απόκρισης και της επούλωσης των τραυμάτων. Δρα ως ισχυρό χημειοελκτικό μόριο για τα ουδετερόφιλα και διεγείρει τη μετανάστευση των επιθηλιακών κυττάρων στη περιοχή της βλάβης [169].

Αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγοντας (PDGF): Εκκρίνεται κυρίως από τα α-κύτταρα των αιμοπεταλίων αλλά και από άλλα κύτταρα όπως τα μακροφάγα, ινοβλάστες και μυϊκά κύτταρα. Αποτελεί συστατικό τόσο του ανθρώπινου, όσο και του βόειου πρωτογάλατος και γάλατος. Ο PDGF έχει ποικίλες βιολογικές δράσεις και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και λειτουργία πολλών κυττάρων συνδετικού ιστού που περιλαμβάνουν τα οστικά κύτταρα. Συμμετέχει σημαντικά στην επούλωση των τραυμάτων και ειδικότερα στην αγγειογένεση, διεγείροντας το πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων των αγγείων [169].

Ινσουλινομιμητικοί παράγοντες I και II (IGF-I και IGF-II): είναι μόρια που αποτελούνται από μια πολυπεπτιδική αλυσίδα και παρουσιάζουν δομή παρόμοια με αυτή της ινσουλίνης. Εμπλέκονται στο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση ενώ σε υψηλές συγκεντρώσεις εμφανίζουν δράσεις παρόμοιες με της ινσουλίνης. Το κύριο σημείο σύνθεσής τους στον οργανισμό είναι το ήπαρ, αλλά παράγονται επίσης και στο στομάχι και το λεπτό έντερο. Το βόειο πρωτόγαλα περιέχει πολύ υψηλότερες συγκεντρώσεις αυτών των παραγόντων (500 mg/L) σε σύγκριση με το ανθρώπινο πρωτόγαλα (18mg/L). Ο IGF-1 εμφανίζει αναβολική δράση, διεγείροντας τη πρωτεϊνική σύνθεση και είναι εν μέρει υπεύθυνος για την ενίσχυση της δράσης της αυξητικής ορμόνης. Ο IGF-II βρίσκεται σε πολύ χαμηλότερες συγκεντρώσεις στο βόειο πρωτόγαλα σε σχέση με τον IGF-I. Παρουσιάζει και αυτός αναβολική δράση καθώς επίσης έχει φανεί ότι περιορίζει τις καταβολικές διεργασίες σε περιπτώσεις υποσιτισμού. Τα μόρια αυτά είναι ανθεκτικά στην υψηλή θερμοκρασία και στο χαμηλό pH, διατηρώντας τη δραστηριότητά τους κατά τις διαδικασίες επεξεργασίας του πρωτογάλατος και επαφής του με τα όξινα γαστρικά υγρά [169].

Αυξητική ορμόνη (GH) και παράγοντας απελευθέρωσής της (GHRH): Η αυξητική ορμόνη είναι μια πολυπεπτιδική ορμόνη που εκκρίνεται από το πρόσθιο λοβό της υπόφυσης και σχετίζεται με τη κυτταρική αύξηση, διαίρεση και αναγέννηση. Η αυξητική ορμόνη μαζί με το παράγοντα απελευθέρωσής της και τη πρωτεΐνη δέσμευσης περιέχονται στο ανθρώπινο και βόειο πρωτόγαλα. Οι περισσότερες από τις αυξητικές επιδράσεις της GH διαμεσολαβούνται μέσω της απελευθέρωσης του IGF-I, ωστόσο η GH έχει πιθανόν και άμεσες μιτογονικές δράσεις. Υπάρχουν στοιχεία που δείχνουν ότι η GH διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και λειτουργία του εντέρου [169].

4.2.3. Αντιοξειδωτικοί παράγοντες [171]

Κατά τη γέννησή του το νεογνό έρχεται σε επαφή με ένα περιβάλλον πολύ πιο πλούσιο σε οξυγόνο από ότι το εσωτερικό περιβάλλον της μήτρας της μητέρας. Επιπλέον, κατά τη νεογνική περίοδο οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί άμυνας δεν είναι πλήρως ανεπτυγμένοι και μια αυξημένη παραγωγή ROS θα μπορούσε να ξεπεράσει την ικανότητά τους για εξουδετέρωση με αποτέλεσμα έκθεση του νεογνού σε οξειδωτικό στρες. Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) του πρωτογάλατος έχει φανεί ότι είναι σημαντικά υψηλότερη σε σχέση με το ομφάλιο αίμα των νεογνών. Λόγω αυτής της ικανότητας, το πρωτόγαλα είναι πολύ σημαντικό για την ενίσχυση της αντιοξειδωτικής άμυνας και προστασία του νεογνού από το οξειδωτικό στρες. Ένα πλήθος αντιοξειδωτικών παραγόντων έχουν προσδιοριστεί στο πρωτόγαλα, στα οποία περιλαμβάνονται τόσο αντιοξειδωτικά ένζυμα, όσο και μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά.

4.2.3.1. Αντιοξειδωτικά Ενζύμα

Τα αντιοξειδωτικά ένζυμα δρουν είτε προλαμβάνοντας το σχηματισμό ελευθέρων ριζών είτε μετατρέποντας τις ρίζες αυτές σε λιγότερο δραστικές μορφές εφόσον αυτές σχηματιστούν. Επίσης, κάποια ένζυμα καταλύουν τη σύνθεση ή/και αναγέννηση των μη ενζυμικών αντιοξειδωτικών. Τα κυριότερα αντιοξειδωτικά ένζυμα που συναντώνται στο πρωτόγαλα είναι τα εξής:

Λακτουπεροξειδάση (LP) : Η δραστικότητα της LP στους ανθρώπους είναι πολύ υψηλότερη στο πρωτόγαλα σε σχέση με το γάλα και έχει φανεί ότι μειώνεται σημαντικά τις πρώτες 3-5 ημέρες του θηλασμού. Στο βόειο πρωτόγαλα η συγκέντρωση του ενζύμου είναι περίπου 30 mg/L και αποτελεί μαζί με την οξειδάση της ξανθίνης (XO) από τα πιο άφθονα σε συγκέντρωση ένζυμα. Η βασική λειτουργία της LP είναι η οξείδωση συγκεκριμένων μορίων με τη χρήση του

υπεροξειδίου του υδρογόνου, παράγοντας με αυτό τον τρόπο δραστικά προϊόντα με ευρεία αντιμικροβιακή δράση. Η βιολογική της σημασία έγκειται στην συμμετοχή της στο φυσικό αμυντικό σύστημα ενάντια στην εισβολή διαφόρων μικροοργανισμών. Στα πλαίσια αυτής της δράσης η LP παίζει σημαντικό ρόλο στην αντιμετώπιση μολύνσεων από ιούς, στην αποικοδόμηση διαφόρων καρκινογόνων ουσιών και στη προστασία των κυττάρων από τις επιπτώσεις της υπεροξειδωσής.

Καταλάση (CAT): Η CAT είναι από τα πιο δραστικά γνωστά ένζυμα. Ο βασικός της ρόλος είναι η αδρανοποίηση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) καταλύοντας την αντίδραση μετατροπής του σε νερό (H_2O) και μοριακό οξυγόνο (O_2). Η CAT έχει προσδιοριστεί στο πρωτόγαλα και στο γάλα, το οποίο περιέχει τρεις τύπους καταλάσης. Η κρέμα περιέχει περίπου το 60% της συνολικής ποσότητας του ενζύμου στο γάλα, ενώ το άπαχο γάλα το 40%.

Υπεροξειδική δισμουτάση (SOD): Η SOD είναι από τα πιο αποτελεσματικά ενζυμικά συστήματα και καταλύει τη μετατροπή των ανιόντων υπεροξειδίου (O_2^-) σε υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2). Στον άνθρωπο υπάρχουν 3 τύποι SOD που περιέχουν είτε μαγγάνιο, είτε χαλκό/ψευδάργυρο είτε σίδηρο. Στο αγελαδινό γάλα και πρωτόγαλα έχει προσδιοριστεί η Cu/Zn-SOD. Ο Cu^{2+} βρίσκεται στην ενεργό θέση του ενζύμου και είναι υπεύθυνος για τη μεταφορά ηλεκτρονίων, ενώ ο Zn^{2+} παίζει δομικό ρόλο, συμμετέχοντας στη σταθερότητα του ενζύμου.

Υπεροξειδάση γλουταθειόνης (GSH-Px): Αποτελεί ένα σημαντικό αντιοξειδωτικό ένζυμο, το οποίο καταλύει τη μετατροπή του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) σε νερό (H_2O) χρησιμοποιώντας κυρίως ως οξειδωτικό μέσο την ανηγμένη γλουταθειόνη. Στο βόειο πρωτόγαλα η δραστηριότητα του ενζύμου έχει προσδιοριστεί στα 12-32 U/ml και σχετίζεται σημαντικά με τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις σεληνίου. Το σελήνιο αποτελεί σημαντικό συστατικό του ενζύμου και φαίνεται ότι η GSH-Px αποτελεί μια από τις βιολογικά ενεργές μορφές σεληνίου στο γάλα. Η δραστηριότητα του ενζύμου είναι παρόμοια στο ανθρώπινο πρωτόγαλα και το ώριμο γάλα.

4.2.3.2. Μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά

Βιταμίνη E: Αποτελεί ένα σημαντικό λιποδιαλυτό αντιοξειδωτικό που ενισχύει τη λειτουργική αποτελεσματικότητα των ουδετερόφιλων προστατεύοντάς τα από τις οξειδωτικές βλάβες που προκαλούνται κατά την εξουδετέρωση των βακτηρίων. Δρα ως εκκαθαριστής των ελευθέρων ριζών προλαμβάνοντας την υπεροξειδωσής των φωσφολιπιδίων στις κυτταρικές μεμβράνες. Η οξειδωμένη μορφή της βιταμίνης είναι σχετικά σταθερή και μπορεί να επανέλθει στην ανηγμένη

της μορφή με αντίδραση που λαμβάνει μέρος το ασκορβικό οξύ. Η α-τοκοφερόλη είναι η κύρια μορφή της βιταμίνης E που εντοπίζεται στο βόειο πρωτόγαλα. Η συγκέντρωσή της κυμαίνεται στα 1,9 mg/L και σταδιακά μειώνεται σε περίπου 4 ημέρες στο επίπεδο των 0,3 mg/l που περιέχεται στο φρέσκο γάλα. Οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις στο ανθρώπινο πρωτόγαλα είναι σημαντικά υψηλότερες και ανέρχονται στο 21,3 $\mu\text{mol/l}$.

Βιταμίνη A: Στο πρωτόγαλα και το γάλα των βοοειδών η βιταμίνη A βρίσκεται κυρίως με τη μορφή της πρόδρομης ένωσης της, του β-καροτενίου. Το β-καροτένιο που διαφεύγει της αποικοδόμησης φθάνει στο έντερο όπου μεταβολίζεται στον εντερικό βλεννογόνο σε ρετινόλη, απορροφάται και μεταφέρεται στο ήπαρ σε λιποδιαλυτή μορφή. Η βιταμίνη A έχει πολλές λειτουργίες που δεν είναι πλήρως κατανοητές, αλλά η βασική λειτουργία της είναι η προστασία από μολυσματικές ασθένειες, όπως η μαστίτιδα. Κατά τη διάρκεια των πρώτων ημερών μετά το τοκετό μεταφέρονται στο νεογνό μέσω του πρωτογάλατος πολύ μεγάλες ποσότητες β-καροτενίου, με αποτέλεσμα την αύξηση των υπερβολικά χαμηλών επιπέδων που παρατηρούνται στο πλάσμα των νεογνών. Η λουτεΐνη είναι το μοναδικό καροτενοειδές που παραμένει αυξημένο στο μητρικό γάλα για τέσσερις εβδομάδες και θεωρείται ότι συμβάλλει σημαντικά στην προσαρμογή της όρασης του νεογνού από το απόλυτο σκοτάδι στο φως, προστατεύοντας το αμφιβληστροειδή χιτώνα του ματιού από τις οξειδωτικές βλάβες που προκαλεί το φως. Η συγκέντρωση της βιταμίνης A στο ανθρώπινο πρωτόγαλα είναι 0,8 $\mu\text{mol/l}$ και έχει φανεί ότι η συμπληρωματική χορήγηση β-καροτενίου δεν έχει κάποια επίδραση στη συγκέντρωσή του στο πρωτόγαλα, γεγονός που υποδεικνύει ότι έχει επέλθει κορεσμός.

Βιταμίνη C: Η βιταμίνη C ή ασκορβικό οξύ είναι μια υδατοδιαλυτή βιταμίνη που βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου. Ο ρόλος της είναι να αναγεννά τη βιταμίνη E από την οξειδωμένη της μορφή, λειτουργώντας ως δότης ηλεκτρονίων. Με αυτό τον τρόπο η ίδια μετατρέπεται σε δευδροασκορβικό οξύ, το οποίο μπορεί είτε να οξειδωθεί είτε να μετατραπεί εκ νέου σε ασκορβικό οξύ με ενζυμική αντίδραση. Κάτω από ορισμένες συνθήκες έχει φανεί ότι μπορεί να δράσει και ως προ-οξειδωτικό. Η συγκέντρωση της βιταμίνης C στο ανθρώπινο πρωτόγαλα είναι 148 $\mu\text{mol/L}$ και είναι υψηλότερη από την αντίστοιχη που εντοπίζεται στο βόειο πρωτόγαλα. Τα επίπεδα της βιταμίνης C στα γάλα λόγω της υδατοδιαλυτής της φύσης μπορούν να επηρεαστούν σημαντικά κατά τις συνήθεις διαδικασίες αποθήκευσης και επεξεργασίας του γάλακτος. Ένα μεγάλο ποσοστό των υδατοδιαλυτών βιταμινών θεωρείται ότι χάνεται κατά την αποθήκευση και επεξεργασία του γάλακτος, σε αντίθεση με τις λιποδιαλυτές βιταμίνες, οι οποίες είναι πολύ πιο σταθερές.

Λακτοφερρίνη (LF): Ο ρόλος της LF στην ανοσολογική άμυνα του οργανισμού περιγράφηκε παραπάνω. Η LF μπορεί να δράσει και ως αντιοξειδωτικός παράγοντας δεσμεύοντας το σίδηρο που παράγεται κατά τη καταστροφή των κυττάρων, ελαχιστοποιώντας με αυτό τον τρόπο τις οξειδωτικές βλάβες που προκύπτουν από τη παραγωγή ριζών υδροξυλίου από τα ουδετερόφιλα κατά τη διαδικασία της φλεγμονής.

Σελήνιο (Se): Το Se μεταφέρεται στο νεογνό μέσω του πλακούντα και των μαστικών αδένων, οι οποίοι ρυθμίζουν τους μηχανισμούς που ελέγχουν τη σύνθεση και έκκριση των μορίων που περιέχουν σελήνιο καθ' όλη τη διάρκεια της γαλουχίας. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις Se παρατηρούνται στο πρωτόγαλα και στη συνέχεια μειώνονται κατά τη μετάβαση στο ώριμο μητρικό γάλα. Το Se στο πρωτόγαλα εμφανίζεται ως συστατικό συγκεκριμένων πρωτεϊνών και αμινοξέων, όπως η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (4-31% του συνολικού Se), η σελινοκυσταμίνη, η σελινοκυστίνη και η σελινομεθειονίνη. Το ανθρώπινο πρωτόγαλα περιέχει υψηλότερες συγκεντρώσεις σεληνίου από ότι το βόειο πρωτόγαλα και έχει φανεί ότι η διατροφή και η σύσταση του εδάφους που καλλιεργούνται τα τρόφιμα καθορίζει σημαντικά τα επίπεδα Se.

Χαλκός (Cu) και Ψευδάργυρος (Zn): Η συγκέντρωση Cu και Zn στο ανθρώπινο πρωτόγαλα είναι 19,2 και 63,7 $\mu\text{mol/L}$. Ο Cu και ο Zn είναι απαραίτητα για τη βέλτιστη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων αλλά παρουσιάζουν και τα ίδια αντιοξειδωτική δράση. Η συμπληρωματική χορήγηση Zn φαίνεται ότι δεν επηρεάζει τη συγκέντρωση Zn στο πρωτόγαλα και το γάλα, ακόμα και όταν παρατηρείται αύξηση των επιπέδων Zn στο πλάσμα της μητέρας. Τα επίπεδα Zn μειώνονται σταδιακά στο μητρικό γάλα κατά τη διάρκεια του θηλασμού.

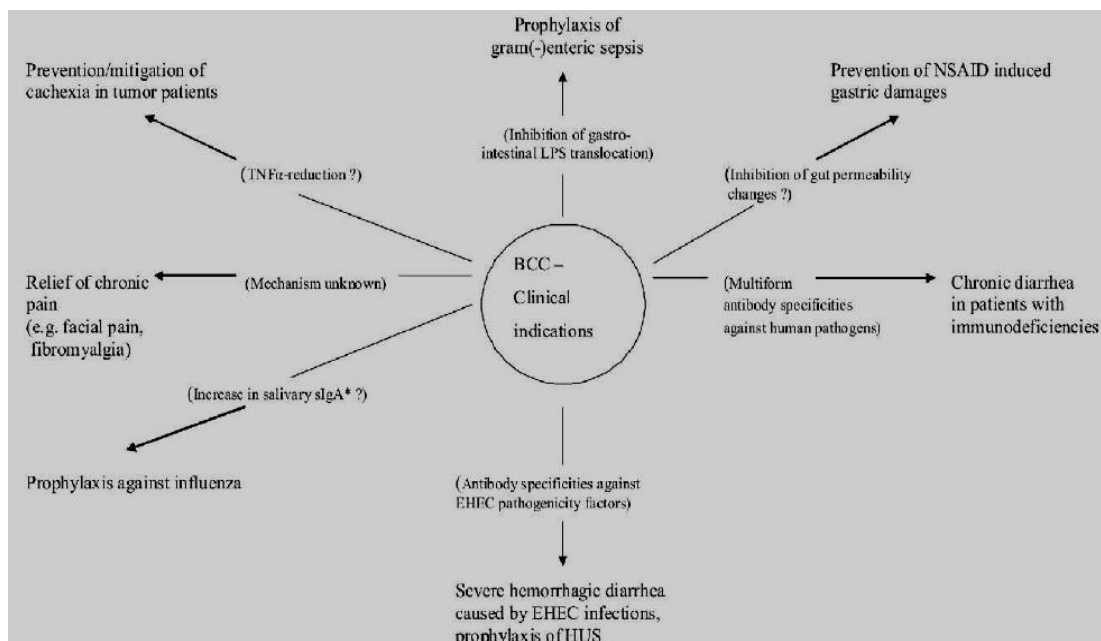
Άλλα μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά: που απαντώνται στο πρωτόγαλα είναι η σερουλαπλασμίνη, η κολοστρίνη και η κυστεΐνη. Η σερουλοπλασμίνη αποτελεί πρωτεΐνη μεταφοράς του χαλκού και τα επίπεδα της στο ανθρώπινο πρωτόγαλα είναι 4,45 mg/ml. Τα υψηλά επίπεδα σερουπλασμίνης παραμένουν και στο ώριμο μητρικό γάλα για το πρώτο μήνα μετά το τοκετό (4,09 mg/ml) και από εκεί και έπειτα μειώνονται στα 1,7mg/ml. Η κολοστρίνη αποτελεί ένα σύμπλεγμα πλούσιο σε προλίνη, το οποίο μαζί με άλλες δράσεις έχει φανεί ότι παρουσιάζει αντιοξειδωτική δράση στα κύτταρα του φαιοχρωμακτωματος (PC1), περιορίζει τα ενδοκυττάρια επίπεδα ROS και την υπεροξείδωση των λιπών. Τέλος, η κυστεΐνη συμμετέχει και αυτή στην αντιοξειδωτική άμυνα, καθώς αποτελεί πρόδρομη ένωση και συστατικό της γλουταθειόνης. Τα επίπεδα κυστεΐνης στο ανθρώπινο πρωτόγαλα είναι υψηλότερα από ότι στο βόειο πρωτόγαλα.

4.3. Θεραπευτικές χρήσεις βόειου πρωτογάλατος

Η χρησιμοποίηση του βόειου πρωτογάλατος ως συμπλήρωμα διατροφής τόσο από υγιείς ανθρώπους αλλά και η χορήγηση του σε παθολογικές καταστάσεις έχει αυξηθεί σημαντικά τα τελευταία χρόνια. Το βόειο πρωτόγαλα, όπως περιγράφηκε παραπάνω, αποτελεί μια εξειδικευμένη διατροφική πηγή, προσφέροντας ένα ευρύ φάσμα βιολογικά ενεργών ουσιών που μπορούν να προωθήσουν την ανάπτυξη διαφόρων ιστών του σώματος, να εξασφαλίζουν την αποτελεσματική λειτουργία των μεταβολικών διαδικασιών και να υποστηρίξουν τη ενεργοποίηση και διατήρηση ενός πλήρους λειτουργικού ανοσοποιητικού συστήματος ικανό να καταπολεμήσει τις εισβολές μικροοργανισμών και άλλων επιβλαβών πηγών. Το βόειο πρωτόγαλα είναι επίσης συμβατό σχεδόν σε κάθε είδος και μπορεί να μεταφέρει πλήρως τα οφέλη του στον άνθρωπο μέσω διατροφικών συμπληρωμάτων, χωρίς να ενέχει κινδύνους για την ανθρώπινη υγεία. Τα συμπληρώματα βόειου πρωτογάλατος χρησιμοποιούνται για την ενίσχυση των φυσιολογικών λειτουργιών του σώματος, καθώς και για πρόληψη, θεραπεία και άμβλυνση των συμπτωμάτων διαφόρων παθολογικών καταστάσεων.

Μια ιδιαίτερη μορφή πρωτογάλατος είναι το υπεράνοσο πρωτόγαλα (hyperimmune bovine colostrums, ΗΒΠ), το οποίο είναι ενισχυμένο σε κάποιες ανοσοσφαιρίνες. Το υπεράνοσο πρωτόγαλα παράγεται από αγελάδες στις οποίες έχει πρώτα προηγηθεί εμβολιασμός με συγκεκριμένα αντιγόνα. Η επαφή του ζώου με τα συγκεκριμένα αντιγόνα οδηγεί στη παραγωγή ειδικών αντισωμάτων, τα οποία μεταφέρονται στη συνέχεια στο πρωτόγαλα και το γάλα. Υπεράνοσα πρωτογάλατα ενισχυμένα με διάφορα αντισώματα, όπως για την *E. Coli* και το *Cryptosporidium parvum*, έχουν δημιουργηθεί για την αντιμετώπιση διαφόρων παθολογικών καταστάσεων [161].

Στη εικόνα 3.2 φαίνονται οι βασικότερες επιδράσεις της χορήγησης ΒΠ σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις (Εικόνα 3.2).



Εικόνα 3.2: Θεραπευτικές χρήσης βόειου πρωταγάλατος [172]

Διάρροια σε ασθενείς με κατασταλμένο ανοσοποιητικό σύστημα [162, 165, 172]: Η χρόνια διάρροια είναι μια συχνή επιπλοκή με πολυπαραγοντική αιτιολογία (παθογόνα, ευκαιριακοί παράγοντες, μη λοιμώδεις παράγοντες) σε ασθενείς με σύνδρομο ανοσολογικής ανεπάρκειας, όπως οι ασθενείς με AIDS. Ένας μεγάλος αριθμός μελετών έχει δείξει ότι τα συμπληρώματα BC και HBC επιφέρουν θετικές επιδράσεις στην αντιμετώπιση της χρόνιας διάρροιας σε αυτούς τους ασθενείς, δράση που αποδίδεται στα ειδικά αντισώματα που περιέχουν έναντι συγκεκριμένων παθογόνων, στη καταστολή της φλεγμονής του εντέρου και στη προώθηση της ακεραιότητας και αποκατάστασης του βλεννογόνου. Η διάρροια που προκαλείται από το *Cryptosporidium parvum* είναι πολύ συχνή στους ασθενείς με AIDS και στις περισσότερες περιπτώσεις δεν ανταποκρίνεται στη λήψη αντιβιοτικής θεραπείας. Τα HBC σε *Cryptosporidium* ή τα BC που συλλέγονται τις πρώτες 10 ώρες μετά το τοκετό έχουν φανεί αποτελεσματικά στη πρόληψη και θεραπεία της χρόνιας διάρροιας που σχετίζεται με κρυπτοσποριδίωση. Στις θετικές επιδράσεις αναφέρεται η σημαντική άμβλυνση των συμπτωμάτων με βελτίωση της ποιότητας των κενώσεων, καθώς και μείωση της συχνότητάς τους.

Πρόληψη και θεραπεία μολυσματικών ασθενειών [162]: Η χρήση του πρωτογάλατος για πρόληψη και θεραπείας μολυσματικών ασθενειών σχετίζεται με την ικανότητά του να προσφέρει παθητική ανοσία. Τα συμπληρώματα HBC που είναι ενισχυμένα σε αντισώματα για συγκεκριμένα μικρόβια έχει φανεί ότι είναι πιο αποτελεσματικά σε σχέση με τα απλά συμπληρώματα BC. Η χορήγηση πρωτογάλατος έχει φανεί ότι είναι αποτελεσματική τόσο σε επίπεδο πρόληψης όσο και αντιμετώπισης μολυσματικών ασθενειών όπως η σιγκέλλωση (

Shigellosis), η κρυπτοσποριδίωση (*Cryptosporidium parvum*), στο ροταϊό (*Rotavirus*) και στο ελικοβακτήριο του πυλωρού (*Helicobacter pylori*), ενώ δε φαίνεται να επιφέρει κάποια θετική επίδραση στη περίπτωση της χολέρας (*Vibrio cholera*).

Αυτοάνοσα νοσήματα [162, 165]: Η χορήγηση πρωτογάλατος έχει εξεταστεί και σε περιπτώσεις αυτοάνοσων νοσημάτων, όπως η πολλαπλή σκλήρυνση και η ρευματοειδής αρθρίτιδα. Στη περίπτωση της πολλαπλής σκλήρυνσης έχει φανεί ότι η χορήγηση HBC από αγελάδες που έχουν εμβολιαστεί με τον ιό της ιλαράς είναι ωφέλιμη οδηγώντας σε μείωση των συμπτωμάτων της νόσου. Μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν στοιχεία για την επίδραση του κοινού BC στη πολλαπλή σκλήρυνση. Όσον αφορά τη ρευματοειδής αρθρίτιδα, υπάρχουν κάποιες μελέτες που έχουν δείξει ενθαρρυντικά αποτελέσματα στη βελτίωση της εξέλιξης της νόσου, ωστόσο απαιτούνται περισσότερες μελέτες για να επιβεβαιωθεί η επίδραση αυτή του πρωτογάλατος.

Φλεγμονή του εντερικού βλεννογόνου από τη χρήση μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων (NSAIDs): Τα NSAIDs χρησιμοποιούνται ευρέως ως αναλγητικά, αντιφλεγμονώδη και αντιπυρετικά φάρμακα. Ωστόσο, η χρήση τους μπορεί να επιφέρει σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες, όπως γαστρικό έλκος και φλεγμονή στο λεπτό και παχύ έντερο. Τα αποτελέσματα μελετών σε ανθρώπους και ζώα, έχουν δείξει ότι τα συμπληρώματα πρωτογάλατος δρουν προστατευτικά, περιορίζοντας τη φλεγμονή και την εμφάνιση παρενεργειών που προκύπτουν από τη χρήση των NSAIDs [165]. Η δράση του αυτή αποδίδεται στην υψηλή συγκέντρωση αυξητικών παραγόντων που περιέχει, οι οποίοι διεγείρουν την ανάπτυξη του εντέρου και τη διαδικασία αποκατάστασης του γαστρεντερικού σωλήνα [173], καθώς και στη λακτοφερίνη, η οποία προωθεί την ανάπτυξη της φυσιολογικής μικροχλωρίδας του εντέρου [174].

Εγχειρήσεις: Οι ασθενείς που υπόκειται σε εγχειρήσεις στην κοιλιακή χώρα (πάγκρεας, ολική ή μερική γαστρεκτομή) εμφανίζουν υψηλά επίπεδα ενδοτοξινών στο αίμα μετεγχειρητικά. Η χορήγηση BC προεγχειρητικά έχει φανεί ότι μειώνει την ενδοτοξαιμία μετά από τέτοιου είδους εγχειρήσεις, ενώ παρόμοια επίδραση δεν έχει παρατηρηθεί σε περιπτώσεις ασθενών που υποβάλλονται σε εγχειρήσεις bybass. Επιπλέον, η προεγχειρητική χορήγηση BC φαίνεται να έχει θετικές επιδράσεις στη απόκριση οξείας φάσης, καθώς έχει φανεί ότι μειώνει τα επίπεδα IL-6 και CRP [162, 175]. Οι θετικές επιδράσεις του πρωτογάλατος μπορούν να αποδοθούν στις αντιμικροβιακές του ιδιότητες, την ικανότητα του να εξουδετερώνει τις ενδοτοξίνες και να καταστέλλει τη φλεγμονή, προωθώντας την ακεραιότητα του βλεννογόνου και την επιδιόρθωση των ιστών [165].

Λοιμώξεις αναπνευστικής οδού [175]: Η χορήγηση BC οδηγεί σε αύξηση της IgA του σιέλου και έχει φανεί ότι συνεισφέρει στη πρόληψη και θεραπεία λοιμώξεων του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος, οδοντιατρικών μολύνσεων, της χρόνιας βρογχίτιδας και διαφόρων αλλεργικών αναπνευστικών διαταραχών. Επιπλέον, το πρωτόγαλα περιέχει ολιγασακχαρίτες, οι οποίοι καθώς διέρχονται από τη στοματική κοιλότητα προσκολλούνται στο βλεννογόνο, εμποδίζοντας με αυτό τον τρόπο τη πρόσδεση βακτηρίων και άλλων μικροοργανισμών.

Διαταραχές του μεταβολισμού [176]: Υπάρχουν κάποιες ενδείξεις η χορήγηση BC μπορεί να είναι ευεργετική σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη. Πρόσφατη μελέτη σε πειραματόζωα με διαβήτη έδειξε ότι η χορήγηση BC πλούσιο σε IGF επέφερε σημαντική μείωση στα επίπεδα γλυκόζης, γεγονός που υποδηλώνει ότι η μορφή αυτή BC μπορεί να είναι πολύτιμη για τη θεραπεία ασθενών με διαβήτη. Επιπλέον, άλλη μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου II έδειξε ότι η χορήγηση 5γρ BC καθημερινά για 4 εβδομάδες οδηγεί σε μείωση των επιπέδων γλυκόζης, χοληστερόλης, τριακυλογλυκερολών και κετονών τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες [177]. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι το BC πρωτόγαλα μπορεί να έχει ευεργετικές επιδράσεις στο μεταβολικό έλεγχο των διαβητικών ασθενών, παρόλα αυτά οι μηχανισμοί δράσης του παραμένουν άγνωστοι.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΤΟ ΒΟΕΙΟ ΠΡΩΤΟΓΑΛΑ ΩΣ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΣΕ ΑΘΛΗΤΕΣ

Το πρωτόγαλα, λόγω της ιδιαίτερης σύστασής του και των ευεργετικών επιδράσεων του σε σημαντικές φυσιολογικές λειτουργίες του οργανισμού, έχει θεωρηθεί από πολλούς ως ένα ιδανικό διατροφικό συμπλήρωμα για άτομα που επιδίδονται σε αθλητικές δραστηριότητες. Τα τελευταία χρόνια, όλο και περισσότεροι αθλητές χρησιμοποιούν συμπληρώματα ΒΠ ως ένα μέσο βελτίωσης των αθλητικών τους επιδόσεων και ένας μεγάλος αριθμός κλινικών μελετών έχει διεξαχθεί με σκοπό τη διερεύνηση πιθανών ευεργετικών επιδράσεων. Αν και εξακολουθεί να παραμένει αντικείμενο συστηματικής έρευνας, τα μέχρι τώρα διαθέσιμα στοιχεία αναδεικνύουν το πρωτόγαλα ως ένα πολλά υποσχόμενο διατροφικό συμπλήρωμα στο χώρο του αθλητισμού που μπορεί να επιφέρει σημαντικές βελτιώσεις στην αθλητική απόδοση μέσω προώθησης της μυϊκής ανάπτυξης και αποκατάστασης, διατήρησης της ακεραιότητας του γαστρεντερικού συστήματος και ενίσχυση της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος των αθλητών.

5.1. Επίδραση του βόειου πρωτογάλατος στην αθλητικής απόδοση

Η επίδραση των συμπληρωμάτων ΒΠ στην αθλητική απόδοση έχει απασχολήσει ιδιαίτερα την ερευνητική κοινότητα, κατά κύριο λόγο στηριζόμενοι στην υπόθεση ότι το βόειο πρωτόγαλα μπορεί να βελτιώσει την απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών και της σύστασης του σώματος. Τα υψηλά επίπεδα αυξητικών παραγόντων που περιέχει, τα οποία ως γνωστόν διεγείρουν την πρωτεϊνσύνθεση, σε συνδυασμό με κάποια ευρήματα που δείχνουν ότι η συμπληρωματική χορήγηση ΒΠ οδηγεί σε αυξημένες συγκεντρώσεις IGF-I, έχουν κινήσει το ενδιαφέρον των ερευνητών για διερεύνηση των πιθανών επιδράσεων του πρωτογάλατος στη σύσταση του σώματος, τη μυϊκή δύναμη και αντοχή στα ενεργά δραστήρια άτομα [165]. Οι Mero και συν ήταν οι πρώτη ερευνητική ομάδα που μελέτησαν την επίδραση της χορήγησης βόειου πρωτογάλατος στις ανοσοσφαιρίνες ορού, στον IGF-I και στην απόδοση αθλητών ταχύτητας και δύναμης. Από τη μελέτη τους φάνηκε ότι η χορήγηση 125ml βόειου πρωτογάλατος για 8 ημέρες οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων IGF-I στον ορό, ενώ δε παρατηρήθηκαν διαφορές στα επίπεδα ανοσοσφαιρινών, ορμονών (ινσουλίνη, τεστοστερόνη, αυξητική ορμόνη, κορτιζόνη) καθώς και στην απόδοση των αθλητών [178]. Ο IGF-1 που περιέχεται στο βόειο πρωτόγαλα είναι ταυτόσημος στους ανθρώπους και στις αγελάδες και μια

πιθανή αύξηση των επιπέδων του στον ορό μετά από συμπληρωματική χορήγηση ΒΠ θα μπορούσε να επιφέρει θετικές επιδράσεις στην ανάπτυξη των μυών και τη σύσταση του σώματος [165].

5.1.1. Σύσταση σώματος, δύναμη και ισχύ

Η πρώτη μελέτη με σκοπό τη διερεύνηση της επίδρασης του ΒΠ στη σύσταση σώματος πραγματοποιήθηκε από τους Antonio και συν [179]. Στη μελέτη έλαβαν μέρος 22 άτομα (άνδρες και γυναίκες) με προπονητικό υπόβαθρο στις ασκήσεις αντιστάσεων, όπου χωρίστηκαν σε 2 γκρουπ (ομάδα χορήγησης εικονικού φαρμάκου και ομάδα χορήγηση ΒΠ 20γρ.ημέρα) και στη συνέχεια ακολούθησαν πρωτόκολλο άσκησης 8 εβδομάδων (αερόβιο πρόγραμμα και ασκήσεις αντιστάσεων 3 φορές/εβδομάδα). Στο τέλος της παρέμβασης δε παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων στο χρόνο εξάντλησης, τη μέγιστη δύναμη και τη μυϊκή αντοχή. Ωστόσο, στην ομάδα παρέμβασης παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση της άλιπης μάζας σώματος (1,49kg), χωρίς μεταβολή του σωματικού βάρους (λόγω μείωσης της λιπώδους μάζας σώματος), ενώ η ομάδα placebo εμφάνισε στατιστικά σημαντική αύξηση του σωματικού βάρους (2,44kg), η οποία αποδόθηκε κυρίως στην εναπόθεση λίπους. Οι ερευνητές πρότειναν μια πιθανή αναβολική επίδραση του πρωτογάλατος. Στη συγκεκριμένη μελέτη δεν αξιολογήθηκε η συγκέντρωση IGF-I, οπότε δεν είναι σαφές αν η παρατηρηθείσα αύξηση της άλιπης μάζας σώματος οφειλόταν σε αύξηση των επιπέδων IGF-I στον ορό. Σε μια άλλη μελέτη, 49 υγιή άτομα έλαβαν συμπληρώματα 60γρ πρωτογάλατος ή καζεΐνης/ορού γάλακτος ή κρεατίνης ή συνδυασμό αυτών. Οι συνδιασμοί καζεΐνη/ορού γάλακτος με κρεατίνη και πρωτογάλατος με κρεατίνη οδήγησαν σε σημαντικές αυξήσεις της άλιπης μάζας σώματος και της μυϊκής δύναμης. Ωστόσο, από τη συγκεκριμένη μελέτη δε μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα σχετικά με τη επίδραση του πρωτογάλατος, καθώς η παρατηρηθείσα επίδραση μπορεί να οφείλεται στη προσθήκη της κρεατίνης [180]. Η πρόταση για αναβολική επίδραση του πρωτογάλατος υποστηρίζεται και από τα ευρήματα ότι η χορήγηση 60γρ ημερησίως για 8 εβδομάδες κατά τη διάρκεια προπονήσεων με αντιστάσεις οδηγεί σε αύξηση στη περίμετρο της περιοχής του δικεφάλου και του εμβαδού εγκάρσιας διατομής σε σύγκριση με το placebo [181], καθώς και ότι η χορήγηση 20γρ ΒΠ για 2 εβδομάδες επιφέρει αύξηση στα επίπεδα απαραίτητων αμινοξέων στον ορό [182]. Παρόλα αυτά, σε μελέτη που έλαβαν μέρος 12 υγιής άνδρες η συμπληρωματική χορήγηση πρωτογάλατος για 8 εβδομάδες δεν φάνηκε να έχει κάποια επίδραση στην εντερική απορρόφηση θρεπτικών συστατικών [183].

Σε αντίθεση με τα ευρήματα των Antonio και συν, η ερευνητική ομάδα του Kerkick παρατήρησε αύξηση της μέγιστης δύναμης ύστερα από 12 εβδομάδες συμπληρωματικής

χορήγησης 60γρ ΒΠ. Η μέγιστη δύναμη προσδιορίστηκε με το τεστ 1 μέγιστης επανάληψης (1RM) στις πιέσεις πάγκου [184]. Σε άλλη μελέτη ωστόσο, η χορήγηση ίδιας ποσότητας πρωτογάλατος (60γρ/ημέρα) για 8 εβδομάδες δε συσχετίστηκε με αλλαγές στη μέγιστη δύναμη. Πενήντα ένα δραστήριοι άνδρες συμμετείχαν σε προπονητικό πρόγραμμα 8 εβδομάδων που περιλάμβανε ασκήσεις δύναμης και πλειομετρικής προπόνησης, ενώ παράλληλα λάμβαναν 60γρ/ημέρα βόειο πρωτόγαλα (ομάδα παρέμβασης) ή πρωτεΐνη ορού γάλακτος (ομάδα placebo). Στο τέλος της πειραματικής περιόδου, παρατηρήθηκαν σημαντικές βελτιώσεις στην 1RM, στους προπονητικούς όγκους και στην ικανότητα εκτέλεσης αναερόβιας άσκησης και στις δύο ομάδες. Ωστόσο, η ομάδα που έλαβε τα συμπληρώματα ΒΠ σημείωσε σημαντική βελτίωση στις εκρηκτικές δραστηριότητες, όπως αξιολογήθηκε από τη μέγιστη κυκλική ισχύ και το κατακόρυφο άλμα [185]. Η πλειομετρική άσκηση επιφέρει προσαρμογές στις οποίες περιλαμβάνονται η αύξηση του αριθμού και της διαμέτρου των ινών ταχείας συστολής ΙΙα [186]. Στηριζόμενοι σε αυτό οι Fry και συν διερεύνησαν τις αλλαγές στο τύπο μυϊκών ινών και στη διάμετρό τους ύστερα από προπονητικό πρόγραμμα αντιστάσεων 12 εβδομάδων με παράλληλη συμπληρωματική χορήγηση ΒΠ. Καμία στατιστικά σημαντική διαφορά δε παρατηρήθηκε στον αριθμό ή/και στην εγκάρσια διατομή των μυϊκών ινών ΙΙα [187]. Ωστόσο, θα πρέπει να αναφερθεί ότι ο αριθμός των συμμετεχόντων (n=6) στη συγκεκριμένη μελέτη ήταν αρκετά μικρός για να ανιχνευτεί στατιστικά σημαντική διαφορά.

Η επίδραση του πρωτογάλατος στις εκρηκτικές δραστηριότητες διερευνήθηκε και από του Leppaluoto και συν, οι οποίοι πραγματοποίησαν μια διπλή-τυφλή, διασταυρούμενη μελέτη με 10 αθλητές, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε τεστ μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου και αλτικότητας την 11^η και 12^η ημέρα μετά την έναρξη χορήγησης συμπληρώματος ΒΠ. Το πρωτόγαλα σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο βελτίωσε σημαντικά το χρόνο ολοκλήρωσης του άλματος, ενώ διατήρησε τη μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου από την 11^η στη 12^η ημέρα. Δε σημειώθηκαν διαφορές μεταξύ των ομάδων στον IGF-I, στην αυξητική ορμόνη, στη κρεατινική κινάση και στην IL-6. Οι ερευνητές πρότειναν ότι το ΒΠ θα μπορούσε να ωφελήσει τους αθλητές κατά τη διάρκεια έντονων προπονητικών περιόδων, ωστόσο τα συμπεράσματα από τη συγκεκριμένη μελέτη είναι αρκετά περιορισμένα λόγω μεθοδολογικών ελλείψεων [188]. Προηγούμενη μελέτη από του Mero και συν δεν έδειξε κάποια επίδραση της συμπληρωματικής χορήγησης ΒΠ για χρονικό διάστημα 8 ημερών στην απόδοση στη κατακόρυφο άλμα [178].

Η ερευνητική ομάδα του Mero είναι η μόνη που αναφέρει αυξήσεις στα επίπεδα IGF-I στον ορό ύστερα από συμπληρωματική χορήγηση ΒΠ για 8 [178] και 14 ημέρες [189]. Άλλοι ερευνητές που χρησιμοποίησαν παρόμοιες δόσεις αλλά μεγαλύτερη χρονική περίοδο χορήγησης ΒΠ (4-8 εβδομάδες) δε παρατήρησαν αλλαγές στα επίπεδα IGF-I [185, 190, 191]. Οι Buckley και συν

πρότειναν ότι η αύξηση του IGF-I μπορεί να είναι παροδική και να επιστρέφει στα αρχικά επίπεδα όταν το πρωτόγαλα χορηγείται για μεγαλύτερες χρονικές περιόδους, πιθανόν μέσω κάποιου αρνητικού μηχανισμού ανατροφοδότησης. Επιπλέον, όπως αναφέρθηκε παραπάνω οι Lerraluoto και συν δε παρατήρησαν κάποια διαφορά στη συγκέντρωση IGF-I ύστερα από 12 μέρες χορήγησης ΒΠ [188]. Όπως είναι γνωστό τα κυκλοφορούντα επίπεδα IGF-I είναι ευαίσθητα σε αλλαγές στην ενεργειακή πρόσληψη και τα επίπεδα φυσικής δραστηριότητας, οπότε κρίνεται αναγκαίο για μελλοντικές μελέτες πάνω σε αυτό το θέμα να διασφαλίζεται το ενεργειακό ισοζύγιο [192].

Τα συμπληρώματα ΒΠ, με βάση όσα αναφέρθηκαν παραπάνω, έχουν συσχετιστεί με αύξηση της άλιπης μάζας σώματος, αύξηση της δύναμης και βελτιώσεις στην αλτικότητα και μέγιστη ισχύ. Παρόλα αυτά υπάρχουν ασυνέπειες μεταξύ των μελετών, πιθανόν λόγω των διαφορών στα ερευνητικά πρωτόκολλα, τη προπονητική κατάσταση των εθελοντών, τη διάρκεια χορήγησης των συμπληρωμάτων, καθώς και τις μετρήσεις για αξιολόγηση της απόδοσης. Η επίδραση του πρωτογάλατος στην μυϊκή ανάπτυξη απαιτεί περαιτέρω έρευνα και διερεύνηση επιπλέον πιθανών μηχανισμών δράσης.

5.1.2. Απόδοση αντοχής

Η αναφορά από τους Mero και συν [178] για αύξηση των κυκλοφορούντων επιπέδων IGF-I μετά από χορήγηση πρωτογάλατος οδήγησε του Buckley και συν να διερευνήσουν τη πιθανή ευεργετική επίδραση του ΒΠ στη προπόνηση αντοχής [193]. Μια αύξηση των επιπέδων IGF-I στον ορό θα μπορούσε να ενισχύσει την ικανότητα άσκησης σαν αποτέλεσμα μεταβολών στη χρήση υποστρώματος ή/και της καρδιακής παροχής, καθώς έχει φανεί ότι ο IGF-I αυξάνει τον όγκο παλμού και τη καρδιακή παροχή και προκαλεί μείωση στη συγκέντρωση ινσουλίνης και αύξηση στη συγκέντρωση ελευθέρων λιπαρών οξέων, διεγείροντας τη λιπόλυση [192]. Για να εξετάσουν αυτή την υπόθεση οι Buckley και συν πραγματοποίησαν μελέτη σε 30 άνδρες, στους οποίους χορηγήθηκε συμπλήρωμα πρωτογάλατος (n=17) ή εικονικό φάρμακο (n=13) για χρονικό διάστημα 8 εβδομάδων, με παράλληλη προπόνηση 45 λεπτών τρεξίματος 3 φορές την εβδομάδα. Στην αρχή, στις 4 και στις 8 εβδομάδες της παρέμβασης οι συμμετέχοντες υποβάλλονταν σε δυο δοκιμασίες τρεξίματος μέχρι εξαντλήσεως στο διάδρομο, με 20 λεπτά ξεκούραση μεταξύ των δοκιμασιών. Στις 4 εβδομάδες δε παρατηρήθηκε κάποια διαφορά στην απόδοση των συμμετεχόντων στις δύο δοκιμασίες τρεξίματος. Ωστόσο, στις 8 εβδομάδες, τα άτομα που ανήκαν στην ομάδα του πρωτογάλατος κάλυψαν μεγαλύτερη απόσταση και παράγαγαν περισσότερο έργο στη δεύτερη δοκιμασία σε σχέση με τα άτομα της ομάδας placebo, ενώ δε παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων κατά τη πρώτη δοκιμασία. Η

βελτίωση στην απόδοση δε συσχετίστηκε με μεταβολές στο αναπνευστικό πηλίκο, στο αναερόβιο κατώφλι ή στις συγκεντρώσεις IGF-I και μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν στοιχεία για αύξηση της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου (VO_{2max}) μετά από χορήγηση ΒΠ παρά της παρατηρούμενες αυξήσεις στην απόδοση αντοχής [193].

Τα ευρήματα της παραπάνω μελέτης υποστηρίζονται και από μια άλλη μελέτη, στην οποία συμμετείχαν 42 άνδρες ποδηλάτες υψηλού επιπέδου. Οι συμμετέχοντες χωρίστηκαν σε 3 ομάδες, όπου τους δόθηκε να καταναλώνουν είτε 20γρ ΒΠ + 40γρ πρωτεΐνη ορού γάλακτος είτε 60γρ ΒΠ ή 60γρ εικονικού φαρμάκου για χρονικό διάστημα 8 εβδομάδων. Τα άτομα που λάμβαναν το ΒΠ (20γρ και 60γρ) παρουσίασαν σημαντική βελτίωση στην απόδοση τους στη δεύτερη δοκιμασία άσκησης μετά από 2ωρη δοκιμασία ποδηλασίας στο 65% της VO_{2max} . Οι ανάλογες βελτιώσεις στην αθλητική απόδοση μεταξύ των δύο ομάδων που λάμβαναν ΒΠ υποδηλώνει ότι πιθανότατα υπάρχει ένα όριο πέρα του οποίου η υψηλότερες δόσεις ΒΠ δε επιφέρουν κάποιο επιπλέον όφελος στην αθλητική απόδοση. Και σε αυτή τη μελέτη οι βελτιώσεις στην απόδοση δε συσχετίστηκαν με μεταβολές στη συγκέντρωση του IGF-I και οι ερευνητές πρότειναν ότι η αύξηση στην απόδοση αντοχής πιθανότατα να οφείλεται σε αυξημένη πρόσληψη των θρεπτικών συστατικών από το λεπτό έντερο, οφειλόμενη στους αυξητικού παράγοντες που υπάρχουν στο πρωτόγαλα [190]. Σε μελέτη των Shing και συν όπου συμμετείχαν 29 άνδρες ποδηλάτες επαγγελματικού επιπέδου, φάνηκε ότι η συμπληρωματική χορήγηση 10γρ ΒΠ/ημέρα βελτίωσε το χρόνο επίτευξης συγκεκριμένης διαδρομής 40χλ. μετά από 5 ημέρες υψηλής έντασης προπόνησης, ενώ διατηρήθηκε το αναπνευστικό κατώφλι [194].

Οι βελτιώσεις στο χρόνο ολοκλήρωσης της δοκιμασίας ποδηλασίας μετά από παρατεταμένη άσκηση αντοχής [190], στην ικανότητα για επαναλαμβανόμενα σπριντ μετά από μια μικρή περίοδο ξεκούρασης [193] και η διατήρηση του αναερόβιου κατωφλίου ύστερα από μια προπονητική περίοδο υψηλής έντασης [194] αποτελούν ενδείξεις ότι το πρωτόγαλα ενισχύει τη διαδικασία αποκατάστασης μετά από άσκηση και κατ' επέκταση βελτιώνει την απόδοση αντοχής σε ακόλουθες συνεδρίες άσκησης. Τα συμπληρώματα ΒΠ φαίνεται να έχουν ευεργετικά αποτελέσματα σε άτομα που επιδίδονται σε αθλήματα αντοχής, ιδιαίτερα κατά τις προπονητικές περιόδους υψηλής έντασης ή υπερφόρτωσης που συνδέονται με εμφάνιση κόπωσης και μείωσης του αναερόβιου κατωφλίου [192].

5.1.3. Αναερόβια απόδοση

Η πρόσληψη ΒΠ οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων πρωτεϊνών στον ορό και διεγείρει την μυϊκή ανάπτυξη στα νεογέννητα μοσχάρια. Αν η συμπληρωματική χορήγηση ΒΠ μπορεί να επιφέρει

άνοδο των συγκεντρώσεων πρωτεϊνών στο αίμα και αύξηση του μεγέθους των μυϊκών ινών, θα μπορούσε να φανεί ιδιαίτερα ωφέλιμη για την ενίσχυση της αναερόβιας ικανότητας [192]. Ωστόσο, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τα μέχρι τώρα διαθέσιμα στοιχεία που υποστηρίζουν αύξηση στο πρωτεϊνικό περιεχόμενο μετά τη χορήγηση ΒΠ είναι περιορισμένα [179, 182].

Μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε 35 ελίτ αθλητές χόκεϋ, οι οποίοι τυχαιοποιήθηκαν ώστε να λαμβάνουν 60γρ/ημέρα ΒΠ (ομάδα παρέμβασης) ή πρωτεΐνη ορού γάλακτος (ομάδα ελέγχου) για χρονικό διάστημα 8 εβδομάδων, έδειξε ότι το πρωτόγαλα βελτίωσε την απόδοση κατά τη δοκιμασία σπριντ και μείωσε σημαντικά το χρόνο ολοκλήρωσης τους σε σύγκριση με τη πρωτεΐνη ορού γάλακτος. Δε παρατηρήθηκε κάποια διαφοροποίηση στη σύσταση σώματος, την αλτική και καρδιοαναπνευστική ικανότητα ανάμεσα στις δύο ομάδες [195]. Ωστόσο, σε άλλη μελέτη, η χορήγηση 60γρ ΒΠ/ημέρα για 9 εβδομάδες σε ελίτ αθλήτριες κωπηλασίας δεν επέφερε κάποια βελτίωση της απόδοσης κατά τη μέγιστη δοκιμασία 4 λεπτών. Ωστόσο, παρατηρήθηκε σημαντική βελτίωση της ρυθμιστικής ικανότητας του αίματος (blood buffer capacity, b) μετά τη χορήγηση ΒΠ. Οι ερευνητές υπέθεσαν ότι η παρατηρούμενη βελτίωση στο δείκτη b πιθανότητα οφείλεται στην μεγαλύτερου βαθμού υπερτροφία των μυϊκών ινών ταχείας συστολής σε σχέση με τις βραδείας συστολής ως αποτέλεσμα της χορήγησης πρωτογάλατος [196]. Σε άλλη μελέτη οι ερευνητές απέτυχαν να δείξουν κάποια επίδραση του πρωτογάλατος στην αναερόβια απόδοση κατά τη διάρκεια δοκιμασίας μέχρι εξαντλήσεως στο κυκλοεργόμετρο σε ένταση στο 110% του αναερόβιου κατωφλίου [194].

Τα μέχρι τώρα διαθέσιμα δεδομένα είναι περιορισμένα για να υποστηρίξουν ότι η χορήγηση ΒΠ μπορεί να ενισχύσει την αναερόβια απόδοση. Παρόλα αυτά, εφόσον το πρωτόγαλα επηρεάζει θετικά την αποκατάσταση μετά από άσκηση, θα μπορούσε να φανεί ωφέλιμο στους αθλητές κατά τη διάρκεια επαναλαμβανόμενων αναερόβιων δοκιμασιών [192].

5.2. Επίδραση του βόειο πρωτογάλατος στο ανοσοποιητικό σύστημα των αθλητών

Είναι γνωστό ότι η μέτρια άσκηση βελτιώνει τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος μειώνοντας με αυτό τον τρόπο το κίνδυνο λοιμώξεων. Ωστόσο, η έντονη ή/και παρατεταμένη άσκηση μπορεί να προκαλέσει ανοσοκαταστολή για αρκετές ώρες μετά την άσκηση που επηρεάζει την ειδική και μη ειδική ανοσολογική άμυνα του οργανισμού, αυξάνοντας την ευαισθησία των αθλητών σε λοιμώξεις, ιδιαίτερα του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος (URTIs). Η υπερπροπόνηση ή ο μη επαρκής χρόνος αποκατάστασης μεταξύ των προπονήσεων

συμβάλλουν στην επιδείνωση αυτών των επιδράσεων. Παρόλο που η σχέση μεταξύ άσκησης και URTIs δεν είναι πλήρως κατανοητή και μπορεί να εξαρτάται από διάφορους ατομικούς παράγοντες, η ταυτοποίηση αρκετών ανοσοδιεγερτικών και αντιμικροβιακών παραγόντων στο πρωτόγαλα έχει οδηγήσει του ερευνητές στην υπόθεση ότι η λήψη πρωτογάλατος θα μπορούσε να υποστηρίξει και να διεγείρει τις λειτουργίες του ανοσοποιητικού συστήματος στους αθλητές [165]. Πράγματι, έχει φανεί ότι η χορήγηση ΒΠ οδηγεί σε μείωση των συμπτωμάτων των URTIs στους αθλητές [192]. Αρκετές μελέτες έχουν διερευνήσει την επίδραση αυτή των συμπληρωμάτων ΒΠ στη πρόληψη της καταστολής του ανοσοποιητικού συστήματος που προκαλείται μετά από άσκηση. Ιδιαίτερη έμφαση έχει δοθεί από τους ερευνητές στους αμυντικούς μηχανισμούς του βλεννογόνου και στα επίπεδα έκκρισης της ανοσοσφαιρίνης IgA, αν και διάφοροι άλλοι ανοσολογικοί δείκτες έχουν διερευνηθεί.

Η ανοσοσφαιρίνη IgA είναι γνωστό ότι συμβάλλει στη πρώτη γραμμή άμυνας, παρέχοντας προστασία στις επιφάνειες του βλεννογόνου από εντερικές τοξίνες και παθογόνους μικροοργανισμούς, παίζοντας με αυτό τον τρόπο σημαντικό ρόλο στη προστασία του αναπνευστικού, γαστρεντερικού και ουροποιητικού συστήματος [165]. Σε μια μελέτη σε 20 υγιείς εθελοντές, οι Davison και Diment [197] βρήκαν αυξημένη ταχύτητα αποκοκκιοποίησης των ουδετερόφιλων *in vitro* 1 ώρα μετά την ολοκλήρωση της άσκησης και μειωμένες αλλοιώσεις που προκαλούνται από την άσκηση στη συγκεντρώσεις της λυσοζύμης στα άτομα που λάμβαναν τα συμπληρώματα πρωτογάλατος. Ωστόσο, δε βρέθηκε κάποια επίδραση στις συγκεντρώσεις IgA, κάτι που έρχεται σε συμφωνία και με τα αποτελέσματα άλλων μελετών [178, 198]. Αντιθέτως, άλλοι ερευνητές έχουν αναφέρει σημαντικές αυξήσεις στη συγκέντρωση IgA στο σίελο μετά από συμπληρωματική χορήγηση ΒΠ. Οι Mero και συν ανέφεραν αύξηση 33% στα επίπεδα IgA του σιέλου σε υγιείς αθλητές μετά από 2 εβδομάδες συμπληρωματικής χορήγησης 20γρ ΒΠ/ημέρα έναντι ενός εικονικού φάρμακου μαλτοδεξτρίνης [189]. Τα ευρήματα αυτά υποστηρίχθηκαν και από τη μελέτη των Crooks και συν, όπου βρέθηκε σημαντική αύξηση των συγκεντρώσεων IgA στο σίελο σε 39 δρομείς μεγάλων αποστάσεων ύστερα από 12 εβδομάδες χορήγησης συμπληρωμάτων ΒΠ [199]. Ωστόσο, μεταγενέστερη μελέτη από την ίδια ομάδα ερευνητών που πραγματοποιήθηκε σε 25 ελίτ κολυμβητές και 28 μαθητές, απέτυχε να δείξει κάποια επίδραση του πρωτογάλατος στα επίπεδα ανοσοσφαιρίνης στο σίελο [198].

Σε διπλή-τυφλή μελέτη, οι Shing και συν βρήκαν ότι σε σύγκριση με τα συμπληρώματα πρωτεΐνης ορού γάλακτος, η χορήγηση 10γρ ΒΠ/ημέρα εμπόδισε τη μείωση των επιπέδων IgG₂ και των κυτταροτοξικών/κατασταλτικών CD3+CD8+ T κυττάρων σε 29 άνδρες ποδηλάτες [200]. Τέτοιες επιδράσεις παρατηρούνται μετά από μια στρεσογόνο περίοδο παρατεταμένης

άσκησης. Αντιθέτως, οι Carol και συν δε βρήκαν καμία επίδραση του πρωτογάλατος σε μεταβλητές του ανοσοποιητικού συστήματος μετά από μικρής διάρκειας έντονη άσκηση σε 10 υγιείς άνδρες αθλητές [201].

Σε μια σύγχρονη μελέτη *in vitro*, η οποία δίνει νέες διαστάσεις στο θέμα, οι Shing και συν απομόνωσαν περιφερειακά κύτταρα PBMCs από αθλητές αντοχής και εξέτασαν την επίδραση του ΒΠ στην έκφραση κυτταροκινών, όπως TNF, IFN- γ , IL-10 και IL-2. Οι μεταβολές που παρατήρησαν στην παραγωγή κυτταροκινών (αύξηση INF- γ , IL-2) μπορεί να είναι ένας πιθανός μηχανισμός που μπορεί να εξηγήσει τη σχετική ανοσία που παρουσιάζουν οι αθλητές στις αναπνευστικές λοιμώξεις μετά τη χορήγηση πρωτογάλατος [202]. Οι μεταβολές στη παραγωγή κυτταροκινών, και συγκεκριμένα στις προφλεγμονώδης κυτταρόκίνης IL-1 β , που σχετίζονται με τη κόπωση που προκαλείται από άσκηση, θα μπορούσαν να επηρεάσουν την αθλητική απόδοση. Ο Lakier Smith [203] έκανε μια υπόθεση σχετικά με το σύνδρομο υπερπροπόνησης και τα επίπεδα κυτταροκινών, κατά την οποία οι επαναλαμβανόμενες συνεδρίες άσκησης χωρίς να μεσολαβεί επαρκής χρόνος αποκατάστασης οδηγούν σε κόπωση, μειωμένη διάθεση και ενεργοποίηση του συμπαθητικού συστήματος. Οι μεταβολές στα επίπεδα κυτταροκινών που πιθανόν επιφέρει η χορήγηση ΒΠ θα μπορούσαν να επηρεάσουν την αθλητική απόδοση και αποκατάσταση [192].

5.3. Επίδραση βόειου πρωτογάλατος στη γαστρεντερική λειτουργία των αθλητών

Έχει φανεί ότι το πρωτόγαλα επηρεάζει θετικά στη γαστρεντερική ακεραιότητα, διαπερατότητα και φλεγμονή, ιδιαίτερα όταν λαμβάνεται παράλληλα με NSAIDs. Η έντονη άσκηση μπορεί να επιφέρει αύξηση της διαπερατότητας του εντέρου και να οδηγήσει σε μετακίνηση βακτηριακών ενδοτοξινών και πρόκληση γαστρεντερικών προβλημάτων, όπως ναυτία και διάρροια, υπονομεύοντας την αθλητική απόδοση. Το ΒΠ θα μπορούσε να έχει ευεργετική επίδραση στους αθλητές κατά τη διάρκεια έντονων προπονητικών περιόδων που θα μπορούσαν να αυξήσουν την εντερική διαπερατότητα, ειδικότερα κατά τη διάρκεια άσκησης σε θερμό περιβάλλον [192].

Σε διασταυρούμενη κλινική δοκιμή, όπου συμμετείχαν 12 υγιείς άνδρες, τα συμπληρώματα ΒΠ οδήγησαν σε μείωση της προκαλούμενης από την άσκηση αύξησης της εντερικής διαπερατότητας. Οι συγγραφείς πρότειναν ότι η επίδραση αυτή οφείλεται στη μείωση της προκαλούμενης από τη θερμοκρασία απόπτωσης των HT29 κυττάρων και στην ενίσχυση της παραγωγής των πρωτεϊνών οξείας φάσης [204]. Ακόμα πιο ενδιαφέροντα είναι τα ευρήματα

μελέτης σε αρουραίους, όπου φάνηκε ότι το ΒΠ μείωσε σημαντικά τη προκαλούμενη από θερμότητα εντερική υπερδιαπερατότητα και τη συγκέντρωση ενδοτοξίνης στο αίμα [205]. Αντιθέτως, σε μια άλλη μελέτη, σε 30 υγιείς άνδρες, βρέθηκε αυξημένη εντερική διαπερατότητα μετά από χορήγηση 60gr ΒΠ/ημέρα σε σύγκριση με αυτούς που καταλάωναν πρωτεΐνη ορού γάλακτος. Ωστόσο, στη συγκεκριμένη μελέτη δε παρατηρήθηκε κάποια αύξηση στη διαπερατότητα του εντέρου λόγω του πρωτοκόλλου της άσκησης και έτσι τα αποτελέσματα αυτά είναι ασαφή όσον αφορά την επίδραση της άσκησης στην εντερική διαπερατότητα [206].

5.4. Η επίδραση του βόειου πρωτογάλατος στο προκαλούμενο από την άσκηση οξειδωτικό στρες

Το βόειο πρωτόγαλα λόγω των αντιοξειδωτικών συστατικών που περιέχει θα μπορούσε να συνεισφέρει θετικά στην αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες που προκαλείται σε περιόδους έντονης άσκησης και κατά την AMB, περιορίζοντας με αυτό τον τρόπο τις αρνητικές επιδράσεις των ελεύθερων ριζών. Μέχρι σήμερα μόνο μια μελέτη έχει διερευνήσει το πιθανό ρόλο των συμπληρωμάτων ΒΠ στο προκαλούμενο από την άσκηση οξειδωτικό στρες. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε πειραματόζωα και περιλάμβανε 4 ομάδες: ομάδα ελέγχου, ομάδα χορήγησης ΒΠ (50mg/kg ΣΒ), ομάδα άσκησης (30 λεπτά την ημέρα τρέξιμο στο διάδρομο) και ομάδα άσκησης και χορήγησης ΒΠ. Μετά τις 42 ημέρες που διήρκεσε η μελέτη και οι τρεις ομάδες παρέμβασης εμφάνισαν στατιστικά σημαντική αύξηση στο πρωτεϊνικό περιεχόμενο στο μυ του ποδιού, με την ομάδα άσκησης + ΒΠ να παρουσιάζει τη μεγαλύτερη αύξηση. Οι δύο ομάδες που λάμβαναν τα συμπληρώματα ΒΠ εμφάνισαν στατιστικά σημαντική μείωση στα επίπεδα λιπιδικής υπεροξειδωσης και συνολικού αντιοξειδωτικού περιεχομένου στο μυ και στατιστικά σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης του αντιοξειδωτικού ενζύμου της υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD). Αντιθέτως, η ομάδα που έκανε άσκηση παρουσίασε στατιστικώς αυξημένα επίπεδα λιπιδικής υπεροξειδωσης και συνολικού αντιοξειδωτικού περιεχομένου στο μυ και στατιστικώς μειωμένα επίπεδα SOD. Στην ομάδα ελέγχου δε παρατηρήθηκαν κάποιες μεταβολές. Επιπλέον, τα επίπεδα οξειδάσης της ξανθίνης μειώθηκαν στην ομάδα άσκησης και στην ομάδα άσκηση/ΒΠ, ενώ δε παρουσίασαν κάποια μεταβολή στις δύο άλλες ομάδες. Τα ευρήματα της συγκεκριμένης μελέτης προτείνουν ότι τα συμπληρώματα ΒΠ μπορούν να επιφέρουν ευεργετικές επιδράσεις στο μυϊκό ιστό, περιορίζοντας της οξειδωτικές βλάβες που προκαλούνται από τις ελεύθερες ρίζες κατά τη διάρκεια άσκησης [207].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΚΟΠΟΣ

Η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη συνοδεύεται από ένα σύνολο αρνητικών επιδράσεων που μπορεί να δημιουργήσουν σημαντικά προβλήματα στη προπόνηση και την απόδοση των αθλητών, αλλά και των ατόμων που αθλούνται για λόγους αναψυχής. Ο μυϊκός πόνος, η προσωρινή απώλεια δύναμης, ο περιορισμός στη κίνηση και η μειωμένη ικανότητα πραγματοποίησης άσκησης στην επιθυμητή ένταση επηρεάζουν σημαντικά τις συνεδρίες άσκησης που ακολουθούν μετά την AMB. Μάλιστα πολλοί αθλητές συχνά καλούνται να προπονηθούν και να αγωνιστούν αρκετές φορές σε σχετικά σύντομο χρονικό διάστημα, χωρίς να μεσολαβεί επαρκής χρόνος για φυσική αποκατάσταση. Αυτό είναι εμφανές σε μια ποικιλία αθλημάτων, και είναι ίσως πιο εμφανές σε αθλήματα όπως το ποδόσφαιρο, όπου τα άτομα αγωνίζονται και προπονούνται καθημερινά. Ως εκ τούτου, η μεγιστοποίηση και η επιτάχυνση της διαδικασίας ανάκαμψης είναι ζωτικής σημασίας για την ενίσχυση της απόδοσης των αθλητών. Οι διατροφικές παρεμβάσεις που στοχεύουν στη μείωση των συστηματικών φαινομένων που συνοδεύουν την AMB, όπως η φλεγμονή και το οξειδωτικό στρες, θα μπορούσαν με ήπιο και φυσικό τρόπο να περιορίσουν σημαντικά την ένταση και τη χρονική διάρκεια των συμπτωμάτων της AMB, επιτρέποντας στους αθλητές να επιστρέψουν ταχύτερα στις προπονητικές και αγωνιστικές υποχρεώσεις τους. Το βόειο πρωτόγαλα, λόγω των ανοσορρυθμιστικών και αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων του, καθώς και της περιεκτικότητας του σε αυξητικούς παράγοντες, αποτελεί ένα διατροφικό συμπλήρωμα που δυνητικά θα μπορούσε να επηρεάσει τους μηχανισμούς φλεγμονής και αναγέννησης του μυϊκού ιστού μετά από AMB, να ενισχύσει την αντιοξειδωτική ικανότητα του αθλητή και να τον βοηθήσει να επανέλθει στη πρότερη κατάσταση του ταχύτερα ή βιώνοντας ηπιότερα συμπτώματα μυϊκής βλάβης. Στα πλαίσια αυτά ο σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι: **α)** Η κινητική μελέτη της απόκρισης των μεταβολιτών της PGE₂ (PGEM) και του αποικοδομητικού ενζύμου του PAF, LpPLA₂ μετά από πρωτόκολλο διαλλειματικής άσκησης που προσομοιάζει αγώνα ποδοσφαίρου (Loughborough Intermittent Shuttle Test (LIST), **β)** Η αναζήτηση πιθανών σχέσεων μεταξύ LpPLA₂, PGEM και άλλων εμπλεκόμενων παραγόντων, με σκοπό τη καλύτερη κατανόηση του ρόλου τους στις διαδικασίες μυϊκής βλάβης και επιδιόρθωσης μετά από άσκηση, **γ)** Η μελέτη της επίδρασης της χορήγησης συμπληρώματος βόειου πρωτογάλατος στην απόκριση των λιποειδικών μεσολαβητών μετά από έναν αγώνα ποδοσφαίρου και η εκτίμηση της ικανότητας του πρωτογάλατος, μέσω της επίδρασης του σε αυτούς, να οδηγεί σε μείωση των κλινικών φαινομένων που επακολουθούν της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, **δ)** Η κινητική μελέτη της μεταβολής της LpPLA₂ μετά από χορήγηση διαφορετικών δοσολογιών και τύπων συμπληρώματος βόειου πρωτογάλατος

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

7.1. Πρωτόκολλα παρέμβασης

7.1.1. 1^ο Ερευνητικό πρωτόκολλο – Επίδραση χορήγησης colostrum σε δείκτες AMB μετά από πρωτόκολλο άσκησης που προσομοιάζει αγώνα ποδοσφαίρου (LIST)

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

Οι προϋποθέσεις για την συμμετοχή τους στην μελέτη ήταν:

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

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

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

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

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

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

3. Έγινε μέτρηση της ΜΙΑ

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 24 ώρες
3. Στις 48 ώρες
4. 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, 8 χάπια των 400 mg πρωτεΐνης ημερησίως, δηλαδή 3,2 g/ημέρα)

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

Μετά από τρεις εβδομάδες χορήγησης οι εθελοντές προσήλθαν ξανά στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο για:

1. Συλλογή αίματος
2. Συλλογή σιέλου

Στη συνέχεια για τις επόμενες 3 εβδομάδες 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 από την χορήγηση των 6 εβδομάδων, στους εθελοντές επαναλήφθηκε όλη η διαδικασία του πρωτοκόλλου LIST όπως και την πρώτη φορά και επαναλήφθηκαν οι μετρήσεις στις 2, 24, 48 και 72 ώρες μετά την άσκηση. Μέχρι και την τελευταία αιμοληψία οι εθελοντές συνέχισαν να καταναλώνουν το σκεύασμα.

Το πρώτο πρωτόκολλο LIST κωδικοποιήθηκε ως BL και το δεύτερο πρωτόκολλο LIST ως FL.

7.1.2. 2ο Ερευνητικό πρωτόκολλο – Επίδραση χορήγησης διαφορετικών μορφών colostrum σε βιοχημικούς δείκτες.

Το δείγμα της έρευνας αποτέλεσαν, οι εθελοντές του πρώτου πρωτοκόλλου καθώς και αθλούμενοι (κυρίως αθλητές) παρόμοιας προπονητικής κατάστασης με αυτούς του 1^{ου} πρωτοκόλλου.

Οι προϋποθέσεις για την συμμετοχή τους στην μελέτη ήταν:

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

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

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

- 1. ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών
 - 2. σύστασης σώματος
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 ΒΠ (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 ήταν 3 χάπια το πρωί, τρία το μεσημέρι και δύο το βράδυ με τα κύρια γεύματα.

Ομάδα Γ: Εικονικό σκεύασμα (εμπορικά διαθέσιμη πρωτεΐνη ορού γάλακτος, 2 χάπια των 400 mg πρωτεΐνης ημερησίως, δηλαδή 0,8 g/ημέρα)

Ομάδα Δ: Συμπλήρωμα ΒΠ (Colostrum Compact) σε μορφή χαπιού της εταιρείας LR Health and Beauty Systems (2 χάπια των 400 mg BC ημερησίως, δηλαδή 0,8g/ημέρα)

Ομάδα Ε: Υγρό ΒΠ (Colostrum Direct), της ίδιας εταιρείας, συνολική ποσότητας 8 ml/ημέρα σε δοσολογικό σχήμα 4 ml με το πρωινό και 4 ml με το βραδινό γεύμα.

Μετά από 3 και 6 εβδομάδες χορήγησης οι εθελοντές προσήλθαν ξανά στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο για να επαναλάβουν τις ίδιες μετρήσεις όπως και παραπάνω.

7.1.3. 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 χρησιμοποιήθηκε η μορφή χαπιού Colostrum Compact και η υγρή μορφή, Colostrum Direct. Ως placebo χρησιμοποιήθηκε η πρωτεΐνη ορού γάλακτος enerZONA whey protein 90%.

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

Πίνακας 7.1: Αναγραφόμενη σύσταση των σκευασμάτων σε ενέργεια και μακροθρεπτικά συστατικά

Σύσταση	Σκεύασμα		
	Colostrum Compact	Colostrum Direct	EnerZona whey protein 90%
Ενέργεια (kJ/kcal/100g)	1552 / 367	156 / 37	395
Πρωτεΐνες (g/100g)	65	5,6	90
Υδατάνθρακες (g/ 100g)	14	3,6	1
Λιπίδια (g/100g)	5,8	<0,1	0,5

7.1.4. 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 95% VO_{2max}

Αυτό το μοτίβο ακολουθείται για διαστήματα 15min τα οποία ακολουθούνται από αντίστοιχα 3λεπτα διαστήματα ανάπαυσης. Η συνολική χρονική διάρκεια του τεστ ήταν 90min. Το

πρωτόκολλο LIST έγινε σε παρακείμενα του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου γήπεδα ποδοσφαίρου. Ο κάθε εθελοντής εκτέλεσε και το BL και το FL στο ίδιο γήπεδο.

7.2. Μέθοδοι και εργαλεία εκτίμησης των αποτελεσμάτων

7.2.1. 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).

7.2.2. 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 απορροφησιμετρίας 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.

7.2.3. 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 VO_{2max} υπολογίστηκε η ταχύτητα που αντιστοιχεί στο 55 και 95% της VO_{2max} . Μετά από την μέτρηση οι δοκιμαζόμενοι δοκίμασαν το LIST για 30min για εξοικείωση.

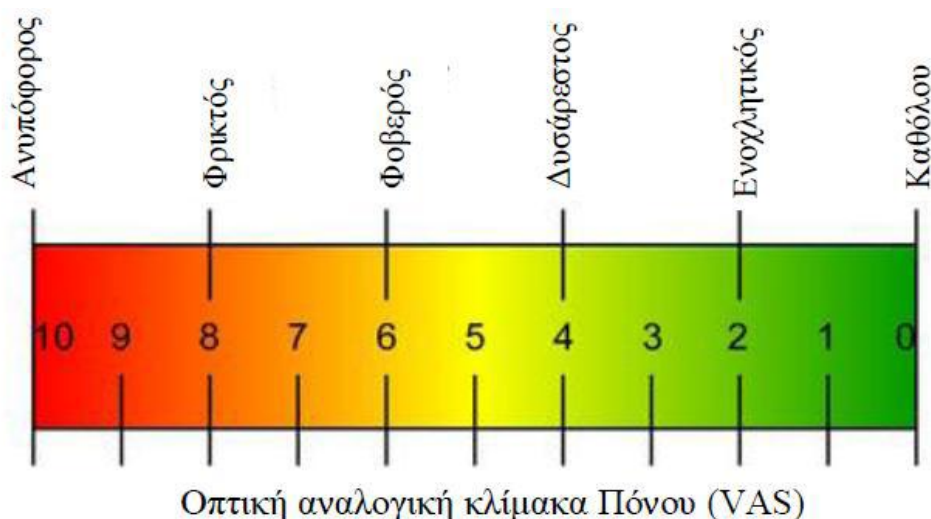
7.2.4. Προσδιορισμός μυϊκής δύναμης

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

7.2.5. 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 αντανakλούσε 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

7.2.6. 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.

7.2.7. Απομόνωση ορού και πλάσματος από το αίμα

Όργανα

Φυγόκεντρος (Avanti 30 centrifuge, Beckman)

Αναλυτική πορεία

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

7.2.8. Προσδιορισμός της δραστηριότητας της Lp-PLA₂ σε ορό

Αρχή μεθόδου

Ο προσδιορισμός της δραστηριότητας της LpPLA₂ σε ορό βασίζεται στην μετατροπή του θειοαναλόγου του PAF 2-θειο-PAF προς 2-lyso-θειο-PAF από την περιεχόμενη στον ορό LpPLA₂. Ο παραγόμενος 2-lyso-θειο-PAF αντιδρά με DTNB προς παραγωγή 5-θειο-νιτροβενζοϊκού οξέος, η απορρόφηση του οποίου μετριέται ανά λεπτό στα 412 nm. Ο ρυθμός αύξησης της απορρόφησης του 5-θειο-νιτροβενζοϊκού οξέος είναι ανάλογος της δραστηριότητας του ενζύμου.

Διαλύματα

- ✓ *Tris-HCl 100mM – EGTA 1mM pH=7,2*

Για την παρασκευή αυτού του δ/ματος χρειάστηκαν 6,057g Tris-HCl και 0,1902g EGTA που διαλύθηκαν σε 100ml απιονισμένο νερό σε ποτήρι ζέσεως.

- ✓ *DTNB 1mM*

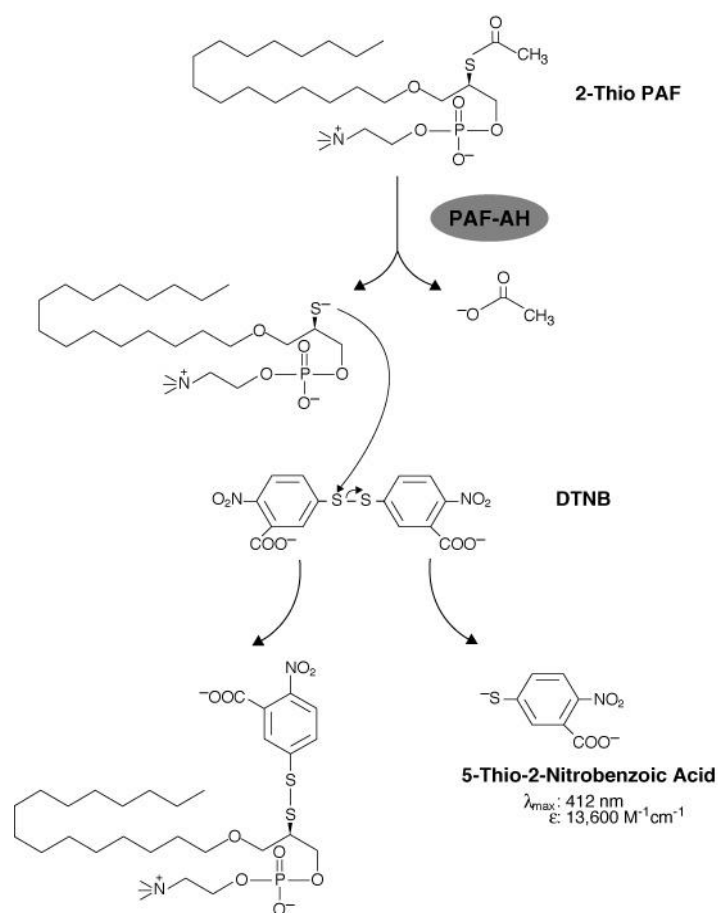
Για την παρασκευή αυτού του δ/ματος χρειάστηκαν 0,0020g DTNB που διαλύθηκαν σε 5ml Tris-EGTA σε πλαστικό δοκιμαστικό σωλήνα. Το δ/μα φτιάχνεται κάθε φορά φρέσκο και διατηρείται σε σκιερό χώρο.

- ✓ *Stock δ/μα 2-thio-PAF 10mg/200μL EtOH*

Ο στερεός 2-thio-PAF προμηθεύτηκε από την Cayman Chemical.

- ✓ *Δ/μα εργασίας 2-thio-PAF 500μM*

Για την παρασκευή αυτού του δ/ματος χρειάστηκαν 9,1μL stock δ/ματος 2-thio-PAF, τα οποία εξατμίστηκαν με τη χρήση υγρού Αζώτου. Μετά την εξάτμιση διαλύθηκαν σε 1680 μL ρυθμιστικού διαλύματος Tris-HCl 100mM – EGTA 1mM pH=7,2. Το διάλυμα εργασίας φτιάχνεται φρέσκο κάθε φορά.



Εικόνα 7.1: Φασματοφωτομετρικός Προσδιορισμός της Lp-PLA₂.

Φασματοφωτομετρικός Προσδιορισμός της Lp-PLA₂

Τα δείγματα των ορών ξεπαγώνονται από τους -80°C και διατηρούνται καθόλη τη διάρκεια σε σταθερή θερμοκρασία 4 °C.

Σε κάθε πηγαδάκι των μικροπλακιδίων τοποθετούνται 90μL Tris-HCl (100mM) – EGTA(1mM), 40μL DTNB(1mM), 10μL ορός, και η αντίδραση ξεκινάει με 60μL 2-thio-PAF (500μM). Στο τυφλό αντί για 2-thio-PAF προστίθενται 60μL Tris-HCl -EGTA.

Το πλακίδιο με τα δείγματα εισέρχεται στο φασματοφωτόμετρο και καταγράφεται η απορρόφηση στα 412nm για διάστημα 7min ανά λεπτό.

Σε κάθε δείγμα και στο τυφλό του γίνεται καμπύλη $A=f(t)$ από την οποία υπολογίζεται η κλίση της καμπύλης που αντιστοιχεί στο $\Delta A/\text{min}$. Αφαιρείται η $\Delta A/\text{min}$ του τυφλού από την $\Delta A/\text{min}$ του δείγματος.

Εφαρμόζεται ο ακόλουθος τύπος για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας της LpPLA₂ σε $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}$:

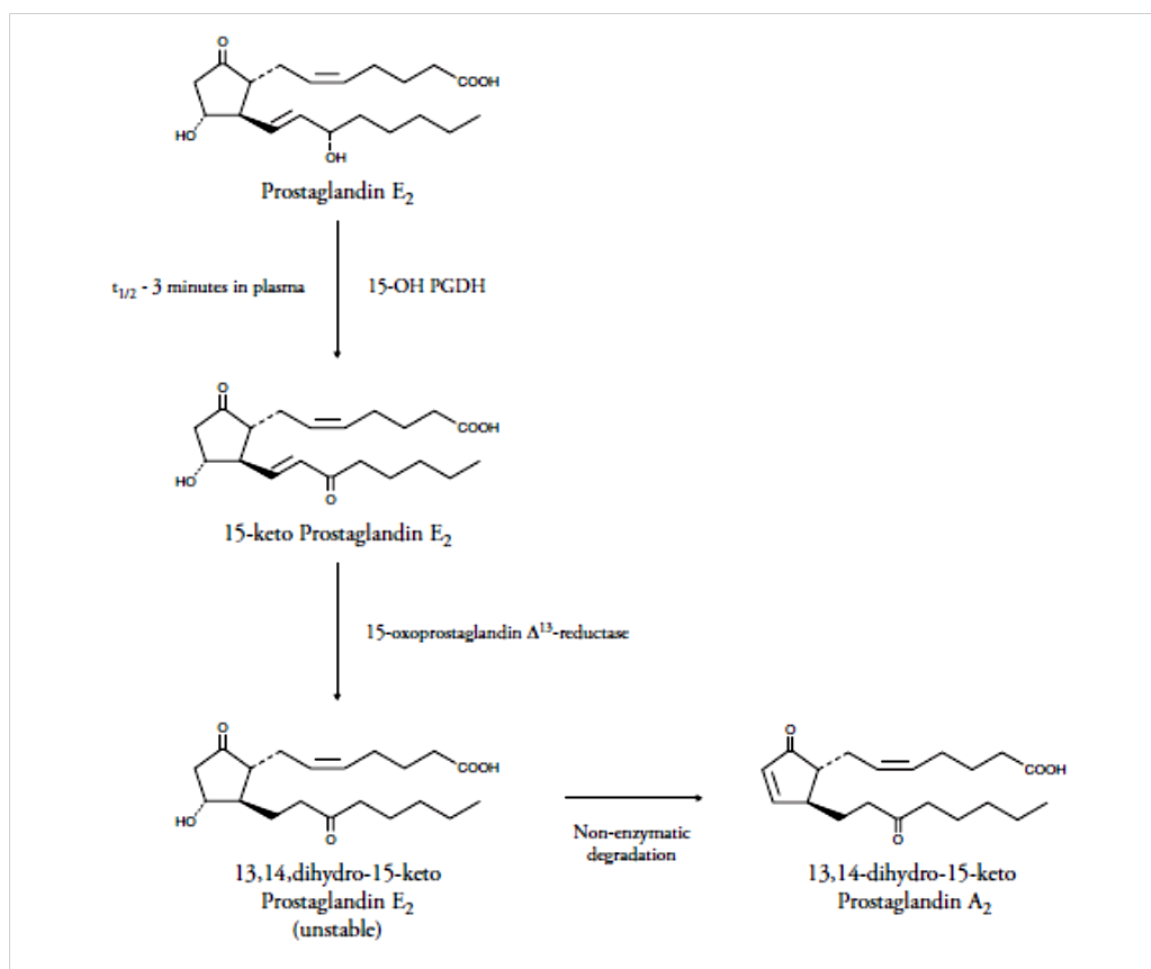
$$\text{PAF-AH } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{ml}) = \frac{\Delta A_{412}/\text{min}}{10,66\text{mM}-1} \times \frac{0,225\text{ml}}{0,01\text{ml}}$$

7.2.9. Προσδιορισμός μεταβολιτών PGE

Ο προσδιορισμός των μεταβολιτών της προσταγλανδίνης E έγινε με εμπορικά διαθέσιμο kit της εταιρείας Cayman Chemicals.

Αρχή μεθόδου

Η άμεση μέτρηση της προσταγλανδίνης E₂ (PGE₂) σε βιολογικά υγρά είναι μη αξιόπιστη δεδομένου ότι αυτή μετατρέπεται γρήγορα in vivo στο 13,14-διυδρο-15-κέτο-PGE₂ μεταβολίτη της, ειδικά όταν η PGE₂ διέρχεται από τους πνεύμονες. Δυστυχώς, αυτός ο μεταβολίτης δεν είναι χημικά σταθερός και υπόκειται σε ποικίλου βαθμού αποικοδόμηση προς παραγωγή PGA₂ αναλόγων (Εικόνα 7.2.). Για το λόγο αυτό, τα αίμα, τα ούρα και άλλα βιολογικά υγρά από ζώα ή ανθρώπους συνήθως περιέχουν πολύ λίγη ανέπαφη PGE₂ και ο προσδιορισμός των μεταβολιτών της είναι απαραίτητος προκειμένου να υπολογιστεί με αξιόπιστο τρόπο η ακριβής παραγωγή PGE₂. Η συγκεκριμένη δοκιμασία αποτελεί μια ανοσοανταγωνιστική δοκιμασία που μετατρέπει την 13,14-διυδρο-15-κέτο PGA₂ και την 13,14-διυδρο-15-κέτο PGE₂ σε ένα μοναδικό, σταθερό παράγωγο, το οποίο μπορεί εύκολα να προσδιοριστεί. Έτσι, η δοκιμασία αυτή αποτελεί μέθοδο επιλογής εάν τα υπό συζήτηση δείγματα έχουν υποστεί εκτενή μεταβολισμό πριν τη συλλογή.



Εικόνα 7.2.: Μεταβολισμός PGE₂

Συνοπτική πορεία πειράματος

Η πορεία του προσδιορισμού περιλαμβάνει τρία στάδια. Το στάδιο της προετοιμασίας των βιολογικών δειγμάτων, το στάδιο της παραγωγοποίησης και το στάδιο του ανοσοενζυμικού προσδιορισμού.

i. Προετοιμασία δειγμάτων

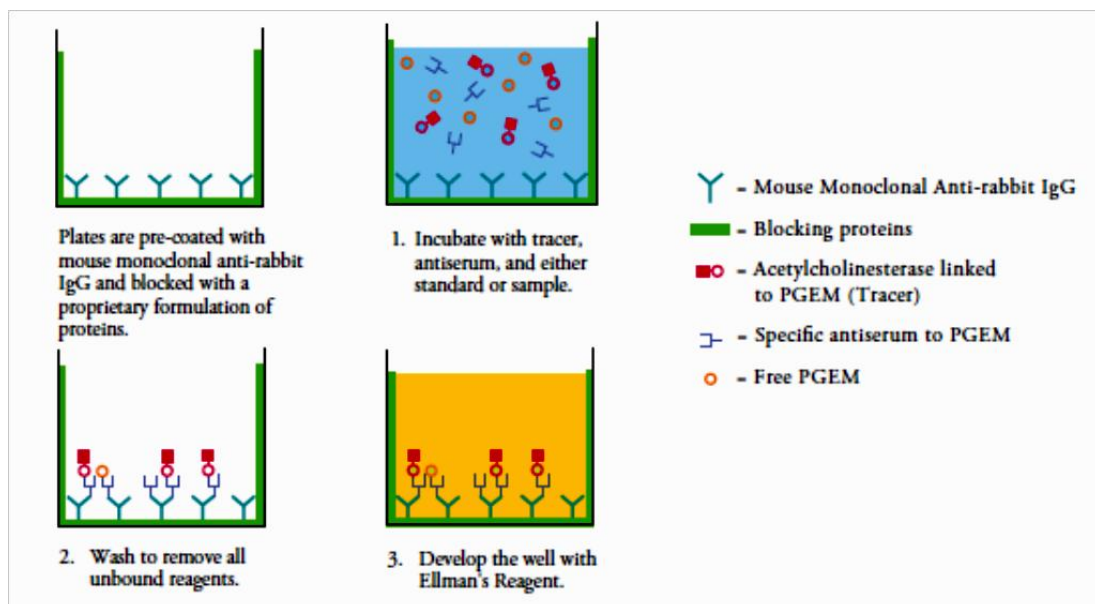
Στα δείγματα ορού γίνεται καταβύθιση με ακετόνη για την απομάκρυνση των πρωτεϊνών. Στα δείγματα προστίθενται 4 όγκοι παγωμένης ακετόνης, επωάζονται στους -20 °C για τουλάχιστον 30 λεπτά και στη συνέχεια φυγοκεντρώνονται στα 400 x g για 5 λεπτά. Το υπερκείμενο μεταφέρεται σε καθαρούς σωλήνες, ξηραίνεται κάτω από ήπιο ρεύμα αζώτου και αναδιαλύεται σε ρυθμιστικό διάλυμα.

ii. Παραγωγοποίηση δειγμάτων

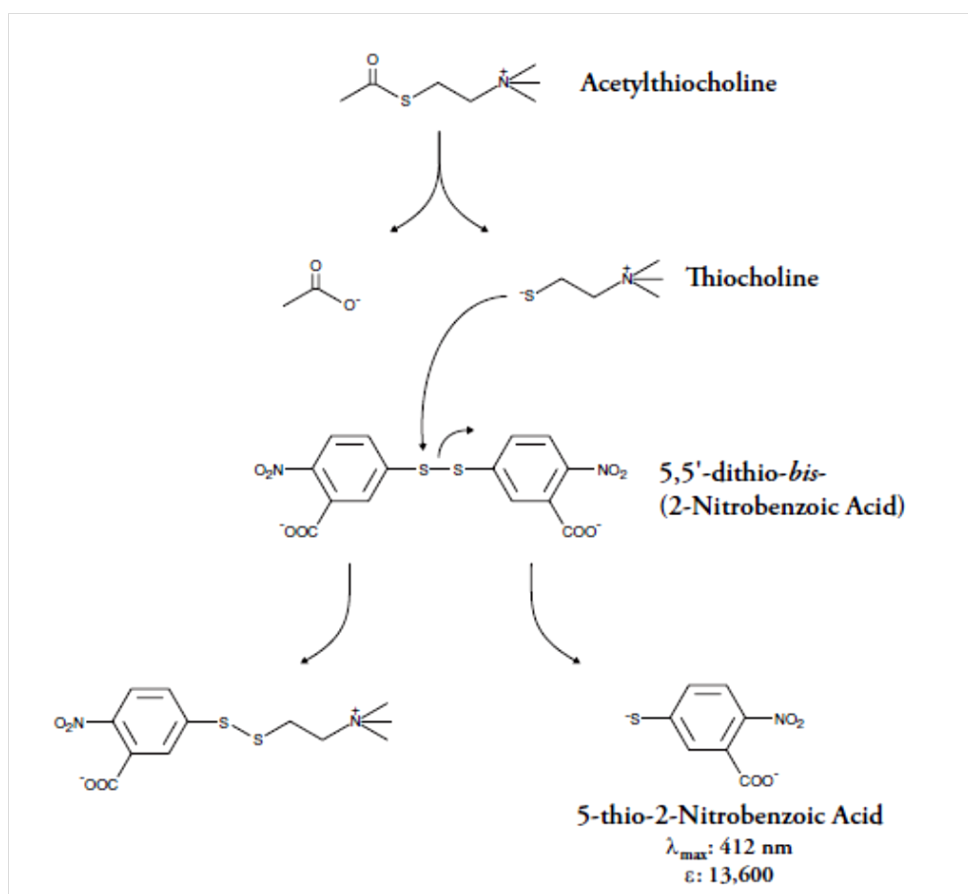
Η παραγωγοποίηση γίνεται με αντιδραστήρια της εταιρείας και η αντίδραση διαρκεί μία νύχτα. Στη συνέχεια το προϊόν της αντίδρασης παραγωγοποίησης οξινίζεται και εκχυλίζεται με οξικό αιθυλεστέρα. Μετά από εξάτμιση των εκχυλισμάτων οξικού αιθυλεστέρα, αυτά αναδιαλύονται σε συγκεκριμένο ρυθμιστικό διάλυμα και είναι έτοιμα προς προσδιορισμό.

iii. Ανοσοενζυμικός προσδιορισμός

Η δοκιμασία αυτή βασίζεται στον ανταγωνισμό ανάμεσα στο σταθερό παράγωγο της PGE₂, Prostaglandin E Metabolite (PGEM) και στο αντίστοιχο παράγωγο που είναι συζευγμένο με ακετυλοχολινεστεράση (PGEM-ακετυλοχολινεστεράση, PGEM Tracer) για έναν περιορισμένο αριθμό ειδικών για την PGEM θέσεων πρόσδεσης (αντισωμάτων) από αντιορό κουνελιού (Εικόνα 7.3.). Επειδή η συγκέντρωση του PGEM Tracer είναι σταθερή, ενώ η συγκέντρωση της PGEM ποικίλει, το ποσό του PGEM Tracer που μπορεί να δεσμευτεί στο αντιορό κουνελιού θα είναι αντιστρόφως ανάλογο της συγκέντρωσης της PGEM στο πηγαδάκι. Αυτό το σύμπλεγμα αντιορός κουνελιού-PGEM (είτε ελεύθερη, είτε ιχνηλατημένη) δεσμεύεται σε IgG αντίσωμα από αντιορό κουνελιού, το οποίο έχει προσδεθεί στο πηγαδάκι. Μετά την πρόσδεση των αντιγόνων στα αντισώματα, το μικροπλακίδιο πλένεται για να απομακρυνθούν τυχόν μη δεσμευμένα αντιδραστήρια και στη συνέχεια προστίθεται ακετυλοθειοχολίνη και DTNB. Η ακετυλοχολινεστεράση που έχει δεσμευτεί στο αντίσωμα θα υδρολύσει την ακετυλοθειοχολίνη προς θειοχολίνη, η οποία θα αντιδράσει με το DTNB προς σχηματισμό διακριτού κίτρινου έγχρωμου προϊόντος, το οποίο και απορροφά έντονα στα 412nm (Εικόνα 7.4.). Η ένταση του χρώματος είναι ανάλογη με το ποσό της PGEM Tracer που έχει δεσμευτεί στο πηγαδάκι, η οποία είναι αντιστρόφως ανάλογη με το ποσό της ελεύθερης PGEM που υπάρχει στο πηγαδάκι κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας.



Εικόνα 7.3.: Σχηματική αναπαράσταση της ανοσοενζυμικής διαδικασίας



Εικόνα 7.4.: Αντίδραση ακετυλοχολινεστεράσης

7.2.12. Στατιστική ανάλυση

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

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

8.1. Προσδιορισμός συγκέντρωσης μεταβολιτών προσταγλαδίνης E (PGEM)

Σχετικά με το προσδιορισμό της συγκέντρωσης των μεταβολιτών της PGE_2 ακολουθήθηκε η διαδικασία σύμφωνα με τις οδηγίες του kit, όπως περιγράφηκε αναλυτικά στη μεθοδολογία. Οι αραιώσεις των δειγμάτων ορού (1/20) έγιναν βάση βιβλιογραφικών στοιχείων όπου είχε μετρηθεί ο αντίστοιχος μεταβολίτης με το ίδιο kit (~ 500 pg/ml) και λαμβάνοντας υπόψη τις αραιώσεις κατά την επεξεργασία του δείγματος [208]. Η διαμόρφωση του plate φαίνεται στο Πίνακα 8.1., ενώ τα αποτελέσματα των απορροφήσεων απεικονίζονται στο Πίνακα 8.2.

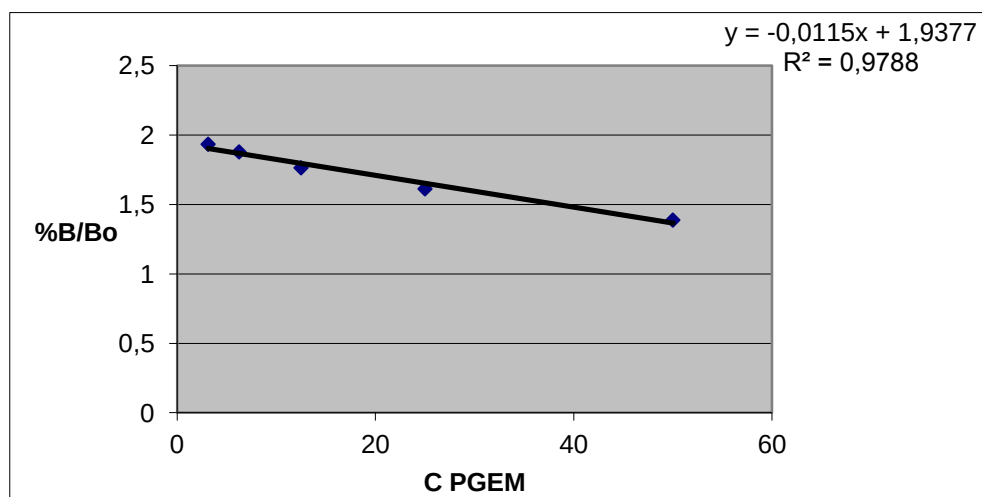
Πίνακας 8.1.: Διαμόρφωση plate προσδιορισμού συγκέντρωσης PGE_2 .

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blank	S1	S1	BL-0	BL-0	BL-0	BL-0	BL-0	BL-0	BL-0	BL-0	BL-0
B	Blank	S2	S2	BL-2	BL-2	BL-2	BL-2	BL-2	BL-2	BL-2	BL-2	BL-2
C	NSB	S3	S3	BL-24	BL-24	BL-24	BL-24	BL-24	BL-24	BL-24	BL-24	BL-24
D	NSB	S4	S4	BL-48	BL-48	BL-48	BL-48	BL-48	BL-48	BL-48	BL-48	BL-48
E	B0	S5	S5	FL-0	FL-0	FL-0	FL-0	FL-0	FL-0	FL-0	FL-0	FL-0
F	B0	S6	S6	FL-2	FL-2	FL-2	FL-2	FL-2	FL-2	FL-2	FL-2	FL-2
G	B0	S7	S7	FL-24	FL-24	FL-24	FL-24	FL-24	FL-24	FL-24	FL-24	FL-24
H	TA	S8	S8	FL-48	FL-48	FL-48	FL-48	FL-48	FL-48	FL-48	FL-48	FL-48

Πίνακας 8.2.: Αποτελέσματα απορροφήσεων για το προσδιορισμό της συγκέντρωσης PGE_2 .

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,19	0,29	0,287	0,223	0,229	0,217	0,228	0,218	0,215	0,22	0,215	0,218
B	0,193	0,35	0,345	0,233	0,207	0,236	0,224	0,223	0,225	0,208	0,213	0,25
C	0,195	0,405	0,412	0,221	0,228	0,232	0,227	0,22	0,248	0,206	0,212	0,218
D	0,208	0,468	0,474	0,221	0,229	0,215	0,205	0,239	0,224	0,209	0,208	0,208
E	0,554	0,504	0,511	0,22	0,213	0,218	0,22	0,217	0,222	0,217	0,211	0,242
F	0,579	0,533	0,566	0,213	0,212	0,215	0,231	0,227	0,233	0,216	0,239	0,251
G	0,542	0,565	0,577	0,223	0,215	0,211	0,208	0,231	0,228	0,223	0,209	0,283
H	2,042	0,55	0,572	0,216	0,233	0,207	0,25	0,216	0,213	0,222	0,202	0,223

Στη συνέχεια, κάνοντας τους κατάλληλους υπολογισμούς, σύμφωνα με τα βήματα που περιγράφονται αναλυτικά στη μεθοδολογία φτιάξαμε τη καμπύλη αναφοράς, η οποία φαίνεται στο παρακάτω διάγραμμα (Διάγραμμα 8.1.). Ωστόσο, οι τιμές απορροφήσεων των δειγμάτων μας ήταν πολύ χαμηλές, κάτω από την καμπύλη αναφοράς συνεπώς δεν μπορέσαμε να υπολογίσουμε με αξιόπιστο τρόπο τη συγκέντρωση PGEM στα δείγματά μας.



Διάγραμμα 8.1.: Καμπύλη αναφοράς για το προσδιορισμό της συγκέντρωσης PGEM.

8.2. 1^ο ερευνητικό πρωτόκολλο – Απόκριση LpPLA₂ κατά την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη και επίδραση της χορήγησης συμπληρωμάτων βόειου πρωτογάλατος σε αυτούς.

Στην έρευνα στρατολογήθηκαν αρχικά 17 εθελοντές μετά από πρόσκληση, στους οποίους πραγματοποιήθηκαν οι αρχικές μετρήσεις (baseline, t=0). Από τους εθελοντές αυτούς οι 11 ολοκλήρωσαν επιτυχώς το αρχικό πρωτόκολλο LIST (πριν τη παρέμβαση), οι οποίοι στη συνέχεια χωρίστηκαν τυχαία στις δύο ομάδες της παρέμβασης: ομάδα placebo (n=4) και ομάδα colostrum (n=7).

8.2.1. Ανθρωπομετρικά, βιοχημικά και προπονητικά χαρακτηριστικά των εθελοντών της μελέτης.

Στο Πίνακα 8.3. παρουσιάζονται οι μέσες τιμές $\pm$ τ.α των βασικών ανθρωπομετρικών και βιοχημικών δεικτών όλων των εθελοντών που συμμετείχαν στο 1^ο πρωτόκολλο της μελέτης πριν την έναρξη της παρέμβασης (baseline, t=0).

Πίνακας 8.3.: Ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά των εθελοντών στην αρχή της παρέμβασης (baseline, t=0).

Ανθρωπομετρικοί και Βιοχημικοί Δείκτες	Μέσος όρος $\pm$ ΤΑ
Ηλικία (έτη)	20,3 $\pm$ 2,1
Ύψος (m)	1,79 $\pm$ 7
Βάρος (kg)	75 $\pm$ 6,6
ΔΜΣ (kg/m ²)	23,5 $\pm$ 1,9
Επίπεδα Λευκοκυττάρων (10 ³ /μL)	5,85 $\pm$ 1,37
Επίπεδα Ερυθροκυττάρων (10 ³ /μL)	5,17 $\pm$ 0,55
Επίπεδα Αιμοπεταλίων (10 ³ /μL)	224 $\pm$ 35,5
Αιμοσφαιρίνη (g/dL)	14,7 $\pm$ 1,14
Αιματοκρίτης (%)	40,6 $\pm$ 2,9
Δραστικότητα κρεατινικής κινάσης (CK)	158 $\pm$ 75
Δραστικότητα γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH)	335 $\pm$ 145
Δραστικότητα LpPLA ₂ (nmol/min/mL)	23,5 $\pm$ 5,99

Επιπλέον, ο Πίνακας 8.4. εμπεριέχει βασικά προπονητικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης, όπως προέκυψαν από μετρήσεις της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου (VO₂max) και συμπλήρωση των αντίστοιχων ερωτηματολογίων.

Πίνακας 8.4.: Προπονητικά χαρακτηριστικά των εθελοντών στην αρχή της παρέμβασης (baseline, t=0).

Προπονητικά χαρακτηριστικά		Μέσος όρος $\pm$ TA
VO ₂ max		51,5 $\pm$ 2,5
Χρόνος προπόνησης/εβδομάδα (min)		379 $\pm$ 143
Χρόνος προπόνησης με αντιστάσεις/εβδομάδα (min)		137 $\pm$ 84
Κατηγορία ποδοσφαίρου	Β' Εθνική	4 εθελοντές
	Γ' Εθνική	0 εθελοντές
	Δ' Εθνική	2 εθελοντές
	Τοπικά πρωταθλήματα	11 εθελοντές
Θέση ποδοσφαίρου	Αμυντικοί	4 εθελοντές
	Επιθετικοί	4 εθελοντές
	Μέσοι	8 εθελοντές
	Τερματοφύλακες	1 εθελοντής
Συνολικός αριθμός εθελοντών		17 εθελοντές

8.2.2. Συσχέτιση των επιπέδων δραστηριότητας της LpPLA₂ με ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά.

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε έλεγχος για εύρεση πιθανών συσχετίσεων των επιπέδων δραστηριότητας της LpPLA₂ στο συνολικό δείγμα, με τα επίπεδα των βιοχημικών και ανθρωπομετρικών δεικτών, χρησιμοποιώντας τα αντίστοιχα δεδομένα από την αρχική φάση της παρέμβασης (baseline, t=0). Για την εύρεση στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων έγινε χρήση του συντελεστή συσχέτισης Pearson. Στο Πίνακα 8.5. παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των απλών συσχετίσεων που πραγματοποιήθηκαν, στα οποία περιλαμβάνονται μόνο οι συσχετίσεις που παρουσίασαν στατιστική σημαντικότητα ($p < 0,05$).

Πίνακας 8.5.: Συσχέτιση των επιπέδων δραστικότητας της LpPLA₂ με διάφορα χαρακτηριστικά των εθελοντών στην αρχή της παρέμβασης (baseline, t=0).

	Δραστικότητα LpPLA₂ (nmol/min/mL) (baseline, t=0)
Ηλικία (έτη)	r = -0,479, p = 0,015
Συχνότητα προπόνησης/εβδομάδα (φορές)	r = 0,483, p = 0,039
MCV: μέσος όγκος ερυθρών αιμοσφαιρίων (fl)	r = 0,442, p = 0,027
MCH: μέση περιεκτικότητα αιμοσφαιρίνης (pg)	r = 0,434, p = 0,030
Μέση μέγιστη ισομετρική ροπή / kg ΣΒ	r = 0,421, p = 0,036
TBARS	r = 0,515, p = 0,008
LagTime: χρόνος αντίστασης του ορού στην οξείδωση	r = 0,631, p = 0,001

Όπως παρατηρούμε στο Πίνακα 8.5. τα επίπεδα δραστικότητας της LpPLA₂ παρουσίασαν στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση με την ηλικία. Ωστόσο, δε συσχετίστηκαν σημαντικά με κάποιον άλλον ανθρωπομετρικό δείκτη. Όσον αφορά του αιματολογικούς δείκτες, τα επίπεδα δραστικότητας της LpPLA₂ φάνηκε να σχετίζονται θετικά με το MCV και MCH. Επίσης, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση των επιπέδων δραστικότητας της LpPLA₂ με τη μέγιστη ισομετρική ροπή/κιλό ΣΒ και τη συχνότητα προπονήσεων/εβδομάδα. Τέλος, τα επίπεδα TBARS και το Lagtime εμφάνισαν ισχυρή θετική συσχέτιση με τα επίπεδα δραστικότητας της LpPLA₂.

Χρησιμοποιώντας την ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης ή ανάλυση μερικών συσχετίσεων για την επιβεβαίωση της στατιστικής σημαντικότητας των παραπάνω συσχετίσεων και θέτοντας ως συγχυτικούς παράγοντες την ηλικία, βρέθηκε ότι η στατιστική σημαντικότητα των συσχετίσεων των επιπέδων δραστικότητας της LpPLA₂ με το MCV, MCH και Lagtime διατηρείται. Αντιθέτως, η συσχέτιση των επιπέδων LpPLA₂ με τη συχνότητα προπονήσεων/εβδομάδα και τη μέση ισομετρική ροπή/kg ΣΒ χάνει τη στατιστική σημαντικότητά της μετά την ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης.

8.2.3. Συσχέτιση των αρχικών επιπέδων δραστηριότητας της LpPLA₂ με δείκτες ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης μετά το LIST.

Με σκοπό να διερευνηθεί κατά πόσο τα αρχικά επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA₂ επηρεάζουν την απόκριση στην AMB, πραγματοποιήθηκε έλεγχος πιθανών συσχετίσεων μεταξύ των αρχικών επιπέδων δραστηριότητας της LpPLA₂ (baseline, t=0) και διαφόρων δεικτών AMB που αξιολογήθηκαν μετά τη δοκιμασία LIST στην αρχική φάση της μελέτης πριν την έναρξη της παρέμβασης (baseline). Οι δείκτες AMB που χρησιμοποιήθηκαν στον έλεγχο αυτό παρουσιάζονται ως % μεταβολή στις 2, 24 και 48 ώρες μετά το LIST σε σχέση με το χρόνο 0 (μηδέν) και ως συνολική μεταβολή τις πρώτες 72 ώρες μετά το LIST εκφρασμένη ως εμβαδόν κάτω από την καμπύλη AUC. Η μεταβλητή AUC εκφράζει το μέγεθος και τη διάρκεια μεταβολής του κάθε δείκτη και υπολογίζεται ως το εμβαδόν της περιοχής κάτω από τη καμπύλη που προκύπτει από τις αντίστοιχες μετρήσεις του κάθε δείκτη πριν καθώς και στις 2, 24, 48 και 72 ώρες μετά το πρωτόκολλα LIST. Για την εύρεση στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων έγινε χρήση του συντελεστή συσχέτισης Pearson. Τα αποτελέσματα του ελέγχου παρουσιάζονται στο Πίνακα 8.6., στα οποία περιλαμβάνονται μόνο οι συσχετίσεις που παρουσίασαν στατιστική σημαντικότητα ($p < 0,05$), καθώς και αυτές που εμφάνισαν οριακή στατιστική σημαντικότητα ($p < 0,08$).

Πίνακας 8.6.: Συσχέτιση των επιπέδων δραστηριότητας της LpPLA₂ στην αρχή της παρέμβασης (baseline, t=0) με δείκτες AMB μετά το LIST.

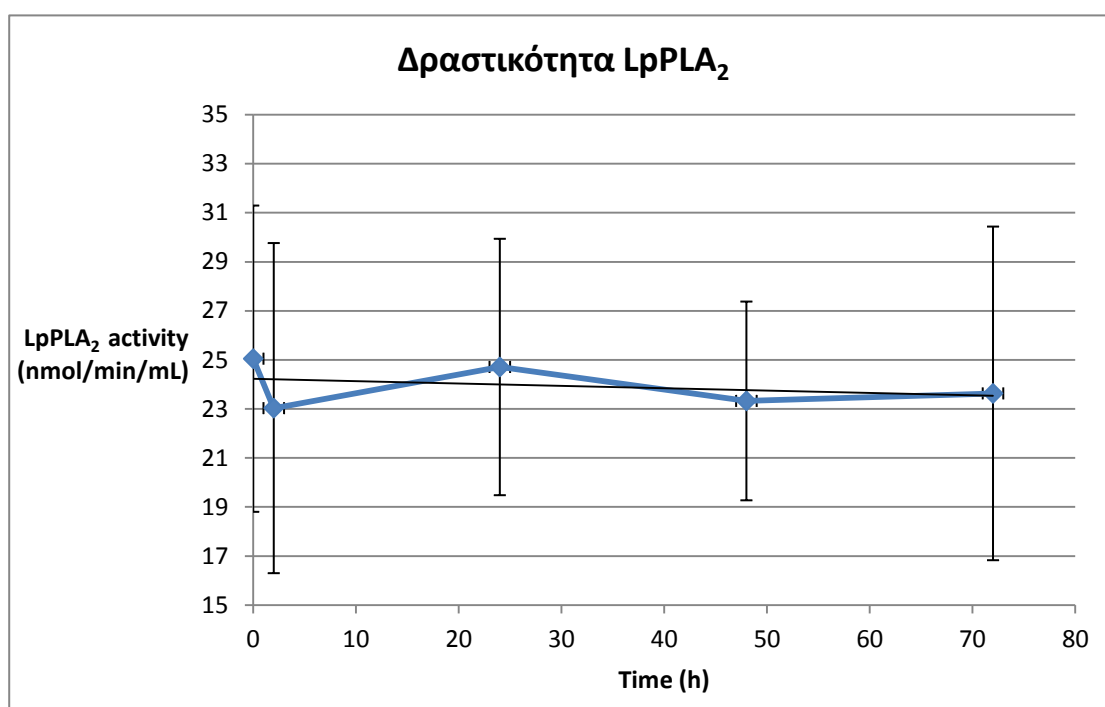
	Δείκτες AMB	Δραστηριότητα LpPLA ₂ (nmol/min/mL) (baseline, t=0)
2 ώρες μετά το LIST	Αντίληψη πόνου στο απαγωγό μυ	$r = -0,666, p = 0,009$
	% μεταβολή LagTime	$r = -0,612, p = 0,026$
48 ώρες μετά το LIST	Αντίληψη πόνου στο δикέφαλο	$r = -0,642, p = 0,013$
Συνολική μεταβολή μετά το LIST (AUC)	Αντίληψη πόνου στο δикέφαλο	$r = -0,492, p = 0,074$

Όπως φαίνεται στο παραπάνω πίνακα (Πίνακας 8.6.), στις 2 ώρες μετά την ολοκλήρωση του πρωτοκόλλου LIST, η υποκειμενική αντίληψη του πόνου στον απαγωγό μυ και η %μεταβολή του Lagtime παρουσίασαν στατιστικά σημαντική, αρνητική συσχέτιση με τα επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA₂ πριν το LIST (baseline, t=0). Στις 48 ώρες μετά το LIST, παρατηρήθηκε μια στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση της αντίληψης του πόνου στο δικέφαλο μυ με τα αρχικά επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA₂. Όσον αφορά τις συνολικές μεταβολές των διαφόρων δεικτών AMB μετά το πρωτόκολλο άσκησης, τα αρχικά επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA₂ εμφάνισαν μια οριακή αρνητική συσχέτιση ($p<0,08$) με την υποκειμενική αντίληψη του πόνου στο δικέφαλο μυ μετά την άσκηση.

Κάνοντας ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης ή ανάλυση μερικών συσχετίσεων και χρησιμοποιώντας ως συγχυτικούς παράγοντες την % μεταβολή των επιπέδων CK και WBC στις 2 ώρες, φάνηκε ότι η στατιστική σημαντικότητα της συσχέτισης των αρχικών επιπέδων δραστηριότητας της LpLPA₂ και της αντίληψης του πόνου στο απαγωγό μυ στις 2 ώρες παραμένει, ενώ όταν χρησιμοποιήθηκε ως συγχυτικός παράγοντας η διάρκεια προπονήσεων/εβδομάδα, η στατιστική σημαντικότητα της παραπάνω συσχέτισης χάθηκε. Επιπλέον, η συσχέτιση των αρχικών επιπέδων δραστηριότητας της LpLPA₂ με την % μεταβολή του Lagtime στις 2 ώρες, φάνηκε να διατηρεί τη στατιστική σημαντικότητά της, θέτοντας ως συγχυτικούς παράγοντες την % μεταβολή της CK, του WBC και των TBARS στις 2 ώρες, καθώς και τη συνολική διάρκεια προπονήσεων και προπονήσεων με βάρη ανά εβδομάδα. Στατιστικά σημαντική παρέμεινε και η συσχέτιση των αρχικών επιπέδων δραστηριότητας της LpLPA₂ με την αντίληψη του πόνου στο δικέφαλο μυ στις 48 ώρες, λαμβάνοντας υπόψη ως συγχυτικούς παράγοντες την % μεταβολή της CK και τη χρονική διάρκεια προπονήσεων ανά εβδομάδα. Ωστόσο, η συσχέτιση αυτή εξαφανίστηκε όταν χρησιμοποιήθηκε ως συγχυτικός παράγοντας η διάρκεια προπονήσεων με αντιστάσεις ανά εβδομάδα. Τέλος, η οριακή στατιστική σημαντικότητα της συσχέτισης των επιπέδων δραστηριότητας της LpPLA₂ με τη συνολική αντίληψη του πόνου στο δικέφαλο μυ μετά το LIST φάνηκε να εξαφανίζεται, όταν θέσαμε ως συγχυτικούς παράγοντες τη χρονική διάρκεια προπονήσεων κα προπονήσεων με βάρη ανά εβδομάδα.

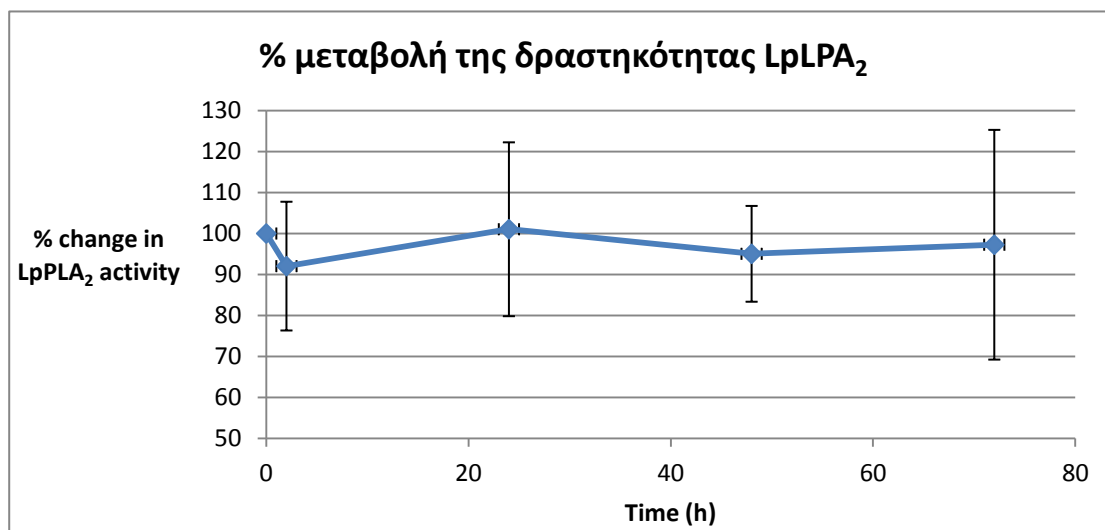
8.2.4. Επίδραση του πρωτοκόλλου LIST στα επίπεδα δραστικότητας της LpPLA₂ πριν τη παρέμβαση.

Πριν το τυχαίο διαχωρισμό των εθελοντών σε ομάδα παρέμβασης και ομάδα ελέγχου, όλοι οι εθελοντές υποβλήθηκαν στο αρχικό πρωτόκολλο LIST (BL). Με σκοπό τη διερεύνηση της επίδρασης της άσκησης στα επίπεδα δραστικότητας της LpPLA₂, πραγματοποιήθηκε έλεγχος της κινητικής των επιπέδων της μετά το LIST στις 2, 24, 48 και 72 ώρες. Στο Διάγραμμα 8.2. παρουσιάζονται τα επίπεδα δραστικότητας της LpPLA₂ πριν, καθώς και στις 2, 24, 48 και 72 ώρες μετά την άσκηση.



Διάγραμμα 8.2: Δραστικότητα της LpPLA₂ πριν και μετά το LIST (baseline).

Επιπλέον, στο Διάγραμμα 8.2. παρουσιάζεται η ποσοστιαία μεταβολή των επιπέδων δραστικότητας της LpPLA₂ μετά το LIST κατά τις αντίστοιχες χρονικές στιγμές σε σχέση με τα επίπεδα δραστικότητας της LpPLA₂ πριν το πρωτόκολλο άσκησης.



Διάγραμμα 8.3: Ποσοστιαία μεταβολής της δραστηρότητας της LpPLA₂ ως προς το χρόνο 0 πριν και μετά το LIST (baseline).

Όπως φαίνεται από τα διαγράμματα 8.2. και 8.3. και ύστερα από ανάλυση Repeated Measures ANOVA δεν υπάρχει κάποια διαφοροποίηση των επιπέδων δραστηρότητας της LpPLA₂ στις διάφορες χρονικές στιγμές μετά το πρωτόκολλο LIST.

8.2.5. Συσχέτιση των μεταβολών στα επίπεδα δραστηρότητας της LpPLA₂ με τις μεταβολές σε δείκτες AMB.

Στη συνέχεια των αναλύσεων μας πραγματοποιήθηκε έλεγχος για πιθανές συσχετίσεις των μεταβολών στα επίπεδα δραστηρότητας της LpPLA₂ στις διάφορες χρονικές στιγμές μετά το LIST (πριν την έναρξη της παρέμβασης) με τις αντίστοιχες μεταβολές που σημειώθηκαν σε δείκτες AMB τις ίδιες χρονικές στιγμές. Οι μεταβολές των διαφόρων μεταβλητών που χρησιμοποιήθηκαν εκφράζονται ως % μεταβολή στις 2, 24, 48 και 72 ώρες μετά το LIST. Για την εύρεση στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων έγινε χρήση του συντελεστή συσχέτισης Pearson. Τα αποτελέσματα του ελέγχου παρουσιάζονται στο Πίνακα 8.7., στα οποία περιλαμβάνονται μόνο οι συσχετίσεις που παρουσίασαν στατιστική σημαντικότητα ($p < 0,05$), καθώς και αυτές που εμφάνισαν οριακή στατιστική σημαντικότητα ($p < 0,08$).

Πίνακας 8.7.: Συσχέτιση των μεταβολών στα επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA₂ με μεταβολές σε δείκτες AMB μετά το LIST.

	% μεταβολή δεικτών AMB	% μεταβολή των επιπέδων δραστηριότητας της LpPLA₂
2 ώρες μετά το LIST	Ύψος άλματος από όρθια θέση	r = -0,517, p = 0,058
24 ώρες μετά το LIST	Αριθμός ουδετερόφιλων	r = -0,738, p = 0,015
24 ώρες μετά το LIST	Μέγιστη ισομετρική ροπή	r = -0,628, p = 0,016
	Μέση μέγιστη ισομετρική ροπή	r = -0,592, p = 0,026
	Μέση μέγιστη ισομετρική ροπή / kg ΣΒ	r = -0,598, p = 0,024
	Αντίληψη πόνου στο δικέφαλο	r = 0,537, p = 0,048

Όπως φαίνεται στο παραπάνω πίνακα (Πίνακας 8.7.), η % μεταβολή των επιπέδων δραστηριότητας της LpPLA₂ στις 2 ώρες παρουσίασε οριακή αρνητική συσχέτιση με την % μεταβολή του ύψους άλματος από όρθια θέση στις 2 ώρες. Επιπλέον, στις 24 ώρες η % μεταβολή των επιπέδων δραστηριότητας της LpPLA₂ συσχετίστηκε αρνητικά με την % μεταβολή των ουδετεροφίλων. Τέλος, η ποσοστιαία μεταβολή των επιπέδων δραστηριότητας της LpPLA₂ στις 48 ώρες, εμφάνισε στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση με την % μεταβολή της μέγιστης ισομετρικής ροπής, της μέσης μέγιστης ισομετρικής ροπής και της μέσης μέγιστης ισομετρικής ροπής / kg ΣΒ και στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση με την αντίληψη του πόνου κατά την ίδια χρονική στιγμή.

Κάνοντας ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης ή ανάλυση μερικών συσχετίσεων και χρησιμοποιώντας ως συγχυτικούς παράγοντες την ηλικία και το BMI, φάνηκε ότι η στατιστική σημαντικότητα της συσχέτισης της μεταβολής (%) των επιπέδων δραστηριότητας της LpPLA₂ και της μεταβολής στο ύψος άλματος από όρθια θέση στις 2 ώρες παραμένει, ενώ όταν χρησιμοποιήθηκαν ως συγχυτικοί παράγοντες η διάρκεια προπονήσεων/εβδομάδα, η % μεταβολή των επιπέδων CK και WBC στις 2 ώρες η στατιστική σημαντικότητα της παραπάνω συσχέτισης χάθηκε. Επιπλέον, η συσχέτιση της μεταβολής (%) των επιπέδων δραστηριότητας της LpPLA₂ με την % μεταβολή του ουδετερόφιλων στις 24 ώρες, φάνηκε να διατηρεί τη στατιστική σημαντικότητά της, θέτοντας ως συγχυτικούς παράγοντες την ηλικία, το BMI, καθώς και τη

συνολική διάρκεια προπονήσεων ανά εβδομάδα. Τέλος, οι συσχετίσεις της μεταβολής (%) των επιπέδων δραστηριότητας της LpPLA₂ με τις μεταβολές της μέγιστης ισομετρικής ροπής, της μέσης μέγιστης ισομετρικής ροπής, της μέσης μέγιστης ισομετρικής ροπής/kg ΣΒ και την αντίληψη πόνου στο δικέφαλο μύ στις 48 ώρες, χάθηκαν όταν χρησιμοποιήθηκε ως συγχυτικός παράγοντας η ηλικία.

8.2.6. Διαφορές στα χαρακτηριστικά των δύο ομάδων παρέμβασης κατά την έναρξη της παρέμβασης.

Οι εθελοντές της μελέτης μετά την ολοκλήρωση της πρώτης δοκιμασίας LIST (baseline) χωρίστηκαν τυχαία στις δύο ομάδες παρέμβασης: ομάδα Placebo, όπου χορηγήθηκε πρωτεΐνη ορού γάλακτος και ομάδα Colostum. Πριν την έναρξη της παρέμβασης πραγματοποιήθηκε έλεγχος (T-test) για να διαπιστωθεί αν υπάρχει κάποια διαφορά σε ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά των δύο ομάδων, τα αποτελέσματα του οποίου παρουσιάζονται στο Πίνακα 8.8. Σύμφωνα με τα δεδομένα αυτού του πίνακα, οι δύο ομάδες εμφανίστηκαν εξομοιωμένες, καθώς δε παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά σε οποιοδήποτε από τα χαρακτηριστικά που συμπεριλήφθησαν στον έλεγχο, υποδεικνύοντας έτσι μια ομοιογένεια μεταξύ των υποκειμένων στις δύο ομάδες πριν την έναρξη της παρέμβασης.

Πίνακας 8.8.: Σύγκριση χαρακτηριστικών μεταξύ των δύο ομάδων πριν την παρέμβαση.

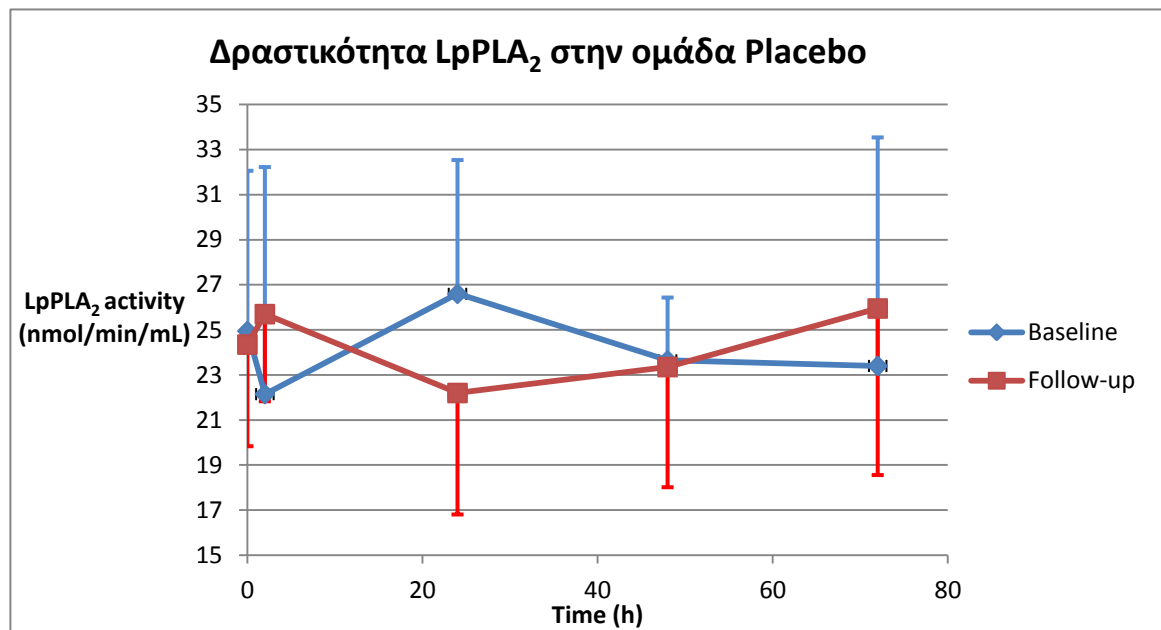
Μεταβλητές	Ομάδα PLACEBO	Ομάδα COLOSTRUM	P-value
Ηλικία (έτη)	20 ± 2	21 ± 2	0,531
Ύψος (m)	1,77 ± 0,5	1,79 ± 0,8	0,558
Βάρος (kg)	72,2 ± 5,1	74,5 ± 6,1	0,464
B.M.I. (kg/m ²)	23,0 ± 0,4	23,2 ± 1,8	0,692
VO ₂ MAX (L/min)	51,8 ± 2,7	51,3 ± 2,4	0,583
Χρόνος προπόνησης/εβδομάδα (min)	394 ± 171	372 ± 174	0,829
Χρόνος προπόνησης με αντιστάσεις/εβδομάδα (min)	120 ± 84	157 ± 93	0,662
Λευκοκύτταρα (10 ³ /μL)	6,46 ± 1,86	5,61 ± 1,2	0,393
Ερυθροκύτταρα (10 ³ /μL)	5,11 ± 0,64	5,16 ± 0,49	0,893
Αιμοσφαιρίνη (gr/dL)	14,58 ± 0,91	14,96 ± 1,33	0,544

Αιματοκρίτης (%)	40,52 ± 3,	40,87 ± 3,	0,855
Αιμοπετάλια (10 ³ /μL)	222 ± 36	226 ± 29	0,856
Μέσος όγκος αιμοπεταλίων (fL)	8,87 ± 0,85	8,38 ± 0,46	0,435
Μέγιστη ροπή τετρακεφάλου (nm)	288 ± 40	334 ± 67	0,193
Μέση ροπή τετρακεφάλου (nm)	269 ± 36	306 ± 67	0,262
Μέση ροπή τετρακεφάλου/ βάρος (100nm/kg)	363 ± 34	405 ± 88	0,288
CK	132,2 ± 60,6	152,3 ± 74,5	0,607
LDH	355,7 ± 78,4	276,2 ± 75,9	0,108
TBARS (μM)	1,48 ± 0,49	1,29 ± 0,44	0,501
LAGTIME (min)	72 ± 27	69 ± 37	0,890
GPX3	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,2	0,906
Λιπώδης μάζα σώματος (kg)	8,4 ± 2,3	9,3 ± 1,8	0,507
Άλιπη μάζα σώματος (kg)	60,8 ± 3,9	62,1 ± 4,6	0,606
Λιπώδης μάζα κάτω άκρων (kg)	2,9 ± 0,8	3,1 ± 0,4	0,654
Άλιπη μάζα κάτω άκρων (kg)	20 ± 2	21,3 ± 1,9	0,435

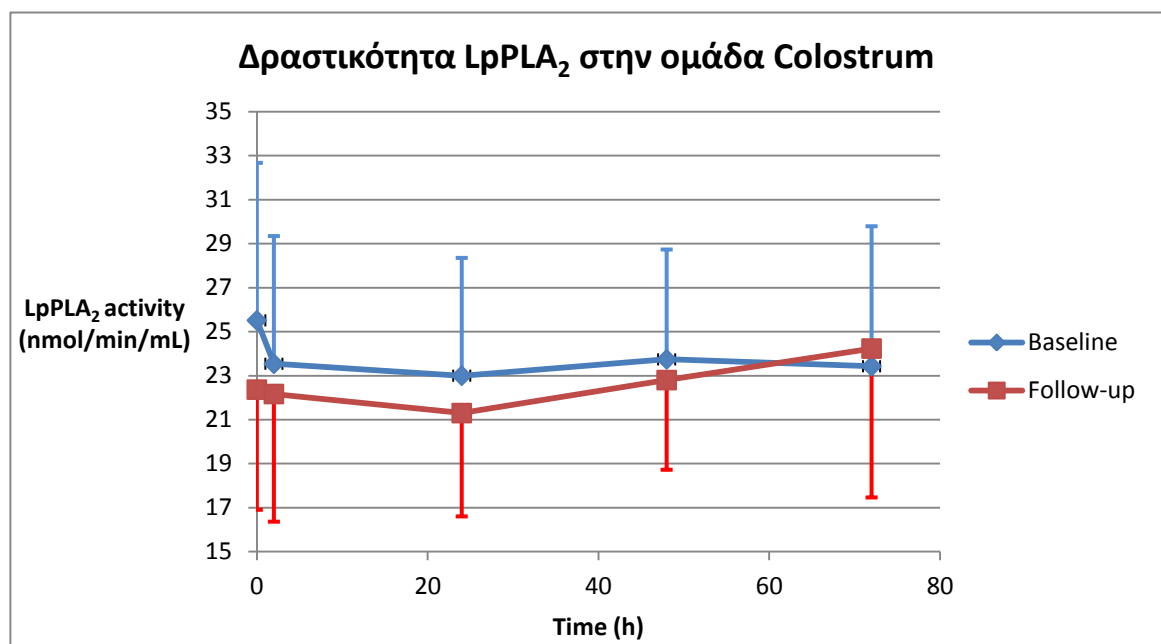
8.2.7. Επίδραση της παρέμβασης στα επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA₂ μετά από LIST.

8.2.7.1 Επίδραση της παρέμβασης στη κάθε ομάδα ξεχωριστά.

Στα παρακάτω διαγράμματα παρουσιάζεται η κινητική των μετρήσεων των επιπέδων δραστηριότητας της LpPLA₂ μετά το LIST, πριν (baseline) και μετά (Follow-up) τη παρέμβαση, στην ομάδα Placebo (Διάγραμμα 8.4.) και στην ομάδα Colostrum (Διάγραμμα 8.5.). Κάθε σειρά περιλαμβάνει μετρήσεις στις 0, 24, 48 και 72 ώρες μετά την άσκηση. Για κάθε μια από τις δύο σειρές μετρήσεων, κάθε εθελοντής υποβλήθηκε, ακριβώς μετά την αιμοληψία στο χρόνο 0, στο πρωτόκολλο LIST. Μετά την ολοκλήρωση του LIST έγιναν οι υπόλοιπες 4 αιμοληψίες, στα αντίστοιχα χρονικά διαστήματα. Επίσης, υπενθυμίζεται ότι οι εθελοντές της ομάδας Placebo λάμβαναν για έξι εβδομάδες (χρονικό διάστημα ανάμεσα στα δύο πρωτόκολλα LIST) 3,2γρ πρωτεΐνη ορού γάλακτος (WP).



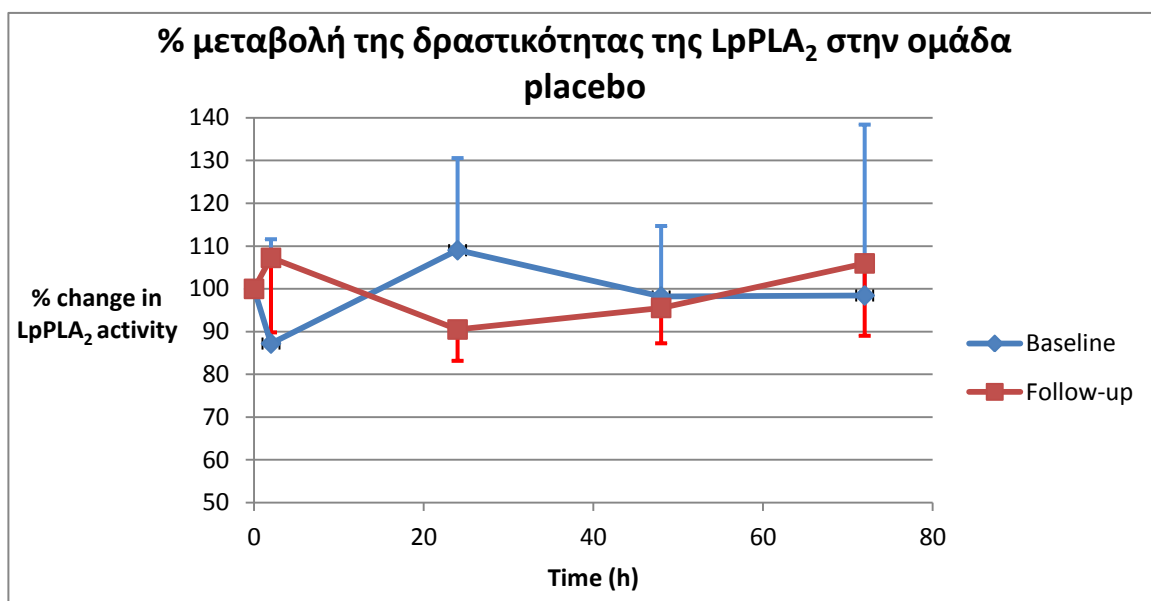
Διάγραμμα 8.4.: Επίδραση της παρέμβασης στη δραστικότητα της LpPLA₂ πριν και μετά το LIST στην ομάδα placebo.



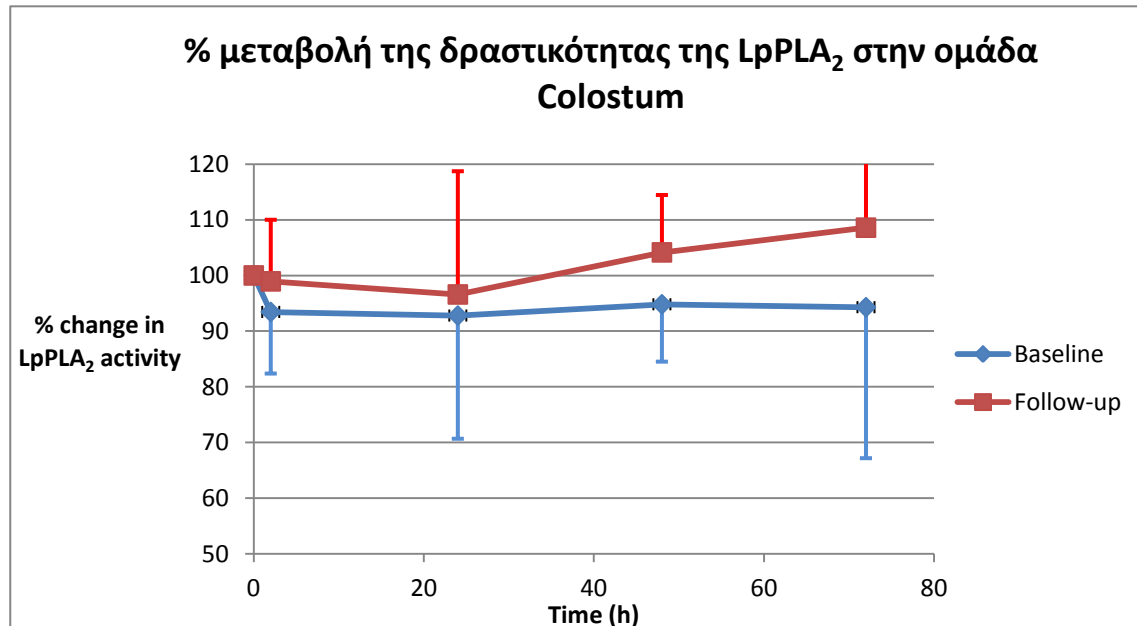
Διάγραμμα 8.5.: Επίδραση της παρέμβασης στη δραστικότητας της LpPLA₂ πριν και μετά το LIST στην ομάδα colostum.

Στα επόμενα διάγραμμα (Διάγραμμα 8.6. και Διάγραμμα 8.7.) γίνεται η ίδια σύγκριση με τη διαφορά ότι τα επίπεδα δραστικότητας της LpPLA₂ στις 2, 24, 48 και 72 ώρες μετά το LIST

εκφράζονται ως ποσοστό μεταβολής σε σχέση με τα επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA₂ στο χρόνο 0 πριν το LIST.



Διάγραμμα 8.6.: Επίδραση της παρέμβασης στην % μεταβολή της δραστηριότητας της LpPLA₂ πριν και μετά το LIST στην ομάδα placebo.



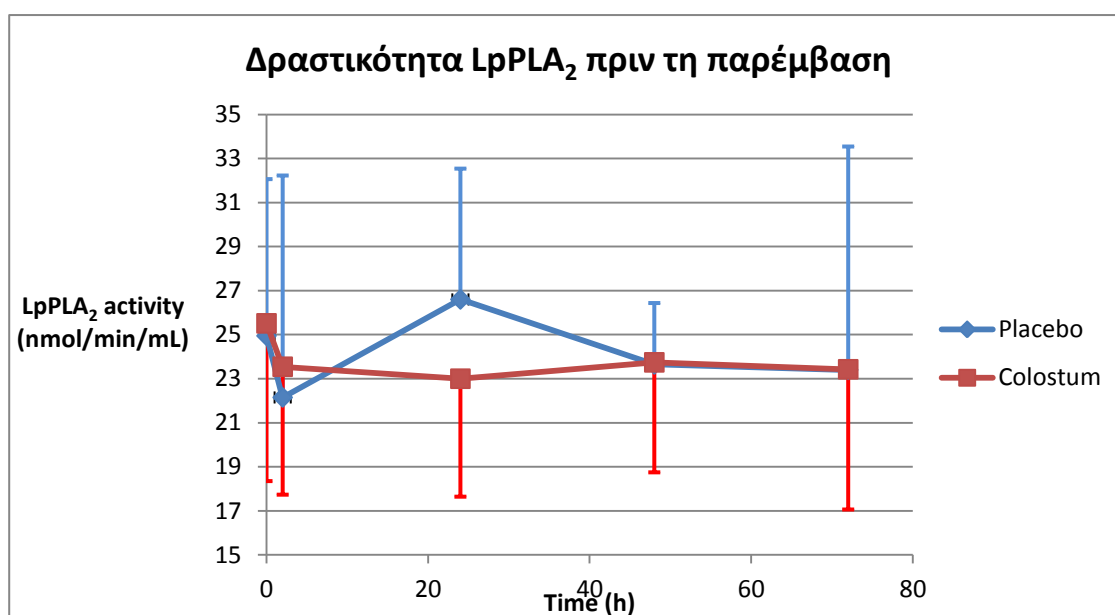
Διάγραμμα 8.7.: Επίδραση της παρέμβασης στην % μεταβολή της δραστηριότητας της LpPLA₂ πριν και μετά το LIST στην ομάδα colostum.

Όπως φαίνεται από τα διαγράμματα και ύστερα από ανάλυση Repeated Measures ANOVA δεν υπάρχει κάποια διαφοροποίηση πριν και μετά τη παρέμβαση στις μεταβολές των επιπέδων

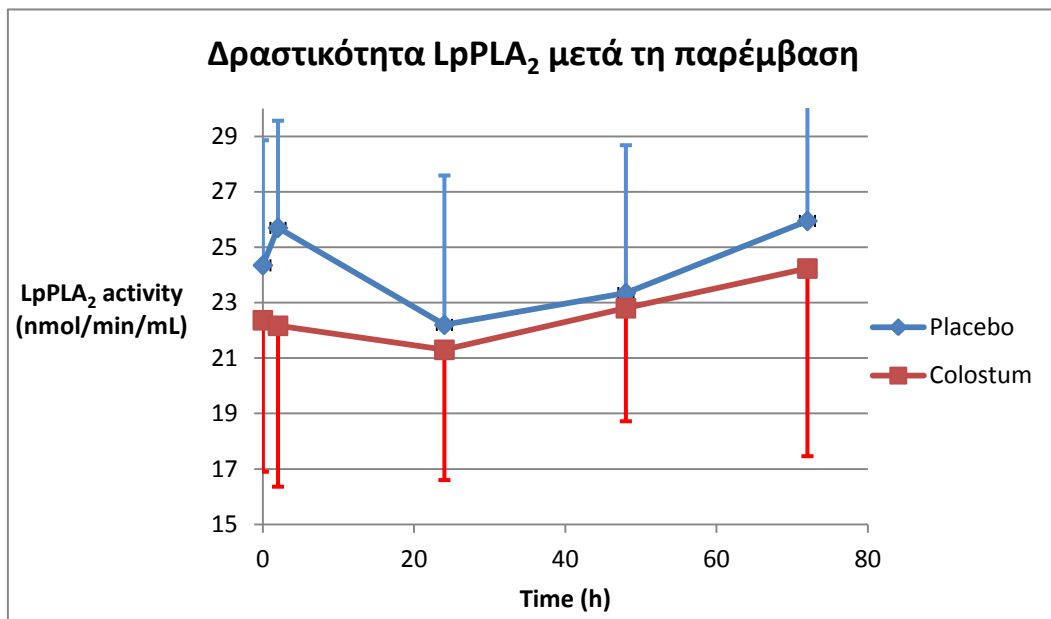
δραστηριότητας της LpPLA₂ στις διάφορες χρονικές στιγμές μετά το LIST, τόσο για την ομάδα Placebo, όσο και για την ομάδα Colostrum.

8.2.7.2. Σύγκριση της επίδρασης ανάμεσα στις δύο ομάδες.

Στη συνέχεια των στατιστικών αναλύσεων εξετάστηκαν πιθανές διαφορές στη κινητική των επιπέδων δραστηριότητας της LpPLA₂ μετά το LIST μεταξύ της ομάδας Placebo και τη ομάδας Colostrum στην αρχή των 6 εβδομάδων, δηλαδή πριν ξεκινήσει η χορήγηση WP στην ομάδα Placebo και ΒΠ στην ομάδα Colostum και στο τέλος της παρέμβασης. Στα διάγραμματα 8.8. και 8.9. παρουσιάζεται η κινητική των επιπέδων δραστηριότητας της LpPLA₂ μετά το LIST στις δύο ομάδες πριν και μετά την παρέμβαση.

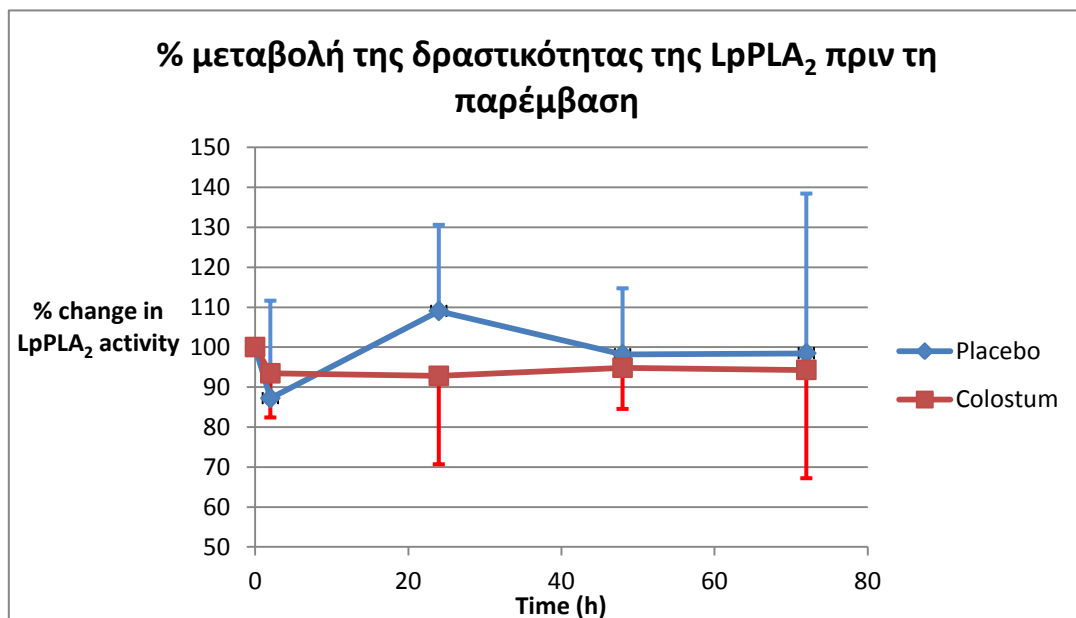


Διάγραμμα 8.8.: Σύγκριση της δραστηριότητας της LpPLA₂ μετά το LIST στις δύο ομάδες πριν τη παρέμβαση.

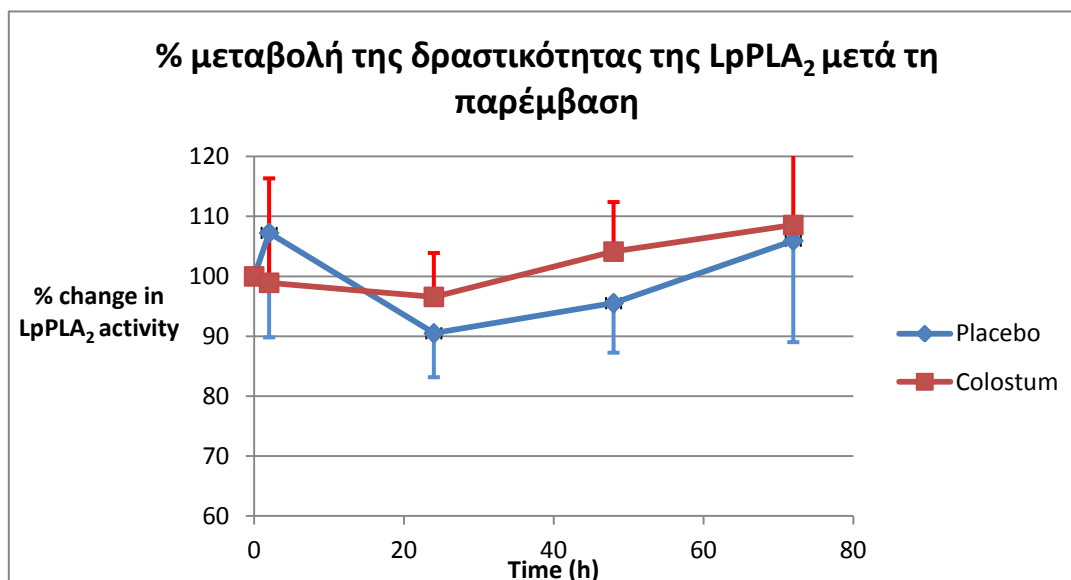


Διάγραμμα 8.9.: Σύγκριση της δραστικότητας της LpPLA₂ μετά το LIST στις δύο ομάδες μετά τη παρέμβαση.

Ακολουθώντας, στα διάγραμμα 8.10. και 9.11. γίνεται η ίδια σύγκριση, με τις τιμές των επιπέδων δραστικότητας της LpPLA₂ να εκφράζονται ως ποσοστό μεταβολής ως προς τη τιμή στο χρόνο 0.



Διάγραμμα 8.10.: Σύγκριση της % μεταβολής της δραστικότητας της LpPLA₂ μετά το LIST στις δύο ομάδες πριν τη παρέμβαση.



Διάγραμμα 8.11.: Σύγκριση της % μεταβολής της δραστηριότητας της LpPLA₂ μετά το LIST στις δύο ομάδες μετά τη παρέμβαση.

Όπως φαίνεται από τα διαγράμματα και ύστερα από ανάλυση Repeated Measures ANOVA, δεν υπάρχει κάποια διαφοροποίηση στη κινητική των επιπέδων δραστηριότητας της LpPLA₂ μετά το LIST μεταξύ της ομάδας Placebo και τη ομάδας Colostrum, τόσο πριν όσο και μετά τη παρέμβαση.

8.3. 2^ο ερευνητικό πρωτόκολλο –Επίδραση της χορήγησης διαφορετικών μορφών και ποσοτήτων βόειου πρωτογάλατος (ΒΠ) στα επίπεδα λιποειδικών μεσολαβητών.

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 ΒΠ στα επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA₂. Με την έναρξη της χορήγησης οι εθελοντές χωρίστηκαν σε 5 ομάδες και οι εθελοντές της κάθε ομάδας λάμβανε καθημερινά για 6 εβδομάδες κάποια μορφή ΒΠ 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 8.9.).

Πίνακας 8.9.: Περιγραφή ομάδων του 2^{ου} πρωτοκόλλου της μελέτης.

	ΣΥΜΒΟΛΙΣΜΟΣ	Χορήγηση καθημερινώς για 6 εβδομάδες
ΟΜΑΔΑ Α – PLACEBO (n=4)	WP 3,2	3,2γρ πρωτεΐνης ορού γάλακτος
ΟΜΑΔΑ Β – COLOSTRUM (n=8)	ΒΠ 3,2	3,2γρ βόειου πρωτογάλακτος
ΟΜΑΔΑ Γ- PLACEBO (n=6)	WP 0,8	0,8γρ πρωτεΐνης ορού γάλακτος
ΟΜΑΔΑ Δ- COLOSTRUM (n=9)	ΒΠ 0,8	0,8γρ βόειου πρωτογάλακτος
ΟΜΑΔΑ Ε – COLOSTRUM (n=8)	ΒΠΛ 8	8ml πρωτογάλακτος σε υγρή μορφή

8.3.1. Διαφορές στα χαρακτηριστικά των πέντε ομάδων παρέμβασης κατά την έναρξη της παρέμβασης.

Πριν την έναρξη της παρέμβασης πραγματοποιήθηκε έλεγχος (T-test) για να διαπιστωθεί αν υπάρχει κάποια διαφορά σε ανθρωπομετρικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά των δύο ομάδων, τα αποτελέσματα του οποίου παρουσιάζονται στο Πίνακα 8.10. Σύμφωνα με τα δεδομένα αυτού του πίνακα, οι πέντε ομάδες εμφανίστηκαν εξομοιωμένες, καθώς δε παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά σε οποιοδήποτε από τα χαρακτηριστικά που συμπεριλήφθησαν στον έλεγχο, υποδεικνύοντας έτσι μια ομοιογένεια μεταξύ των υποκειμένων στις πέντε ομάδες πριν την έναρξη της παρέμβασης.

Πίνακας 8.10.: Σύγκριση χαρακτηριστικών μεταξύ των πέντε ομάδων πριν την παρέμβαση

	WP 3,2	ΒΠ 3,2	WP 0,8	ΒΠ 0,8	ΒΠΛ 8	P-value
Ηλικία(έτη)	19,6 ± 1,9	20,7 ± 2,3	26 ± 6,9	21,8 ± 4	23 ± 6,5	0,183
Ύψος (m)	1,78 ± 0,05	1,79 ± 0,08	1,76 ± 0,04	1,795 ± 0,04	1,78 ± 0,1	0,898
Βάρος(kgr)	73,5 ± 5,6	74,55 ± 6,1	74,83 ± 4,5	81,16 ± 10,9	76,65 ± 13,3	0,477
BMI (kgr/m2)	23,08 ± 0,47	23,47 ± 1,25	26,2 ± 1,55	25,92 ± 2,88	23,71 ± 2,31	0,188
Περίμετρος μέσης (cm)	80 ± 2,1	81 ± 2,1	81,33 ± 5,2	90,25 ± 8,2	82,91 ± 7,4	0,144
Περίμετρος ισχύων (cm)	92,5 ± 3	98 ± 3	97 ± 4	103 ± 7	99 ± 6	0,387
WHR	0,86 ± 0,03	0,82 ± 0,03	0,82 ± 0,12	0,89 ± 0,02	0,81 ± 0,02	0,375
Συστολική πίεση(mm Hg)	118 ± 17	127 ± 14	129 ± 5	129 ± 9	130 ± 6	0,405
Διαστολική πίεση (mm Hg)	63 ± 14	72 ± 7	73 ± 10	74 ± 8	68 ± 9	0,441
Λευκοκύτταρα (103/μL)	6,41 ± 1,6	5,61 ± 1,19	6,58 ± 0,98	5,78 ± 1,26	5,41 ± 1,06	0,347

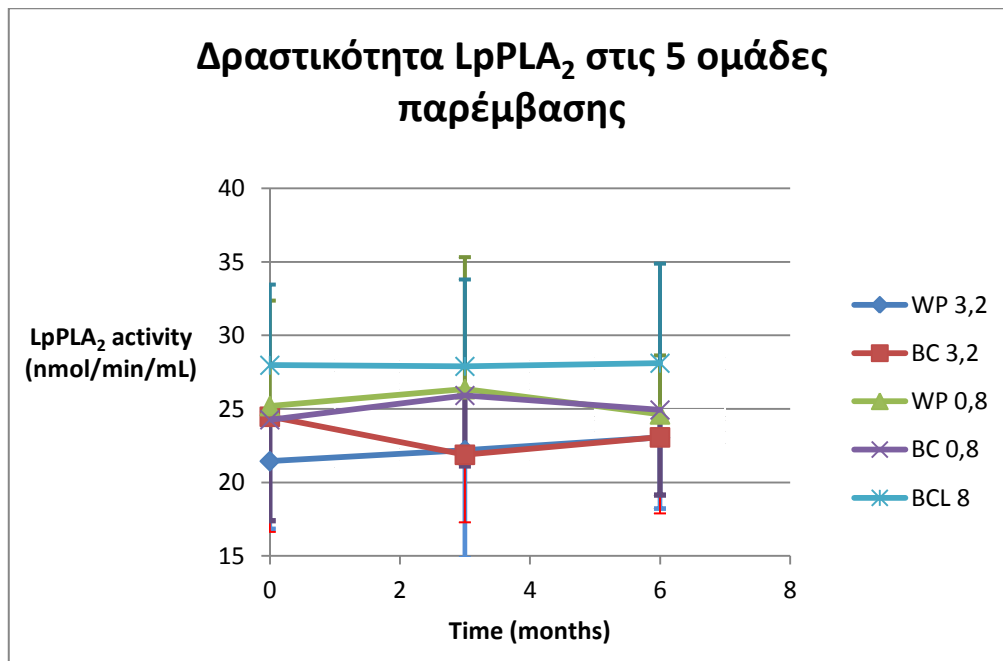
<i>Λεμφοκύτταρα (103/μL)</i>	2,55 $\pm$ 0,81	2,01 $\pm$ 0,38	2,41 $\pm$ 0,43	1,95 $\pm$ 0,29	1,97 $\pm$ 0,36	0,066
<i>Αιμοσφαιρίνη (gr/dL)</i>	14,33 $\pm$ 1,01	14,95 $\pm$ 1,32	14,6 $\pm$ 0,61	14,86 $\pm$ 0,89	15,08 $\pm$ 0,9	0,657
<i>Αιματοκρίτης</i>	40 $\pm$ 3	40 $\pm$ 3	40 $\pm$ 1	41 $\pm$ 2	41 $\pm$ 2	0,829
<i>Αιμοπετάλια (103/μL)</i>	232 $\pm$ 40	226 $\pm$ 30	228 $\pm$ 49	210 $\pm$ 39	227 $\pm$ 45	0,853
<i>Μέσος όγκος αιμοπεταλίων</i>	8,9 $\pm$ 0,69	8,38 $\pm$ 0,46	8,6 $\pm$ 0,76	8,54 $\pm$ 0,79	8,33 $\pm$ 0,6	0,709
<i>Δραστικότητα LpPLA₂ (nmol/min/mL)</i>	21,45 $\pm$ 4,6	24,48 $\pm$ 7,83	25,2 $\pm$ 7,16	24,27 $\pm$ 6,87	27,98 $\pm$ 5,49	0,585

8.3.2. Συσχέτιση βασικών ανθρωπομετρικών και βιοχημικών χαρακτηριστικών με τα επίπεδα δραστικότητας της LpPLA₂.

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε έλεγχος για εύρεση πιθανών συσχετίσεων των επιπέδων δραστικότητας της LpPLA₂ στο συνολικό δείγμα, με τα επίπεδα των βιοχημικών και ανθρωπομετρικών δεικτών, χρησιμοποιώντας τα αντίστοιχα δεδομένα πριν την έναρξη της παρέμβασης (0w). Για την εύρεση στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων έγινε χρήση του συντελεστή συσχέτισης Pearson. Στα αποτελέσματα του ελέγχου, η μόνη στατιστικά σημαντική συσχέτιση ($p=0,001$) παρατηρήθηκε μεταξύ των επιπέδων δραστικότητας της LpPLA₂ και του λόγου περιφέρεια μέσης προς περιφέρεια ισχίου (WHR). Τα επίπεδα δραστικότητας της LpPLA₂ δε συσχετίστηκαν σημαντικά με κανένα άλλο ανθρωπομετρικό ή βιοχημικό χαρακτηριστικό των εθελοντών πριν την έναρξη της παρέμβασης (0w).

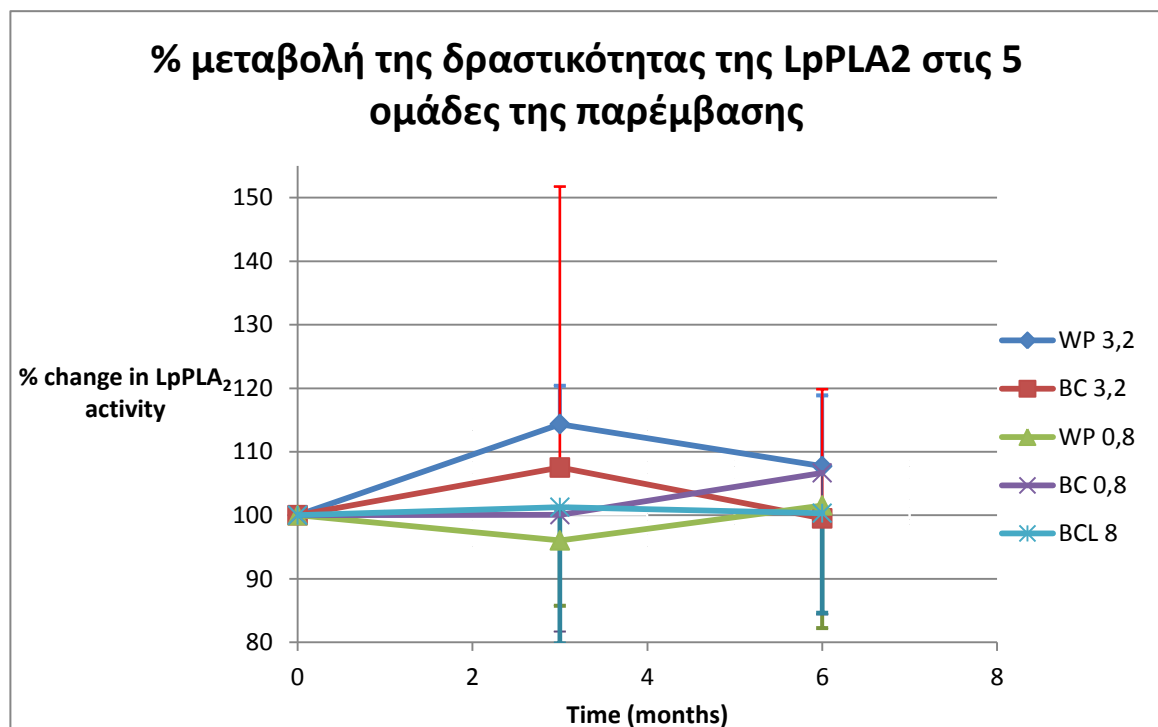
8.3.3. Σύγκριση της επίδρασης των διαφορετικών παρεμβάσεων στα επίπεδα δραστικότητας της LpPLA₂.

Σε αυτό το σημείο γίνεται η παρουσίαση της κινητικής των επιπέδων δραστικότητας της LpPLA₂ για κάθε ομάδα παρέμβασης σε κοινό διάγραμμα (Διάγραμμα 8.12.), ώστε να καταστεί δυνατή η άμεση σύγκριση. Υπενθυμίζεται ότι η κινητική προέκυψε από τον προσδιορισμό των επιπέδων δραστικότητας της LpPLA₂ 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 έναρξη της παρέμβασης.



Διάγραμμα 8.12: Επίδραση των διαφορετικών παρεμβάσεων στη δραστικότητα της LpPLA₂.

Ακολούθως, στο διάγραμμα 8.12., παρουσιάζεται η κινητική των επιπέδων δραστικότητας της LpPLA₂ στις πέντε ομάδες κατά τη διάρκεια της παρέμβασης, με τις τιμές των επιπέδων δραστικότητας της LpPLA₂ στις 3 και 6 εβδομάδες να εκφράζονται ως ποσοστό επί των επιπέδων δραστικότητας της LpPLA₂ στην αρχική μέτρηση (0w).



Διάγραμμα 8.13: Επίδραση των διαφορετικών παρεμβάσεων στη ποσοστιαία μεταβολή της δραστικότητας της LpPLA₂.

Όπως φαίνεται από τα διαγράμματα 8.12. και 8.13. και ύστερα από ανάλυση Repeated Measures ANOVA, δεν υπάρχει κάποια διαφοροποίηση στη μεταβολή των επιπέδων δραστηκότητας της LpPLA₂ μεταξύ των διαφορετικών παρεμβάσεων, ούτε μεταξύ των διαφορετικών χρονικών στιγμών (0-3w και 3-6w) στην ίδια παρέμβαση.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9: ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη (AMB) και ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος (ΚΜΠ) που τη συνοδεύει, αποτελεί ένα συχνό φαινόμενο σε αθλητές που επιστρέφουν στο κανονικό πρόγραμμα προπονήσεων ύστερα από κάποιο τραυματισμό, στην αρχή της αγωνιστικής περιόδου, όταν γίνονται αλλαγές στο είδος των προπονήσεων ή μετά από κάποιο αγώνα, καθώς και σε αγύμναστα άτομα, που μετά από καθιστική ζωή ξεκινούν κάποιο πρόγραμμα άθλησης, με μεγάλες επιβαρύνσεις και ιδιαίτερα ένα πρόγραμμα με έκκεντρου τύπου ασκήσεις. Οι αρνητικές επιδράσεις που συνοδεύουν το φαινόμενο της AMB, μπορούν να δημιουργήσουν σημαντικά προβλήματα στην προπόνηση και την απόδοση των αθλητών, αλλά και των ατόμων που αθλούνται για λόγους αναψυχής. Ο μυϊκός πόνος, η προσωρινή απώλεια δύναμης, ο περιορισμός στη κίνηση και η μειωμένη ικανότητα πραγματοποίησης άσκησης στην επιθυμητή ένταση επηρεάζουν σημαντικά τις συνεδρίες άσκησης που ακολουθούν μετά την AMB [5]. Μάλιστα πολλοί αθλητές συχνά καλούνται να προπονηθούν και να αγωνιστούν αρκετές φορές σε σχετικά σύντομο χρονικό διάστημα, χωρίς να μεσολαβεί επαρκής χρόνος για φυσική αποκατάσταση. Αυτό είναι εμφανές σε μια ποικιλία αθλημάτων, και είναι ίσως πιο εμφανές σε αθλήματα όπως το ποδόσφαιρο, όπου τα άτομα αγωνίζονται και προπονούνται καθημερινά. Ως εκ τούτου, η μεγιστοποίηση και η επιτάχυνση της διαδικασίας ανάκαμψης είναι ζωτικής σημασίας για την ενίσχυση της απόδοσης των αθλητών [98]. Προς αυτή τη κατεύθυνση, ένας μεγάλος αριθμός μελετών έχει πραγματοποιηθεί με σκοπό την αναζήτηση πρακτικών που να περιορίζουν τις επιδράσεις της AMB. Οι διατροφικές παρεμβάσεις που στοχεύουν στη μείωση των συστηματικών φαινομένων που συνοδεύουν την AMB, όπως η φλεγμονή και το οξειδωτικό στρες, θα μπορούσαν με ήπιο και φυσικό τρόπο να περιορίσουν σημαντικά την ένταση και τη χρονική διάρκεια των συμπτωμάτων της AMB, επιτρέποντας στους αθλητές να επιστρέψουν ταχύτερα στις προπονητικές και αγωνιστικές υποχρεώσεις τους. Το βόειο πρωτόγαλα, λόγω των ανοσορρυθμιστικών και αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων του, καθώς και της περιεκτικότητας του σε αυξητικούς παράγοντες, αποτελεί ένα διατροφικό συμπλήρωμα που δυνητικά θα μπορούσε να επηρεάσει τους μηχανισμούς φλεγμονής και αναγέννησης του μυϊκού ιστού μετά από AMB, να ενισχύσει την αντιοξειδωτική ικανότητα του αθλητή και να τον βοηθήσει να επανέλθει στη πρότερη κατάσταση του ταχύτερα ή βιώνοντας ηπιότερα συμπτώματα μυϊκής βλάβης.

Δείγμα μελέτης

Το δείγμα της μελέτης αποτέλεσαν ποδοσφαιριστές Δ' εθνικής κατηγορίας, καθώς και τοπικών πρωταθλημάτων. Όσον αφορά τα αποτελέσματα των μετρήσεων βασικών βιοχημικών και ανθρωπομετρικών δεικτών, όπου έγιναν στο δείγμα στην αρχή της παρέμβασης, φαίνεται ότι πρόκειται για ένα ομοιογενή πληθυσμό, υγιή, με φυσιολογικό ΔΜΣ, φυσιολογικά ποσοστά σωματικού λίπους, με μέσο όρο ηλικίας τα 20 έτη, κατάλληλα επιλεγμένο ώστε να μην εμφανίζει κάποιο παθολογικό βιοχημικό εύρημα.

Θεωρήθηκε σκόπιμο το δείγμα της μελέτης να αποτελείται από αθλητές του συγκεκριμένου αθλήματος, καθώς το ποδόσφαιρο αποτελεί ένα άθλημα ιδιαίτερα δημοφιλές παγκοσμίως και παράλληλα αρκετά απαιτητικό. Το ποδόσφαιρο κατατάσσεται στη κατηγορία των διαλειμματικών αθλημάτων, το οποίο περιλαμβάνει περιόδους με δραστηριότητες υψηλής έντασης (σπριντ, άλματα, λακτίσματα, τάκλιν κ.α.) που εναλλάσσονται με περιόδους αδράνειας ή μικρότερης έντασης (περπάτημα, τζόκιν) κατά τη διάρκεια του παιχνιδιού. Η αγωνιστική περίοδος του ποδοσφαίρου περιλαμβάνει εβδομαδιαίους μικροκύκλους που αποτελούνται από έντονες προπονήσεις με ασκήσεις διαφόρων επιβαρύνσεων, άλματα, μυϊκή ενδυνάμωση, συχνές αγωνιστικές υποχρεώσεις και μικρά διαστήματα αποκατάστασης. Οι υποχρεώσεις αυτές αυξάνουν το στρες και τις επιβαρύνσεις που δέχονται οι ποδοσφαιριστές και συμβάλλουν στην συχνή εμφάνιση ΚΜΠ [209]. Η ταχύτερη αποκατάσταση των αθλητών είναι από τα σημαντικότερα ζητήματα των μεγάλων ποδοσφαιρικών ομάδων, προκειμένου οι αθλητές να μπορέσουν να επιστρέψουν στις αγωνιστικές και προπονητικές υποχρεώσεις τους, αποδίδοντας το μέγιστο των δυνατοτήτων τους.

Πρωτόκολλο πρόκλησης AMB

Για τη πρόκληση AMB χρησιμοποιήθηκε το πρωτόκολλο Loughborough Intermittent Shuttle Test (LIST), το οποίο αποτελεί προσομοίωση ενός αγώνα ποδοσφαίρου. Πιο συγκεκριμένα, το πρωτόκολλο αυτό είναι ειδικά σχεδιασμένο ώστε να προσομοιώνει το μοτίβο δραστηριοτήτων, το φορτίο επιβάρυνσης, τη χρονική διάρκεια και τις ενεργειακές απαιτήσεις ενός ποδοσφαιρικού αγώνα, μιμείται δηλαδή τις δραστηριότητες που εκτελούνται, στην ένταση που εκτελούνται και τη συνολική απόσταση που καλύπτεται σε έναν αγώνα. Παρόλο που το μοτίβο δραστηριοτήτων και οι εντάσεις των ασκήσεων στο πρωτόκολλο LIST είναι αντιπροσωπευτικές ενός τυπικού αγώνα ποδοσφαίρου, κάποιες άλλες δραστηριότητες, όπως είναι τα άλματα, το τρέξιμο προς τα πίσω και πλαγίως, η κίνηση με κατοχή μπάλας, το τάκλιν και οι απότομες αλλαγές μπάλας δε περιλαμβάνονται στο πρωτόκολλο. Οι δραστηριότητες αυτές, λόγω της έκκεντρης φύσης τους,

θα μπορούσαν να επιφέρουν μεγαλύτερο μηχανικό στρες στους μυς, οδηγώντας σε μεγαλύτερη μυϊκή βλάβη και πόνο. Ωστόσο, έχει φανεί ότι ο ΚΜΠ που εμφανίζεται μετά από LIST δε διαφέρει από εκείνον που προκύπτει ύστερα από έναν τυπικό αγώνα ποδοσφαίρου [210]. Επομένως, το πρωτόκολλο LIST αποτελεί μια πολύ καλή προσομοίωση ενός αγώνα ποδοσφαίρου. Η επιλογή του LIST στη παρούσα μελέτη πλεονεκτεί έναντι ενός τυπικού αγώνα ποδοσφαίρου, καθώς δίνει τη δυνατότητα πραγματοποίησης της δοκιμασίας σε αρκετά ελεγχόμενες συνθήκες, με όσο το δυνατόν χαμηλότερη μεταβλητότητα στις αποκρίσεις των εθελοντών, κάτι το οποίο είναι σχεδόν αδύνατο να εξασφαλιστεί μέσω ενός ποδοσφαιρικού αγώνα, πόσο μάλλον αν οι αθλητές εξετάζονταν σε διαφορετικό χρόνο και σε διαφορετικές συνθήκες (διαφορετικοί αγώνες). Επιπλέον, ένα άλλο πλεονέκτημα του LIST είναι ότι αποτελεί ένα πρωτόκολλο με καλή επαναληψιμότητα, δίνοντας τη δυνατότητα εφαρμογής του σε μελέτες παρέμβασης, όπως η συγκεκριμένη, όπου οι δύο δοκιμασίες άσκησης, πριν και μετά τη παρέμβαση, πρέπει να είναι όσον το δυνατόν πιο επαναλήψιμες για τη διεξαγωγή αξιόπιστων αποτελεσμάτων.

AMB και μεταβολές σε λιποειδικούς μεσολαβητές φλεγμονής

Η λιποειδικοί μεσολαβητές αποτελούν μια μεγάλη ομάδα βιοδραστικών μορίων σηματοδότησης. Οι λιποειδικοί μεσολαβητές εμπλέκονται σε ένα ευρύ φάσμα φυσιολογικών και παθολογικών διεργασιών, με χαρακτηριστική την συμμετοχή τους στη φλεγμονώδη απόκριση. Τα κλασσικά εικοσανοειδή, όπως οι προσταγλαδίνες και τα λευκοτριένια, αποτελούν ισχυρά προ-φλεγμονώδη μόρια που προκαλούν αγγειοδιαστολή, αυξάνουν την αγγειακή διαπερατότητα, προωθούν τη χημειοταξία/ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων και ευαισθητοποιούν της νευρικές απολήξεις μεσολαβώντας στην εμφάνιση των συμπτωμάτων της φλεγμονής: ερυθρότητα, οίδημα και πόνο. Πιο πρόσφατα προσδιορίστηκαν και άλλα είδη λιποειδικών μεσολαβητών που εμφανίζουν αντιφλεγμονώδεις και φλεγμονωδείς ιδιότητες, όπως είναι οι λιποξίνες, οι ρεσολβίνες και οι προτεκτίνες. Τα μόρια αυτά ανταγωνίζονται τη δράση των προσταγλαδινών και λευκοτριενίων, εμποδίζουν τη παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών, αναστέλλουν την συσσώρευση/ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων και προωθούν τη προσέλκυση των μονοκυττάρων/μακροφάγων για έναρξη της φαγοκυττάρωσης και επούλωσης του τραύματος. Η αλλαγή στο προφίλ των λιποειδικών μεσολαβητών μπορεί να επιφέρει σημαντικές αλλαγές στο τύπο των φλεγμονωδών κυττάρων, στην έκκριση των κυτταροκινών και στη κυτταρική σηματοδότηση και να οδηγήσει σε μετατόπιση από μια προφλεγμονώδη κατάσταση σε ένα περιβάλλον που διευκολύνει την αποκατάσταση του ιστού [58]. Η άσκηση που οδηγεί σε AMB συνοδεύεται από φλεγμονώδη απόκριση, η οποία χαρακτηρίζεται από κινητοποίηση, μετανάστευση, συσσώρευση και διείσδυση φλεγμονωδών κυττάρων (ουδετερόφιλων,

μονοκυττάρων/μακροφάγων) στο μυϊκό ιστό και παραγωγή φλεγμονωδών μεσολαβητών (π.χ. κυτταροκίνες, προσταγλαδίνες, PAF) [2]. Παρόλο που πολλές μελέτες έχουν εξετάσει διάφορες πτυχές τις ανοσολογικής απόκρισης στην AMB (π.χ. λευκοκύτταρα, κυτταροκίνες), ελάχιστες είναι οι μελέτες που έχουν διερευνήσει την απόκριση των λιποειδικών μεσολαβητών μετά από AMB. Πολύ πρόσφατη μελέτη από τους Markworth και συν. [58], στην οποία εξετάστηκαν οι μεταβολές ενός μεγάλου αριθμού λιποειδικών μεσολαβητών ως απόκριση στην AMB, έδειξε ότι η φάση αποκατάστασης μετά από συνεδρία ασκήσεων με αντιστάσεις στην οποία το άτομο δεν είναι συνηθισμένο, χαρακτηρίζεται από αύξηση φλεγμονωδών εικοσανοειδών που προέρχονται από τις οδούς της COX-1, COX-2 και 5-LOX (προσταγλαδίνες: PGF_{2α}, PGE₂, PGD₂, TXB₂ και λευκοτριένια: LTB₄, LTB₅ αντίστοιχα) στις πρώτες 1-2 ώρες μετά την άσκηση, καθώς και αυξημένα κυκλοφορούντα επίπεδα φλεγμονωδών λιποειδικών μεσολαβητών (λιποξίνες, προτεκτίνες και ρεσολβίνες) που προέρχονται από το AA(LXA₄ and LXB₄), το EPA (RvE₁) και το DHA (RvD₁ and PD₁ isomer) στη πρώτη φάση αποκατάστασης (0-3 ώρες), όσο αργότερα στις 24 ώρες. Φαίνεται δηλαδή, ότι κατά την AMB παράλληλα με την ενεργοποίηση φλεγμονωδών λιποειδικών μεσολαβητών, ενεργοποιούνται και μια πληθώρα λιποειδικών μεσολαβητών που προωθούν τη λύση της φλεγμονής και πιθανόν συμβάλλουν στην αποκατάσταση και αναγέννηση του τραυματισμένου μυϊκού ιστού. Το πεδίο αυτό παρουσιάζει έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον και στα πλαίσια αυτά ένας από τους βασικούς στόχους της συγκεκριμένης μελέτης ήταν να μελετηθούν οι βιοχημικές μεταβολές λιποειδικών μεσολαβητών μετά από πρωτόκολλο άσκησης που μοιάζει με αγώνα ποδοσφαίρου. Η γνώση των βιοχημικών αυτών χαρακτηριστικών δίνει τη δυνατότητα καλύτερης κατανόησης των μηχανισμών που εμπλέκονται στη πρόκληση και εξέλιξη της AMB και των συνοδών συμπτωμάτων της, προτείνοντας παράλληλα πιθανές νέες και πιο αποτελεσματικές θεραπευτικές προσεγγίσεις, που θα βοηθήσουν στη ταχύτερη αποκατάσταση μετά από ένα ποδοσφαιρικό αγώνα. Στη παρούσα μελέτη, οι δύο δείκτες που αρχικά επρόκειτο να εξεταστούν ως απόκριση στην AMB είναι η PGE₂ και η LpPLA₂.

Η PGE₂ ανήκει στην ομάδα των εικοσανοειδών και παράγεται από το αραχιδονικό οξύ με τη δράση των κυκλοξυγασών. Στα πλαίσια της AMB, η PGE₂ αποτελεί έναν από τους πιο συχνά μελετώμενους λιποειδικούς μεσολαβητές, λόγω των φλεγμονωδών και υπεραλγητικών ιδιοτήτων της και της πιθανής συσχέτισης της με τη συμπτωματολογία του ΚΜΠ. Η PGE₂ αποτελεί βασικό μόριο της φλεγμονώδους απόκρισης που δρα ως αγγειοδιασταλτικός παράγοντας και σε συνεργασία με άλλους μεσολαβητές (ισταμίνη, βραδυκινίνη) προκαλεί αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας [76]. Επιπλέον, η PGE₂ αυξάνει την ευαισθητοποίηση των τύπου III και IV νευρικών απολήξεων σε χημικά ή μηχανικά ερεθίσματα. Έτσι, έχει

προταθεί ότι η σχετιζόμενη με τη μυϊκή βλάβη και φλεγμονή απελευθέρωση PGE_2 πιθανόν ενισχύει το φαινόμενο του ΚΜΠ κατά την AMB [31].

Δυστυχώς, στη παρούσα μελέτη, ο προσδιορισμός των σταθερών μεταβολιτών της PGE_2 , με εμπορικά διαθέσιμο kit, δεν ήταν επιτυχής. Οι λόγοι δεν είναι γνωστοί ωστόσο θα μπορούσαν να οφείλονται σε λάθος αραιώσεις των δειγμάτων δεδομένου ότι οι απορροφήσεις τους υποδείκνυαν συγκεντρώσεις PGEM μεγαλύτερες από αυτές που μπορούσε να ανιχνεύσει η καμπύλη αναφοράς. Βέβαια πρέπει να τονιστεί ότι οι αραιώσεις των αρχικών βιολογικών δειγμάτων έγιναν σύμφωνα με δημοσιεύσεις της βιβλιογραφίας που έδιναν επίπεδα PGEM σε ορό ανθρώπου χρησιμοποιώντας το ίδιο kit [208]. Η δυσλειτουργία του kit όσον αφορά τον ανοσοενζυμικό προσδιορισμό δεν φαίνεται πιθανή αφού η καμπύλη ήταν σχετικά ικανοποιητική. Πιθανότατα στην πορεία καθαρισμού και παραγωγοποίησης έγινε κάποιο συστηματικό σφάλμα που δεν επέτρεψε τον προσδιορισμό των δειγμάτων.

Προηγούμενες μελέτες που εξέτασαν τις μεταβολές της PGE_2 μετά από AMB, έχουν αναφέρει αύξηση των επιπέδων της ταυτόχρονα με έναρξη του ΚΜΠ στις 24-72 ώρες μετά από άσκηση που οδήγησε σε μυϊκή βλάβη [75, 76, 90, 92, 97]. Ωστόσο, άλλες μελέτες δεν έχουν επιβεβαιώσει αυτή την απόκριση [81, 83-86]. Επιπλέον, στις μελέτες που έχουν χρησιμοποιηθεί ΜΣΑΦ ή άλλες ουσίες για μείωση του ΚΜΠ, μέσω αναστολής των ενζυμικών οδών της COX-1 και -2, τα αποτελέσματα είναι πάλι ασαφή και συχνά αντικρουόμενα [85, 86, 91, 211]. Οι λόγοι για αυτά τα αντιφατικά ευρήματα μεταξύ των μελετών πιθανόν σχετίζονται με τα διαφορετικά πρωτοκόλλα άσκησης που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε περίπτωση, με διαφορές στην ένταση των ασκήσεων και την επιβάρυνση των μυών (κατηφορικό τρέξιμο Vs ασκήσεις αντιστάσεων) και στον όγκο της μυϊκής μάζας που ενεργοποιείται σε κάθε περίπτωση (μονομερής/απομονωμένη Vs διμερής/συνδυαστική άσκηση) [58].

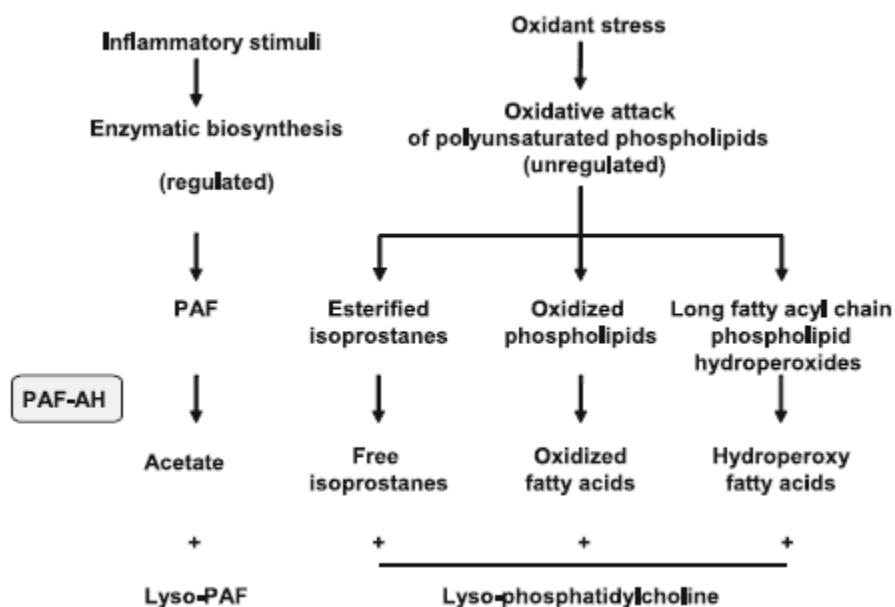
Το ένζυμο Lp-PLA_2 ανήκει στην ευρεία οικογένεια των ενζύμων που ονομάζονται φωσφολιπάσες A_2 και αποτελεί το ένζυμο αποικοδόμησης του PAF. Ο PAF είναι ένας γλυκεριναιθερικός φωσφολιποειδικός μεσολαβητής, ο οποίος παίζει σημαντικό ρόλο στις φλεγμονώδεις αποκρίσεις. Σε καταστάσεις φλεγμονής, τα φλεγμονώδη κύτταρα παράγουν PAF, ο οποίος ασκεί ποικίλες βιολογικές δράσεις, όπως ενεργοποίηση αιμοπεταλίων, απελευθέρωση ισταμίνης που προκαλεί αγγειοδιαστολή και αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας και προσκόλληση λευκοκυττάρων στις επιφάνειες των ενδοθηλιακών κυττάρων, ενισχύοντας τη φλεγμονώδη απόκριση [212, 213]. Στη περίπτωση της AMB, παλαιότερες δημοσιεύσεις αναφέρουν εμπλοκή των αυξημένων επιπέδων PAF στη παθοφυσιολογία της AMB και του ΚΜΠ [72]. Στα πλαίσια αυτά, στη παρούσα μελέτη κρίθηκε σημαντικό να εξεταστεί κατά πόσο

το ένζυμο αποικοδόμηση του PAF, ρυθμίζοντας τα επίπεδα του, παίζει κάποιο ρόλο στις διαδικασίες της AMB.

Χρησιμοποιώντας τα δεδομένα από το αρχικό LIST (πριν τη παρέμβαση) όλων των εθελοντών, αξιολογήθηκε η επίδραση του πρωτοκόλλου άσκησης στα επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA₂. Το πρωτόκολλο LIST δε προκάλεσε στατιστικά σημαντικές μεταβολές στη δραστηριότητα του ενζύμου LpPLA₂. Αυτό δεν σημαίνει ότι δεν υπήρχαν διαφορές στις μεταβολές της LpPLA₂ από άνθρωπο σε άνθρωπο, όπως φαίνεται και από τα μεγάλες τυπικές αποκλίσεις των % μεταβολών στο χρόνο που κυμαίνονταν από $\sim \pm 20\%$. Αξίζει να σημειωθεί ότι μέχρι σήμερα δεν υπάρχει στη βιβλιογραφία καμία μελέτη που να έχει εξετάσει την επίδραση της άσκησης στη δραστηριότητα του συγκεκριμένου ενζύμου. Υπάρχουν μόνο κάποιες αναφορές για την επίδραση της άσκησης στα κυκλοφορούντα επίπεδα του PAF. Ο Μηλιάς και συν. ανέφεραν αυξημένα επίπεδα PAF στο αίμα μετά από έκκεντρη άσκηση που οδήγησε σε μυϊκή βλάβη [72]. Αντιθέτως, οι Γκουντεβένου και συν., δε παρατήρησαν σημαντικές μεταβολές στη συγκέντρωση του PAF στο αίμα μετά από άσκηση σε ομάδα υγιών ατόμων [214]. Ωστόσο, θα πρέπει να αναφερθεί ότι στη τελευταία μελέτη, το πρωτόκολλο άσκησης που χρησιμοποιήθηκε περιλάμβανε μειομετρικού τύπου άσκηση, η οποία προκαλεί πολύ μικρότερης έντασης μυϊκή βλάβη και ΚΜΠ σε σχέση με την έκκεντρου τύπου άσκηση. Στη παρούσα μελέτη, ως μέσο πρόκλησης AMB χρησιμοποιήθηκε το πρωτόκολλο LIST, καθώς ήταν επιθυμητή η προσομοίωση με έναν αγώνα ποδοσφαίρου. Το πρωτόκολλο αυτό, παρόλο που δεν είναι σαφές σε ποιο είδος άσκησης ανήκει, προκάλεσε AMB, όπως επιβεβαιώθηκε από την αύξηση των επιπέδων δραστηριότητας της CK στο ορό και την αύξηση της υποκειμενικής αντίληψης του πόνου (VAS). Μια αύξηση των επιπέδων PAF στο αίμα μετά από άσκηση [72] θα μπορούσε να επηρεάσει τα επίπεδα της LpPLA₂, καθώς έχει φανεί ότι τα επίπεδα PAF ρυθμίζουν την έκφραση του ενζύμου *in vivo*, πιθανώς μέσω αύξησης της σύνθεσης του mRNA, η οποία οδηγεί σε υψηλότερη έκφραση του ενζύμου [215]. Ωστόσο, στη παρούσα μελέτη η δραστηριότητα της LpPLA₂ στο ορό δε μεταβλήθηκε στα διάφορα μετασκησιακά χρονικά σημεία αξιολόγησης, γεγονός που υποδηλώνει ότι κατά το φαινόμενο της AMB δε λαμβάνει χώρα αύξηση της συγκέντρωσης του ενζύμου μέσω γονιδιακής έκφρασης λόγω αυξημένων επιπέδων PAF.

Δυνητικά και οι ορμόνες που εκκρίνονται κατά τη διάρκεια της άσκησης όπως η κορτιζόλη και αδρεναλίνη θα μπορούσαν να επηρεάσουν τα επίπεδα της LpPLA₂. Μια μόνο μελέτη έχει δείξει ότι αυτή μειώνει την έκκριση της LpPLA₂ από μακροφάγα που έχουν προέλθει από διαφοροποίηση των μονοκυττάρων [216].

Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι τα αρχικά επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA₂ (πριν το LIST) συσχετίζονται θετικά με το χρόνο αντίστασης του ορού στη οξείδωση (lagetime) και αρνητικά με τη μεταβολή του δείκτη αυτού (% lagetime) στις 2 ώρες μετά την άσκηση. Δηλαδή, φάνηκε ότι η αυξημένη δραστηριότητα της LpPLA₂ σχετίζεται με καλύτερη αντιοξειδωτική ικανότητα του ορού και μικρότερη πτώση αυτής στις 2 ώρες μετά την άσκηση. Στη βιβλιογραφία, η σχέση μεταξύ LpPLA₂ και οξειδωτικού στρες είναι αμφιλεγόμενη. Η LpPLA₂ δρα σε μια ποικιλία φωσφολιποειδικών υποστρωμάτων, όπως ο PAF και βιολογικά δραστικά οξειδωμένα φωσφολιποειδικά προϊόντα που προκύπτουν σε καταστάσεις οξειδωτικού στρες (π.χ. oxPL), οδηγώντας σε απενεργοποίηση αυτών των μορίων (Σχήμα 9.1.) [217]. Στα πλαίσια αυτά, η LpPLA₂ θεωρείται ότι δρα σαν αντιοξειδωτικό, μειώνοντας τη βιοδραστικότητα των οξειδωμένων φωσφολιποειδικών υποστρωμάτων [218]. Ο αντιοξειδωτικός αυτός ρόλος του ενζύμου έχει επιβεβαιωθεί από αρκετές μελέτες. Οι Matsuzawa και συν. έδειξαν ότι η υπερέκφραση της LpPLA₂ προστατεύει τα κύτταρα από την αποπτωτική διαδικασία που προκαλείται από τις ελεύθερες ρίζες, μέσω υδρόλυσης των οξειδωμένων φωσφολιποειδών [219]. Επίσης, οι Lourida και συν. ανέφεραν το σημαντικό ρόλο της LpPLA₂ στη μείωση της ανοσογένεσης oxLDL, το οποίο τον απέδωσαν στη ικανότητά της να μειώνει τα επίπεδα οξειδωμένων φωσφολιποειδών τόσο σε υγιή πληθυσμό, όσο και σε άτομα με στεφανιαία νόσο [220].



Σχήμα 9.1: Υποστρώματα και προϊόντα δράσης της LpPLA₂ [217]

Ωστόσο, ένας μεγάλος αριθμός μελετών υποστηρίζουν τον ακριβώς αντίθετο ρόλο της LpPLA₂, αναδεικνύοντας της ως ισχυρό προ-οξειδωτικό μόριο [221]. Η αυξημένη δραστηριότητα της LpPLA₂ έχει συσχετιστεί με αύξηση των δεικτών οξειδωτικού στρες, όπως οι oxLDL και η 8-epi-PGF2a [221-224]. Η δράση της LpPLA₂ οδηγεί στη παραγωγή προϊόντων, όπως λυσο-PC και οξειδωμένα ελεύθερα λιπαρά οξέα, τα οποία όπως έχει προταθεί συμβάλλουν στη διαίωση και επιδείνωση της προ-οξειδωτικής διαδικασίας και φλεγμονώδους απόκρισης. Παρά τη σημαντική ερευνητική προσπάθεια κατά τη πάροδο των χρόνων, μέχρι σήμερα παραμένει αδιευκρίνιστο κατά πόσο η LpPLA₂ είναι ευεργετική η επιβλαβής και κατά πόσο τα υποστρώματα που υδρολύει είναι περισσότερο, λιγότερο ή εξίσου οξειδωτικά και φλεγμονώδη σε σχέση με τα προϊόντα της [215].

Επιπλέον, η στατιστική ανάλυση έδειξε μια αρνητική συσχέτιση των αρχικών επίπεδων δραστηριότητας της LpPLA₂ (πριν το LIST) και της υποκειμενικής αντίληψης του πόνου στον απαγωγό μυ στις 2 ώρες και στο δίκηφαλο μυ στις 48 ώρες μετά την άσκηση. Δηλαδή, φάνηκε ότι οι εθελοντές που παρουσίαζαν πιο αυξημένα επίπεδα LpPLA₂ στην αρχή της δοκιμασίας άσκησης εκδήλωσαν λιγότερο μυϊκό πόνο μετασκησιακά. Πρόσφατες δημοσιεύσεις αναφέρουν ύπαρξη υποδοχέων PAF στους προσαγωγούς νευρώνες και πιθανή εμπλοκή του στη πρόκληση πόνου, καθώς έχει φανεί ότι η χρήση αναστολέων του υποδοχέα PAF οδηγεί σε μειωμένη αίσθηση του πόνου. Στηριζόμενοι σε αυτό, θα μπορούσαμε να κάνουμε μια υπόθεση για τη σχέση της LpPLA₂ με το πόνο [225, 226]. Τα αυξημένα επίπεδα LpPLA₂ πιθανόν οδήγησαν σε μικρότερες αυξήσεις του PAF μετασκησιακά, λόγω αυξημένης αποικοδόμησης του, και επομένως λιγότερη ευαισθητοποίηση των νευρικών απολήξεων και μικρότερη αίσθηση πόνου.

Τέλος, στα αποτελέσματά μας φάνηκε μια στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση της μεταβολής (%) των ουδετερόφιλων στις 24 ώρες με τη μεταβολή (%) της δραστηριότητας της LpPLA₂ την ίδια χρονική στιγμή. Γενικά, μετά την άσκηση τα επίπεδα ουδετερόφιλων στη κυκλοφορία αυξάνονται στις 2 ώρες περίπου και επανέρχονται στα φυσιολογικά επίπεδα στο πρώτο εικοσιτετράωρο. Οι εθελοντές οι οποίοι συνέχισαν να παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα ουδετερόφιλων στις 24 ώρες μετά την άσκηση, παρουσίαζαν δηλαδή περισσότερη φλεγμονή, είχαν χαμηλότερα επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA₂. Μια τέτοια σχέση θα μπορούσε να αποδοθεί στην αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών από τα ουδετερόφιλα [42] και στην επακόλουθη οξειδωτική τροποποίηση της LpPLA₂, η οποία οδηγεί σε μείωση της δραστηριότητάς της [217]. Επίσης, η παρατηρούμενη πτώση στη δραστηριότητα της LpPLA₂ θα μπορούσε να οφείλεται και σε παροδικές μετασκησιακές μεταβολές των επιπέδων λιποπρωτεϊνών στο αίμα, και κυρίως της LDL, η οποία είναι η κύρια λιποπρωτεΐνη στην οποία είναι συνδεδεμένη η LpPLA₂. Έχει φανεί ότι η διαλλειμματική άσκηση μεγάλης διάρκειας, όπως ένας αγώνας

ποδοσφαίρου, μπορεί να οδηγήσει σε οξεία αντιαθρόνο τροποποίηση του λιπιδαιμικού προφίλ, κυρίως λόγω της υψηλής ενεργειακής δαπάνης [227]. Πιο συγκεκριμένα, έχει παρατηρηθεί ότι μετά παρατεταμένη άσκηση μειώνονται τα επίπεδα τριγλυκεριδίων, VLDL και LDL στο αίμα και αυξάνονται τα επίπεδα HDL και Apo-AI [228-231]. Οι μεταβολές αυτές μπορούν να διαρκέσουν 1-2 ημέρες μετά την άσκηση [232]. Πρόσφατη μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε επαγγελματίες ποδοσφαιριστές έδειξε ότι μετά από έναν αγώνα ποδοσφαίρου τα επίπεδα της LDL μειώνονται, ενώ αυξάνονται τα επίπεδα της HDL και Apo-AI [233]. Επιπλέον, όσον αφορά την LDL, φαίνεται ότι η άσκηση επιδρά κυρίως στις μικρές και πυκνές LDL, μειώνοντας τον αριθμό τους [234]. Όλες αυτές οι μεταβολές θα μπορούσαν να είχαν σημαντική επίδραση στη δραστηριότητα της LpPLA₂. Ωστόσο, στη παρούσα μελέτη δε έχουν μετρηθεί ακόμα τα επίπεδα των λιποπρωτεϊνών στο αίμα, ώστε να μπορέσουμε να εξάγουμε συμπεράσματα για μια τέτοια πιθανή επίδραση.

Επίδραση της συμπληρωματικής χορήγησης βόειου πρωτογάλατος στα επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA₂.

Στο δεύτερο μέρος της παρούσας μελέτης εξετάστηκε η επίδραση της συμπληρωματικής χορήγησης πρωτογάλατος στα επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA₂ μετά από AMB. Για τη διερεύνηση αυτής της σχέσης επιλέχθηκε ο σχεδιασμός μιας ‘two-arm’ κλινικής δοκιμής. Οι εθελοντές που πραγματοποίησαν το αρχικό LIST χωρίστηκαν τυχαία σε δύο ομάδες, την ομάδα ελέγχου (placebo) και την ομάδα παρέμβασης (colostrum). Στην ομάδα παρέμβασης, οι εθελοντές κατανάλωναν 3,2γρ ΒΠ / ημέρα και στην ομάδα ελέγχου, οι εθελοντές κατανάλωναν ίδια ποσότητα πρωτεΐνη ορού γάλακτος. Η χρονική διάρκεια χορήγησης των συμπληρωμάτων ήταν 6 εβδομάδες, με μετρήσεις στην αρχή και στο τέλος της παρέμβασης. Ο συγκεκριμένος σχεδιασμός δίνει τη δυνατότητα ελέγχου της μεταβολής των ανθρωπομετρικών, βιοχημικών και εργομετρικών παραμέτρων για κάθε εθελοντή ξεχωριστά, ενώ παράλληλα επιτρέπει τον έλεγχο για πιθανή επίδραση του placebo.

Η ποσότητα ΒΠ που χορηγήθηκε στη παρούσα μελέτη ήταν 3,2γρ / ημέρα για χρονικό διάστημα 6 εβδομάδων. Αντίστοιχες μελέτες που έχουν διερευνήσει την επίδραση του ΒΠ σε διάφορους παράγοντες αθλητικής απόδοσης και αποκατάστασης έχουν χρησιμοποιήσει πολύ μεγαλύτερες ποσότητες, που στη πλειοψηφία των μελετών κυμαίνονται στα 20-60γρ/ημέρα [181, 185, 190, 193, 195, 196]. Επιπλέον, το χρονικό διάστημα χορήγησης του συμπληρώματος στις περισσότερες από αυτές τις μελέτες ήταν μεγαλύτερο από το αντίστοιχο της μελέτης μας (8-12

εβδομάδες) [181, 183, 185, 190, 193-196, 199, 200]. Επίσης, ενώ έχει φανεί ότι η χορήγηση ΒΠ για διάστημα 2-3 εβδομάδων επαρκεί για τη βελτίωση ανοσολογικών χαρακτηριστικών, δε είναι αρκετό για να παρατηρηθούν βελτιώσεις στην αθλητική απόδοση, που όπως φαίνεται απαιτείται ένα διάστημα τουλάχιστον 8 εβδομάδων καθημερινής χορήγησης ΒΠ [162]. Πρέπει να αναφερθεί ότι στον αρχικό σχεδιασμό της παρούσας μελέτης, είχε προταθεί η χρονική διάρκεια της παρέμβασης να είναι 8 εβδομάδες. Ωστόσο, λόγω δυσκολίας συμμόρφωσης των εθελοντών στο πρωτόκολλο της μελέτης το χρονικό αυτό διάστημα περιορίστηκε στις 6 εβδομάδες. Στη μελέτη μας εξετάσαμε την επίδραση της συμπληρωματικής χορήγησης ΒΠ σε τέτοια ποσότητα που να επιτρέπει τη χρήση του από μεγάλη μερίδα αθλητών και αθλουμένων, δεδομένου του υψηλού κόστους παραγωγής του και της δυσκολίας συμμόρφωσης σε μεγαλύτερες δόσεις (ακόμα και η δόση των 3,2γρ/ημέρα, περιλάμβανε 8 δόσεις των 400mg).

Η ανάλυση των δεδομένων μας έδειξε ότι η χορήγηση ΒΠ δεν είχε καμία επίδραση στα επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA₂ μετά από το πρωτόκολλο άσκησης. Επίσης, φάνηκε ότι οι διαφορετικές δοσολογίες και μορφές ΒΠ (3,2γρ Vs 0,8γρ Vs 8ml) δεν επέφεραν κάποια μεταβολή στα επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA₂ στις 3 και 6 εβδομάδες χορήγησης στο δεύτερο πρωτόκολλο της μελέτης μας, το οποίο δε περιλάμβανε άσκηση. Στη βιβλιογραφία η μόνη αναφορά σχετικά με την LpPLA₂ και το ΒΠ είναι αυτή που χαρακτηρίζει το ένζυμο σε συστατικό του πρωτογάλατος [235]. Η παρούσα μελέτη είναι η μοναδική μέχρι στιγμής που εξέτασε την επίδραση της συμπληρωματικής χορήγησης βόειου πρωτογάλατος στα επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA₂, τόσο μετά από άσκηση, όσο και σε φυσιολογικές συνθήκες. Οι περισσότεροι ερευνητές που έχουν ασχοληθεί με την επίδραση του ΒΠ σε αθλητές, έχουν εξετάσει παραμέτρους αθλητικής απόδοσης, ενώ είναι ελάχιστες οι αναφορές σχετικά με την επίδραση του σε περιπτώσεις AMB. Πιο συγκεκριμένα, μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε πειραματόζωα και εξέτασε την επίδραση του BC στο προκαλούμενο από την άσκηση οξειδωτικό στρες στο μυϊκό ιστό, έδειξε ότι η συμπληρωματική χορήγηση 50mg/kg ΣΒ ΒΠ για χρονικό διάστημα 42 ημερών είχε ως αποτέλεσμα μείωση της λιπιδικής υπεροξειδωσης και των επιπέδων του ενζύμου οξειδάση της ξανθίνης και αύξηση των επιπέδων υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD) και των συνολικών αντιοξειδωτικών παραγόντων [207].

Το βόειο πρωτόγαλα, σε θεωρητικό επίπεδο και βάση γνωστών δράσεων των συστατικών του θα μπορούσε να επηρεάσει μηχανισμούς που εμπλέκονται στις διαδικασίες της AMB, όπως η φλεγμονή και το οξειδωτικό στρες, και να οδηγήσει σε μεταβολές στη δραστηριότητα του ενζύμου LpPLA₂.

Η κολοστρινίνη αποτελεί ένα πολυπεπτίδιο πλούσιο σε προλίνη, που περιέχεται στο πρωτόγαλα με σημαντικές ανοσορυθμιστικές ιδιότητες [236]. Πιο συγκεκριμένα, η κολοστρινίνη ρυθμίζει τη παραγωγή κυτταροκινών στο περιφεριακό αίμα και στα λευκοκύτταρα, ενώ παράλληλα παρουσιάζει αντιοξειδωτικές ιδιότητες μειώνοντας τα ενδοκυττάρια επίπεδα ROS και την υπεροξείδωση των λιπιδίων. Η επίδρασή της στην απελευθέρωση φλεγμονωδών κυτταροκινών οφείλεται στην παρεμπόδιση της δραστηριότητας του συστήματος NF-κΒ [237]. Έχει φανεί ότι το ΒΠ ρυθμίζει τη παραγωγή κυτταροκινών σε υγιείς ενήλικες *in vivo* [200] και *in vitro* [202], και αυτή η ρύθμιση πιθανόν οφείλεται σε παρεμπόδιση των οδών του NF-κΒ [238]. Αυτές οι μεταβολές θα μπορούσαν να επηρεάσουν τα επίπεδα δραστηριότητας της LpPLA₂, καθώς έχει φανεί ότι το σύστημα NF-κΒ παίζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της έκφρασης του ενζύμου [239], αλλά και οι φλεγμονώδεις κυτταροκίνες (IL-1, IL-4, TNFα) έχουν επηρεάζουν με διαφορετικό τρόπο η καθεμία την έκφραση της LpPLA₂ [217].

Επιπλέον, το πρωτόγαλα, όπως περιγράφηκε στο κεφάλαιο 4, έχει μεγάλη περιεκτικότητα σε αντιοξειδωτικά συστατικά. Τα αντιοξειδωτικά αυτά θα μπορούσαν να περιορίσουν τη δημιουργία οξειδωτικού στρες και να εξουδετερώσουν τις ελεύθερες ρίζες που δημιουργούνται κατά τη διάρκεια της άσκησης, αλλά και μετά την άσκηση από τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος (π.χ. ουδετερόφιλα, μακροφάγα) λόγω της φλεγμονώδους απόκρισης που δημιουργείται από την άσκηση. Με αυτό τον τρόπο τα αντιοξειδωτικά που περιέχονται στο πρωτόγαλα θα μπορούσαν να περιορίσουν την οξειδωτική τροποποίηση της LpPLA₂, που έχει ως αποτέλεσμα μείωση της δραστηριότητά της [217]. Επίσης, πιθανόν να μειώνουν το οξειδωμένα φωσφολιπίδια που αποτελούν υπόστρωμα της LpPLA₂ και να ενισχύουν τη αντίσταση της LDL στην οξείδωση. Η oxLDL έχει αναφερθεί ότι προωθεί την έκφραση της LpPLA₂ από τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα *in vitro* [240].

Οι κύριοι περιορισμοί της μελέτης είναι ότι το δείγμα εθελοντών είναι ακόμα μικρό και δεν έχουν μετρηθεί ακόμα βιοχημικοί δείκτες, όπως οι λιποπρωτεΐνες, οι οποίες θα μπορούσαν να εξηγήσουν και να κανονικοποιούν τις όποιες μεταβολές της LpPLA₂.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Peake, J., Nosaka, K., Suzuki, K., *Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans*. Exerc Immunol Rev, 2005. **11**: p. 64-85.
2. Paulsen, G., Mikkelsen, U.R., Raastad, T., Peake, J.M., *Leucocytes, cytokines and satellite cells: what role do they play in muscle damage and regeneration following eccentric exercise?* Exerc Immunol Rev., 2012. **18**: p. 42-97.
3. Cheung, K., Hume, P., Maxwell, L., *Delayed onset muscle soreness : treatment strategies and performance factors*. Sports Med, 2003. **33**(2): p. 145-64.
4. Thiebaud, R.S., *Exercise-Induced Muscle Damage: Is it detrimental or beneficial?* Journal of Trainology, 2012. **1**: p. 36-44.
5. Howatson, G., van Someren, K.A., *The prevention and treatment of exercise-induced muscle damage*. Sports Med., 2008. **38**(6): p. 483-503.
6. Clarkson, P.M., Sayers, S. P., *Etiology of exercise-induced muscle damage*. Can J Appl Physiol, 1999. **24**(3): p. 234-48.
7. Allen, D.G., Whitehead, N.P., Yeung, E.W., *Mechanisms of stretch-induced muscle damage in normal and dystrophic muscle: role of ionic changes*. J Physiol, 2005. **567**(Pt 3): p. 723-35.
8. Tee, J.C., Bosch, A.N., Lambert, M.I., *Metabolic consequences of exercise-induced muscle damage*. Sports Med, 2007. **37**(10): p. 827-36.
9. Clarkson, P.M., Byrnes, W.C., McCormick, K.M., Turcotte, L.P., White, J.S., *Muscle soreness and serum creatine kinase activity following isometric, eccentric, and concentric exercise*. Int J Sports Med, 1986. **7**(3): p. 152-5.
10. Gibala, M.J., MacDougall, J.D., Tarnopolsky, M.A., Stauber, W.T., Elorriaga, A., *Changes in human skeletal muscle ultrastructure and force production after acute resistance exercise*. J Appl Physiol (1985), 1995. **78**(2): p. 702-8.
11. Close, G.L., Ashton, T., McArdle, A., Maclaren, D.P., *The emerging role of free radicals in delayed onset muscle soreness and contraction-induced muscle injury*. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 2005. **142**(3): p. 257-66.
12. Proske, U., Morgan, D.L., *Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications*. J Physiol, 2001. **537**(Pt 2): p. 333-45.
13. Lieber, R.L., Friden, J., *Mechanisms of muscle injury gleaned from animal models*. Am J Phys Med Rehabil, 2002. **81**(11 Suppl): p. S70-9.
14. Hough, T., *ERGOGRAFIC STUDIES IN MUSCULAR FATIGUE AND SORENESS*. J Boston Soc Med Sci., 1990. **190**(5): p. 3.
15. Newham, D.J., McPhail, G., Mills, K.R., Edwards, R.H., *Ultrastructural changes after concentric and eccentric contractions of human muscle*. J Neurol Sci, 1983. **61**(1): p. 109-22.
16. Armstrong, R.B., *Initial events in exercise-induced muscular injury*. Med Sci Sports Exerc, 1990. **22**(4): p. 429-35.
17. Eston, R.G., Finney, S., Baker, S., Baltzopoulos, V., *Muscle tenderness and peak torque changes after downhill running following a prior bout of isokinetic eccentric exercise*. J Sports Sci, 1996. **14**(4): p. 291-9.
18. Thompson, D., Nicholas, C.W., Williams, C., *Muscular soreness following prolonged intermittent high-intensity shuttle running*. J Sports Sci, 1999. **17**(5): p. 387-95.
19. Byrne, C., Eston, R., *Maximal-intensity isometric and dynamic exercise performance after eccentric muscle actions*. J Sports Sci, 2002. **20**(12): p. 951-9.
20. Twist, C., Eston, R., *The effects of exercise-induced muscle damage on maximal intensity intermittent exercise performance*. Eur J Appl Physiol, 2005. **94**(5-6): p. 652-8.
21. Saunders, M.J., Kane, M.D., Todd, M.K., *Effects of a carbohydrate-protein beverage on cycling endurance and muscle damage*. Med Sci Sports Exerc, 2004. **36**(7): p. 1233-8.

22. Valentine, R.J., Saunders, M.J., Todd, M.K., St Laurent, T.G., *Influence of carbohydrate-protein beverage on cycling endurance and indices of muscle disruption*. Int J Sport Nutr Exerc Metab, 2008. **18**(4): p. 363-78.
23. Armstrong, R.B., Warren, G.L., Warren, J.A., *Mechanisms of exercise-induced muscle fibre injury*. Sports Med, 1991. **12**(3): p. 184-207.
24. Kuipers, H., *Exercise-induced muscle damage*. Int J Sports Med, 1994. **15**(3): p. 132-5.
25. Gissel, H., *The role of Ca²⁺ in muscle cell damage*. Ann N Y Acad Sci, 2005. **1066**: p. 166-80.
26. Overgaard, K., Fredsted, A., Hyldal, A., Ingemann-Hansen, T., Gissel, H., Clausen, T., *Effects of running distance and training on Ca²⁺ content and damage in human muscle*. Med Sci Sports Exerc, 2004. **36**(5): p. 821-9.
27. Zhang, B.T., Yeung, S.S., Allen, D.G., Qin, L., Yeung, E.W., *Role of the calcium-calpain pathway in cytoskeletal damage after eccentric contractions*. J Appl Physiol (1985), 2008. **105**(1): p. 352-7.
28. Byrd, S.K., *Alterations in the sarcoplasmic reticulum: a possible link to exercise-induced muscle damage*. Med Sci Sports Exerc, 1992. **24**(5): p. 531-6.
29. Lieber, R.L., Thornell, L.E., Fridén, J., *Muscle cytoskeletal disruption occurs within the first 15 min of cyclic eccentric contraction*. J Appl Physiol (1985). 1996. **80**(1): p. 278-84.
30. Belcastro, A.N., Shewchuk, L.D., Raj, D.A., *Exercise-induced muscle injury: a calpain hypothesis*. Mol Cell Biochem, 1998. **179**(1-2): p. 135-45.
31. Connolly, D.A., Sayers, S. P., McHugh, M. P., *Treatment and prevention of delayed onset muscle soreness*. J Strength Cond Res, 2003. **17**(1): p. 197-208.
32. Gissel, H., Clausen, T., *Excitation-induced Ca²⁺ influx and skeletal muscle cell damage*. Acta Physiol Scand, 2001. **171**(3): p. 327-34.
33. Yeung, E.W., Allen, D.G., *Stretch-activated channels in stretch-induced muscle damage: role in muscular dystrophy*. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2004. **31**(8): p. 551-6.
34. Malm, C., *Exercise-induced muscle damage and inflammation: fact or fiction?* Acta Physiol Scand, 2001. **171**(3): p. 233-9.
35. Smith, C., Kruger, M.J., Smith, R.M., Myburgh, K.H., *The inflammatory response to skeletal muscle injury: illuminating complexities*. Sports Med, 2008. **38**(11): p. 947-69.
36. Arnaout, M.A., *Structure and function of the leukocyte adhesion molecules CD11/CD18*. Blood, 1990. **75**(5): p. 1037-50.
37. Cordova, A., *Immunomodulators for inflammation and muscle injury due to exercise*. Apunts Med Esport., 2010. **45**(168): p. 265-270.
38. Tidball, J.G., *Inflammatory cell response to acute muscle injury*. Med Sci Sports Exerc, 1995. **27**(7): p. 1022-32.
39. Toumi, H., Best, T.M., *The inflammatory response: friend or enemy for muscle injury?* Br J Sports Med, 2003. **37**(4): p. 284-6.
40. Tidball, J.G., *Inflammatory processes in muscle injury and repair*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2005. **288**(2): p. R345-53.
41. Toumi, H., F'Guyer, S., Best, T.M., *The role of neutrophils in injury and repair following muscle stretch*. J Anat, 2006. **208**(4): p. 459-70.
42. Peake, J., Suzuki, K., *Neutrophil activation, antioxidant supplements and exercise-induced oxidative stress*. Exerc Immunol Rev, 2004. **10**: p. 129-41.
43. Chazaud, B., Brigitte, M., Yacoub-Youssef, H., Arnold, L., Gherardi, R., Sonnet, C., Lafuste, P., Chretien, F., *Dual and beneficial roles of macrophages during skeletal muscle regeneration*. Exerc Sport Sci Rev, 2009. **37**(1): p. 18-22.
44. Peake, J.M., Suzuki, K., Coombes, J.S., *The influence of antioxidant supplementation on markers of inflammation and the relationship to oxidative stress after exercise*. J Nutr Biochem, 2007. **18**(6): p. 357-71.
45. Goodman, C., Henry, G., Dawson, B., Gillam, I., Beilby, J., Ching, S., Fabian, V., Dasig, D., Kakulas, B., Morling, P., *Biochemical and ultrastructural indices of muscle damage after a twenty-one kilometre run*. Aust J Sci Med Sport, 1997. **29**(4): p. 95-8.
46. Powers, S.K., Jackson, M.J., *Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production*. Physiol Rev, 2008. **88**(4): p. 1243-76.

47. Wozniak, A.C., Kong, J., Bock, E., Pilipowicz, O., Anderson, J.E., *Signaling satellite-cell activation in skeletal muscle: markers, models, stretch, and potential alternate pathways*. Muscle Nerve, 2005. **31**(3): p. 283-300.
48. Jarvinen, T.A., Jarvinen, T.L., Kaariainen, M., Kalimo, H., Jarvinen, M., *Muscle injuries: biology and treatment*. Am J Sports Med, 2005. **33**(5): p. 745-64.
49. Byrne, C., Twist, C., Eston, R., *Neuromuscular function after exercise-induced muscle damage: theoretical and applied implications*. Sports Med, 2004. **34**(1): p. 49-69.
50. McKune, A.J., Semple, S.J., Peters-Futre, E.M., *ACUTE EXERCISE-INDUCED MUSCLE INJURY*. Biol. Sport, 2012. **29**: p. 3-10.
51. Nosaka, K., Clarkson, P.M., *Changes in indicators of inflammation after eccentric exercise of the elbow flexors*. Med Sci Sports Exerc, 1996. **28**(8): p. 953-61.
52. McCully, K.K., Faulkner, J.A., *Injury to skeletal muscle fibers of mice following lengthening contractions*. J Appl Physiol (1985), 1985. **59**(1): p. 119-26.
53. Jentjens, R., Jeukendrup, A., *Determinants of post-exercise glycogen synthesis during short-term recovery*. Sports Med, 2003. **33**(2): p. 117-44.
54. Malm, C., Nyberg, P., Engstrom, M., Sjodin, B., Lenkei, R., Ekblom, B., Lundberg, I., *Immunological changes in human skeletal muscle and blood after eccentric exercise and multiple biopsies*. J Physiol, 2000. **529 Pt 1**: p. 243-62.
55. Roth, S.M., Martel, G.F., Rogers, M.A., *Muscle biopsy and muscle fiber hypercontraction: a brief review*. Eur J Appl Physiol, 2000. **83**(4 -5): p. 239-45.
56. Brancaccio, P., Lippi, G., Maffulli, N., *Biochemical markers of muscular damage*. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine., 2010. **48**(6): p. 757-67.
57. Κοκκινίδη, Ε., Τοκμακίδη, Σ., *Η επίδραση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου στην αθλητική απόδοση* Εργαστήριο Φυσικής Αγωγής και Άθλησης, Τμήμα Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού, Δημοκριτείου Πανεπιστημίου Θράκης.
58. Markworth, J.F., Vella, L., Lingard, B.S., Tull, D.L., Rupasinghe, T.W., Sinclair, A.J., Maddipati, K.R., Cameron-Smith, D., *Human inflammatory and resolving lipid mediator responses to resistance exercise and ibuprofen treatment*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2013. **305**(11): p. R1281-96.
59. Nomikos, T., Fragopoulou, E., Antonopoulou, S., *Food Ingredients and Lipid Mediators*. Current Nutrition & Food Science, 2007. **3**: p. 255-276.
60. Murakami, M., *Lipid mediators in life science*. Exp Anim, 2011. **60**(1): p. 7-20.
61. Ricciotti, E., FitzGerald, G.A., *Prostaglandins and inflammation*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011. **31**(5): p. 986-1000.
62. Serhan, C.N., *Novel eicosanoid and docosanoid mediators: resolvins, docosatrienes, and neuroprotectins*. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2005. **8**(2): p. 115-21.
63. Pinckard, R.N., Woodard, D.S., Showell, H.J., Conklyn, M.J., Novak, M.J., McManus, L.M., *Structural and (patho)physiological diversity of PAF*. Clin Rev Allergy, 1994. **12**(4): p. 329-59.
64. Zimmerman, G.A., McIntyre, T.M., Prescott, S.M., Stafforini, D.M., *The platelet-activating factor signaling system and its regulators in syndromes of inflammation and thrombosis*. Crit Care Med, 2002. **30**(5 Suppl): p. S294-301.
65. Snyder, F., *Platelet-activating factor: the biosynthetic and catabolic enzymes*. Biochem J, 1995. **305 (Pt 3)**: p. 689-705.
66. Ishii, S., Shimizu, T., *Platelet-activating factor (PAF) receptor and genetically engineered PAF receptor mutant mice*. Prog Lipid Res, 2000. **39**(1): p. 41-82.
67. Izumi, T., Honda, Z., Mutoh, H., Kume, K., Shimizu, T., *Regulation and signal transduction of PAF receptor*. Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res, 1995. **23**: p. 461-6.
68. Zalewski, A., Macphee, C., *Role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis: biology, epidemiology, and possible therapeutic target*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005. **25**(5): p. 923-31.
69. Tellis, C.C., Tselepis, A.D., *The role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis may depend on its lipoprotein carrier in plasma*. Biochim Biophys Acta., 2009. **1791**(5): p. 327-38.

70. Tsoukatos, D.C., Brocheriou, I., Moussis, V., Panopoulou, C.P., Christofidou, E.D., Koussissis, S., Sismanidis, S., Ninio, E., Siminelakis, S., *Platelet-activating factor acetylhydrolase and transacetylase activities in human aorta and mammary artery*. J Lipid Res, 2008. **49**(10): p. 2240-9.
71. De Vriese, C., Hacquebard, M., Gregoire, F., Carpentier, Y., Delporte, C., *Ghrelin interacts with human plasma lipoproteins*. Endocrinology, 2007. **148**(5): p. 2355-62.
72. Miliadis, G.A., Nomikos, T., Fragopoulou, E., Athanasopoulos, S., Antonopoulou, S., *Effects of eccentric exercise-induced muscle injury on blood levels of platelet activating factor (PAF) and other inflammatory markers*. Eur J Appl Physiol, 2005. **95**(5-6): p. 504-13.
73. Hertel, J., *The role of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the treatment of acute soft tissue injuries*. J Athl Train, 1997. **32**(4): p. 350-8.
74. Dousset, E., Avela, J., Ishikawa, M., Kallio, J., Kuitunen, S., Kyrolainen, H., Linnamo, V., Komi, P.V., *Bimodal recovery pattern in human skeletal muscle induced by exhaustive stretch-shortening cycle exercise*. Med Sci Sports Exerc, 2007. **39**(3): p. 453-60.
75. Meneghel, A.J., Verlengia, R., Crisp, A.H., Aoki, M.S., Nosaka, K., da Mota, G.R., Lopes, C.R., *Muscle damage of resistance-trained men after two bouts of eccentric bench press exercise*. J Strength Cond Res, 2014.
76. Uchida, M.C., Nosaka, K., Ugrinowitsch, C., Yamashita, A., Martins, E.Jr., Moriscot, A.S., Aoki, M.S., *Effect of bench press exercise intensity on muscle soreness and inflammatory mediators*. J Sports Sci, 2009. **27**(5): p. 499-507.
77. Tartibian, B., Maleki, B.H., Abbasi, A., *Omega-3 fatty acids supplementation attenuates inflammatory markers after eccentric exercise in untrained men*. Clin J Sport Med, 2011. **21**(2): p. 131-7.
78. Lapointe, B.M., Frenette, J., Côté, C.H., *Lengthening contraction-induced inflammation is linked to secondary damage but devoid of neutrophil invasion*. J Appl Physiol (1985). 2002. **92**(5): p. 1995-2004.
79. Peake, J.M., Suzuki, K., Hordern, M., Wilson, G., Nosaka, K., Coombes, J.S., *Plasma cytokine changes in relation to exercise intensity and muscle damage*. Eur J Appl Physiol, 2005. **95**(5-6): p. 514-21.
80. Cannon, J.G., Meydani, S.N., Fielding, R.A., Fiatarone, M.A., Meydani, M., Farhangmehr, M., Orencole, S.F., Blumberg, J.B., Evans, W.J., *Acute phase response in exercise. II. Associations between vitamin E, cytokines, and muscle proteolysis*. Am J Physiol., 1991. **260**(6 Pt 2): p. R1235-40.
81. Braun, W.A., Flynn, M.G., Armstrong, W.J., Jacks, D.D., *The effects of chondroitin sulfate supplementation on indices of muscle damage induced by eccentric arm exercise*. J Sports Med Phys Fitness, 2005. **45**(4): p. 553-60.
82. Kanda, K., Sugama, K., Hayashida, H., Sakuma, J., Kawakami, Y., Miura, S., Yoshioka, H., Mori, Y., Suzuki, K., *Eccentric exercise-induced delayed-onset muscle soreness and changes in markers of muscle damage and inflammation*. Exerc Immunol Rev, 2013. **19**: p. 72-85.
83. Hirose, L., Nosaka, K., Newton, M., Laveder, A., Kano, M., Peake, J., Suzuki, K., *Changes in inflammatory mediators following eccentric exercise of the elbow flexors*. Exerc Immunol Rev, 2004. **10**: p. 75-90.
84. Croisier, J.L., Camus, G., Deby-Dupont, G., Bertrand, F., Lhermerout, C., Crielaard, J. M., Juchmes-Ferir, A., Deby, C., Albert, A., Lamy, M., *Myocellular enzyme leakage, polymorphonuclear neutrophil activation and delayed onset muscle soreness induced by isokinetic eccentric exercise*. Arch Physiol Biochem, 1996. **104**(3): p. 322-9.
85. Croisier, J.L., Camus, G., Monfils, T., Deby-Dupont, G., Fafchamps, M., Venneman, I., Crielaard, J.M., Juchmes-Ferir, A., Lhermerout, C., Lamy, M., Deby, C., *Piroxicam fails to reduce myocellular enzyme leakage and delayed onset muscle soreness induced by isokinetic eccentric exercise*. Mediators Inflamm, 1996. **5**(3): p. 230-4.
86. Black, C.D., Herring, M.P., Hurley, D.J., O'Connor, P.J., *Ginger (Zingiber officinale) reduces muscle pain caused by eccentric exercise*. J Pain, 2010. **11**(9): p. 894-903.

87. Conceição, M.S., Libardi, C.A., Nogueira, F.R., Bonganha, V., Gáspari, A.F., Chacon-Mikahil, M.P., Cavaglieri, C.R., Madruga, V.A., *Effects of eccentric exercise on systemic concentrations of pro- and anti-inflammatory cytokines and prostaglandin (E2): comparison between young and postmenopausal women*. Eur J Appl Physiol., 2012. **112**(9): p. 3205.
88. Buford, T.W., Cooke, M.B., Redd, L.L., Hudson, G.M., Shelmadine, B.D., Willoughby, D.S., *Protease supplementation improves muscle function after eccentric exercise*. Med Sci Sports Exerc, 2009. **41**(10): p. 1908-14.
89. Weinheimer, E.M., Jemiolo, B., Carroll, C.C., Harber, M.P., Haus, J.M., Burd, N.A., LeMoine, J.K., Trappe, S.W., Trappe, T.A., *Resistance exercise and cyclooxygenase (COX) expression in human skeletal muscle: implications for COX-inhibiting drugs and protein synthesis*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2007. **292**(6): p. R2241-8.
90. Trappe, T.A., Fluckey, J.D., White, F., Lambert, C.P., Evans, W.J., *Skeletal muscle PGF(2)(alpha) and PGE(2) in response to eccentric resistance exercise: influence of ibuprofen acetaminophen*. J Clin Endocrinol Metab, 2001. **86**(10): p. 5067-70.
91. Paulsen, G., Egner, I.M., Drange, M., Langberg, H., Benestad, H.B., Fjeld, J.G., Hallén, J., Raastad, T., *A COX-2 inhibitor reduces muscle soreness, but does not influence recovery and adaptation after eccentric exercise*. Scand J Med Sci Sports., 2010. **20**(1): p. 195-207.
92. Tegeder, L., Zimmermann, J., Meller, S.T., Geisslinger, G., *Release of algescic substances in human experimental muscle pain*. Inflamm Res, 2002. **51**(8): p. 393-402.
93. Trappe, T., Raue, U., Williams, R., Carrithers, J., Hickner, R., *Effects of age and resistance exercise on skeletal muscle interstitial prostaglandin F(2alpha)*. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2006. **74**(3): p. 175-81.
94. Feng, D.L., Murillo, J., Jadhav, P., McKenna, C., Gebara, O.C., Lipinska, I., Muller, J.E., Tofler, G.H., *Upright posture and maximal exercise increase platelet aggregability and prostacyclin production in healthy male subjects*. Br J Sports Med, 1999. **33**(6): p. 401-4.
95. Laustiola, K., Seppala, E., Nikkari, T., Vapaatalo, H., *Exercise-induced increase in plasma arachidonic acid and thromboxane B2 in healthy men: effect of beta-adrenergic blockade*. J Cardiovasc Pharmacol, 1984. **6**(3): p. 449-54.
96. Mehta, J., Mehta, P., Horalek, C., *The significance of platelet-vessel wall prostaglandin equilibrium during exercise-induced stress*. Am Heart J, 1983. **105**(6): p. 895-900.
97. Boatwright, S., Byrd, R., Mangum, M., *Relationship between serum prostaglandin formation, creatine kinase activity, and ratings of perceived soreness*. Sports Medicine, Training and Rehabilitation: An International Journal, 1991. **2**: p. 85-88.
98. Cochrane, D.J., *Alternating hot and cold water immersion for athlete recovery: a review*. Physical Therapy in Sport, 2004. **5**(1): p. 26-32.
99. Warner, D.C., Schnepf, G., Barrett, M.S., Dian, D., Swigonski, N.L., *Prevalence, attitudes, and behaviors related to the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in student athletes*. J Adolesc Health., 2002. **30**(3): p. 150-3.
100. Dudley, G.A., Czerkawski, J., Meinrod, A., Gillis, G., Baldwin, A., Scarpone, M., *Efficacy of naproxen sodium for exercise-induced dysfunction muscle injury and soreness*. Clin J Sport Med, 1997. **7**(1): p. 3-10.
101. Sayers, S.P., Knight, C.A., Clarkson, P.M., Van Wegen, E.H., Kamen, G., *Effect of ketoprofen on muscle function and sEMG activity after eccentric exercise*. Med Sci Sports Exerc, 2001. **33**(5): p. 702-10.
102. Bourgeois, J., MacDougall, D., MacDonald, J., Tarnopolsky, M., *Naproxen does not alter indices of muscle damage in resistance-exercise trained men*. Med Sci Sports Exerc., 1999. **31**(1): p. 4-9.
103. Stone, M.B., Merrick, M.A., Ingersoll, C.D., Edwards, J.E., *Preliminary comparison of bromelain and Ibuprofen for delayed onset muscle soreness management*. Clin J Sport Med, 2002. **12**(6): p. 373-8.
104. Soltow, Q.A., Betters, J.L., Sellman, J.E., Lira, V.A., Long, J.H., Criswell, D.S., *Ibuprofen inhibits skeletal muscle hypertrophy in rats*. Med Sci Sports Exerc, 2006. **38**(5): p. 840-6.
105. Schoenfeld, B.J., *The use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs for exercise-induced muscle damage: implications for skeletal muscle development*. Sports Med., 2012. **42**(12): p. 1017-28.

106. Duarte, J.A., Soares, J.M., Appell, H.J., *Nifedipine diminishes exercise-induced muscle damage in mouse*. Int J Sports Med, 1992. **13**(3): p. 274-7.
107. Heap, S.J., Fulgenzi, G.L., Hudlicka, O., *Microcirculation in rat soleus muscle after eccentric exercise: the effect of nifedipine*. Eur J Appl Physiol, 2006. **97**(6): p. 687-94.
108. Beaton, L.J., Tarnopolsky, M. A., Phillips, S. M., *Contraction-induced muscle damage in humans following calcium channel blocker administration*. J Physiol, 2002. **544**(Pt 3): p. 849-59.
109. Beelen, M., Burke, L. M., Gibala, M. J., van Loon, L. Jc, *Nutritional strategies to promote postexercise recovery*. Int J Sport Nutr Exerc Metab, 2010. **20**(6): p. 515-32.
110. Packer, L., Cadenas, E., *Oxidants and antioxidants revisited. New concepts of oxidative stress*. Free Radic Res, 2007. **41**(9): p. 951-2.
111. McGinley, C., Shafat, A., Donnelly, A.E., *Does antioxidant vitamin supplementation protect against muscle damage?* Sports Med., 2009. **39**(12): p. 1011-32.
112. Peternelj, T.T., Coombes, J.S., *Antioxidant supplementation during exercise training: beneficial or detrimental?* Sports Med, 2011. **41**(12): p. 1043-69.
113. Thompson, D., Williams, C., McGregor, S.J., Nicholas, C.W., McArdle, F., Jackson, M.J., Powell, J.R., *Prolonged vitamin C supplementation and recovery from demanding exercise*. Int J Sport Nutr Exerc Metab, 2001. **11**(4): p. 466-81.
114. Khassaf, M., McArdle, A., Esanu, C., Vasilaki, A., McArdle, F., Griffiths, R.D., Brodie, D.A., Jackson, M.J., *Effect of vitamin C supplements on antioxidant defence and stress proteins in human lymphocytes and skeletal muscle*. J Physiol, 2003. **549**(Pt 2): p. 645-52.
115. Thompson, D., Williams, C., Kingsley, M., Nicholas, C.W., Lakomy, H.K., McArdle, F., Jackson, M.J., *Muscle soreness and damage parameters after prolonged intermittent shuttle-running following acute vitamin C supplementation*. Int J Sports Med, 2001. **22**(1): p. 68-75.
116. Thompson, D., Williams, C., Garcia-Roves, P., McGregor, S.J., McArdle, F., Jackson, M.J., *Post-exercise vitamin C supplementation and recovery from demanding exercise*. Eur J Appl Physiol, 2003. **89**(3-4): p. 393-400.
117. Cannon, J.G., Orencole, S.F., Fielding, R.A., Meydani, M., Meydani, S.N., Fiatarone, M.A., Blumberg, J.B., Evans, W.J., *Acute phase response in exercise: interaction of age and vitamin E on neutrophils and muscle enzyme release*. Am J Physiol, 1990. **259**(6 Pt 2): p. R1214-9.
118. McBride, J.M., Kraemer, W.J., Triplett-McBride, T., Sebastianelli, W., *Effect of resistance exercise on free radical production*. Med Sci Sports Exerc, 1998. **30**(1): p. 67-72.
119. Semba, R.D., Lauretani, F., Ferrucci, L., *Carotenoids as protection against sarcopenia in older adults*. Arch Biochem Biophys., 2007. **458**(2): p. 141-5.
120. Djordjevic, B., Baralic, I., Kotur-Stevuljevic, J., Stefanovic, A., Ivanisevic, J., Radivojevic, N., Andjelkovic, M., Dikic, N., *Effect of astaxanthin supplementation on muscle damage and oxidative stress markers in elite young soccer players*. J Sports Med Phys Fitness, 2012. **52**(4): p. 382-92.
121. Sousa, M., Teixeira, V.H., Soares, J., *Dietary strategies to recover from exercise-induced muscle damage*. Int J Food Sci Nutr, 2014. **65**(2): p. 151-63.
122. Diaz-Castro, J., Guisado, R., Kajarabille, N., Garcia, C., Guisado, I.M., de Teresa, C., Ochoa, J.J., *Coenzyme Q(10) supplementation ameliorates inflammatory signaling and oxidative stress associated with strenuous exercise*. Eur J Nutr, 2012. **51**(7): p. 791-9.
123. Ostman, B., Sjodin, A., Michaelsson, K., Byberg, L., *Coenzyme Q10 supplementation and exercise-induced oxidative stress in humans*. Nutrition, 2012. **28**(4): p. 403-17.
124. Malm, C., Svensson, M., Sjoberg, B., Ekblom, B., Sjodin, B., *Supplementation with ubiquinone-10 causes cellular damage during intense exercise*. Acta Physiol Scand, 1996. **157**(4): p. 511-2.
125. Huupponen, M.R., Makinen, L.H., Hyvonen, P.M., Sen, C.K., Rankinen, T., Vaisanen, S., Rauramaa, R., *The effect of N-acetylcysteine on exercise-induced priming of human neutrophils. A chemiluminescence study*. Int J Sports Med, 1995. **16**(6): p. 399-403.
126. Nielsen, H.B., Kharazmi, A., Bolbjerg, M.L., Poulsen, H.E., Pedersen, B.K., Secher, N.H., *N-acetylcysteine attenuates oxidative burst by neutrophils in response to ergometer rowing with no effect on pulmonary gas exchange*. Int J Sports Med., 2001. **22**(4): p. 256-60.

127. Zembron-Lacny, A., Slowinska-Lisowska, M., Szygula, Z., Witkowski, K., Stefaniak, T., Dziubek, W., *Assessment of the antioxidant effectiveness of alpha-lipoic acid in healthy men exposed to muscle-damaging exercise*. J Physiol Pharmacol, 2009. **60**(2): p. 139-43.
128. Zembron-Lacny, A., Ostapiuk, J., Szyszka, K., *Effects of sulphur-containing compounds on plasma redox status in muscle-damaging exercise*. Chin J Physiol, 2009. **52**(5): p. 289-94.
129. Fogarty, M.C., Devito, G., Hughes, C.M., Burke, G., Brown, J.C., McEneny, J., Brown, D., McClean, C., Davison, G.W., *Effects of alpha-lipoic acid on mtDNA damage after isolated muscle contractions*. Med Sci Sports Exerc, 2013. **45**(8): p. 1469-77.
130. Kerkick, C.M., Kreider, R.B., Willoughby, D.S., *Intramuscular adaptations to eccentric exercise and antioxidant supplementation*. Amino Acids, 2010. **39**(1): p. 219-32.
131. Connolly, D.A., McHugh, M.P., Padilla-Zakour, O.I., Carlson, L., Sayers, S.P., *Efficacy of a tart cherry juice blend in preventing the symptoms of muscle damage*. Br J Sports Med, 2006. **40**(8): p. 679-83; discussion 683.
132. Howatson, G., McHugh, M.P., Hill, J.A., Brouner, J., Jewell, A.P., van Someren, K.A., Shave, R.E., Howatson, S.A., *Influence of tart cherry juice on indices of recovery following marathon running*. Scand J Med Sci Sports, 2010. **20**(6): p. 843-52.
133. Karlic, H., Lohninger, A., *Supplementation of L-carnitine in athletes: does it make sense?* Nutrition., 2004 Jul-Aug. **20**(7-8): p. 709-15.
134. Huang, A., Owen, K., *Role of supplementary L-carnitine in exercise and exercise recovery*. Med Sport Sci, 2012. **59**: p. 135-42.
135. Bassit, R.A., Pinheiro, C.H., Vitzel, K.F., Sproesser, A.J., Silveira, L.R., Curi, R., *Effect of short-term creatine supplementation on markers of skeletal muscle damage after strenuous contractile activity*. Eur J Appl Physiol, 2010. **108**(5): p. 945-55.
136. Rawson, E.S., Gunn, B., Clarkson, P.M., *The effects of creatine supplementation on exercise-induced muscle damage*. J Strength Cond Res, 2001. **15**(2): p. 178-84.
137. Rawson, E.S., Conti, M.P., Miles, M.P., *Creatine supplementation does not reduce muscle damage or enhance recovery from resistance exercise*. J Strength Cond Res., 2007. **21**(4): p. 1208-13.
138. Cooke, M.B., Rybalka, E., Williams, A.D., Cribb, P.J., Hayes, A., *Creatine supplementation enhances muscle force recovery after eccentrically-induced muscle damage in healthy individuals*. J Int Soc Sports Nutr, 2009. **6**: p. 13.
139. da Luz, C.R., Nicastro, H., Zanchi, N.E., Chaves, D.F., Lancha, A.H., Jr., *Potential therapeutic effects of branched-chain amino acids supplementation on resistance exercise-based muscle damage in humans*. J Int Soc Sports Nutr, 2011. **8**: p. 23.
140. Howatson, G., Hoad, M., Goodall, S., Tallent, J., Bell, P.G., French, D.N., *Exercise-induced muscle damage is reduced in resistance-trained males by branched chain amino acids: a randomized, double-blind, placebo controlled study*. J Int Soc Sports Nutr., 2012. **9**(1): p. 20.
141. Nosaka, K., Sacco, P., Mawatari, K., *Effects of amino acid supplementation on muscle soreness and damage*. Int J Sport Nutr Exerc Metab, 2006. **16**(6): p. 620-35.
142. Shimomura, Y., Yamamoto, Y., Bajotto, G., Sato, J., Murakami, T., Shimomura, N., Kobayashi, H., Mawatari, K., *Nutraceutical effects of branched-chain amino acids on skeletal muscle*. J Nutr, 2006. **136**(2): p. 529S-532S.
143. Jackman, S.R., Witard, O.C., Jeukendrup, A.E., Tipton, K.D., *Branched-chain amino acid ingestion can ameliorate soreness from eccentric exercise*. Med Sci Sports Exerc., 2010. **24**(5): p. 962-70.
144. Wilson, J.M., Lowery, R.P., Joy, J.M., Walters, J.A., Baier, S.M., Fuller, J.C., Stout, J.R., Norton, L.E., Sikorski, E.M., Wilson, S.M., Duncan, N.M., Zanchi, N.E., Rathmacher, J., *β -Hydroxy- β -methylbutyrate free acid reduces markers of exercise-induced muscle damage and improves recovery in resistance-trained men*. Br J Nutr., 2013. **110**(3): p. 538-44.
145. Nunan, D., Howatson, G., van Someren, K.A., *Exercise-induced muscle damage is not attenuated by beta-hydroxy-beta-methylbutyrate and alpha-ketoisocaproic acid supplementation*. J Strength Cond Res., 2010. **24**(2): p. 531-7.
146. Wilson, J.M., Fitch, P.J., Campbell, B., Wilson, G.J., Zanchi, N., Taylor, L., Wilborn, C., Kalman, D.S., Stout, J.R., Hoffman, J.R., Ziegenfuss, T.N., Lopez, H.L., Kreider, R.B., Smith-Ryan, A.E.,

- Antonio, J., *International Society of Sports Nutrition Position Stand: beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB)*. J Int Soc Sports Nutr., 2013. **10**(1): p. 6.
147. Ra, S.G., Miyazaki, T., Ishikura, K., Nagayama, H., Komine, S., Nakata, Y., Maeda, S., Matsuzaki, Y., Ohmori, H., *Combined effect of branched-chain amino acids and taurine supplementation on delayed onset muscle soreness and muscle damage in high-intensity eccentric exercise*. J Int Soc Sports Nutr, 2013. **10**(1): p. 51.
 148. Dawson, R., Jr., Biasetti, M., Messina, S., Dominy, J., *The cytoprotective role of taurine in exercise-induced muscle injury*. Amino Acids, 2002. **22**(4): p. 309-24.
 149. Silva, L.A., Silveira, P.C., Ronsani, M.M., Souza, P.S., Scheffer, D., Vieira, L.C., Benetti, M., De Souza, C.T., Pinho, R.A., *Taurine supplementation decreases oxidative stress in skeletal muscle after eccentric exercise*. Cell Biochem Funct, 2011. **29**(1): p. 43-9.
 150. Galli, C., Calder, P.C., *Effects of fat and fatty acid intake on inflammatory and immune responses: a critical review*. Ann Nutr Metab., 2009. **55**(1-3): p. 123-39.
 151. Mickleborough, T.D., *Omega-3 polyunsaturated fatty acids in physical performance optimization*. Int J Sport Nutr Exerc Metab, 2013. **23**(1): p. 83-96.
 152. Phillips, S.M., *The science of muscle hypertrophy: making dietary protein count*. Proc Nutr Soc, 2011. **70**(1): p. 100-3.
 153. Nelson, M.R., Conlee, R.K., Parcell, A.C., *Inadequate carbohydrate intake following prolonged exercise does not increase muscle soreness after 15 minutes of downhill running*. Int J Sport Nutr Exerc Metab., 2004. **14**(2): p. 171-84.
 154. Luden, N.D., Saunders, M.J., Todd, M.K., *Postexercise carbohydrate-protein- antioxidant ingestion decreases plasma creatine kinase and muscle soreness*. Int J Sport Nutr Exerc Metab, 2007. **17**(1): p. 109-23.
 155. Romano-Ely, B.C., Todd, M.K., Saunders, M.J., Laurent, T.S., *Effect of an isocaloric carbohydrate-protein-antioxidant drink on cycling performance*. Med Sci Sports Exerc, 2006. **38**(9): p. 1608-16.
 156. Betts, J.A., Toone, R.J., Stokes, K.A., Thompson, D., *Systemic indices of skeletal muscle damage and recovery of muscle function after exercise: effect of combined carbohydrate-protein ingestion*. Appl Physiol Nutr Metab, 2009. **34**(4): p. 773-84.
 157. Bloomer, R.J., *The role of nutritional supplements in the prevention and treatment of resistance exercise-induced skeletal muscle injury*. Sports Med, 2007. **37**(6): p. 519-32.
 158. Shrinivas, B., Rajesh, P., Manisha, S., *Colostrum: all-in-one medicine*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2010. **2**(1).
 159. Godhia, L.M., Patel, N., *Colostrum - its composition, benefits as a nutraceutical: a review*. Curr Res Nutr Food Sci. Jour., 2013. **1**(1): p. 37-47.
 160. Thapa, B.R., *Health factors in colostrum*. Indian J Pediatr, 2005. **72**(7): p. 579-81.
 161. Stelwagen, K., Carpenter, E., Haigh, B., Hodgkinson, A., Wheeler, T.T., *Immune components of bovine colostrum and milk*. J Anim Sci, 2009. **87**(13 Suppl): p. 3-9.
 162. Kelly, G.S., *Bovine colostrums: a review of clinical uses*. Altern Med Rev, 2003. **8**(4): p. 378-94.
 163. Solomons, N.W., *Modulation of the immune system and the response against pathogens with bovine colostrum concentrates*. Eur J Clin Nutr, 2002. **56 Suppl 3**: p. S24-8.
 164. Gapper, L.W., Copestake, D.E., Otter, D.E., Indyk, H.E., *Analysis of bovine immunoglobulin G in milk, colostrum and dietary supplements: a review*. Anal Bioanal Chem, 2007. **389**(1): p. 93-109.
 165. Rathe, M., Muller, K., Sangild, P.T., Husby, S., *Clinical applications of bovine colostrum therapy: a systematic review*. Nutr Rev, 2014. **72**(4): p. 237-54.
 166. van Hooijdonk, A.C., Kussendrager, K.D., Steijns, J.M., *In vivo antimicrobial and antiviral activity of components in bovine milk and colostrum involved in non-specific defence*. Br J Nutr, 2000. **84 Suppl 1**: p. S127-34.
 167. Gopal, P.K., Gill, H.S., *Oligosaccharides and glycoconjugates in bovine milk and colostrum*. Br J Nutr, 2000. **84 Suppl 1**: p. S69-74.
 168. Kussendrager, K.D., van Hooijdonk, A.C., *Lactoperoxidase: physico-chemical properties, occurrence, mechanism of action and applications*. Br J Nutr, 2000. **84 Suppl 1**: p. S19-25.
 169. Playford, R.J., Macdonald, C.E., Johnson, W.S., *Colostrum and milk-derived peptide growth factors for the treatment of gastrointestinal disorders*. Am J Clin Nutr, 2000. **72**(1): p. 5-14.

170. Gauthier, S.F., Pouliot, Y.Y., Maubois, J.L., *Growth factors from bovine milk and colostrum: composition, extraction and biological activities*. Lait, 2006. **86**: p. 99-125.
171. Przybylska, J., Albera, E., Kankofer, M., *Antioxidants in bovine colostrum*. Reprod Domest Anim, 2007. **42**(4): p. 402-9.
172. Struff, W.G., Sprotte, G., *Bovine colostrum as a biologic in clinical medicine: a review--Part II: clinical studies*. Int J Clin Pharmacol Ther., 2008. **46**(5): p. 211-25.
173. Purup, S., Vestergaard, M., O. Pedersen L, Sejrsen, K., *Biological activity of bovine milk on proliferation of human intestinal cells*. J Dairy Res, 2007. **74**(1): p. 58-65.
174. Petschow, B.W., Talbott, R.D., Batema, R.P., *Ability of lactoferrin to promote the growth of Bifidobacterium spp. in vitro is independent of receptor binding capacity and iron saturation level*. J Med Microbiol., 1999. **48**(6): p. 541-9.
175. Thapa, B.R., *Therapeutic potentials of bovine colostrums*. Indian J Pediatr, 2005. **72**(10): p. 849-52.
176. Hwang, K.A., Hwang, Y.J., Ha, W., Choo, Y.K., Ko, K., *Oral administration of insulin-like growth factor-I from colostrum whey reduces blood glucose in streptozotocin-induced diabetic mice*. Br J Nutr, 2012. **108**(1): p. 39-45.
177. Kim, J.H., Jung, W.S., Choi, N.J., Kim, D.O., Shin, D.H., Kim, Y.J., *Health-promoting effects of bovine colostrum in Type 2 diabetic patients can reduce blood glucose, cholesterol, triglyceride and ketones*. J Nutr Biochem., 2009. **20**(4): p. 298-303.
178. Mero, A., Mäikkulainen, 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*. J Appl Physiol (1985), 1997. **83**(4): p. 1144-51.
179. Antonio, J., Sanders, M.S., Van Gammeren, D., *The effects of bovine colostrum supplementation on body composition and exercise performance in active men and women*. Nutrition, 2001. **17**(3): p. 243-7.
180. Kerkick, C.M., Rasmussen, C., Lancaster, S., Starks, M., Smith, P., Melton, C., Greenwood, M., Almada, A., Kreider, R., *Impact of differing protein sources and a creatine containing nutritional formula after 12 weeks of resistance training*. Nutrition, 2007. **23**(9): p. 647-56.
181. Brinkworth, G.D., Buckley, J.D., Slavotinek, J.P., Kurmis, A.P., *Effect of bovine colostrum supplementation on the composition of resistance trained and untrained limbs in healthy young men*. Eur J Appl Physiol, 2004. **91**(1): p. 53-60.
182. Mero, A., Nykanen, T., Keinänen, O., Knuutinen, J., Lahti, K., Alen, M., Rasi, S., Leppaluoto, J., *Protein metabolism and strength performance after bovine colostrum supplementation*. Amino Acids, 2005. **28**(3): p. 327-35.
183. Brinkworth, G.D., Buckley, J.D., *Bovine colostrum supplementation does not affect nutrient absorptive capacity in healthy young men*. Nutr Res., 2003. **23**: p. 1619-1629.
184. Kerkick, C., Kreider, R., Rasmussen, C., et al., *Effects of bovine colostrum supplementation on training adaptations II: performance [abstract]*. FASEB J 2001. **15**: p. LB315.
185. Buckley, J.D., Brinkworth, G.D., Abbott, M.J., *Effect of bovine colostrum on anaerobic exercise performance and plasma insulin-like growth factor I*. J Sports Sci, 2003. **21**(7): p. 577-88.
186. Malisoux, L., Francaux, M., Nielens, H., Renard, P., Lebacqz, J., Theisen, D., *Calcium sensitivity of human single muscle fibers following plyometric training*. Med Sci Sports Exerc, 2006. **38**(11): p. 1901-8.
187. Fry, A., Schilling, B., Chiu, L., et al. , *Muscle fibre and performance adaptations to resistance exercise with MyoVive, colostrum or casein and whey supplementation*. Res Sports Med, 2003. **11**: p. 109-27.
188. Leppaluoto, J., Rasi, S., Martikkala, V., et al. , *Bovine colostrum supplementation enhances physical performance on maximal exercise tests*. 2000 Pre-Olympic Congress Sports Medicine and Physical Education International Congress on Sport Science, 2000 Sep 7-13: Brisbane (QLD).
189. Mero, A., Kahkonen, J., Nykanen, T., Parviainen, T., Jokinen, I., Takala, T., Nikula, T., Rasi, S., Leppaluoto, J., *IGF-I, IgA, and IgG responses to bovine colostrum supplementation during training*. J Appl Physiol (1985), 2002. **93**(2): p. 732-9.

190. Coombes, J.S., Conacher, M., Austen, S.K., Marshall, P.A., *Dose effects of oral bovine colostrum on physical work capacity in cyclists*. Med Sci Sports Exerc, 2002. **34**(7): p. 1184-8.
191. Kuipers, H., van Breda, E., Verlaan, G., Smeets, R., *Effects of oral bovine colostrum supplementation on serum insulin-like growth factor-I levels*. Nutrition, 2002. **18**(7-8): p. 566-7.
192. Shing, C.M., Hunter, D.C., Stevenson, L.M., *Bovine colostrum supplementation and exercise performance: potential mechanisms*. Sports Med, 2009. **39**(12): p. 1033-54.
193. Buckley, J.D., Abbott, M.J., Brinkworth, G.D., Whyte, P.B., *Bovine colostrum supplementation during endurance running training improves recovery, but not performance*. J Sci Med Sport., 2002. **5**(2): p. 65-79.
194. Shing, C.M., Jenkins, D.G., Stevenson, L., Coombes, J.S., *The influence of bovine colostrum supplementation on exercise performance in highly trained cyclists*. Br J Sports Med, 2006. **40**(9): p. 797-801.
195. Hofman, Z., Smeets, R., Verlaan, G., Lugt, Rv, Verstappen, P.A., *The effect of bovine colostrum supplementation on exercise performance in elite field hockey players*. Int J Sport Nutr Exerc Metab, 2002. **12**(4): p. 461-9.
196. Brinkworth, G.D., Buckley, J.D., Bourdon, P.C., Gulbin, J.P., David, A., *Oral bovine colostrum supplementation enhances buffer capacity but not rowing performance in elite female rowers*. Int J Sport Nutr Exerc Metab., 2002. **2002**(12): p. 3.
197. Davison, G., Diment, B.C., *Bovine colostrum supplementation attenuates the decrease of salivary lysozyme and enhances the recovery of neutrophil function after prolonged exercise*. Br J Nutr, 2010. **103**(10): p. 1425-32.
198. Crooks, C., Cross, M.L., Wall, C., Ali, A., *Effect of bovine colostrum supplementation on respiratory tract mucosal defenses in swimmers*. Int J Sport Nutr Exerc Metab, 2010. **20**(3): p. 224-35.
199. Crooks, C.V., Wall, C.R., Cross, M.L., Rutherford-Markwick, K.J., *The effect of bovine colostrum supplementation on salivary IgA in distance runners*. Int J Sport Nutr Exerc Metab, 2006. **16**(1): p. 47-64.
200. Shing, C.M., Peake, J., Suzuki, K., Okutsu, M., Pereira, R., Stevenson, L., Jenkins, D.G., Coombes, J.S., *Effects of bovine colostrum supplementation on immune variables in highly trained cyclists*. J Appl Physiol (1985), 2007. **102**(3): p. 1113-22.
201. Carol, A., Witkamp, R.F., Wichers, H.J., Mensink, M., *Bovine colostrum supplementation's lack of effect on immune variables during short-term intense exercise in well-trained athletes*. Int J Sport Nutr Exerc Metab, 2011. **21**(2): p. 135-45.
202. Shing, C.M., Peake, J.M., Suzuki, K., Jenkins, D.G., Coombes, J.S., *Bovine colostrum modulates cytokine production in human peripheral blood mononuclear cells stimulated with lipopolysaccharide and phytohemagglutinin*. J Interferon Cytokine Res, 2009. **29**(1): p. 37-44.
203. Lakier Smith, L., *Overtraining, excessive exercise, and altered immunity: is this a T helper-1 versus T helper-2 lymphocyte response?* Sports Med., 2003. **33**(5): p. 347-64.
204. Marchbank, T., Davison, G., Oakes, J.R., Ghatei, M.A., Patterson, M., Moyer, M.P., Playford, R.J., *The nutraceutical bovine colostrum truncates the increase in gut permeability caused by heavy exercise in athletes*. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2011. **300**(3): p. G477-84.
205. Prosser, C., Stelwagen, K., Cummins, R., Guerin, P., Gill, N., Milne, C., *Reduction in heat-induced gastrointestinal hyperpermeability in rats by bovine colostrum and goat milk powders*. J Appl Physiol (1985), 2004. **96**(2): p. 650-4.
206. Buckley, J.D., Butler, R.N., Southcott, E., Brinkworth, G.D., *Bovine colostrum supplementation during running training increases intestinal permeability*. Nutrients, 2009. **1**(2): p. 224-34.
207. Appukutty, M., Radhakrishnan, A.K., Ramasamy, K., Ramasamy, R., Abdul Majeed, A.B., Noor, M.I., Safii, N.S., Koon, P.B., Chinna, K., Haleagrahara, N., *Colostrum supplementation protects against exercise-induced oxidative stress in skeletal muscle in mice*. BMC Res Notes., 2012. **5**: p. 649.
208. Erb-Downward, J.R., Noverr, M.C., *Characterization of prostaglandin E2 production by Candida albicans*. Infect Immun, 2007. **75**(7): p. 3498-505.

209. Fatouros, I.G., Chatzinikolaou, A., Douroudos, I., Nikolaidis, M.G., Kyparos, A., Margonis, K., Michailidis, Y., Vantarakis, A., Taxildaris, K., Katrabasas, I., Mandalidis, D., Kouretas, D., Jamurtas, A.Z., *Time-course of changes in oxidative stress and antioxidant status responses following a soccer game*. J Strength Cond Res, 2010. **24**(12): p. 3278-86.
210. Magalhaes, J., Rebelo, A., Oliveira, E., Silva, J.R., Marques, F., Ascensao, A., *Impact of Loughborough Intermittent Shuttle Test versus soccer match on physiological, biochemical and neuromuscular parameters*. Eur J Appl Physiol, 2010. **108**(1): p. 39-48.
211. Carroll, C.C., O'Connor, D.T., Steinmeyer, R., Del Mundo, J.D., McMullan, D.R., Whitt, J.A., Ramos, J.E., Gonzales, R.J., *The influence of acute resistance exercise on cyclooxygenase-1 and -2 activity and protein levels in human skeletal muscle*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2013. **305**(1): p. R24-30.
212. Prescott, S.M., G.A. Zimmerman, and T.M. McIntyre, *Platelet-activating factor*. J Biol Chem, 1990. **265**(29): p. 17381-4.
213. Prescott, S.M., Zimmerman, G.A., Stafforini, D.M., McIntyre, T.M., *Platelet-activating factor and related lipid mediators*. Annu Rev Biochem, 2000. **69**: p. 419-45.
214. Goudevenos, J., Tselepis, A.D., Tsoukatos, D., Grekas, G., Kritikakos, J., Sideris, D., *Platelet aggregability to platelet activating factor at rest and after exercise in patients with coronary artery disease*. Eur Heart J., 1995. **16**(8): p. 1036-43.
215. Rosenson, R.S., Stafforini, D.M., *Modulation of oxidative stress, inflammation, and atherosclerosis by lipoprotein-associated phospholipase A2*. J Lipid Res, 2012. **53**(9): p. 1767-82.
216. Okumura, K.K., Sagawa, N., Ihara, Y., Kobayashi, F., Itoh, H., Mori, T., *Cortisol and TGF-beta inhibit secretion of platelet-activating factor-acetylhydrolase in a monocyte-macrophage model system [corrected]*. Mol Hum Reprod, 1997. **3**(11): p. 927-32.
217. Stafforini, D.M., *Biology of platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH, lipoprotein associated phospholipase A2)*. Cardiovasc Drugs Ther, 2009. **23**(1): p. 73-83.
218. Silva, I.T., Mello, A.P., Damasceno, N.R., *Antioxidant and inflammatory aspects of lipoprotein-associated phospholipase A₂ (Lp-PLA₂): a review*. Lipids Health Dis., 2011. **10**: p. 170.
219. Matsuzawa, A., Hattori, K., Aoki, J., Arai, H., Inoue, K., *Protection against oxidative stress-induced cell death by intracellular platelet-activating factor-acetylhydrolase II*. J Biol Chem, 1997. **272**(51): p. 32315-20.
220. Lourida, E.S., Papathanasiou, A.I., Goudevenos, J.A., Tselepis, A.D., *The low-density lipoprotein (LDL)-associated PAF-acetylhydrolase activity and the extent of LDL oxidation are important determinants of the autoantibody titers against oxidized LDL in patients with coronary artery disease*. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2006. **75**(2): p. 117-26.
221. Rosing, K., Fobker, M., Kannenberg, F., Gunia, S., Dell'Aquila, A.M., Kwiecien, R., Stypmann, J., Nofer, J.R., *Everolimus therapy is associated with reduced lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) activity and oxidative stress in heart transplant recipients*. Atherosclerosis., 2013. **230**(1): p. 164-70.
222. Vickers, K.C., Maguire, C. T., Wolfert, R., Burns, A.R., Reardon, M., Geis, R., Holvoet, P., Morrisett, J.D., *Relationship of lipoprotein-associated phospholipase A2 and oxidized low density lipoprotein in carotid atherosclerosis*. J Lipid Res, 2009. **50**(9): p. 1735-43.
223. Chae, J.S., Kim, O.Y., Paik, J.K., Kang, R., Seo, W.J., Jeong, T.S., Sweeney, G., Lee, S.H., Lee, J.H., *Association of Lp-PLA(2) activity and LDL size with interleukin-6, an inflammatory cytokine and oxidized LDL, a marker of oxidative stress, in women with metabolic syndrome*. Atherosclerosis, 2011. **218**(2): p. 499-506.
224. Kim, J.Y., Hyun, Y.J., Jang, Y., Lee, B.K., Chae, J.S., Kim, S.E., Yeo, H.Y., Jeong, T.S., Jeon, D.W., Lee, J.H., *Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is associated with coronary artery disease and markers of oxidative stress: a case-control study*. Am J Clin Nutr., 2008. **88**(3): p. 630-7.
225. Motoyama, N., Morita, K., Kitayama, T., Shiraishi, S., Uezono, Y., Nishimura, F., Kanematsu, T., Dohi, T., *Pain-releasing action of platelet-activating factor (PAF) antagonists in neuropathic pain animal models and the mechanisms of action*. Eur J Pain, 2013. **17**(8): p. 1156-67.

226. Morita, K., Shiraishi, S., Motoyama, N., Kitayama, T., Kanematsu, T., Uezono, Y., Dohi, T., *Palliation of bone cancer pain by antagonists of platelet-activating factor receptors*. PLoS One, 2014. **9**(3): p. e91746.
227. Rahnema, N., Younesian, A., Mohammadion, M., Bambaiechi, E., *A 90 minute soccer match decreases triglyceride and low density lipoprotein but not high-density lipoprotein and cholesterol levels*. J Res Med Sci., 2009. **14**(6): p. 335-41.
228. Sutherland, W.H., Woodhouse, S.P., *Physical activity and plasma lipoprotein lipid concentrations in men*. Atherosclerosis, 1980. **37**(2): p. 285-92.
229. Kantor, M.A., Cullinane, E.M., Herbert, P.N., Thompson, P.D., *Acute increase in lipoprotein lipase following prolonged exercise*. Metabolism, 1984. **33**(5): p. 454-7.
230. Sasaki, J., Tanabe, Y., Tanaka, H., Saku, K., Shindo, M., Arakawa, K., *Elevated levels of HDL2-cholesterol and apo A-I in national class Japanese male marathon runners*. Atherosclerosis, 1988. **70**(1-2): p. 175-7.
231. Baumstark, M.W., Frey, I., Berg, A., *Acute and delayed effects of prolonged exercise on serum lipoproteins. II. Concentration and composition of low-density lipoprotein subfractions and very low-density lipoproteins*. Eur J Appl Physiol Occup Physiol., 1993. **66**(6): p. 526-30.
232. Gill, J.M., Caslake, M.J., McAllister, C., Tsofliou, F., Ferrell, W.R., Packard, C.J., Malkova, D., *Effects of short-term detraining on postprandial metabolism, endothelial function, and inflammation in endurance-trained men: dissociation between changes in triglyceride metabolism and endothelial function*. J Clin Endocrinol Metab., 2003. **88**(9): p. 4328-35.
233. Sotiropoulos, A., Papapanagiotou, A., Souglis, A., Giosos, G., Kotsis, G., Bogdanis, G.C., *Changes in hormonal and lipid profile after a soccer match in male amateur players*. Serbian Journal of Sports Sciences., 2008. **2**(1): p. 31-6.
234. Yu, H.H., Ginsburg, G.S., O'Toole, M.L., Otvos, J.D., Douglas, P.S., Rifai, N., *Acute changes in serum lipids and lipoprotein subclasses in triathletes as assessed by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy*. Arterioscler Thromb Vasc Biol., 1999. **19**(8): p. 1945-9.
235. Moon, T.C., Son, S.Y., Chang, H.W., *Purification and characterization of 45 kDa PAF acetylhydrolase from bovine colostrum*. Biol Pharm Bull, 2007. **30**(9): p. 1668-73.
236. Zablocka, A., Janusz, M., Macala, J., Lisowski, J., *A proline-rich polypeptide complex (PRP) isolated from ovine colostrum. Modulation of H2O2 and cytokine induction in human leukocytes*. Int Immunopharmacol, 2007. **7**(7): p. 981-8.
237. Zablocka, A., Siednienko, J., Mitkiewicz, M., Gorczyca, W.A., Lisowski, J., Janusz, M., *Proline-rich polypeptide complex (PRP) regulates secretion of inflammatory mediators by its effect on NF-kappaB activity*. Biomed Pharmacother, 2010. **64**(1): p. 16-20.
238. An, M.J., Cheon, J.H., Kim, S.W., Park, J.J., Moon, C.M., Han, S.Y., Kim, E.S., Kim, T.I., Kim, W.H., *Bovine colostrum inhibits nuclear factor kappaB-mediated proinflammatory cytokine expression in intestinal epithelial cells*. Nutr Res, 2009. **29**(4): p. 275-80.
239. Wang, G., Ji, Y., Li, Z., Han, X., Guo, N., Song, Q., Quan, L., Wang, T., Han, W., Pang, D., Ouyang, H., Tang, X., *Nitro-oleic acid downregulates lipoprotein-associated phospholipase A2 expression via the p42/p44 MAPK and NFkappaB pathways*. Sci Rep, 2014. **4**: p. 4905.
240. De Keyser, D., Karabina, S.A., Wei, W., Geeraert, B., Stengel, D., Marsillach, J., Camps, J., Holvoet, P., Ninio, E., *Increased PAFAH and oxidized lipids are associated with inflammation and atherosclerosis in hypercholesterolemic pigs*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2009. **29**(12): p. 2041-6.