

**ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ**

**ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ**

**ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

Εργαστήριο Βιολογίας, Βιοχημείας και Φυσιολογίας  
του ανθρώπου και των μικροοργανισμών

«Η επίδραση διατροφικών παραγόντων στην πρόληψη και στην ταχύτερη  
αποκατάσταση της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης που συνοδεύεται από  
καθυστερημένο μυϊκό πόνο (DOMS - Delayed Onset Muscle Soreness)»

*Διδακτορική διατριβή*

**Μηλιάς Α. Γεώργιος**

Διαιτολόγος – Διατροφολόγος

Αθήνα, 2006



## Π ε ρ ι ε χ ό μ ε ν α

|                                                                                                                           |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Περίληψη.....                                                                                                             | 5         |
| Ευχαριστίες .....                                                                                                         | 9         |
| Κατάλογος συντμήσεων.....                                                                                                 | 10        |
| Κατάλογος πινάκων.....                                                                                                    | 12        |
| Κατάλογος σχημάτων.....                                                                                                   | 14        |
| Δημοσιεύσεις & Ανακοινώσεις.....                                                                                          | 15        |
| <br>                                                                                                                      |           |
| <b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....</b>                                                                                                   | <b>16</b> |
| <br>                                                                                                                      |           |
| <b>1.1    Πρόλογος .....</b>                                                                                              | <b>16</b> |
| <br>                                                                                                                      |           |
| <b>1.2    Δομή και φυσιολογία σκελετικών μυών .....</b>                                                                   | <b>18</b> |
| <br>                                                                                                                      |           |
| <b>1.3    Μυϊκοί τραυματισμοί.....</b>                                                                                    | <b>23</b> |
| <br>                                                                                                                      |           |
| <b>1.4    Ορισμός του ΚΜΠ – ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης.....</b>                                                          | <b>25</b> |
| <br>                                                                                                                      |           |
| <b>1.5    Μηχανισμοί πρόκλησης του ΚΜΠ .....</b>                                                                          | <b>26</b> |
| 1.5.1    Θεωρία του γαλακτικού οξέος .....                                                                                | 26        |
| 1.5.2    Θεωρία του «μυϊκού σπασμού» .....                                                                                | 26        |
| 1.5.3    Θεωρία της «βλάβης του συνδετικού ιστού» .....                                                                   | 27        |
| 1.5.4    Θεωρία της μυϊκής βλάβης.....                                                                                    | 28        |
| 1.5.5    Θεωρία της φλεγμονής.....                                                                                        | 29        |
| 1.5.6    Θεωρία της εκροής ενζύμων .....                                                                                  | 29        |
| <br>                                                                                                                      |           |
| <b>1.6    Ειδικότερα στοιχεία για την διαδικασία της φλεγμονής κατά την<br/>            ασκησιογενή μυϊκή βλάβη .....</b> | <b>32</b> |
| 1.6.1    Κυτοκίνες και μυϊκή βλάβη.....                                                                                   | 34        |
| <br>                                                                                                                      |           |
| <b>1.7    Δείκτες αξιολόγησης ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης.....</b>                                                        | <b>36</b> |
| <br>                                                                                                                      |           |
| <b>1.8    Επίδραση του ΚΜΠ στην αθλητική απόδοση.....</b>                                                                 | <b>37</b> |
| 1.8.1    Αντίληψη της λειτουργικής βλάβης.....                                                                            | 37        |
| 1.8.2    Παράγοντες βιομηχανικής των αρθρώσεων.....                                                                       | 38        |
| 1.8.3    Μυϊκή δύναμη .....                                                                                               | 39        |
| 1.8.4    Παράγοντες κινδύνου τραυματισμού .....                                                                           | 39        |

|             |                                                                      |           |
|-------------|----------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1.9</b>  | <b>Προληπτικές και θεραπευτικές προσεγγίσεις .....</b>               | <b>42</b> |
| 1.9.1       | Φαρμακευτική αντιμετώπιση του ΚΜΠ με χρήση ΜΣΑΦ .....                | 42        |
| 1.9.2       | Φυσιοθεραπευτικές παρεμβάσεις .....                                  | 45        |
| 1.9.2.1     | Προθέρμανση, διατάσεις και μάλαξη .....                              | 45        |
| 1.9.2.2     | Κρυοθεραπεία και συμπιεστική περίδεση .....                          | 46        |
| 1.9.2.3     | Ξεκούραση ή θεραπευτική άσκηση; .....                                | 47        |
| 1.9.2.4     | Εναλλακτικές θεραπείες .....                                         | 48        |
| 1.9.2.5     | Η πρακτικότητα των φυσιοθεραπευτικών παρεμβάσεων .....               | 49        |
| 1.9.3       | Παρεμβάσεις με χρήση διατροφικών συμπληρωμάτων .....                 | 49        |
| 1.9.3.1     | Αντιοξειδωτικοί παράγοντες .....                                     | 49        |
| 1.9.3.2     | Παράγωγα αμινοξέων .....                                             | 53        |
| 1.9.3.3     | Κρεατίνη, σκόνες πρωτεϊνών / υδατανανθράκων .....                    | 55        |
| 1.9.3.4     | Άρνικα (30X), ουβικινόνη (συνένζυμο Q) και L-καρνιτίνη .....         | 56        |
| 1.9.3.5     | Συμπέρασμα .....                                                     | 57        |
| 1.9.4       | Γενικός σχολιασμός προληπτικών και θεραπευτικών προσεγγίσεων .....   | 59        |
| <b>1.10</b> | <b>Το σελήνιο ως θρεπτικό συστατικό .....</b>                        | <b>60</b> |
| 1.10.1      | Γενικές πληροφορίες .....                                            | 60        |
| 1.10.2      | Πηγές .....                                                          | 60        |
| 1.10.3      | Πέψη, απορρόφηση και μεταφορά .....                                  | 61        |
| 1.10.4      | Φυσιολογικός ρόλος .....                                             | 63        |
| 1.10.5      | Απέκκριση .....                                                      | 64        |
| 1.10.6      | Προτεινόμενες Διατροφικές Συστάσεις .....                            | 65        |
| 1.10.7      | Αξιολόγηση κατάστασης του σεληνίου στον οργανισμό .....              | 65        |
| 1.10.8      | Έλλειψη .....                                                        | 66        |
| 1.10.9      | Τοξικότητα .....                                                     | 67        |
| <b>1.11</b> | <b>Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων .....</b>                   | <b>68</b> |
| 1.11.1      | Εισαγωγή – Ιστορική αναδρομή .....                                   | 68        |
| 1.11.2      | Χημική δομή του PAF .....                                            | 69        |
| 1.11.3      | Κυτταρικές πηγές PAF .....                                           | 69        |
| 1.11.4      | Δράσεις PAF .....                                                    | 70        |
| 1.11.5      | Υποδοχείς του PAF .....                                              | 73        |
| 1.11.6      | Πορείες μεταγωγής σήματος που ενεργοποιούνται από τον PAF .....      | 74        |
| 1.11.7      | Αναστολείς του PAF .....                                             | 75        |
| 1.11.8      | Μέθοδοι ποιοτικού και ποσοτικού προσδιορισμού του PAF .....          | 78        |
| <b>2.</b>   | <b>ΣΚΟΠΟΣ .....</b>                                                  | <b>79</b> |
| <b>3.</b>   | <b>ΜΕΘΟΔΟΙ &amp; ΥΛΙΚΑ .....</b>                                     | <b>81</b> |
| <b>3.1</b>  | <b>Ανάπτυξη ισομετρικού δυναμομέτρου .....</b>                       | <b>81</b> |
| 3.1.1       | Περιγραφή δυναμομέτρου .....                                         | 81        |
| 3.1.2       | Έλεγχος εγκυρότητας και επαναληψιμότητας του νέου δυναμόμετρου ..... | 84        |
| 3.1.2.1     | Πρωτόκολλο ελέγχου εγκυρότητας και επαναληψιμότητας .....            | 84        |
| 3.1.2.2     | Στατιστική ανάλυση ελέγχου εγκυρότητας και επαναληψιμότητας .....    | 85        |

|            |                                                                                                             |            |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>3.2</b> | <b>Δοκιμαζόμενοι κύριας έρευνας.....</b>                                                                    | <b>86</b>  |
| <b>3.3</b> | <b>Πρωτόκολλο άσκησης πρόκλησης ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης .....</b>                                       | <b>88</b>  |
| <b>3.4</b> | <b>Μετρήσεις .....</b>                                                                                      | <b>90</b>  |
| 3.4.1      | Προσδιορισμός μυϊκής δύναμης.....                                                                           | 91         |
| 3.4.2      | Προσδιορισμός γωνιών άρθρωσης του αγκώνα.....                                                               | 92         |
| 3.4.3      | Μέτρηση περιμέτρου βραχιονίου.....                                                                          | 93         |
| 3.4.4      | Αντίληψη καθυστερημένου μυϊκού πόνου.....                                                                   | 93         |
| 3.4.5      | Προσδιορισμός επιπέδων PAF στο αίμα.....                                                                    | 94         |
| 3.4.5.1    | Εκχύλιση ολικών λιποειδών αίματος κατά <i>Bligh-Dyer</i> .....                                              | 94         |
| 3.4.5.2    | Χρωματογραφικός καθαρισμός PAF με χρωματογραφία στήλης .....                                                | 95         |
| 3.4.5.3    | Χρωματογραφικός καθαρισμός PAF με HPLC .....                                                                | 96         |
| 3.4.5.4    | Μέτρηση της συγκέντρωσης του PAF με βιολογική δοκιμασία σε πλυμένα αιμοπετάλια κουνελιού.....               | 97         |
| 3.4.6      | Προσδιορισμός συνολικής πρωτεΐνης σε ορό αίματος με τη μέθοδο Lowry                                         | 101        |
| 3.4.7      | Προσδιορισμός δραστηριότητας PAF ακετυλοϋδρολάσης (PAF-AH) σε ορό αίματος .....                             | 102        |
| 3.4.8      | Προσδιορισμός δραστηριότητας γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH) σε ορό αίματος .....                            | 104        |
| 3.4.9      | Προσδιορισμός δραστηριότητας κρεατινικής κινάσης (CK) σε ορό αίματος.                                       | 105        |
| 3.4.10     | Ποσοτικός προσδιορισμός της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) και του συμπληρώματος C3 (C3) σε ορό αίματος ..... | 107        |
| 3.4.11     | Ποσοτικός προσδιορισμός του ινωδογόνου σε πλάσμα αίματος.....                                               | 107        |
| 3.4.12     | Ποσοτικός προσδιορισμός ολικού αριθμού λευκοκυττάρων στο αίμα.....                                          | 109        |
| 3.4.13     | Προσδιορισμός λευκοκυτταρικού τύπου στο αίμα .....                                                          | 110        |
| 3.4.14     | Ποσοτικός προσδιορισμός του σεληνίου σε ορό αίματος.....                                                    | 111        |
| 3.4.15     | Διατροφική αξιολόγηση .....                                                                                 | 112        |
| <b>3.5</b> | <b>Στατιστική ανάλυση.....</b>                                                                              | <b>113</b> |
| <b>4.</b>  | <b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....</b>                                                                                   | <b>114</b> |
| <b>4.1</b> | <b>Έλεγχος εγκυρότητας και επαναληψιμότητας του νέου δυναμομέτρου. 114</b>                                  |            |
| 4.1.1      | Αποτελέσματα ελέγχων εγκυρότητας .....                                                                      | 114        |
| 4.1.2      | Αποτελέσματα ελέγχων επαναληψιμότητας .....                                                                 | 116        |
| 4.1.3      | Σχολιασμός αποτελεσμάτων ελέγχου εγκυρότητας και επαναληψιμότητας του δυναμομέτρου .....                    | 118        |
| <b>4.2</b> | <b>Αποτελέσματα κύριας έρευνας .....</b>                                                                    | <b>120</b> |
| 4.2.1      | Μυϊκή δύναμη, γωνίες άρθρωσης, περίμετρος βραχιονίου, μυϊκός πόνος ...                                      | 120        |
| 4.2.2      | Βιοχημικοί και φλεγμονώδεις δείκτες στο αίμα.....                                                           | 122        |
| 4.2.3      | Διατροφική Αξιολόγηση .....                                                                                 | 128        |
| 4.2.4      | Στατιστικές συσχετίσεις .....                                                                               | 131        |

|                                                                                        |            |
|----------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....</b>                                                               | <b>133</b> |
| <b>5.1 Μυϊκή δύναμη, γωνίες άρθρωσης, περίμετρος βραχιονίου, μυϊκός πόνος .....</b>    | <b>133</b> |
| <b>5.2 Βιοχημικοί και φλεγμονώδεις δείκτες στο αίμα .....</b>                          | <b>134</b> |
| 5.2.1 C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, συμπλήρωμα C3 και ινωδογόνο.....                           | 134        |
| 5.2.2 Λευκά αιμοσφαίρια και υποομάδες.....                                             | 135        |
| 5.2.3 Παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (PAF) και PAF-ακευλοϋδρολάση (PAF-AH)..... | 136        |
| <b>5.3 Διατροφική Αξιολόγηση .....</b>                                                 | <b>139</b> |
| 5.3.1 Αρχικά επίπεδα σεληνίου .....                                                    | 139        |
| 5.3.2 Εκτίμηση διατροφικής πρόσληψης θρεπτικών συστατικών .....                        | 142        |
| <b>5.4 Γενικά Συμπεράσματα – Προτάσεις για το μέλλον .....</b>                         | <b>146</b> |
| <br><b>6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ – ΑΡΘΡΟΓΡΑΦΙΑ .....</b>                                         | <b>151</b> |
| <br><b>7. Π Α Ρ Α Ρ Τ Η Μ Α.....</b>                                                   | <b>176</b> |

## Περίληψη

**Εισαγωγή:** Η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη και ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος που την χαρακτηρίζει είναι μία γνώριμη κατάσταση σε όλους όσους ασκούνται είτε ερασιτεχνικά είτε επαγγελματικά. Συνήθως είναι επακόλουθο της εφαρμογής μυϊκού έργου στο οποίο ο ασκούμενος δεν είναι εξοικειωμένος, ενώ είναι πιο έντονος όταν αυτό περιλαμβάνει μυϊκές συστολές πλειομετρικού τύπου. Τα τυπικά συμπτώματα που σχετίζονται με την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη είναι η απώλεια μυϊκής δύναμης, ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος, η μυϊκή ευαισθησία, η μυϊκή δυσκαμψία, και το οίδημα. Ωστόσο, έως σήμερα δεν υπάρχουν απόλυτα τεκμηριωμένες μέθοδοι πρόληψης ή θεραπείας, πλην ορισμένων φαρμακευτικών παρεμβάσεων όπου ωστόσο ελλοχεύει ο κίνδυνος παρενεργειών. Η επιστήμη της διατροφής δύναται να προσφέρει λύσεις προς την κατεύθυνση αυτή, δεδομένου ότι η φλεγμονή και το οξειδωτικό στρες που αποτελούν βασικές πτυχές του μηχανισμού της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από τις δράσεις θρεπτικών συστατικών στον οργανισμό.

**Σκοπός:** Η παρούσα ερευνητική προσπάθεια είχε ως κύριο στόχο την βαθύτερη κατανόηση του ρόλου συγκεκριμένων διατροφικών παραγόντων στον μηχανισμό της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, διαμέσου της εφαρμογής σύγχρονων και αξιόπιστων μεθόδων.

**Μέθοδοι:** Για τις ανάγκες της παρούσας ερευνητικής προσπάθειας κρίθηκε απαραίτητο να κατασκευασθεί μυϊκό δυναμόμετρο το οποίο να συνδέεται με ηλεκτρονικό υπολογιστή. Είκοσι πέντε άνδρες (21-43 ετών) συμμετείχαν σε πειράματα εγκυρότητας και επαναληψιμότητας τα οποία ήταν αναγκαία ώστε να αξιολογηθεί ο βαθμός ακρίβειας του μηχανήματος. Στη συνέχεια δεκατρείς νέοι αγύμναστοι υγιείς άνδρες (21-32 ετών) εκτέλεσαν, με την βοήθεια του μηχανήματος, 36 κάμψεις του αγκώνα του μη επιδέξιου άνω άκρου, ώστε να προκληθεί στους εμπλεκόμενους μυς ασκησιογενής βλάβη.

Η αξιολόγηση της εξέλιξης της βλάβης βασίστηκε σε αποδεκτούς βιβλιογραφικά δείκτες. Συγκεκριμένα μετρήθηκαν το προ- και μετασκοπικά (2, 24, 48, 72 και 96h) επίπεδα της μέγιστης ισομετρικής ροπής (MIT), του εύρους τροχιάς και των επιμέρους γωνιών της άρθρωσης του αγκώνα (ROM, FANG, RANG), της περιμέτρου του βραχιονίου (CIRC), της υποκειμενικής αντίληψης της έντασης του αντιλαμβανόμενου πόνου (VAS), καθώς και της κρεατινικής κινάσης (CK) και της γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH) στον ορό του αίματος. Στα ίδια χρονικά σημεία αξιολογήθηκαν τα επίπεδα στο αίμα δεικτών φλεγμονής όπως ο παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (PAF) και το ένζυμο απενεργοποίησής του (PAF-ακέτυλοϋδρολάση, PAF-AH), ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων και των υποομάδων τους, η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP), το συμπλήρωμα C3 (C3) και το ινωδογόνο. Η διατροφική αξιολόγηση των συμμετεχόντων βασίστηκε στην ανάλυση ερωτηματολογίων τύπου συχνότητας, ενώ όσον αφορά το σελήνιο που ενδιέφερε περισσότερο την παρούσα έρευνα αξιολογήθηκαν επιπλέον, τα αρχικά του επίπεδα στον ορό του αίματος.

**Αποτελέσματα:** Τα αποτελέσματα του συνόλου των ελέγχων εγκυρότητας και επαναληψιμότητας που διενεργήθηκαν, έδειξαν ότι το νεοδημιουργηθέν δυναμόμετρο είναι αρκετά ακριβές. Σχετικά με την κύρια έρευνα, το σύνολο των δεικτών μυϊκής βλάβης που αξιολογήθηκαν (MIT, ROM, FANG, RANG, CIRC, VAS, CK και LDH),

μεταβλήθηκαν στατιστικώς σημαντικά μετά την άσκηση. Όσον αφορά τους φλεγμονώδεις δείκτες που αξιολογήθηκαν, ο PAF και ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική αύξηση μετά την άσκηση, ενώ τα επίπεδα της PAF-AH, της CRP, του C3 και του ινωδογόνου παρέμειναν αμετάβλητα. Η διατροφική αξιολόγηση δεν εντόπισε ελλιπή πρόσληψη κάποιου θρεπτικού συστατικού για κανένα συμμετέχοντα.

Η στατιστική επεξεργασία κατέληξε σε μία σειρά ενδιαφερόντων συσχετισμών. Συγκεκριμένα, εντοπίστηκε αντίστροφη συσχέτιση ανάμεσα στον PAF και την MIT και το ROM καθώς και θετική συσχέτιση του PAF με άλλους δείκτες μυϊκής βλάβης όπως η CK, η LDH, η FANG και η CIRC. Επιπλέον τα αρχικά επίπεδα ορού του σελήνιου συσχετίστηκαν αντίστροφα με την CK, την LDH και το ROM και θετικά με την MIT και την RANG. Τέλος, η μέση ημερήσια διατροφική πρόσληψη συγκεκριμένων ιχνοστοιχείων (Zn, Cu και Mn) συσχετίστηκε με αποδεκτούς δείκτες της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης όπως η CK, η LDH και το ROM (αντιστρόφως), η RANG και η MIT (θετικώς).

**Συμπεράσματα:** Το επιλεγθέν πρωτόκολλο πλειομετρικής άσκησης, πράγματι προκάλεσε μυϊκή βλάβη στους καμπήρες μυς του αγκώνα κάτι το οποίο επιβεβαιώθηκε από τις στατιστικά σημαντικές διακυμάνσεις όλων των αποδεκτών δεικτών ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης που αξιολογήθηκαν. Τα ευρήματα της παρούσας έρευνας προτείνουν την εμπλοκή του PAF στον μηχανισμό της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, ενώ όσον αφορά το σελήνιο, φαίνεται ότι, πιθανότατα διαμέσου της συμμετοχής του σε σημαντικά για τον οργανισμό αντιοξειδωτικά και αντιφλεγμονώδη συστήματα, μετριάξει τις αρνητικές επιπτώσεις των πλειομετρικών μυϊκών συστολών στην λειτουργία των μυών. Από τους στατιστικά σημαντικούς συσχετισμούς που εντοπίστηκαν ανάμεσα σε προσλήψεις θρεπτικών συστατικών και σε δείκτες μυϊκής βλάβης και φλεγμονής, προκύπτει ότι η διατροφική πρόσληψη του ψευδαργύρου, του χαλκού και του μαγγάνιου πιθανώς επηρεάζει την συνολική απόκριση του οργανισμού στην βλάβη.

Ωστόσο, οι ακριβείς ρόλοι που διαδραματίζουν ο PAF, το σελήνιο, ο ψευδάργυρος, ο χαλκός και το μαγγάνιο στον μηχανισμό της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης πρέπει να διερευνηθούν σε βάθος με μελλοντικές μελέτες, από τις οποίες τελικά θα προκύψει η αναγκαιότητα ή μη πραγματοποίησης συστάσεων για αυξημένη κατανάλωση τροφών ή συμπληρωμάτων διατροφής πλούσιων σε αναστολείς του PAF, σελήνιο, ψευδάργυρο ή μαγγάνιο ή κάποιον συνδυασμό τους. Τέλος αξίζει να σημειωθεί ότι το μυϊκό δυναμόμετρο που αναπτύχθηκε στα πλαίσια της παρούσας ερευνητικής προσπάθειας, διαθέτει επαρκές επίπεδο αξιοπιστίας για χρήση σε παρόμοιες εργασίες στο μέλλον.



## Abstract

**Introduction:** Exercise-induced muscle injury and delayed onset muscle soreness (DOMS) that accompanies it, is a familiar experience for the elite and novice athletes. This type of injury frequently occurs after unaccustomed exercise, particularly if the exercise involves a large amount of eccentric (muscle lengthening) contractions. Typical associated symptoms are muscle strength loss, delayed onset muscle soreness, muscle tenderness, muscle stiffness and swelling. However, until nowadays there is no established method of prevention or rehabilitation, with the exception of some pharmaceutical interventions which however have the risk of side effects. The science of nutrition is able to offer solutions towards this direction, since inflammation and oxidative stress, which are strongly suggested of implication in exercise-induced muscle injury mechanism, are affected by functions of nutrients in the organism.

**Purpose:** Main aim of the present study was the deep analysis of specific nutritional factors' role in the mechanism of exercise-induced muscle injury, applying modern and reliable methods

**Methods:** The development of a computerized muscle dynamometer was necessary in order to be used in the following stages of the study. Twenty five male subjects (21-43 years) participated in validity and reproducibility tests which were needed to determine apparatus's level of precision. Afterwards, thirteen healthy, recreationally active male subjects (21-32 years) performed 36 maximum voluntary eccentric contractions on the new-developed dynamometer using the elbow flexor muscles of the non-dominant arm in order muscle injury to be induced.

The evaluation of muscle damage's progression was based on established indicators. Specifically, maximum isometric torque (MIT), elbow joint's range of motion (ROM), relaxed arm angle (RANG), flexed arm angle (FANG), arm circumference (CIRC), subjective perception of muscle soreness (VAS) and serum levels of creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH) were measured immediately before and after exercise at 2, 24, 48, 72 and 96h. Blood levels of inflammation's markers as platelet activating factor (PAF) and the enzyme that inactivates it (PAF-acetylhydrolase, PAF-AH), leukocytes and their subsets, C-reactive protein (CRP), complement C3 (C3) and fibrinogen were determined at the same time points. Nutritional assessment of the participants was based on the analysis of a semi-quantitative food frequency questionnaire, while complementary data regarding assessment of selenium status were retrieved by the measurement of basal serum levels of this trace mineral.

**Results:** The statistical outcomes of reproducibility and validity tests performed, showed that the developed dynamometer is quite precise. Relatively to the main part of the study, all of the muscle damage markers assessed (MIT, ROM, FANG, RANG, CIRC, VAS, CK and LDH) were changed significantly after exercise. Among assessed inflammatory markers, PAF and leukocytes showed significant postexercise elevation, while levels of PAF-AH, CRP, C3 and fibrinogen were unchanged. No nutritional deficiency was observed among participants after analysis of questionnaires recorded.

Statistic analysis showed a series of interesting associations. Specifically, we observed an inverse association between PAF and MIT and ROM, as well as a positive association with other markers of muscle damage, i.e. CK, LDH, FANG and CIRC. Furthermore, basal serum levels of selenium were associated inversely with CK, LDH

and ROM and positively with MIT and RANG. Additionally, average daily dietary intake of specific trace minerals (Zn, Cu and Mn) was associated with established markers of muscle damage such as CK, LDH and ROM (inversely), RANG and MIT (positively).

**Conclusions:** The selected eccentric exercise stimulus of our study, induced muscle damage in the elbow flexor muscles of participants which was confirmed by the statistically significant alteration of every established marker of injury assessed. Our findings may imply a role for PAF in the mechanism of eccentric exercise induced muscle damage while relatively to selenium it seems that, possibly through its participation in pivotal antioxidant and anti-inflammatory systems in the organism, ameliorates muscle functional decrements subsequent to eccentric muscle contractions. Significant statistic associations observed between nutrients' intakes and several markers of injury and inflammation, suggest that nutritional intake of zinc, copper and manganese possibly affects the overall response to injury.

However, the exact role that PAF, selenium, zinc, copper and manganese play in exercise-induced injury mechanism needs to be established with future studies, which will demonstrate whether recommendations for increased consumption of foods or nutritional supplements that are rich sources of PAF inhibitors, selenium, zinc, copper or manganese or a combination of them, are necessary. Finally, it has to be noticed that muscle dynamometer developed for the needs of present work, is reliable enough for use in similar studies in the future.

## Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες και την ευγνωμοσύνη μου σε όλους όσους με βοήθησαν να ολοκληρώσω τη παρούσα διδακτορική διατριβή. Συγκεκριμένα, θα ήθελα να ευχαριστήσω:

- την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βιοχημείας, **κα. Σμαραγδή Αντωνοπούλου**, επιβλέπουσα της εργασίας, όχι μόνο για την υπεύθυνη και ουσιαστική καθοδήγησή σε όλα τα στάδια της εργασίας, αλλά κυρίως γιατί μου δίδαξε στην πράξη πώς να βρίσκω λύσεις απέναντι σε εμπόδια που αρχικά φαντάζουν ανυπέρβλητα,
- τον Αναπληρωτή Καθηγητή Αθλητικής Φυσικοθεραπείας, **κ. Σπυρίδωνα Αθανασόπουλο**, μέλος της τριμελούς επιτροπής, που με έμαθε ότι η σκληρή αλλά συνάμα καλοπροαίρετη κριτική φέρνει θετικά αποτελέσματα,
- τον Καθηγητή Βιοχημείας – Χημείας Τροφίμων, **κ. Νικόλαο Ανδρικόπουλο**, μέλος της τριμελούς επιτροπής, για τις χρήσιμες συμβουλές του,
- την Λέκτορα Βιοχημείας, **κα. Ελισάβετ Φραγκοπούλου** και τον Λέκτορα Βιοχημείας, **κ. Τζώρτζη Νομικό**, η συνεργασία με τους οποίους στο εργαστήριο ήταν εποικοδομητική και πάντοτε σε ευχάριστο κλίμα,
- τον Λέκτορα Βιοστατιστικής και Επιδημιολογίας, **κ. Δημοσθένη Παναγιωτάκο** για τις χρήσιμες συμβουλές του κατά την φάση της επιλογής κατάλληλων στατιστικών μεθόδων επεξεργασίας των αποτελεσμάτων,
- την τεχνική βοηθό, **κα. Μαργαρίτα Χρηστέα** που ανέλαβε την διεξαγωγή των αιμοληψιών,
- τον **κ. Βασίλειο Μαχαίρα**, ηλεκτρονικό μηχανικό, γενικό διευθυντή της εταιρείας Microforce Electronic, για την σημαντική συμβολή του στον σχεδιασμό και την ανάπτυξη του μυϊκού δυναμομέτρου,
- τα μέλη της επταμελούς επιτροπής για τα ουσιαστικά σχόλια και τις χρήσιμες υποδείξεις τους,
- όλους τους φίλους που συμμετείχαν εθελοντικά στην παρούσα έρευνα και φυσικά,
- τους γονείς μου, τον αδερφό μου και την αρραβωνιαστικιά μου για την υπομονή και την κατανόηση που έδειξαν τόσα χρόνια, καθώς και για την ουσιαστική βοήθεια και στήριξη που μου έδιναν απλόχερα όποτε χρειάστηκε.

## Κατάλογος συντμήσεων

|                       |                                                                                                                  |
|-----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>3-MH</b>           | 3-Methyl Histidine (3-μέθυλο ιστιδίνη)                                                                           |
| <b>AA</b>             | Arachidonic Acid (Αραχιδονικό οξύ)                                                                               |
| <b>AMP</b>            | Adenosine Monophosphate (Μονοφωσφορική αδενοσίνη)                                                                |
| <b>ATP</b>            | Adenosine Triphosphate (Τριφωσφορική αδενοσίνη)                                                                  |
| <b>BSA</b>            | Bovine Serum Albumin (Βόεια αλβουμίνη ορού)                                                                      |
| <b>C3</b>             | Complement C3 (Συμπλήρωμα C3)                                                                                    |
| <b>cAMP</b>           | Cyclic AMP (Κυκλικό AMP)                                                                                         |
| <b>CIRC</b>           | Arm Circumference (Περίμετρος βραχιονίου)                                                                        |
| <b>CK</b>             | Creatine Kinase (Κρεατινική κινάση)                                                                              |
| <b>COX</b>            | Cyclooxygenase (Κυκλοξυγονάση)                                                                                   |
| <b>CRP</b>            | C-Reactive Protein (C-αντιδρώσα πρωτεΐνη)                                                                        |
| <b>DAG</b>            | Diacylglycerol (Διάκυλο-γλυκερόλη)                                                                               |
| <b>DOMS</b>           | Delayed Onset Muscle Soreness (Καθυστερημένος μυϊκός πόνος)                                                      |
| <b>FANG</b>           | Flexed Angle (γωνία μέγιστης ενεργητικής κάμψης του αγκώνα)                                                      |
| <b>FFQ</b>            | Food Frequency Questionnaire (Ερωτηματολόγιο διατροφής τύπου συχνότητας)                                         |
| <b>FGF</b>            | Fibroblast Growth Factor (Αυξητικός παράγοντας ινωδοβλαστών)                                                     |
| <b>G-CSF</b>          | Granulocyte Colony Stimulating Factor (Διεγερτικός παράγοντας αποικισμού κοκκιοκυττάρων)                         |
| <b>GM-CSF</b>         | Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor (Διεγερτικός παράγοντας αποικισμού κοκκιοκυττάρων - μακροφάγων) |
| <b>GPx</b>            | Glutathione Peroxidase (Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης)                                                          |
| <b>HBOT</b>           | Hyperbaric Oxygen Therapy (Θεραπεία με υπερβαρικό οξυγόνο)                                                       |
| <b>HL</b>             | Hydroxylysine (Υδροξυλυσίνη)                                                                                     |
| <b>HMB</b>            | b-Hydroxy Methyl Butyric Acid (β-υδροξύ-β-μεθυλβουτυρικό οξύ)                                                    |
| <b>HP</b>             | Hydroxyproline (Υδροξυπρολίνη)                                                                                   |
| <b>ICC</b>            | Intraclass Correlation Coefficient («Intraclass» συντελεστής συσχέτισης)                                         |
| <b>ICP-MS</b>         | Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry (Φασματογραφία μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος)             |
| <b>IGF</b>            | Insulin-like Growth Factor («Insulin-like» αυξητικός παράγοντας)                                                 |
| <b>IL</b>             | Interleukin (Ιντερλευκίνη)                                                                                       |
| <b>IP<sub>3</sub></b> | Triphosphoric Inositol (Τριφωσφορική ινοσιτόλη)                                                                  |
| <b>KMPI</b>           | Καθυστερημένος Μυϊκός Πόνος                                                                                      |
| <b>LIPOX</b>          | Lipoxygenase (Λιποξυγονάση)                                                                                      |
| <b>M-CSF</b>          | Macrophage Colony Stimulating Factor (Διεγερτικός παράγοντας αποικισμού μακροφάγων)                              |
| <b>MDA</b>            | Malondialdehyde (Μαλονδιαλδεΐδη)                                                                                 |
| <b>MID</b>            | Μέγιστη Ισομετρική Δύναμη                                                                                        |
| <b>MIT</b>            | Maximal Isometric Torque (Μέγιστη ισομετρική ροπή)                                                               |
| <b>MRTD</b>           | Maximal Rate of Torque Development (Μέγιστος ρυθμός ανάπτυξης ροπής)                                             |
| <b>ΜΣΑΦ</b>           | Μη Στεροειδή Αντιφλεγμονώδη Φάρμακα                                                                              |
| <b>NAK</b>            | N-Ακέτυλο-Κυστεΐνη                                                                                               |
| <b>NF-Kb</b>          | Nuclear Factor-Kappa b (Πυρηνικός παράγοντας Kβ)                                                                 |
| <b>PAF</b>            | Platelet Activating Factor (Παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων)                                               |
| <b>PAF, Free</b>      | Ελεύθερος PAF                                                                                                    |
| <b>PAF, Bound</b>     | Δεσμευμένος PAF                                                                                                  |
| <b>PAF, Total</b>     | Ολικός PAF                                                                                                       |

|                        |                                                                          |
|------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| <b>PAF-AH</b>          | PAF - Acetylhydrolase (PAF – Ακετυλοϋδρολάση)                            |
| <b>PDGF</b>            | Platelet-Derived Growth Factor (Αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγοντας)     |
| <b>PGE<sub>2</sub></b> | Prostaglandin E <sub>2</sub> (Προσταγλανδίνη E <sub>2</sub> )            |
| <b>PLA<sub>2</sub></b> | Phospholipase A <sub>2</sub> (Φωσφολιπάση A <sub>2</sub> )               |
| <b>PLC</b>             | Phospholipase C (Φωσφολιπάση C)                                          |
| <b>PLD</b>             | Phospholipase D (Φωσφολιπάση D)                                          |
| <b>ΠΟY</b>             | Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας                                                |
| <b>RANG</b>            | Relaxed Angle (Γωνία ανάπαυσης του αγκώνα σε απουσία μυϊκής σύσπασης)    |
| <b>RDA</b>             | Recommended Dietary Allowance (Συνιστώμενη ημερήσια διατροφική πρόσληψη) |
| <b>RE</b>              | Retinol Equivalent (Ισοδύναμο ρετινόλης)                                 |
| <b>ROM</b>             | Range of Motion (Εύρος τροχιάς της άρθρωσης του αγκώνα)                  |
| <b>RTD</b>             | Rate of Torque Development (Ρυθμός ανάπτυξης ροπής)                      |
| <b>SDD</b>             | Smallest Detectable Difference (Ελάχιστη ανιχνεύσιμη διαφορά)            |
| <b>SEM</b>             | Standard Error of the Measurement (Τυπικό σφάλμα της μέτρησης)           |
| <b>SOD</b>             | Superoxide Dismutase (Υπεροξειδική δισμουτάση)                           |
| <b>TGF</b>             | Transforming Growth Factor (Αυξητικός παράγοντας μετατροπής)             |
| <b>TNF</b>             | Tumor Necrosis Factor (Παράγοντας νέκρωσης όγκου)                        |
| <b>TPN</b>             | Total Parenteral Nutrition (Ολική παρεντερική διατροφή)                  |
| <b>USDA</b>            | United States, Department of Agriculture (Υπουργείο γεωργίας των Η.Π.Α.) |
| <b>VAS</b>             | Visual Analog Scale (Οπτική αναλογική κλίμακα)                           |

## Κατάλογος πινάκων

|      |                                                                                                                                                                            |     |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1.1  | Χαρακτηριστικά μυϊκών ινών σκελετικών μυών του ανθρώπου.....                                                                                                               | 19  |
| 1.2  | Δράσεις φλεγμονωδών κυττάρων κατά την μυϊκή επιδιόρθωση.....                                                                                                               | 33  |
| 1.3  | Κυτοκίνες που μπορούν να παραχθούν από κύτταρα σε μυ που αντιμετωπίζει ασκησιογενή μυϊκή βλάβη.....                                                                        | 35  |
| 1.4  | Επιλεγμένοι δείκτες αξιολόγησης της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης.....                                                                                                       | 36  |
| 1.5  | Εργασίες που δεν δείχνουν κάποια αποτελεσματικότητα της θεραπείας με ΜΣΑΦ σε ασκησιογενή μυϊκή βλάβη μετά από πλειομετρικές συστολές.....                                  | 44  |
| 1.6  | Εργασίες που δείχνουν κάποια αποτελεσματικότητα της θεραπείας με ΜΣΑΦ σε ασκησιογενή μυϊκή βλάβη μετά από πλειομετρικές συστολές.....                                      | 44  |
| 1.7  | Επιδράσεις χορήγησης συμπληρωμάτων διατροφής σε δείκτες της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης.....                                                                               | 58  |
| 1.8  | Μέση περιεκτικότητα σεληνίου σε διάφορα τρόφιμα ευρωπαϊκής προέλευσης.....                                                                                                 | 61  |
| 1.9  | Σεληνοπρωτεΐνες θηλαστικών και οι δράσεις τους.....                                                                                                                        | 64  |
| 1.10 | RDA για το σελήνιο για παιδιά και ενήλικες.....                                                                                                                            | 65  |
| 1.11 | Επαρκής πρόσληψη σεληνίου για βρέφη.....                                                                                                                                   | 65  |
| 1.12 | Ανώτερη ανεκτή προσλαμβανόμενη ποσότητα σεληνίου για βρέφη, παιδιά και ενήλικες.....                                                                                       | 67  |
| 1.13 | Κύτταρα που παράγουν PAF.....                                                                                                                                              | 71  |
| 1.14 | Δράσεις του PAF σε κύτταρα και απομονωμένους ιστούς.....                                                                                                                   | 72  |
| 1.15 | Δράσεις του PAF in vivo.....                                                                                                                                               | 73  |
| 1.16 | Μηχανισμοί μεταγωγής σήματος που επάγονται από τον PAF.....                                                                                                                | 75  |
| 1.17 | Οι δομές μερικών από τους σημαντικότερους ανταγωνιστές του PAF.....                                                                                                        | 77  |
| 3.1  | Χαρακτηριστικά συμμετεχόντων στα πειράματα ελέγχου εγκυρότητας και επαναληψιμότητας του δυναμομέτρου (N=25).....                                                           | 84  |
| 3.2  | Ηλικία και ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων στην κύρια έρευνα (N=13).....                                                                                   | 86  |
| 4.1  | Αποτελέσματα ελέγχων εγκυρότητας (validity tests).....                                                                                                                     | 114 |
| 4.2  | Αποτελέσματα συσχετίσεων «trial-to-trial» που αφορούν την μέγιστη ισομετρική ροπή σε διάφορες γωνίες του αγκώνα (με 0° οριζόμενη ως η γωνία του αγκώνα σε πλήρη έκταση)... | 117 |
| 4.3  | Αποτελέσματα συσχετίσεων «trial-to-trial» που αφορούν διάφορες παραμέτρους της μυϊκής δύναμης.....                                                                         | 117 |

|      |                                                                                                                                                           |     |
|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.4  | Αποτελέσματα συσχετίσεων «day-to-day» που αφορούν την μέγιστη ισομετρική ροπή.....                                                                        | 118 |
| 4.5  | Επίπεδα δεικτών μυϊκής λειτουργίας πριν και μετά το πρωτόκολλο άσκησης.....                                                                               | 122 |
| 4.6  | Επίπεδα μυϊκών ενζύμων και φλεγμονωδών δεικτών στον ορό αίματος πριν και μετά το πρωτόκολλο πρόκλησης ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης.....                    | 123 |
| 4.7  | Επίπεδα λευκών αιμοσφαιρίων και των υποομάδων τους στον ορό αίματος πριν και μετά το πρωτόκολλο πρόκλησης ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης.....                | 126 |
| 4.8  | Μέση ημερήσια πρόσληψη μακροθρεπτικών συστατικών των συμμετεχόντων.....                                                                                   | 129 |
| 4.9  | Μέση ημερήσια πρόσληψη βιταμινών των συμμετεχόντων.....                                                                                                   | 130 |
| 4.10 | Μέση ημερήσια πρόσληψη ιχνοστοιχείων των συμμετεχόντων.....                                                                                               | 130 |
| 4.11 | Στατιστικά σημαντικές ( $p<0,05$ ) συσχετίσεις που παρατηρήθηκαν ανάμεσα σε φλεγμονώδεις δείκτες και δείκτες μυϊκής βλάβης.....                           | 131 |
| 4.12 | Στατιστικά σημαντικές ( $p<0,05$ ) συσχετίσεις που εντοπίστηκαν ανάμεσα σε δείκτες μυϊκής βλάβης και τα αρχικά επίπεδα σεληνίου στον ορό του αίματος..... | 132 |
| 4.13 | Στατιστικά σημαντικές ( $p<0,05$ ) συσχετίσεις που εντοπίστηκαν ανάμεσα σε εκτιμώμενες προσλήψεις θρεπτικών συστατικών και σε δείκτες μυϊκής βλάβης.....  | 132 |
| 5.1  | Ιχνοστοιχεία που συμμετέχουν στην αντιοξειδωτική προστασία.....                                                                                           | 143 |

## Κατάλογος σχημάτων

|      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |     |
|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1.1  | Διαγραμματική απεικόνιση σκελετικού μυός του ανθρώπου.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 19  |
| 1.2  | Σχηματική παράσταση ενός σαρκομερίου κατά την χάλαση (άνω) και την σύσπαση (κάτω)...                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 21  |
| 1.3  | Χημική δομή του PAF.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 69  |
| 3.1  | Διάγραμμα ροπής-χρόνου μιας τυπικής ισομετρικής συστολής.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 83  |
| 3.2  | Συνοπτική απεικόνιση του προσδιορισμού της PAF-AH.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 103 |
| 3.3  | Αντίδραση προσδιορισμού της LDH.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 104 |
| 3.4  | Αλληλουχία αντιδράσεων προσδιορισμού της CK.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 106 |
| 3.5  | Σχηματική παρουσίαση εισαγωγής δείγματος στο αιματοκυτόμετρο.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 109 |
| 3.6  | Σχηματική περιγραφή αιματοκυτομέτρου.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 110 |
| 4.1  | Έλεγχος εγκυρότητας με μέθοδο αναφοράς: «Γνωστά Βάρη».....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 115 |
| 4.2  | Έλεγχος εγκυρότητας με μέθοδο αναφοράς: «Εξωτερικό κλισιόμετρο (Acumar)».....                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 115 |
| 4.3  | Έλεγχος εγκυρότητας με μέθοδο αναφοράς: «Ισοκινητικό δυναμόμετρο (Cybex 6000)».....                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 116 |
| 4.4  | Μεταβολές (μ.ο.% ± SE) της μέγιστης ισομετρικής ροπής (MIT) στις 90°, της περιμέτρου του βραχιονίου (CIRC), της γωνίας ανάπαυσης του αγκώνα σε απουσία μυϊκής σύσπασης (RANG), της γωνίας μέγιστης ενεργητικής κάμψης του αγκώνα (FANG) και του εύρους τροχιάς του αγκώνα (ROM) κατά την διάρκεια των πρώτων 96 ωρών μετά την εκτέλεση του πλειομετρικού πρωτοκόλλου..... | 121 |
| 4.5  | Μεταβολές (μ.ο. ± SE) του μυϊκού πόνου όπως αυτός αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας κλίμακα υποκειμενικής αξιολόγησης (VAS, 0–10 cm).....                                                                                                                                                                                                                                      | 121 |
| 4.6  | Μεταβολές της δραστηριότητας της κρεατινικής κινάσης (CK) στον ορό αίματος, στις πρώτες 96h μετά από την εκτέλεση του πρωτοκόλλου άσκησης.....                                                                                                                                                                                                                            | 124 |
| 4.7  | Μεταβολές της δραστηριότητας της γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH) στον ορό αίματος, στις πρώτες 96h μετά από την εκτέλεση του πρωτοκόλλου άσκησης.....                                                                                                                                                                                                                      | 124 |
| 4.8  | Μεταβολές των επιπέδων του παράγοντα ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (PAF) στο αίμα στις πρώτες 96h μετά την εκτέλεση του πρωτοκόλλου άσκησης.....                                                                                                                                                                                                                             | 125 |
| 4.9  | Μεταβολές του ολικού αριθμού λευκοκυττάρων στο αίμα, στις πρώτες 96h μετά την εκτέλεση του πρωτοκόλλου άσκησης.....                                                                                                                                                                                                                                                       | 126 |
| 4.10 | Μεταβολές του αριθμού κυττάρων των επιμέρους υποομάδων των λευκοκυττάρων στο αίμα, στις πρώτες 96h μετά την εκτέλεση του πρωτοκόλλου άσκησης.....                                                                                                                                                                                                                         | 127 |
| 4.11 | Γραφική απεικόνιση προέλευσης προσλαμβανόμενης ενέργειας.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 129 |
| 4.12 | Διάγραμμα γραμμικής συσχέτισης ανάμεσα στη μέση ημερήσια διατροφική πρόσληψη σεληνίου και των αρχικών(t=0h) επιπέδων νηστείας του σεληνίου στον ορό του αίματος.....                                                                                                                                                                                                      | 130 |



## Δημοσιεύσεις & Ανακοινώσεις

### Δημοσιεύσεις σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά (βλ. Παράρτημα)

- A) **Milias GA**, Nomikos T, Fragopoulou E, Athanasopoulos S, Antonopoulou S. Effects of eccentric exercise-induced muscle injury on blood levels of platelet activating factor (PAF) and other inflammatory markers. *Eur J Appl Physiol* 2005, 95(5-6):504-513.
- B) **Milias GA**, Nomikos T, Fragopoulou E, Athanasopoulos S, Antonopoulou S. Effects of baseline serum levels of selenium on markers of eccentric exercise-induced muscle injury. *Biofactors: In Press*
- C) **Milias GA.**, Antonopoulou S, Athanasopoulos S. Development, reliability and validity of a new motorized isometric dynamometer for measuring strength characteristics of elbow flexor muscles. *Journal of Medical Engineering and Technology: In Press*

### Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια

- A) **Milias G.**, Nomikos T., Fragopoulou E., Athanasopoulos S., Antonopoulou S. Is Activating Factor (PAF) implicated in eccentric exercise - induced muscle damage mechanism?  
*FEBS special meeting: 45<sup>th</sup> International Conference on the Bioscience of Lipids (Ιωάννινα – Μάιος 2004)*
- B) **Milias G.**, Antonopoulou S., Athanasopoulos S. Development of a new motorized isometric dynamometer for measuring elbow flexor muscle strength's characteristics.  
*2004 Pre Olympic Congress (international) – Sport Science through the ages (Θεσσαλονίκη – Αυγ. 2004)*
- C) **Μηλιάς Γ.Α.**, Νομικός Τ., Φραγκοπούλου Ε., Αθανασόπουλος Σ., Αντωνοπούλου Σ. Συσχέτιση των επιπέδων σεληνίου ορού με βιοχημικούς δείκτες ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης σε υγιείς εθελοντές.  
*20ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χημείας (Ιωάννινα – Σεπτ. 2005)*
- D) **Μηλιάς Γ.Α.**, Νομικός Τ., Φραγκοπούλου Ε., Αθανασόπουλος Σ., Αντωνοπούλου Σ. Μελέτη του φαινομένου του καθυστερημένου μυϊκού πόνου με έμφαση στη φλεγμονώδη απάντηση.  
*57ο Πανελλήνιο Συνέδριο Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας (Αθήνα – Δεκ. 2005)*

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1 Πρόλογος

Είναι γνωστό σε όλους ότι όταν ένας άνθρωπος καταβάλλει μυϊκή προσπάθεια στην οποία το σώμα του δεν είναι εξοικειωμένο, το σύνηθες επακόλουθο είναι η καθυστερημένη εμφάνιση ενοχλήσεων στον εμπλεκόμενο μυ, όπως πόνος, δυσκαμψία, οίδημα και ευαισθησία στην πίεση. Συγκεκριμένα, τα συμπτώματα αυτά συχνά αρχίζουν να εμφανίζονται ορισμένες ώρες μετά την μυϊκή προσπάθεια, αποκτούν την μεγαλύτερη έντασή τους τις επόμενες 1 – 3 ημέρες, ενώ εξαφανίζονται 5 – 7 ημέρες μετά την άσκηση [1]. Το σύνολο αυτών των συμπτωμάτων εκφράζεται με τον όρο: «Καθυστερημένος Μυϊκός Πόνος» (ΚΜΠ) ή λαϊκότερα «μυϊκό πιάσιμο», ενώ η ευρύτερη παθοφυσιολογική οντότητα αναφέρεται συχνά ως «ασκησιογενής μυϊκή βλάβη».

Το 1902, ο *Hough* [2] δημοσίευσε την πρώτη αναφορά σχετικά με το μυϊκό πιάσιμο. Τότε, είχε υποστηρίξει πως ο πόνος που γινόταν αντιληπτός στους καμπτήρες μυς των δακτύλων, 8 – 10 ώρες μετά από ρυθμικής μορφής άσκηση, οφειλόταν πιθανότατα σε κάποιας μορφής ρήξη στο εσωτερικό των μυών. Στην αρχή της δεκαετίας του 1980, με την βοήθεια πιο εξελιγμένων τεχνικών, έγιναν αντιληπτές μορφολογικές μεταβολές οι οποίες πιθανότατα εξηγούνταν από μυοϊνδιακή ρήξη [3-5]. Αυτά τα ευρήματα σε συνδυασμό με το γεγονός ότι η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη αναμφισβήτητα δυσχεραίνει τις προσπάθειες των αθλητών που την αντιμετωπίζουν, προκάλεσαν την ανανέωση του ενδιαφέροντος για τη μελέτη του θέματος. Έτσι, κατά την διάρκεια των τελευταίων δύο δεκαετιών, έχει συγκεντρωθεί μία πληθώρα σχετικών πληροφοριών. Έχουν δημοσιευτεί πολλές εργασίες, οι οποίες περιγράφουν το συγκεκριμένο είδος βλάβης, ερευνούν πιθανούς μηχανισμούς που εξηγούν το φαινόμενο και αναζητούν επιτυχείς προληπτικές αλλά και θεραπευτικές παρεμβάσεις [1, 6, 7]. Ωστόσο, ο πλήρης μηχανισμός της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης δεν έχει ακόμη πλήρως εξακριβωθεί.

Παράλληλα, η έρευνα και οι κλινικές παρατηρήσεις στον χώρο της επιστήμης της διατροφής αναδεικνύουν ότι σε πληθώρα προβλημάτων υγείας, η εφαρμογή των σύγχρονων ιατρικών μεθόδων θεραπείας σε συνδυασμό με την κατάλληλη διατροφική παρέμβαση, μπορούν να οδηγήσουν σε καλύτερη απόκριση του ατόμου σε σχέση με κάθε θεραπευτική προσέγγιση μεμονωμένα. Μολονότι τα θρεπτικά

συστατικά τείνουν να δρουν πιο αργά σε σχέση με τα φάρμακα, μακροπρόθεσμα βελτιώνουν τις μεταβολικές διαδικασίες και συμβάλλουν στην αποκατάσταση της λειτουργίας και της ισορροπίας του οργανισμού. Τα θρεπτικά συστατικά μπορούν να αποτελέσουν τα «υλικά» για την κυτταρική αναγέννηση, να βελτιώσουν την ροή της ενέργειας, να ενισχύσουν την ανοσοποιητική λειτουργία, να εξουδετερώσουν κυτταρικές τοξίνες και να βελτιώσουν την δραστικότητα ενζύμων [8]. Με μηχανισμούς όπως αυτοί, τα θρεπτικά συστατικά συμβάλλουν στην βέλτιστη κυτταρική λειτουργία κατά την διάρκεια έντονου «στρες» και ασθενειών και βοηθούν τον οργανισμό στην διαδικασία της θεραπείας και της αναγέννησης διαμέσου φυσικών μέσων.

Από την άλλη πλευρά, η χορήγηση φαρμακευτικών σκευασμάτων, από τα οποία ορισμένα όντως μπορεί να εμφανίζουν κάποιο βαθμό αποτελεσματικότητας στην αντιμετώπιση της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, εντούτοις δεν μπορούν να αποτελέσουν πανάκεια μιας και αφενός δεν στερούνται παρενεργειών και αφετέρου αντιμετωπίζουν μόνο τα συμπτώματα και δεν στοχεύουν στα πραγματικά αίτια του προβλήματος.

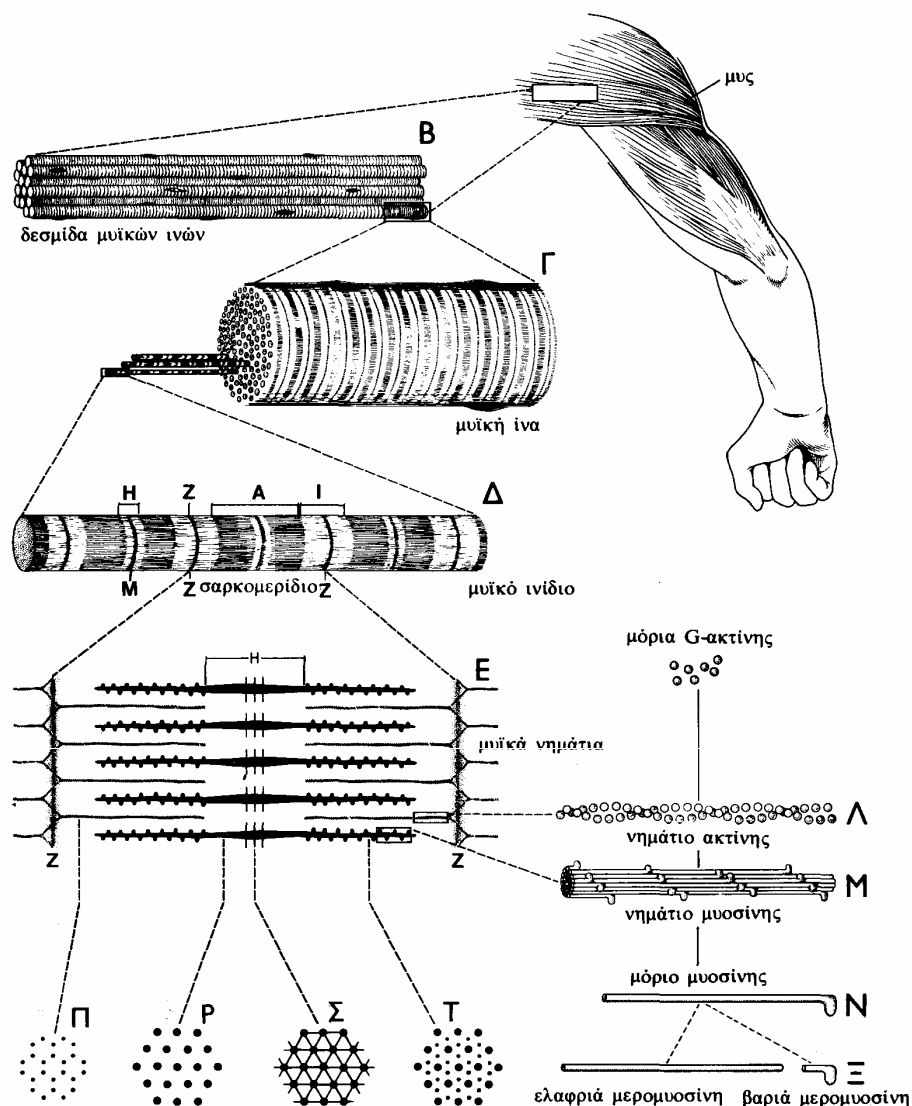
Κρίνεται λοιπόν, εξαιρετικά ενδιαφέρουσα η διερεύνηση της υπόθεσης σχετικά με το αν οι θετικές επιδράσεις της σωστής διατροφής βρίσκουν εφαρμογή και στην περίπτωση της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, τόσο σε επίπεδο αποκατάστασης όσο και σε επίπεδο πρόληψης. Ίσως να αποδειχθεί ότι για μια ακόμη φορά είχε δίκιο ο πατέρας της ιατρικής Ιπποκράτης ο οποίος, πριν από περισσότερα από 2000 χρόνια, θέλοντας να επισημάνει τον πρωταρχικό ρόλο της διατροφής συμβούλευε : «Αφήστε τα φάρμακα μέσα στα δοχεία τους εάν μπορείτε να θεραπεύσετε τον ασθενή με την τροφή».

## 1.2 Δομή και φυσιολογία σκελετικών μυών

Το βασικό δομικό συστατικό κάθε σκελετικού μυός είναι η μυϊκή ίνα (Σχήμα 1.1B) [9]. Κάθε μυϊκή ίνα εκφύεται από έναν τένοντα ή οστό, διασχίζει μία ή περισσότερες αρθρώσεις και καταλήγει σε τένοντα της κατάφυσης του μυός, ο οποίος με την σειρά του συνδέεται με ένα οστό. Οι μυϊκές ίνες μπορεί να διατάσσονται είτε παράλληλα είτε λοξά ως προς τον επιμήκη άξονα του μυός. Η διάρθρωση των μυϊκών ινών στο εσωτερικό του μυός αλλά και η διάταξη τους ως προς τον άξονα των τενόντων καταφύσεως, καθορίζουν σε σημαντικό βαθμό τις λειτουργικές και συσταλτικές ιδιότητες του μυός [10].

Οι μυϊκές ίνες οργανώνονται ιστολογικά από τον περιβάλλοντα συνδετικό ιστό ο οποίος κρατά τις συσταλτικές μονάδες μαζί, προκειμένου να διασφαλίζεται η ενιαία κίνηση των ομαδοποιημένων μυϊκών ινών κατά την διάρκεια της νευρικής ενεργοποίησης [10, 11]. Ενδομύιο ονομάζεται το περίβλημα συνδετικού ιστού κάθε ξεχωριστής μυϊκής ίνας. Ομάδες μυϊκών ινών με τα αντίστοιχα ενδομύια τους διατάσσονται μαζί και συγκροτούν μυϊκές δεσμίδες. Το περιμύιο είναι ο συνδετικός ιστός που περιβάλλει τις μυϊκές δεσμίδες, ενώ επιμύιο ονομάζεται ο συνδετικός ιστός που αποτελεί το περίβλημα του συνόλου του μυός. Ο συνδετικός ιστός είναι πιο ανθεκτικός στην διάταση συγκριτικά με τις μυϊκές ίνες και για το λόγο αυτό καθορίζει το μέγιστο φυσιολογικό μήκος παραμόρφωσης του μυός [10, 12].

Κάθε κινητική νευρική ίνα που εκφύεται από το νωτιαίο μυελό νευρώνει συνήθως πολλές μυϊκές ίνες, σε αριθμό που εξαρτάται από τον τύπο του μυός. Όλες οι μυϊκές ίνες που νευρώνονται από την ίδια κινητική ίνα ονομάζονται κινητική μονάδα. [11, 13]. Όλες οι μυϊκές ίνες στην ίδια κινητική μονάδα έχουν τις ίδιες μεταβολικές και συσταλτικές ιδιότητες. Ωστόσο ο αριθμός των μυϊκών ινών ανά κινητική μονάδα και ο αριθμός των κινητικών μονάδων ανά μυ εμφανίζουν μεγάλη ποικιλία [14]. Οι μύες που απαιτούν ακριβή έλεγχο και συνδυασμένες κινήσεις έχουν μικρό αριθμό μυϊκών ινών ανά κινητική μονάδα, ενώ μύες που δεν εξυπηρετούν «λεπτές» κινήσεις έχουν μεγάλο αριθμό μυϊκών ινών ανά κινητική μονάδα [14]. Επιπροσθέτως, το μέγεθος της κινητικής μονάδας είναι άμεσα σχετιζόμενο με τον τύπο των μυϊκών ινών του μυός.



**Σχήμα 1.1.** Διαγραμματική απεικόνιση σκελετικού μυός του ανθρώπου.

Οι περισσότεροι μύες του ανθρώπου αποτελούνται από συνδυασμό μυϊκών ινών διαφορετικού τύπου. Οι διάφοροι τύποι μυϊκών ινών (I, ΙΑ, ΙΒ) διαφέρουν ως προς φυσιολογικές, δομικές και ιστοχημικές ιδιότητες (Πίνακας 1.1) [15].

**Πίνακας 1.1.** Χαρακτηριστικά μυϊκών ινών σκελετικών μυών του ανθρώπου

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

Τα κύρια κυτταρικά τμήματα κάθε μυϊκής ίνας είναι το σαρκείλημα, τα μυοϊνίδια με τα νημάτια ακτίνης και μυοσίνης, το σαρκόπλασμα και το σαρκοπλασματικό δίκτυο [9]. Σαρκείλημα είναι η κυτταρική μεμβράνη της μυϊκής ίνας. Αποτελείται από μια πραγματική κυτταρική μεμβράνη, τη λεγόμενη πλασματική μεμβράνη, και από μια λεπτή στιβάδα πολυσακχαριδικού υλικού παρόμοιου με αυτό που περιβάλλει τα αιμοφόρα τριχοειδή. Στην εξωτερική στιβάδα του σαρκειλήματος υπάρχουν επίσης ινίδια κολλαγόνου. Στα άκρα των μυϊκών ινών, αυτές οι επιπολής στιβάδες του σαρκειλήματος συγχωνεύονται με τενόντιες ίνες που με τη σειρά τους συνενώνονται σε δέσμες για να σχηματίσουν τους τένοντες των μυών που εισδύουν στα οστά [9].

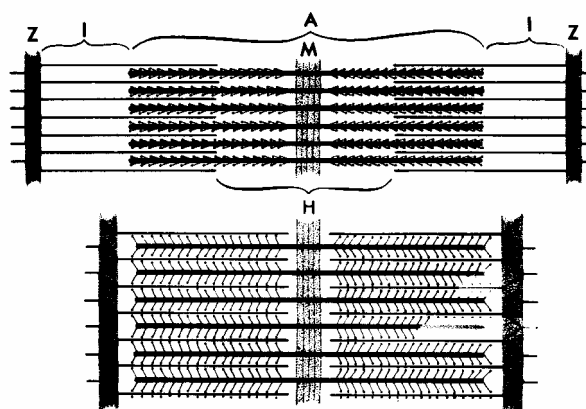
Κάθε μυϊκή ίνα περιέχει μερικές εκατοντάδες ή μερικές χιλιάδες μυοϊνίδια, που απεικονίζονται σε εγκάρσια διατομή στο σχήμα 1.1(Γ). Κάθε μυοϊνίδιο (Σχήμα 1.1(Δ)) έχει τοποθετημένα πλάι-πλάι περίπου 1500 νημάτια μυοσίνης και 3000 νημάτια ακτίνης που είναι μεγάλα μόρια πολυμερισμένης πρωτεΐνης υπεύθυνα για τη μυϊκή συστολή. Τα νημάτια αυτά φαίνονται στο σχήμα 1.1(Ε). Τα παχιά νημάτια είναι μυοσίνη και τα λεπτά, ακτίνη. Πρέπει να σημειωθεί ότι τα νημάτια της μυοσίνης και ακτίνης διαπλέκονται μεταξύ τους (όπως τα πλεγμένα δάκτυλα των δύο χεριών) με αποτέλεσμα τα μυοϊνίδια να παρουσιάζουν εναλλακτικά φωτεινές και σκοτεινές ζώνες κάτω από το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Οι φωτεινές, που περιέχουν μόνο νημάτια ακτίνης, ονομάζονται ζώνες I (ισότροπες). Οι σκοτεινές, που περιέχουν τα νημάτια της μυοσίνης και τα άκρα των νηματίων της ακτίνης, εκεί που επικαλύπτουν την μυοσίνη, λέγονται ζώνες A (ανισότροπες). Σημειώνονται επίσης οι μικρές προσεκβολές από τα πλάγια των νηματίων μυοσίνης, οι λεγόμενες εγκάρσιες γέφυρες. Οι γέφυρες αυτές προσεκβάλλουν από την επιφάνεια των νηματίων της μυοσίνης καθόλη την έκτασή τους εκτός από το κέντρο τους. Η αλληλεπίδρασή τους με τα νημάτια της ακτίνης προκαλεί τη μυϊκή συστολή [9, 16].

Το σχήμα 1.1(Ε) δείχνει επίσης ότι τα νημάτια της ακτίνης είναι προσκολλημένα στη λεγόμενη Z – ζώνη, από τις δυο πλευρές της οποίας επεκτείνονται για να διαπλεχθούν με τα νημάτια της μυοσίνης. Εκτός απ' αυτό η Z – ζώνη περνά από το ένα μυοϊνίδιο στο άλλο προσκολλώντας έτσι τα μυοϊνίδια μεταξύ τους καθόλη την κατά μήκος έκταση της μυϊκής ίνας. Το τμήμα του μυοϊνιδίου (ή και όλης της μυϊκής ίνας) που βρίσκεται ανάμεσα σε δύο διαδοχικές Z-ζώνες λέγεται σαρκομέριο [9].

Μέσα στη μυϊκή ίνα τα μυοϊνίδια είναι στερεωμένα σε θεμέλια ουσία που ονομάζεται σαρκόπλασμα και αποτελείται από τα συνηθισμένα ενδοκυττάρια συστατικά. Το υγρό στοιχείο του σαρκοπλάσματος περιέχει μεγάλες ποσότητες καλίου, μαγνησίου, φωσφορικών ριζών και πρωτεϊνικών ενζύμων. Υπάρχουν επίσης, σε μεγάλο αριθμό, μιτοχόνδρια που βρίσκονται ανάμεσα στα μυοϊνίδια και παράλληλα με αυτά [9]. Το γεγονός αυτό δείχνει τις αυξημένες ανάγκες των μυοϊνιδίων που συστέλλονται για μεγάλες ποσότητες τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP), που σχηματίζεται από τα μιτοχόνδρια.

Μέσα στο σαρκόπλασμα υπάρχει και ένα μεγάλο ενδοπλασματικό δίκτυο, το οποίο στη μυϊκή ίνα ονομάζεται σαρκοπλασματικό. Το δίκτυο αυτό έχει ειδική οργάνωση, εξαιρετικής σημασίας για τον έλεγχο της μυϊκής συστολής. Οι τύποι των μυών που συστέλλονται πιο γρήγορα έχουν ιδιαίτερα αναπτυγμένο σαρκοπλασματικό δίκτυο, που δείχνει ότι το στοιχείο αυτό είναι σημαντικό για την πρόκληση ταχείας μυϊκής συστολής.

Στο σχήμα 1.2 απεικονίζεται ο βασικός μηχανισμός της μυϊκής συστολής και συγκεκριμένα σε κατάσταση χάλασης (επάνω) και συστολής (κάτω) ενός σαρκομερίου. Σε κατάσταση συστολής, τα νημάτια της ακτίνης έχουν προωθηθεί ανάμεσα στα νημάτια μυοσίνης με αποτέλεσμα να αλληλεπικαλύπτονται σε μεγαλύτερη έκταση. Εκτός απ' αυτό, τα νημάτια της ακτίνης έλκουν και τις Z – ζώνες ως τα άκρα των νηματίων της μυοσίνης. Τα νημάτια της ακτίνης μπορούν να έλκονται όλα μαζί τόσο σφιχτά ώστε το άκρο των νηματίων της μυοσίνης να ακινητοποιούνται ουσιαστικά τελείως κατά τη διάρκεια της πολύ έντονης συστολής. Έτσι η μυϊκή συστολή γίνεται με ένα μηχανισμό ολίσθησης νηματίων [16, 17].



**Σχήμα 1.2.** Σχηματική παράσταση ενός σαρκομερίου κατά την χάλαση (άνω) και την σύσπαση (κάτω).

Κάθε σκελετικός μυς μπορεί να συσπαστεί μειομετρικά, ισομετρικά ή πλειομετρικά [3, 12]. Κατά την μειομετρική συστολή ο μυς αναπτύσσει δύναμη ενάντια σε εξωτερικό φορτίο και ταυτόχρονα μειώνεται το μήκος του. Στην ισομετρική συστολή επίσης αναπτύσσεται δύναμη ενάντια σε εξωτερικό φορτίο ωστόσο όμως το μυϊκό μήκος παραμένει σταθερό. Τέλος, πλειομετρική ονομάζεται η μυϊκή συστολή κατά την οποία ο μυς αναπτύσσει μυϊκή δύναμη μικρότερη της εξωτερικά εφαρμοζόμενης δύναμης με αποτέλεσμα ο μυς να υπερνικάται και συνεπώς να επιμηκύνεται [18].



### **1.3 Μυϊκοί τραυματισμοί**

Οι οξείες και χρόνιοι μυοσκελετικοί τραυματισμοί αποτελούν ένα σημαντικό ποσοστό των προβλημάτων για τα οποία οι ασθενείς ζητούν ιατρική βοήθεια [19]. Οι μυϊκοί τραυματισμοί αποτελούν επίσης περίπου τους μισούς από το σύνολο των αθλητικών τραυματισμών [20, 21]. Ακόμη και χωρίς κάποιον σαφή τραυματισμό, ο μυϊκός πόνος λόγω υπερκαταπόνησης μετά από κάποια αθλητική δραστηριότητα, είναι συνήθης και στους αγύμναστους, αλλά και τους γυμνασμένους ασκούμενους. Μολονότι οι τραυματισμοί στους μυς είναι συνήθως ήπιοι και αυτό-ιάσιμοι, ο πόνος από αυτούς τους τραυματισμούς μπορεί να είναι έντονος και εξουθενωτικός [22].

Οι περισσότεροι μύες διαπερνούν μόνο μία άρθρωση, αν και υπάρχουν αρκετοί που διαπερνούν δύο. Οι μύες που συνηθέστερα υφίστανται τραυματισμό είναι αυτοί που διαπερνούν δύο αρθρώσεις και εκτελούν κυρίως πλειομετρικές, παρά μειομετρικές συστολές. Άλλος ένας παράγοντας κινδύνου μυϊκών τραυματισμού είναι η αναλογία των δύο τύπων (I και II) μυϊκών ινών σε κάθε μυ. Έχει παρατηρηθεί ότι οι μύες που διαθέτουν μεγαλύτερο ποσοστό μυϊκών ινών τύπου II είναι πιο επιρρεπείς σε τραυματισμό [22].

Υπάρχουν πολλές αιτιολογίες μυϊκών τραυματισμών στις οποίες περιλαμβάνονται: η ανεπαρκής διαδικασία προθέρμανσης και διατάσεων προ της άσκησης, η ελλιπής ευλυγισία, η ανεπαρκής μυϊκή δύναμη και αντοχή, το αδέξιο στυλ τρεξίματος και η επιστροφή σε αθλητική δραστηριότητα πριν την ολοκλήρωση της ανάρρωσης μετά από έναν πρόσφατο τραυματισμό [23]. Στους παράγοντες κινδύνου μυϊκών τραυματισμών πρέπει να προστεθεί η ύπαρξη γενικότερα παλαιότερου τραυματισμού καθώς και η απότομη μετάβαση σε πιο ανταγωνιστικό επίπεδο άθλησης [23]. Από την άλλη πλευρά, η αθλητική προπόνηση μειώνει την ένταση και την συχνότητα των μυϊκών τραυματισμών [24].

Οι μυϊκοί τραυματισμοί διακρίνονται σε άμεσους και έμμεσους. Ο μώλωπας, η πληγή και το αιμάτωμα είναι αποτέλεσμα άμεσου τραυματισμού, όπως ένα μη διαπεραστικό χτύπημα με άμεση πλήξη, ενώ στους έμμεσους τραυματισμούς ανήκει η βλάβη που προκαλείται από μυϊκή υπερδιάταση που έχει ως αποτέλεσμα την μερική ή ολική αποκόλληση μυϊκών ινών από τις προσφύσεις τους. Οι μυϊκές θλάσεις οφείλονται συνήθως σε έμμεσο τραυματισμό από υπερδιάταση του μυός. Αυτοί οι τραυματισμοί μπορεί να είναι αρκετά επώδυνοι και συχνά παρατηρούνται σε

ασκούμενους σε αγωνίσματα που απαιτούν τρέξιμο υψηλής ταχύτητας, όπως το ποδόσφαιρο και η καλαθοσφαίριση [25]. Αυτοί οι τραυματισμοί μπορεί να είναι εξουθενωτικοί και καταστροφικοί σε αθλητές υψηλού επιπέδου, ενώ σε άτομα που ασχολούνται ερασιτεχνικά με τον αθλητισμό μπορούν να τους κρατήσουν μακριά από την εργασία τους για αρκετό χρονικό διάστημα [25].

Οι μυϊκές θλάσεις ανάλογα με το μέγεθος της βλάβης κατατάσσονται σε τρεις κύριες κατηγορίες [26]. Η θλάση 1<sup>ου</sup> βαθμού χαρακτηρίζεται από ελάσσονα βαθμό μικροσκοπικών ρήξεων χωρίς μόνιμο ελάττωμα. Η θλάση 2<sup>ου</sup> βαθμού αντίστοιχα χαρακτηρίζεται από ατελή ρήξη μυϊκών ινών και συχνά αναφέρεται ως μερική θλάση. Οι θλάσεις 1<sup>ου</sup> και 2<sup>ου</sup> βαθμού έχουν ως αποτέλεσμα την μερική απώλεια της μυϊκής λειτουργίας. Τέλος με τον όρο «θλάση 3<sup>ου</sup> βαθμού» εννοείται η πλήρης ρήξη (θλάση) του μυός, που συνοδεύεται από σχεδόν ολική ή ολική απώλεια της μυϊκής λειτουργίας. Οι θλάσεις 3<sup>ου</sup> βαθμού συνήθως συνοδεύονται από συστολή, σπασμό και βράχυνση του μυός. Οι μυϊκές θλάσεις λαμβάνουν χώρα, σχεδόν αποκλειστικά στην περιοχή της μυοτενόντιας ένωσης η οποία είναι η ασθενέστερη σύνδεση στον μυ [22].

## 1.4 Ορισμός του ΚΜΠ – ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης

Ο ΚΜΠ και γενικότερα η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη κατατάσσεται στην κατηγορία μυϊκών θλάσεων 1<sup>ου</sup> βαθμού [27, 28] και εμφανίζεται με ευαισθησία ή δυσκαμψία κατά την ψηλάφηση ή και κατά την κίνηση [27]. Αν και η παθολογία που σχετίζεται με τον ΚΜΠ συνήθως δεν εκδηλώνεται με έντονα κλινικά συμπτώματα [29], η αίσθηση που γίνεται αντιληπτή μπορεί να ποικίλει από ελαφριά μυϊκή δυσκαμψία, η οποία γρήγορα εξαφανίζεται κατά την διάρκεια των καθημερινών απλών δραστηριοτήτων, έως έντονο πόνο ο οποίος περιορίζει την κίνηση.

Η ευαισθησία επικεντρώνεται στο ακραίο τμήμα του μυός [21, 22, 29-32] και σταδιακά γίνεται διάχυτη 24 – 48 ώρες μετά την άσκηση [31]. Αυτός ο εντοπισμός του πόνου μπορεί να οφείλεται στην ύπαρξη μεγάλου αριθμού υποδοχέων μυϊκού πόνου στο συνδετικό ιστό της μυοτενόντιας ένωσης [33]. Η μυοτενόντια ένωση χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη μιας μεμβράνης η οποία είναι συνεχής, με πολλές πτυχώσεις και η οποία διαπλέκεται με μυϊκά κύτταρα [32]. Η λοξή διαρρύθμιση των μυϊκών ινών ακριβώς πριν την μυοτενόντια σύνδεση μειώνει την ικανότητά τους να αντέχουν μεγάλες δυνάμεις [32, 34, 35]. Κατά συνέπεια το συστατικό τμήμα των μυϊκών ινών στην μυοτενόντια ένωση είναι ευπαθές σε μικροσκοπικούς τραυματισμούς.

Ο ΚΜΠ συνήθως είναι επακόλουθο της εφαρμογής μυϊκού έργου στο οποίο ο ασκούμενος δεν είναι εξοικειωμένος και είναι πιο έντονος όταν αυτό περιλαμβάνει μυϊκές συστολές πλειομετρικού τύπου [29]. Ορισμένες εγκάρσιες γέφυρες που δημιουργούνται κατά τις πλειομετρικές συστολές διασπώνται με την εφαρμογή της μεγαλύτερης δύναμης, λόγω της ρήξης των δεσμών ακτίνης – μυοσίνης πριν την διαδικασία της χάλασης της μυϊκής συστολής [36]. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να αναπτύσσεται μεγαλύτερη τάση ανά κινητική μονάδα και συνεπώς να υπάρχει αυξημένος κίνδυνος τραυματισμού στην ευπαθή μυοτενόντια σύνδεση.

Οι ερευνητές που μελετούν τους μηχανισμούς της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, προκαλούν τον ΚΜΠ χρησιμοποιώντας πρωτόκολλα ασκήσεων που περιλαμβάνουν κυρίως πλειομετρικού τύπου μυϊκές συστολές, όπως για παράδειγμα τρέξιμο σε κατηφορικό επίπεδο, ποδηλασία αντίστασης, ασκήσεις σε ισοκινητικά δυναμόμετρα και προπόνηση αντίστασης πλειομετρικού τύπου.

## 1.5 Μηχανισμοί πρόκλησης του ΚΜΠ

Έχουν αναπτυχθεί διάφορες θεωρίες προκειμένου να εξηγηθεί το αίτιο που προκαλεί τον ΚΜΠ, όπως η θεωρία του γαλακτικού οξέος, του μυϊκού σπασμού, της βλάβης του συνδετικού ιστού, της μυϊκής βλάβης, της φλεγμονής και της εκροής ενζύμων, αλλά και άλλα προτεινόμενα μοντέλα [27, 37]. Ωστόσο, ένας συνδυασμός δύο ή περισσότερων θεωριών είναι πιθανό να εξηγεί σωστότερα τον ΚΜΠ. Στο σημείο αυτό κρίνεται σκόπιμη η ανασκόπηση των θεωριών και των πιθανών μηχανισμών πρόκλησης του ΚΜΠ, προκειμένου να υπάρξει η βασική υποδομή για την κατανόηση του πιθανού μηχανισμού πρόκλησης του συγκεκριμένου ασκησιογενούς φαινομένου.

### 1.5.1 Θεωρία του γαλακτικού οξέος

Η θεωρία του «γαλακτικού οξέος» βασίζεται στην παραδοχή ότι η παραγωγή γαλακτικού οξέος συνεχίζει να υφίσταται και μετά το πέρας της άσκησης. Από το ευρύ κοινό πιστεύεται ότι η συσσώρευση τοξικών μεταβολικών παραπροϊόντων προκαλεί ένα βλαβερό ερέθισμα και το αίσθημα του πόνου σε μεταγενέστερο επίπεδο [27, 30, 38]. Ωστόσο, η θεωρία αυτή έχει σαφώς απορριφθεί, μιας και τα υψηλότερα επίπεδα μεταβολισμού που λαμβάνουν χώρα κατά τις μειομετρικού τύπου μυϊκές συστολές δεν συνοδεύονται από παρόμοια επίπεδα ΚΜΠ [39]. Επιπροσθέτως, τα επίπεδα του γαλακτικού οξέος επιστρέφουν στα πριν την άσκηση επίπεδα μέσα στην πρώτη κιόλας ώρα μετά από την άσκηση, ενώ παράλληλα μετρήσεις του γαλακτικού οξέος στο αίμα, είτε πριν την άσκηση, είτε σε διάφορες χρονικές στιγμές μέχρι και τις 72 ώρες μετά την άσκηση (τρέξιμο σε κατηφορικό επίπεδο) δεν φανερώνουν καμία συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων του γαλακτικού οξέος στο αίμα με τα επίπεδα του αντιλαμβανόμενου πόνου [40]. Επομένως, το γαλακτικό οξύ μπορεί να συμβάλει στον οξύ πόνο που σχετίζεται με την κούραση που ακολουθεί έντονη άσκηση, αλλά όχι στον ΚΜΠ που γίνεται αντιληπτός 24 – 48 ώρες μετά από την άσκηση [41].

### 1.5.2 Θεωρία του «μυϊκού σπασμού»

Η θεωρία του «μυϊκού σπασμού» [42] εκφράστηκε μετά την παρατήρηση των αυξημένων επιπέδων μυϊκής διέγερσης σε κατάσταση ηρεμίας μετά από πλειομετρική άσκηση [27, 43, 44]. Προτάθηκε ότι η αυξημένη μυϊκή διέγερση σε κατάσταση

ηρεμίας φανερώνει έναν έντονο, τοπικά εστιασμένο, σπασμό μυϊκών κινητικών μονάδων. Αυτό πιστευόταν πως οδηγεί σε συμπίεση των τοπικών αιμοφόρων αγγείων, ισχαιμία και συσσώρευση ουσιών που προκαλούν την αίσθηση του πόνου. Σύμφωνα με αυτή τη θεωρία, αυτό το φαινόμενο με τη σειρά του εκκινεί έναν φαύλο κύκλο [45] όπου ο περαιτέρω ερεθισμός των νευρικών απολήξεων του πόνου προκαλεί περαιτέρω αντανακλαστικούς μυϊκούς σπασμούς και παρατεταμένες συνθήκες ισχαιμίας [43]. Ωστόσο, τα αποτελέσματα ερευνών κατά τις οποίες εφαρμόσθηκε είτε διπολικού είτε μονοπολικού τύπου ηλεκτρομυογραφία δεν συμφωνούν μεταξύ τους. Συγκεκριμένα, κάποιες εργασίες δεν δείχνουν καμία αύξηση της ηλεκτρομυογραφικής δραστηριότητας των μυών με ΚΜΠ [46-48], ενώ κάποιες άλλες εμφανίζουν αύξηση στην ηλεκτρομυογραφική δραστηριότητα χωρίς όμως αυτή να συσχετίζεται με τα επίπεδα του αντιλαμβανόμενου ΚΜΠ [43]. Αξίζει να σημειωθεί ότι η χρήση τεχνικών με διπολικά και μονοπολικά ηλεκτρόδια για το σκοπό αυτό παραμένει αμφιλεγόμενη μεταξύ των ερευνητών, όπου κάποιοι υποστηρίζουν πως η προαναφερθείσα μέθοδος δεν έχει την απαραίτητη ευαισθησία να καταγράψει την ηλεκτρική δραστηριότητα των μυών με ΚΜΠ [49] ενώ άλλοι υποστηρίζουν το αντίθετο [47].

### **1.5.3 Θεωρία της «βλάβης του συνδετικού ιστού»**

Η θεωρία της «βλάβης του συνδετικού ιστού» εξετάζει τον ρόλο του συνδετικού ιστού ο οποίος σχηματίζει «θήκες» που περιβάλλουν δεσμίδες μυϊκών ινών. Η ποσότητα και η σύσταση του συνδετικού ιστού διαφέρει ανάμεσα στους διαφορετικούς τύπους μυϊκών ινών. Οι μυϊκές ίνες τύπου I (αργής συστολής) εμφανίζουν μια πιο σφριγηλή δομή συγκριτικά με τις ίνες τύπου II (ταχείας συστολής). Κατά συνέπεια είναι πιθανόν οι ταχείας συστολής ίνες να παρουσιάζουν μεγαλύτερη ευαισθησία σε τραυματισμό από εφελκυσμό [36] με αποτέλεσμα υπερβολική διάταση του συνδετικού ιστού πιθανότατα να οδηγεί σε ΚΜΠ [2]. Προκειμένου να τεκμηριωθεί η συγκεκριμένη θεωρία έγιναν μετρήσεις αποβολής υδροξυπρολίνης (HP) και υδροξυλυσίνης (HL) στα ούρα μετά από άσκηση, τα αποτελέσματα των οποίων ήταν ενισχυτικά της θεωρίας [50]. Τα αμινοξέα HP και HL αποτελούν συστατικά του ώριμου κολλαγόνου και η παρουσία τους στα ούρα είναι αποτέλεσμα καταβολισμού του κολλαγόνου, είτε λόγω υπερβολικής λειτουργίας, είτε λόγω κάποιας κάκωσης [36]. Ωστόσο, η απέκκριση HP και HL μπορεί να αντανακλά είτε αυξημένη σύνθεση είτε καταβολισμό του κολλαγόνου. Συνεπώς, ο

συγκεκριμένος μηχανισμός που οδηγεί σε αύξηση των HP και HL δεν είναι ξεκάθαρος.

#### **1.5.4 Θεωρία της μυϊκής βλάβης**

Η θεωρία της «μυϊκής βλάβης», που προτάθηκε για πρώτη φορά από τον *Hough* [2], εστιάζει στην αποδιοργάνωση του συσταλού τμήματος του μυϊκού ιστού, συγκεκριμένα στο επίπεδο της *Z* – ζώνης, που είναι επακόλουθο της άσκησης πλειομετρικού τύπου [4, 5, 30, 48, 51-53]. Στο μικροσκόπιο, η εικόνα της αλλοίωσης εμφανίζεται χαρακτηριστικά ως μία διεύρυνση, κηλίδωση, είτε ακόμη και πλήρη ρήξη της *Z* – ζώνης [54], που συνοδεύεται από ευρύτερη αποδιοργάνωση της αρχιτεκτονικής των σαρκομερίων [55]. Αυτή η βλάβη είναι αποτέλεσμα της αυξημένης τάσης που αντιστοιχεί σε κάθε κινητική μονάδα λόγω του γεγονότος ότι κατά τη διάρκεια των πλειομετρικών μυϊκών συστολών ο αριθμός των κινητικών μονάδων που ενεργοποιούνται είναι μικρότερος [30]. Η μηχανική ρήξη στα δομικά στοιχεία είναι αυξημένη, ιδιαίτερα στις μυϊκές ίνες τύπου II οι οποίες διαθέτουν τις στενότερες και πιο αδύναμες *Z* – ζώνες. Οι νευρικές απολήξεις – αισθητήρια πόνου που βρίσκονται στον μυϊκό συνδετικό ιστό και στην περιοχή των αρτηριδίων, των τριχοειδών αγγείων και στην μυοτενόντια ένωση επίσης ενεργοποιούνται, προκαλώντας με αυτόν τον τρόπο το αίσθημα του πόνου. Ενισχυτικά της θεωρίας θεωρούνται τα αποτελέσματα μετρήσεων επιπέδων ενζύμων στην αιματική κυκλοφορία σε χρονικές στιγμές μετά την άσκηση. Η κρεατινική κινάση (CK) θεωρείται αξιόπιστος δείκτης της διαπερατότητας της μυϊκής μεμβράνης, αφού αυτό το ένζυμο βρίσκεται αποκλειστικά στο εσωτερικό των σκελετικών μυών και του καρδιακού μυός [37]. Συνεπώς, η αποδιοργάνωση των *Z* – ζωνών και η βλάβη στο σαρκείλημα έχει ως αποτέλεσμα την διάχυση διαλυτών μυϊκών ενζύμων, όπως της CK, στο διάμεσο υγρό. Σε φυσιολογική κατάσταση ξεκούρασης, τα επίπεδα της CK του πλάσματος είναι περίπου 100 IU/L [48]. Ωστόσο, μετά από πλειομετρική άσκηση, τα κυκλοφορούντα επίπεδα της CK αυξάνουν αρκετά, ενώ έχει αναφερθεί και αύξηση μέχρι και 40000 IU/L [48], κάτι που φανερώνει σημαντική αύξηση της διαπερατότητας των μεμβρανών των μυϊκών κυττάρων που ακολουθεί την αποδιοργάνωση των *Z* – ζωνών [44, 55-57]. Παρόλα αυτά, υπάρχει ξεκάθαρη διαφορά μεταξύ των χρονικών στιγμών όπου τα επίπεδα της CK στον ορό και του αντιλαμβανόμενου πόνου αποκτούν την μέγιστή τους τιμή (μέχρι και 5 ημέρες) [48,

55, 58-63]. Συμπερασματικά, η θεωρία της μυϊκής βλάβης μπορεί να γίνει αποδεκτή μόνο ως μερική εξήγηση της εκδήλωσης του ΚΜΠ.

### **1.5.5 Θεωρία της φλεγμονής**

Η θεωρία της «φλεγμονής» βασίζεται στο εύρημα ότι μετά από επαναλαμβανόμενες πλειομετρικές μυϊκές συστολές είναι έκδηλα στοιχεία φλεγμονώδους απάντησης όπως ο σχηματισμός οιδήματος και η διήθηση φλεγμονωδών κυττάρων [38, 59, 64]. Οι μυϊκές ίνες περιέχουν πρωτεολυτικά ένζυμα τα οποία μετά τον τραυματισμό εκκινούν τον καταβολισμό λιπιδικών και πρωτεϊνικών δομών των κυττάρων. Αυτή η ταχεία διάσπαση των τραυματισμένων μυϊκών ινών και του συνδετικού ιστού σε συνδυασμό με την συσσώρευση βραδυκινίνης, ισταμίνης και προσταγλανδινών, προσελκύει μονοκύτταρα και ουδετερόφιλα στην περιοχή του τραυματισμού [65]. Αυτό ακολουθείται από εισροή υγρού πλούσιου σε πρωτεΐνη (εξίδρωμα) στον μυ λόγω της αυξημένης διαπερατότητας των μικρών αγγείων που ακολουθεί την πλειομετρική άσκηση [64]. Τελικά, αναπτύσσεται ωσμωτική πίεση και ο πόνος προκαλείται πιθανώς από ενεργοποίηση των αισθητικών νευρώνων τύπου IV [34]. Ωστόσο, μόνο τα μέγιστα επίπεδα του οιδήματος (όπως αυτά μετρώνται μέσω του όγκου και της περιμέτρου του άκρου) φαίνεται να συμπίπτουν με τα μέγιστα επίπεδα του πόνου [27, 66] ενώ η χρονική πορεία της διήθησης των φλεγμονωδών κυττάρων συμβαδίζει λιγότερο [51, 67]. Αυτό μάλλον εξηγεί γιατί ορισμένοι συγγραφείς έχουν επιλέξει να αναφέρουν αυτόν τον μηχανισμό απλά ως θεωρία του «ιστικού υγρού» [27]. Παρόλα αυτά, η *Smith* [64] και ο *Armstrong* [30] έχουν υποστηρίξει ότι μονοκύτταρα τα οποία μετατρέπονται σε μακροφάγα, συσσωρεύονται στο σημείο του τραυματισμού και παράγουν ουσίες που ευαισθητοποιούν νευρικές απολήξεις τύπου III και IV μεταξύ 24 και 48 ωρών. Το αν ο σχηματισμός του οιδήματος καθώς επίσης και η διήθηση φλεγμονωδών κυττάρων είναι μηχανισμοί υπεύθυνοι για τον ΚΜΠ παραμένει αμφισβητούμενο.

### **1.5.6 Θεωρία της εκροής ενζύμων**

Η θεωρία της «εκροής ενζύμων», που προτάθηκε από τους *Gulick & Kimura* [27], βασίζεται στην παραδοχή ότι το ασβέστιο, το οποίο φυσιολογικά αποθηκεύεται στο σαρκοπλασματικό δίκτυο, συσσωρεύεται στους τραυματισμένους μύς μετά την βλάβη στο επίπεδο του σαρκελήματος [30]. Αυτό υποστηρίχθηκε πως οδηγεί σε

περιορισμό της κυτταρικής αναπνοής σε μιτοχονδριακό επίπεδο προκαλώντας καθυστέρηση στην διαδικασία αναγέννησης της ATP, που είναι απαραίτητη για την ενεργητική επαναφορά του ασβεστίου στο σαρκοπλασματικό δίκτυο. Επιπλέον, υποστηρίχθηκε πως η συσσώρευση ασβεστίου ενεργοποιεί πρωτεάσες και φωσφολιπάσες προκαλώντας με αυτόν τον τρόπο περαιτέρω βλάβη στο σαρκείλημα διαμέσου της παραγωγής λευκοτριενών και προσταγλανδινών [30, 57], με αποτέλεσμα, η διάσπαση των μυϊκών πρωτεϊνών στις ήδη εξασθενημένες Z – ζώνες να αυξάνει, ενώ παράλληλα λαμβάνει χώρα χημικής προέλευσης ενεργοποίηση νευρικών απολήξεων πόνου.

Η γενική άποψη ανάμεσα στους ερευνητές είναι ότι μία μεμονωμένη θεωρία δεν μπορεί να εξηγήσει την εμφάνιση του ΚΜΠ. Έτσι, ορισμένοι ερευνητές έχουν προτείνει συγκεκριμένες αλληλουχίες σταδίων προκειμένου να εξηγήσουν το φαινόμενο του ΚΜΠ [30, 68]. Αυτά τα μοντέλα ενοποιούν αρχές από τις προαναφερθείσες θεωρίες και ξεκινούν με την παραδοχή ότι ισχυρές διατατικές δυνάμεις, που συσχετίζονται με την πλειομετρική άσκηση, προκαλούν αρχικά βλάβη στον μυϊκό και στον συνδετικό ιστό. Το γεγονός αυτό ακολουθείται από μία οξεία φλεγμονώδη απάντηση, η οποία περιλαμβάνει σχηματισμό οιδήματος και διήθηση φλεγμονωδών κυττάρων. Η ενοποίηση των μοντέλων που προτάθηκαν από τον *Armstrong* [30, 57], την *Smith* [64] και τους *Smith & Jackson* [68] περιγράφεται ακολούθως :

- i. Οι ισχυρές διατατικές δυνάμεις που αναπτύσσονται κατά την διάρκεια πλειομετρικής μυϊκής δραστηριότητας, προκαλούν ρήξη των δομικών πρωτεϊνών στις μυϊκές ίνες, συγκεκριμένα στις εξασθενημένες Z – ζώνες. Αυτό συνοδεύεται από εκτεταμένη κάκωση του συνδετικού ιστού που βρίσκεται στην περιοχή της μυοτενόντιας ένωσης αλλά και γύρω από τις μυϊκές ίνες (θεωρία της βλάβης του συνδετικού ιστού και θεωρία της μυϊκής βλάβης).
- ii. Βλάβη στο σαρκείλημα έχει ως αποτέλεσμα την συσσώρευση ασβεστίου η οποία περιορίζει την κυτταρική αναπνοή. Η παραγωγή ATP δυσχεραίνεται ενώ η ομοιόσταση του ασβεστίου διαταράσσεται. Υψηλές συγκεντρώσεις ασβεστίου ενεργοποιούν ασβεστιο – εξαρτώμενα πρωτεολυτικά ένζυμα τα οποία διασπούν την Z – ζώνη του σαρκομερίου, την τροπονίνη και την τροπομυοσίνη (θεωρία της εκροής ενζύμων).



- iii. Μέσα σε λίγες ώρες λαμβάνει χώρα σημαντική αύξηση των κυκλοφορούντων ουδετερόφιλων (θεωρία της φλεγμονής).
- iv. Ενδοκυτταρικά συστατικά και δείκτες βλάβης του συνδετικού και μυϊκού ιστού (π.χ. HP και CK) διαχέονται στο πλάσμα και στο διάμεσο χώρο. Η ύπαρξη αυτών των ουσιών προκαλεί την προσέλκυση μονοκυττάρων 6 – 12 ώρες μετά την άσκηση, τα οποία εν συνεχεία μετατρέπονται σε μακροφάγα. Τα μαστοκύτταρα και η παραγωγή ισταμίνης ενεργοποιούνται (θεωρία της φλεγμονής). Μέσα σε μερικές ώρες λαμβάνει χώρα σημαντική αύξηση των κυκλοφορούντων ουδετερόφιλων στην περιοχή του τραυματισμού (θεωρία της φλεγμονής).
- v. Ο αριθμός των μονοκυττάρων – μακροφάγων φτάνει την μέγιστη τιμή του στις 48 ώρες. Λόγω της έκθεσης τους σε φλεγμονώδες περιβάλλον, τα μακροφάγα παράγουν προσταγλανδίνη  $E_2$  ( $PGE_2$ ) η οποία ευαισθητοποιεί τις νευρικές απολήξεις τύπου III και IV σε μηχανικό, χημικό ή θερμικό ερεθισμό (θεωρία της φλεγμονής)
- vi. Η συσσώρευση ισταμίνης, καλίου και κινίνων που προέρχονται από την ενεργητική φαγοκυττάρωση και την κυτταρική νέκρωση, σε συνδυασμό με την αυξημένη πίεση λόγω του ιστικού οιδήματος και την τοπικά αυξημένη θερμοκρασία, μπορούν κάλλιστα να ενεργοποιήσουν νευρικές απολήξεις του πόνου που βρίσκονται στο εσωτερικό των μυϊκών ινών και στην περιοχή της μυοτενόντιας σύνδεσης (θεωρία της φλεγμονής).
- vii. Αυτά τα γεγονότα οδηγούν στην αίσθηση του ΚΜΠ. Ο πόνος αυτός μπορεί να αυξάνεται με την κίνηση επειδή η αυξημένη ενδομυϊκή πίεση προκαλεί μηχανικό ερεθισμό για τους υποδοχείς του πόνου οι οποίοι είναι ήδη ευαισθητοποιημένοι από την  $PGE_2$ .

Προς το παρόν η προαναφερθείσα αλληλουχία γεγονότων παραμένει υποθετική. Είναι φανερό πως απαιτείται περαιτέρω έρευνα προκειμένου να καθορισθούν τα βιοχημικά και κυτταρικά φαινόμενα που λαμβάνουν χώρα και προκαλούν την εμφάνιση του ΚΜΠ.

## 1.6 Ειδικότερα στοιχεία για την διαδικασία της φλεγμονής κατά την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη

Φαίνεται πως τρεις τουλάχιστον διαφορετικοί τύποι φλεγμονωδών κυττάρων εισέρχονται στην τραυματισμένη περιοχή μετά τον μυϊκό τραυματισμό (Πίνακας 1.2), οι οποίοι είναι τα ουδετερόφιλα και τα μακροφάγα τύπου ED<sup>+1</sup> και τύπου ED<sup>+2</sup>. Τα ουδετερόφιλα είναι τα πρώτα κύτταρα που εμφανίζονται στην περιοχή μετά την μυϊκή βλάβη. Η είσοδος των ουδετερόφιλων έχει αποδειχθεί πως λαμβάνει χώρα ήδη από την πρώτη ώρα μετά την πρόκλησης ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης [69]. Μία βασική δράση των ουδετερόφιλων είναι η φαγοκυττάρωση των νεκρωτικών μυϊκών ινών και των κυτταρικών «απομεινारιών» [70]. Επιπροσθέτως, τα εισερχόμενα ουδετερόφιλα μπορούν να αποτελέσουν πηγή προ-φλεγμονωδών κυτοκινών όπως της ιντερλευκίνης IL-8 [71] και του παράγοντα TNFα (tumor necrosis factor) [72]. Αυτές οι κυτοκίνες ίσως διαδραματίζουν κάποιο ρόλο θετικής τροφοδότησης της φλεγμονής και ίσως δίνουν το σήμα για την έλευση μονοκυττάρων στον τραυματισμένο ιστό.

Παράλληλα, έχει υποστηριχθεί πως τα εισερχόμενα ουδετερόφιλα μπορούν επίσης να προκαλούν την γένεση ελεύθερων ριζών οξυγόνου μετά από μυϊκό τραυματισμό από υπερδιάταση [73, 74]. Συγκεκριμένα, τα ουδετερόφιλα περιέχουν διάφορα ένζυμα, όπως την μυελοϋπεροξειδάση και την ανηγμένη μορφή της οξειδάσης του NADPH, τα οποία είναι ικανά να δημιουργούν υπεροξειδίο του υδρογόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), καθώς και ελεύθερες ρίζες, όπως η υπεροξειδική ρίζα (O<sup>-</sup><sub>2</sub>), το οξειδίο του αζώτου (NO<sup>•</sup>) και η ρίζα του υδροξυλίου (HO<sup>•</sup>). Πρέπει να σημειωθεί πως μέχρι σήμερα, είναι άγνωστος ο ακριβής ρόλος που διαδραματίζουν οι ελεύθερες ρίζες στην μυϊκή φλεγμονή καθώς και στην φάση της ιστικής επιδιόρθωσης. Είναι πιθανόν, αυτά τα αρκετά δραστικά μόρια να προκαλούν άμεση κυτταρική βλάβη με τροποποιήσεις σε νουκλεϊκά οξέα, πρωτεΐνες και λιπίδια, γεγονός που θα σήμαινε αρνητική επίδραση στην διαδικασία αποκατάστασης. Αξίζει να σημειωθεί πως σε εργασία του *Schneidet et al.* [75] αφενός εντοπίστηκε η μέγιστη τιμή ουδετερόφιλων στις 24 ώρες μετά από πλειομετρική άσκηση και αφετέρου αυτή η μέγιστη τιμή συσχετιζόταν με την μέγιστη παραγωγή ελευθέρων ριζών καθώς και με την επέκταση των αρχικών επιπέδων μυοϊνδιακής βλάβης. Από την άλλη πλευρά είναι πιθανόν, οι ελεύθερες ρίζες να δρουν προκειμένου να ενισχύσουν την τοπική φλεγμονώδη

απάντηση μέσω θετικής ρύθμισης των προ-φλεγμονωδών κυτοκινών όπως ο NF-kB (Nuclear Factor-Kappa b) [69].

Εκτός της έλευσης των ουδετερόφιλων στην περιοχή της βλάβης, τα μονοκύτταρα είναι ένας ακόμη πληθυσμός κυττάρων που εμφανίζονται και εν συνεχεία ωριμάζουν και διαφοροποιούνται προς μακροφάγα [76]. Μόρια προσκόλλησης όπως η E-σελεκτίνη και η P-σελεκτίνη έχουν καθοριστικό ρόλο στην διαδικασία εισόδου των λευκοκυττάρων (ουδετερόφιλα και μονοκύτταρα) στον τραυματισμένο ιστό. Τα ουδετερόφιλα μπορούν να διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό των μόνιμων μακροφάγων, εκ των οποίων δύο υποπληθυσμοί σήμερα είναι γνωστό ότι παίζουν ρόλο στον μυϊκό τραυματισμό και στην αποκατάσταση. Ο πρώτος υποπληθυσμός είναι τα μακροφάγα τα οποία εκφράζουν το αντιγόνο ED<sup>+1</sup> και είναι ικανά να εισέρχονται σε τραυματισμένη μυϊκή ίνα προκειμένου να φαγοκυτταρώσουν τα κυτταρικά «απομεινάρια» και το βλαβέν μυοϊνδιακό υλικό [77, 78]. Ο δεύτερος υποπληθυσμός είναι τα ED<sup>+2</sup> μακροφάγα τα οποία είναι μόνιμα μακροφάγα. Αν και είναι παρόντα καθόλη την αναγεννητική διαδικασία, ο ακριβής τους ρόλος παραμένει άγνωστος. Τα μακροφάγα αυτού του τύπου δεν φαίνεται να εισβάλλουν στον τραυματισμένο ιστό. Πιθανότατα, κύρια λειτουργία τους να είναι η δράση τους ως πηγή αυξητικών παραγόντων και κυτοκινών όπως ο IGF-1 (insulin-like growth factor) [79], η ιντερλευκίνη IL-6 [69] και ο PDGF (platelet-derived growth factor) [80] που μπορούν να ρυθμίσουν τον πολλαπλασιασμό και ίσως και την διαφοροποίηση των μυοβλαστών.

**Πίνακας 1.2.** Δράσεις φλεγμονωδών κυττάρων κατά την μυϊκή επιδιόρθωση

| Τύπος κυττάρου             | Δράση                                                         |
|----------------------------|---------------------------------------------------------------|
| Ουδετερόφιλα               | Φαγοκυττάρωση<br>Παραγωγή κυτοκινών<br>Γένεση ελευθέρων ριζών |
| ED <sup>+1</sup> μακροφάγα | Φαγοκυττάρωση κυτταρικών απομεινारीών του μυοϊνδιακού υλικού  |
| ED <sup>+2</sup> μακροφάγα | Παροχή αυξητικών παραγόντων και κυτοκινών                     |

Μολονότι, τα λευκά αιμοσφαίρια είναι οι κύριοι μεσολαβητές της φλεγμονής, και οι ινωδοβλάστες «στρατολογούνται» στην περιοχή της βλάβης. Αν και ο βασικός τους ρόλος εντοπίζεται στην αναγέννηση του κατεστραμμένου συνδετικού ιστού, μπορούν να συμβάλλουν και στην φλεγμονώδη απάντηση. Οι ινωδοβλάστες έχει αποδειχθεί ότι παράγουν τις ιντερλευκίνες IL-6 [81] και IL-1α [82], οι οποίες βοηθούν στην διατήρηση της φλεγμονώδους απάντησης. Επίσης, πρέπει να σημειωθεί ότι προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες, όπως η ιντερλευκίνη IL-1 και ο TNF, έχει αποδειχθεί πως διεγείρουν τους ινωδοβλάστες, προκειμένου αφενός να πολλαπλασιαστούν και αφετέρου να συνθέσουν κολλαγόνο [83]. Αυτές οι παρατηρήσεις ενισχύουν την άποψη ότι αυτά τα κύτταρα συμμετέχουν στην επιδιόρθωση του βλαβέντος μυϊκού ιστού και στην αναδιοργάνωση συνδετικού ιστού.

### **1.6.1 Κυτοκίνες και μυϊκή βλάβη**

Ιδίως τα τελευταία χρόνια, έχει αναγνωρισθεί ο ρόλος των κυτοκινών στην μυϊκή λειτουργία και συγκεκριμένα στην διαδικασία αποκατάστασης μυϊκών τραυματισμών. Οι κυτοκίνες είναι μία ευρεία οικογένεια διακυτταρικών σηματοδοτουσών πρωτεϊνών οι οποίες επηρεάζουν την κίνηση, τον πολλαπλασιασμό, την διαφοροποίηση και των μεταβολισμό των κυττάρων-στόχων [84]. Ερεθίσματα όπως η μηχανική βλάβη, οι ελεύθερες ρίζες και οι ορμόνες του στρες, μπορούν να διαμορφώσουν ή να επάγουν την δραστηριότητα των κυτοκινών. Αν και η έρευνα σε αυτό το πεδίο είναι ακόμα «μικρής ηλικίας», ωστόσο μπορούν να αναφερθούν κάποια γενικά στοιχεία σχετικά με τις δράσεις των κυτοκινών σε περίπτωση τραυματισμού και την εν-συνεχεία φάση της αποκατάστασης των μαλακών ιστών (Πίνακας 1.3).

Καταρχήν φαίνεται πως δύο συγκεκριμένες κυτοκίνες, η IL-1β και ο TNFα, συχνά συσχετίζονται με την ενίσχυση της μυϊκής φλεγμονής. Αυτές οι κυτοκίνες δρουν διαμέσου επαγωγής η θετικής ρύθμισης διάφορων μορίων προσκόλλησης [85], ενώ κυτοκίνες όπως ο TGFβ (transforming growth factor-β), η IL-4 και η IL-10 συμβάλλουν στην αρνητική ρύθμιση της τοπικής φλεγμονής. Αυτές οι δράσεις μπορούν να λάβουν χώρα είτε διαμέσου της αλληλεπίδρασης της κυτοκίνης με τον αντίστοιχο υποδοχέα της, είτε διαμέσου της ικανότητας μιας κυτοκίνης να επάγει την σύνθεση άλλων κυτοκινών και ορμονών. Υπό συγκεκριμένες συνθήκες, τα ενδοθηλιακά κύτταρα όταν διεγερθούν, εκκρίνουν κυτοκίνες σχετιζόμενες με φλεγμονή όπως παράγοντες διέγερσης αποικισμού κοκκιοκυττάρων και μακροφάγων

(granulocyte και macrophage colony stimulating factors), καθώς επίσης και τις ιντερλευκίνες IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 και IL-8 [84]. Οι κυτοκίνες φαίνεται πως παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στην φάση της αποκατάστασης, διαμέσου της χημειοταξίας κυττάρων-δορυφόρων (satellite cells). Για παράδειγμα, ο FGF-2 (fibroblast growth factor) και ο TGF- $\beta$  προάγουν την μετανάστευση πρόδρομων μορφών μυϊκών κυττάρων in vitro [86].

**Πίνακας 1.3.** Κυτοκίνες που μπορούν να παραχθούν από κύτταρα σε μν που αντιμετωπίζει ασκησιογενή μυϊκή βλάβη [84]

| Τύπος κυττάρου             | Κυτοκίνη             |
|----------------------------|----------------------|
| Ενδοθηλιακά κύτταρα        | G-CSF, GM-CSF        |
|                            | IL-1 $\alpha$        |
|                            | IL-1 $\beta$         |
|                            | IL-6                 |
|                            | IL-8                 |
| Ουδετερόφιλα               | IL-1                 |
|                            | IL-8                 |
|                            | TGF $\beta$ -1       |
|                            | TNF                  |
| Μονοκύτταρα /<br>μακροφάγα | FGF-2                |
|                            | IGF-1                |
|                            | IL-1 $\beta$         |
|                            | IL-6                 |
|                            | IL-15                |
|                            | PDGF-B chain         |
|                            | TGF $\beta$          |
|                            | TNF                  |
| Ινωδοβλάστες               | G-CSF, GM-CSF, M-CSF |

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

## 1.7 Δείκτες αξιολόγησης ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης

Τα τυπικά συμπτώματα που σχετίζονται με τον ΚΜΠ είναι η μείωση της μυϊκής δύναμης, ο πόνος, ή μυϊκή ευαισθησία, η δυσκαμψία και το οίδημα [87]. Πολλές μεταβλητές έχουν αναφερθεί στην προσπάθεια ποσοτικοποίησης της μυϊκής βλάβης. Ορισμένες επιλεγμένες μεταβλητές που αποτελούν τους πιο συνήθεις δείκτες αξιολόγησης της μυϊκής βλάβης παρουσιάζονται στον πίνακα 1.4.

**Πίνακας 1.4.** Επιλεγμένοι δείκτες αξιολόγησης της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης [88]

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

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

## **1.8 Επίδραση του ΚΜΠ στην αθλητική απόδοση**

Δύο είναι οι κύριες πληθυσμιακές ομάδες για τις οποίες είναι γνωστό πως βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο για ασκησιογενή μυϊκό τραυματισμό. Πρόκειται αφενός για τους αθλητές ανταγωνιστικού επιπέδου και αφετέρου για τα άτομα που δεν αθλούνται. Οι αθλητές ανταγωνιστικού επιπέδου είναι πιο επιρρεπείς στο συγκεκριμένο τύπο μυϊκού τραυματισμού όταν επιστρέφουν στον κανονικό ρυθμό προπονήσεων μετά από κάποιον τραυματισμό ή στην αρχή μιας νέας αγωνιστικής περιόδου [89]. Επίσης, αλλαγές στο είδος των προπονήσεων μπορεί να επιφέρει αυτόν τον μυϊκό τραυματισμό. Αναφορικά με τους μη αθλητές, αυτοί είναι πιο επιρρεπείς στον ασκησιογενή μυϊκό τραυματισμό στην έναρξη ενός προγράμματος άθλησης, ιδιαίτερα όταν αυτή η δραστηριότητα περιλαμβάνει πλειομετρικού τύπου μυϊκές συστολές.

Ποιες είναι όμως οι κυριότερες επιδράσεις του ΚΜΠ στην αθλητική απόδοση; Εκτός του μυϊκού πόνου, οι δομικές βλάβες στο μυϊκό και στο συνδετικό ιστό που λαμβάνουν χώρα κατά την διάρκεια της πλειομετρικού τύπου φυσικής δραστηριότητας μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα μεταβολές στην μυϊκή λειτουργία και στην μηχανική συμπεριφορά των αρθρώσεων [90]. Όσον αφορά αθλητές υψηλού επιπέδου οι προσαρμογές αυτές σε συνδυασμό και με άλλους αντισταθμιστικούς μηχανισμούς για την ανακούφιση από την αίσθηση του «πιασίματος», μπορούν να προκαλέσουν σημαντική μείωση στην αθλητική απόδοση και ίσως ακόμη και να εξαναγκάσουν σε ένταση προπόνησης χαμηλότερης της απαιτούμενης.

### **1.8.1 Αντίληψη της λειτουργικής βλάβης**

Προηγούμενες έρευνες έχουν αναφέρει ανεξάρτητες μεταβολές στην κινήσιολογία των αρθρώσεων και στην μυϊκή λειτουργία κατά την διάρκεια του ΚΜΠ [5, 91-93]. Ωστόσο, ελάχιστη είναι η έρευνα που έχει εστιάσει στην υποκειμενική αντίληψη του ασκούμενου ως προς την σωματική του βλάβη. Η βλάβη αυτή μπορεί να ορισθεί ως μία αντικειμενικά μετρήσιμη μεταβολή της ανατομικής, φυσιολογικής και ψυχολογικής κατάστασης ενός ανθρώπου [94]. Στις εκφράσεις της βλάβης περιλαμβάνονται το μειωμένο εύρος τροχιάς της άρθρωσης, η μειωμένη δύναμη και η μη φυσιολογική ηλεκτρομυογραφική δραστηριότητα. Περιορισμός ή έλλειψη της ικανότητας να εκτελεστεί μια δραστηριότητα, ή μία λειτουργία μέσα σε

ένα εύρος που θεωρείται φυσιολογικό για ένα άτομο, μπορεί επίσης να περιγραφεί ως λειτουργικός περιορισμός [94]. Αυτός ο λειτουργικός περιορισμός μπορεί να έχει σημαντικές επιδράσεις κατά την διάρκεια περιόδων «πιασίματος» επειδή πιθανή λανθασμένη αντίληψη ενός αθλητή ως προς την προσωρινή βλάβη μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο για τραυματισμό. Ο *Saxton et al.* [95] παρατήρησαν μειωμένη ιδιοδεκτικότητα της άρθρωσης και υπερεκτίμηση της παραγόμενης δύναμης σε 12 συμμετέχοντες (έξι άνδρες, έξι γυναίκες) μετά από 50 μέγιστες πλειομετρικές συστολές των καμπτηρών μυών του αγκώνα. Αυτά τα ευρήματα παρέχουν προκαταρκτικά στοιχεία προκειμένου να προταθεί η άποψη ότι η εκτέλεση μη εξοικειωμένης πλειομετρικής άσκησης που προκαλεί ΚΜΠ, προκαλεί βλάβη στην νευρομυϊκή λειτουργία [95]. Επειδή η ιδιοδεκτικότητα εξαρτάται από αισθητικούς υποδοχείς που εντοπίζονται στους σκελετικούς μυς και τένοντες, αυτό επίσης δείχνει ότι η μυϊκή βλάβη πρέπει να έχει λάβει χώρα κατά την διάρκεια της πλειομετρικής άσκησης.

### **1.8.2 Παράγοντες βιομηχανικής των αρθρώσεων**

Κάποιοι ερευνητές έχουν αναφέρει την εμφάνιση σημαντικού οιδήματος στα άκρα ατόμων που αντιμετωπίζουν ΚΜΠ [96-99]. Συσχετιζόμενη με αυτό το οίδημα είναι η επίσης συχνά παρατηρούμενη μείωση του εύρους τροχιάς της εμπλεκόμενης άρθρωσης [99]. Αυτοί οι παράγοντες πιθανότατα επηρεάζουν την αθλητική απόδοση. Διερευνώντας αυτό το ενδεχόμενο, ο *Hamill et al.* [100] εντόπισαν σημαντικές αλλαγές στο στυλ τρεξίματος σε άτομα τα οποία ένωσαν ΚΜΠ που είχε προκληθεί μετά από τρέξιμο σε κατηφορικό επίπεδο. Τα κινησιολογικά δεδομένα εμφάνισαν μειώσεις στα μέγιστα επίπεδα κάμψης της άρθρωσης του γόνατος και του ισχίου κατά την φάση στήριξης του τρεξίματος, γεγονός το οποίο τους οδήγησε στο συμπέρασμα πως πιθανότατα επηρεάζεται η λειτουργία του μηχανισμού απορρόφησης των κραδασμών. Παράλληλα, παρατήρησαν πως προκειμένου να αντισταθμιστούν αυτές οι μειώσεις στην τροχιά των συγκεκριμένων αρθρώσεων, και κατ' επέκταση η μειωμένη ικανότητα απορρόφησης κραδασμών, αυξήθηκε το εύρος κάμψης – έκτασης της ποδοκνημικής άρθρωσης. Ο *Harris et al.* [93] ανέφεραν πως δρομείς που αντιμετώπιζαν έντονο ΚΜΠ τροποποίησαν τον στυλ τρεξίματος αφενός μειώνοντας το μήκος του διασκελισμού και αφετέρου μειώνοντας το εύρος τροχιάς του γόνατος.



### 1.8.3 Μυϊκή δύναμη

Αρκετές είναι οι εργασίες που αναφέρουν σημαντικές μειώσεις της δύναμης των εμπλεκόμενων μυών, σχετιζόμενες με τον ΚΜΠ [1, 101]. Τα άτομα τα οποία αντιμετωπίζουν έντονο ΚΜΠ μετά από εκτέλεση ανεξοικείωτων πλειομετρικών μυϊκών συστολών, εμφανίζουν σημαντικές μειώσεις κυρίως στην πλειομετρική δύναμη καθώς επίσης και στην μειομετρική και ισομετρική σε μικρότερο βαθμό [101]. Επιπλέον, η μείωση της δύναμης είναι πιο έντονη αμέσως μετά την άσκηση, εμφανίζει μικρή ανάκαμψη στις πρώτες 24 με 48 ώρες, ενώ η πλήρης ανάκτηση της δύναμης διαρκεί συνήθως 8 – 10 ημέρες ή και περισσότερο [101]. Διάφοροι ερευνητές υπέθεταν πως η μείωση της δύναμης μπορεί να οφείλεται σε παρεμπόδιση ψυχολογικής φύσεως που σχετίζεται με την αίσθηση του πόνου, γεγονός που μάλλον δεν ευσταθεί [102]. Με την βοήθεια τεχνητής πρόκλησης μυϊκής συστολής διαμέσου ηλεκτρικής ενεργοποίησης σε άτομα που ένιωθαν ΚΜΠ, κατέστη σαφές πως η αδυναμία ανάπτυξης πλήρους δύναμης οφείλεται αποκλειστικά στον μυ και πιθανότατα στην μυοϊνδιακή ρήξη. Η μείωση της δύναμης σαφώς επηρεάζει την αθλητική απόδοση. Χαρακτηριστικά αναφέρεται η εργασία των *Smith & Jackson* [68] σύμφωνα με την οποία, κατά την 2<sup>η</sup>, 3<sup>η</sup> και 4<sup>η</sup> ημέρα μετά από την έναρξη προπονήσεων ποδοσφαίρου, υπάρχει μια αρνητική συσχέτιση μεταξύ του ύψους κάθετου άλματος και της έντασης του ΚΜΠ που είχε προκληθεί από ποικιλία δραστηριοτήτων.

### 1.8.4 Παράγοντες κινδύνου τραυματισμού

Αν και ο ΚΜΠ είναι προς το παρόν ένας τραυματισμός χωρίς έντονα κλινικά συμπτώματα, που «ξεπερνιέται» από μόνος του απλώς με την πάροδο του χρόνου, υπάρχει βέβαιος κίνδυνος να οδηγήσει σε πιο επώδυνο τραυματισμό. Λόγω της ολοένα αυξανόμενης έμφασης στην προώθηση της υγείας και της άσκησης, είναι σύνηθες για τα περισσότερα άτομα να συνεχίζουν να ασκούνται ακόμη και κατά την διάρκεια έντονου μυϊκού «πιασίματος». Αυτοί που πασχίζουν να βελτιώσουν ή να διατηρήσουν το επίπεδο φυσικής κατάστασης ή απόδοσης συνήθως είναι πιστοί στην φιλοσοφία πως «αν δεν πονέσεις δεν κερδίζεις». Έτσι η πρώτη σκέψη τους είναι πως πρέπει να «δουλέψεις μαζί με τον πόνο» κάτι που είναι αντίθετο με την ξεκούραση των πασχόντων περιοχών [103]. Οι πιθανές επιδράσεις από αυτού του είδους την συμπεριφορά μπορεί να είναι καταστροφικές για τους εξασθενημένους ιστούς και για οποιαδήποτε ανεξοικείωτη ιστική δομή που πιέζεται να ανταπεξέλθει σε μία χρονική

περίοδο μειωμένης λειτουργικής ικανότητας. Πριν την επιστροφή στον αθλητισμό μετά από πρόκληση ΚΜΠ πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι ακόλουθοι παράγοντες κινδύνου.

- Η προστατευτική δράση που παρέχει το πλήρες εύρος τροχιάς των αρθρώσεων π.χ. κατά την προσγείωση μετά από άλμα ή κατά το τρέξιμο, μπορεί να μειωθεί κατά την περίοδο του ΚΜΠ. Η μειωμένη ικανότητα επαρκούς απορρόφησης των κραδασμών επιβαρύνει τις αρθρώσεις και τις ιστικές δομές με ανεξοικείωτα φορτία [103]. Αντισταθμιστικά, αυξημένη απορρόφηση κραδασμών μετατοπίζεται σε άλλες αρθρώσεις προκαλώντας ασυνήθιστες διατακτικές δυνάμεις σε άλλους μυς, αρθρώσεις, συνδέσμους και τένοντες.
- Μία μείωση στην ικανότητα παραγωγής δύναμης από ένα τραυματισμένο τμήμα ενός μυός, μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα αντισταθμιστική ενεργοποίηση μιας μη τραυματισμένης περιοχής του ίδιου μυός ή άλλων μυών [104]. Το γεγονός αυτό οδηγεί σε αξιοσημείωτη αύξηση της ηλεκτρομυογραφικής δραστηριότητας (υπερδραστηριότητα), σε μεταβολές των λόγων της ηλεκτρομυογραφικής δραστηριότητας και σε αύξηση παραγωγής δύναμης από τους συναγωνιστές μυς, προκαλώντας με αυτόν τον τρόπο ασυνήθιστη φόρτιση στους συναγωνιστές και τους επικουρικούς μυς.
- Μία μείωση στην δύναμη και στην ισχύ κατά την διάρκεια έντονου μυϊκού «πιασίματος» μπορεί να οδηγήσει ένα άτομο να «δουλεύει» σε υψηλότερη ένταση από αυτή που κανονικά είναι συνηθισμένο [103]. Για παράδειγμα ένα άτομο στο οποίο έχει δοθεί η οδηγία να «δουλεύει» σε ένα συγκεκριμένο ποσοστό του φορτίου μιας μέγιστης επανάληψης, μπορεί κατά την διάρκεια του ΚΜΠ να συνεχίσει να προπονείται με την προκαθορισμένη ένταση. Ωστόσο, λόγω της βλάβης και της εξασθένησης των μυϊκών ινών μετά από πλειομετρική δραστηριότητα, τώρα η ίδια ένταση είναι σχετικά υψηλότερη και έτσι αυξάνεται ο κίνδυνος περαιτέρω τραυματισμού.
- Μια αυξημένη επικινδυνότητα για τραυματισμό μπορεί επίσης να παρατηρηθεί εάν υπάρξει μεταβολή στο λόγο των δυνάμεων μεταξύ αγωνιστών και ανταγωνιστών μυϊκών ομάδων [105]. Ωστόσο, το εάν ο ΚΜΠ μπορεί να οδηγήσει σε σημαντικές αλλαγές στο λόγο των δυνάμεων αντίθετων μυϊκών ομάδων δεν έχει εξετασθεί εκτεταμένα.

- Τέλος, μια ανακριβής αντίληψη του μεγέθους της βλάβης μπορεί να οδηγήσει ένα άτομο να επιστρέψει σε δραστηριότητες υψηλής έντασης πριν την απαραίτητη ανάρρωση.

## 1.9 Προληπτικές και θεραπευτικές προσεγγίσεις

Αρκετές παρεμβάσεις πριν και μετά την άσκηση έχουν εξετασθεί, στοχεύοντας αντίστοιχα στην πρόληψη και στην θεραπεία του ΚΜΠ και των συνοδών συμπτωμάτων. Αυτές οι παρεμβάσεις μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις ευρείες κατηγορίες: α) φαρμακευτικές παρεμβάσεις με χορήγηση μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων (ΜΣΑΦ), β) παρεμβάσεις με εφαρμογή φυσιοθεραπευτικών μεθόδων και γ) παρεμβάσεις με χορήγηση συμπληρωμάτων διατροφής. Στις επόμενες ενότητες καθεμία κατηγορία από τις προαναφερθείσες θα αναλυθεί ξεχωριστά με ιδιαίτερη έμφαση στην τρίτη κατηγορία.

### 1.9.1 Φαρμακευτική αντιμετώπιση του ΚΜΠ με χρήση ΜΣΑΦ

Μία από τις πολλές θεραπευτικές πρακτικές που υποστηρίζεται πως διευκολύνουν την επανάκτηση της μυϊκής λειτουργίας και βοηθούν στην ανακούφιση από τα συμπτώματα του ΚΜΠ είναι τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα. Η αποτελεσματικότητα της θεραπείας με ΜΣΑΦ στην αντιμετώπιση του ΚΜΠ είναι αμφιλεγόμενη, με την πλειοψηφία των εργασιών να μην δείχνουν κάποια θετική επίδραση παρά την ύπαρξη πολύ ισχυρής θεωρητικής βάσης που θα την δικαιολογούσε.

Τα ΜΣΑΦ δρουν μετά από έντονη άσκηση αναστέλλοντας το ένζυμο κυκλοξυγονάση (COX) και κατά συνέπεια την σύνθεση της PGE<sub>2</sub>. Τα ΜΣΑΦ μπορούν να ταξινομηθούν ως μονής ή διπλής δράσης. Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα όπως η ασπιρίνη, το ναπροξέν (naproxen), το φλουρμπιπροφέν (flurbiprofen) και το ιμπουπροφέν (ibuprofen) είναι αποκλειστικά αναστολείς της COX και συγκαταλέγονται στα μονής δράσης φάρμακα. Άλλα ΜΣΑΦ όπως το ντικλοφενάκ (diclofenac) και το κετοπροφέν (ketoprofen) είναι διπλής δράσης φάρμακα και δρουν μπλοκάροντας τόσο την οδό της COX όσο και την οδό της λιποξυγονάσης (LIPOX) του μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος. Επομένως, τα τελευταία φάρμακα μπορεί να έχουν μία ισχυρότερη αντιφλεγμονώδη δράση συγκρινόμενα με τα μονής δράσης ΜΣΑΦ. Τα διπλής δράσης ΜΣΑΦ ίσως είναι παρόμοια με τις στεροειδείς ορμόνες ως προς τις επιδράσεις τους στην φλεγμονή. Τα κορτικοστεροειδή, όπως για παράδειγμα τα γλυκοκορτικοειδή, αναστέλλουν την φωσφολιπάση A<sub>2</sub>, και με αυτόν τον τρόπο εμποδίζουν την αρχική αποδέσμευση του

αραχιδονικού οξέος από την κυτταρική μεμβράνη, έχοντας ως αποτέλεσμα μία πιο ολοκληρωμένη αντιφλεγμονώδη δράση σε σχέση με τα πολύ διαδεδομένα μονής δράσης ΜΣΑΦ. Ωστόσο, τα γλυκοκορτικοειδή παρουσιάζουν πολυάριθμες παρενέργειες στις οποίες περιέχονται η μείωση οστικής πυκνότητας, η απώλεια μυϊκής μάζας, το οίδημα και η υπέρταση [106] και για αυτό το λόγο η χρήση τους ως αντιφλεγμονώδεις παράγοντες θα πρέπει να είναι περιορισμένη. Τα ΜΣΑΦ έχουν επίσης ανεπιθύμητες ενέργειες όπως γαστρεντερικές ενοχλήσεις καθώς και νεφρικές και υπερτασικές επιδράσεις [107], ωστόσο αυτές οι παρενέργειες είναι πιο σπάνιες και μικρότερης σοβαρότητας από τις παρενέργειες των γλυκοκορτικοειδών. Σε μικρές δόσεις τα ΜΣΑΦ τείνουν να εμφανίζουν μία αναλγητική δράση, ενώ σε υψηλότερες δόσεις επιτυγχάνεται αντιφλεγμονώδη δράση [108]. Μία πιθανή εξήγηση για αυτό είναι ότι τα ΜΣΑΦ σε υψηλότερες δόσεις διακόπτουν την δράση συγκεκριμένων λευκών αιμοσφαιρίων όπως τα ουδετερόφιλα και τα μακροφάγα [109]. Έτσι, τα ΜΣΑΦ μπορεί να έχουν άμεση ανασταλτική δράση στην φλεγμονή ανεξαρτήτως της αναλγητικής δράσης διαμέσου της αναστολής της PGE<sub>2</sub>.

Πάρα πολλοί είναι οι ερευνητές που έχουν μελετήσει τις επιδράσεις των ΜΣΑΦ στον ΚΜΠ και γενικότερα στην ασκησιογενή μυϊκή βλάβη, σε δείγματα ανθρώπων. Τα αποτελέσματα των εργασιών τους είναι πολλές φορές αντικρουόμενα μεταξύ τους. Ωστόσο, είναι σαφές πως η πλειοψηφία των συγκεκριμένων εργασιών δεν καταλήγει σε κάποιο συμπέρασμα εμφάνισης σημαντικής θετικής επίδρασης από την χρήση ΜΣΑΦ. Οι υποκειμενικές αξιολογήσεις του πόνου έδειξαν μόνο μικρή βελτίωση σε κάποιες εργασίες [65, 110], ενώ δεν επηρεάστηκαν κατά βάση καθόλου σε άλλες [111, 112]. Η πλειοψηφία των εργασιών δεν βρήκε κάποια βελτίωση στα επίπεδα της CK ως αποτέλεσμα της χορήγησης κάποιου ΜΣΑΦ. Σε ορισμένες μάλιστα εργασίες αναφέρθηκε αρνητική επίδραση σε ορισμένους από τους δείκτες μυϊκής βλάβης [112, 113]. Παρόμοια, η μυϊκή απόδοση κατά την διάρκεια του ΚΜΠ δεν φαίνεται πως βελτιώνεται σημαντικά με την χρήση ΜΣΑΦ. Οι πίνακες 1.5 και 1.6 παρουσιάζουν συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα επιλεγμένων εργασιών που εξέτασαν την αποτελεσματικότητα της χρήσης ΜΣΑΦ στην «καταπολέμηση» του ΚΜΠ.

**Πίνακας 1.5.** Εργασίες που δεν δείχνουν κάποια αποτελεσματικότητα της θεραπείας με ΜΣΑΦ σε ασκησιογενή μυϊκή βλάβη μετά από πλειομετρικές συστολές [88]

| Εργασία | N  | ΜΣΑΦ         | Δόση (mg)   | Περίοδος θεραπείας  |                          | ΚΜΠ (+/-) | Μυϊκή λειτουργία (+/-) |
|---------|----|--------------|-------------|---------------------|--------------------------|-----------|------------------------|
|         |    |              |             | Αρχή<br>Προ άσκησης | Τέλος<br>Μετά την άσκηση |           |                        |
| [114]   | 6  | Flurbiprofen | 150         | 24 h                | 72 h                     | -         | -                      |
| [112]   | 16 | Ibuprofen    | 2400        | 25 h                | 72 h                     | -         | -                      |
| [115]   | 10 | Ibuprofen    | 2400        | 24 h                | 96 h                     | -         | -                      |
| [116]   | 10 | Ibuprofen    | 2400        | 5 ημ                | 10 ημ                    | -         | -                      |
| [117]   | 15 | Flurbiprofen | 300         | 24 h                | 14 ημ                    | -         | - <sup>1</sup>         |
| [118]   | 16 | Ibuprofen    | 1600 ή 3200 | 24 h                | 6 ημ                     | -         | -                      |
| [119]   | 13 | Flurbiprofen | 40          | 12 h                | 72 h                     | -         | -                      |
| [111]   | 8  | Naproxen     | 500         | 4 h                 | 48 h                     | -         | +/- <sup>2</sup>       |
| [120]   | 12 | Aspirin      | 900         | 0 h                 | 11 ημ                    | -         | -                      |

<sup>1</sup> Χειροτέρευση της ανάκτησης δύναμης.<sup>2</sup> Στη συγκεκριμένη εργασία χρησιμοποιήθηκαν και πλειομετρικές και μειομετρικές συστολές

**Συντημήσεις:** N: μέγεθος δείγματος, ΜΣΑΦ: Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα, ΚΜΠ: καθυστερημένος μυϊκός πόνος

**Πίνακας 1.6.** Εργασίες που δείχνουν κάποια αποτελεσματικότητα της θεραπείας με ΜΣΑΦ σε ασκησιογενή μυϊκή βλάβη μετά από πλειομετρικές συστολές [88]

| Εργασία | N  | ΜΣΑΦ       | Δόση (mg) | Περίοδος θεραπείας  |                          | ΚΜΠ (+/-) | Μυϊκή λειτουργία (+/-) |
|---------|----|------------|-----------|---------------------|--------------------------|-----------|------------------------|
|         |    |            |           | Αρχή<br>Προ άσκησης | Τέλος<br>Μετά την άσκηση |           |                        |
| [38]    | 10 | Aspirin    | 2600      | 4 h                 | 48 h                     | +         | -                      |
| [121]   | 20 | Diclofenac | 150       | 1.5 h               | 72 h                     | +/-       | Δ/E                    |
| [65]    | 5  | Ibuprofen  | 1200      | 4 h                 | 24 h                     | +         | +                      |
| [110]   | 8  | Naproxen   | 660       | 0 h                 | 10 ημ                    | +         | +                      |
| [122]   | 20 | Naproxen   | 1000      | 0 h                 | 7 ημ                     | +         | +                      |
| [123]   | 27 | Diclofenac | 150       | 13 ημ.              | 14 ημ                    | +         | + <sup>1</sup>         |
| [124]   | 12 | Ketoprofen | 25 ή 100  | 36 h                | 36 h                     | +         | -                      |

(μετά την άσκ.)

<sup>1</sup> Ιστολογική εξέταση του μυός.

**Συντημήσεις:** N: μέγεθος δείγματος, ΜΣΑΦ: Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα, ΚΜΠ: καθυστερημένος μυϊκός πόνος, Δ/E: Δεν εξετάστηκε

### 1.9.2 Φυσιοθεραπευτικές παρεμβάσεις

Αρκετές είναι επίσης οι φυσιοθεραπευτικές παρεμβάσεις που έχουν προταθεί και στοχεύουν στην ανακούφιση από τον ΚΜΠ. Συγκεκριμένα, κλασικές φυσιοθεραπευτικές μέθοδοι όπως η κρυοθεραπεία, οι υπέρηχοι και η ηλεκτρική διέγερση έχουν χρησιμοποιηθεί για τον συγκεκριμένο σκοπό [125-128]. Επιπροσθέτως, η μάλαξη, οι διατάσεις, η ελαφριά άσκηση, η ακινητοποίηση και η απλή ξεκούραση έχουν εξετασθεί [129-133]. Εναλλακτικές θεραπείες περιλαμβάνουν την θεραπεία με υπερβαρικό οξυγόνο και την θεραπεία με χρήση ειδικών υφασμάτων που προστατεύουν από την δράση υψίσυχνων ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων [134, 135]. Παρά τον μεγάλο όγκο ερευνητικών εργασιών σε αυτόν τον χώρο, πολύ μικρή είναι η ομοφωνία ανάμεσα στους θεράποντες ως προς την πιο αποτελεσματική μέθοδο αντιμετώπισης των συμπτωμάτων της μυϊκής βλάβης. Η εμμονή σε μη δημοσιευμένα στοιχεία ή σε εργασίες με όχι καλό πειραματικό σχεδιασμό μπορεί να διαιωνίζει μη αποτελεσματικές μεθόδους, όπου στην καλύτερη περίπτωση κυριαρχεί η δράση placebo.

#### 1.9.2.1 Προθέρμανση, διατάσεις και μάλαξη

Αναντίρρητα οι πιο συχνά εφαρμοζόμενες πρακτικές για τον ΚΜΠ είναι οι παθητικές διατάσεις και η μάλαξη. Αναπάντεχα όμως, πολύ λίγα επιστημονικά στοιχεία υπάρχουν τα οποία να στηρίζουν την αποδοτικότητα αυτών των μεθόδων. Σε ορισμένες εργασίες έχουν εξετασθεί διάφοροι συνδυασμοί μεθόδων όπως προθέρμανση, διατάσεις και μάλαξη [130], δινόλουτρο με ζεστό νερό [133] και παγομάλαξη [136]. Άλλες μελέτες έχουν εξετάσει μεμονωμένα κάποια θεραπεία π.χ. μάλαξη [132] και διατάσεις [129]. Σε μία ακόμη εργασία η μάλαξη συγκρίθηκε με την ηλεκτρική διέγερση και την ελαφριά άσκηση [92]. Ο συνδυασμός προθέρμανσης και διατάσεων πριν την άσκηση με μάλαξη μετά την άσκηση (για τις επόμενες ημέρες) είχε θετικά αποτελέσματα [130], όπως επίσης είχε το δινόλουτρο με ζεστό νερό [133]. Ο Rodenburg *et al.* [137] διαχώρισαν με τυχαίο τρόπο 50 άτομα σε μία ομάδα θεραπείας και σε μία ομάδα ελέγχου (control). Χρησιμοποιήθηκε ένα πρωτόκολλο πλειομετρικής άσκησης για τους καμπτήρες μυς του αγκώνα, ενώ η θεραπεία περιλάμβανε προθέρμανση πριν την άσκηση και μάλαξη 15 λεπτά μετά την άσκηση. Υπήρξαν στοιχεία μικρότερης μυϊκής ευαισθησίας, μικρότερης απώλειας μυϊκής δύναμης και μεγαλύτερης δυνατότητας κάμψης της άρθρωσης του αγκώνα στην ομάδα θεραπείας, αλλά η γωνία χαλαρής έκτασης του αγκώνα, η δραστητικότητα

της CK και η μυοσφαιρίνη ορού δεν διέφεραν μεταξύ των δύο ομάδων. Ωστόσο, είναι δύσκολο να αποδοθούν αυτά τα θετικά ευρήματα στη μάλαξη. Η προθέρμανση πριν την άσκηση έχει φανεί αποτελεσματική από μόνη της στην μείωση του ΚΜΠ [98] και έτσι η επίδραση αυτή μπορεί να εξηγεί τα αποτελέσματα της εργασίας του *Rodenburg et al.* [130]. Όσον αφορά την αποτελεσματικότητα του δινόλουτρου με ζεστό νερό, στην μείωση του ΚΜΠ, τα αποτελέσματα αυτά δεν μπορούν να γενικευθούν για τη πιο κοινά εφαρμοζόμενη μάλαξη με τα χέρια. Παρόμοια είναι η έλλειψη υποστηρικτικών στοιχείων για την αποτελεσματικότητα των διατάσεων μετά την άσκηση ως προς τον ΚΜΠ. Επιπρόσθετα, θα μπορούσε κάποιος να υποστηρίξει πως καμία εργασία δεν έχει εξετάσει επαρκώς τις πιθανές θεραπευτικές δράσεις των διατάσεων και της μάλαξης με κατάλληλο πειραματικό σχεδιασμό και επαρκές μέγεθος δείγματος. Πάντως, το πιο σημαντικό είναι πως έως σήμερα δεν έχει διατυπωθεί μία ισχυρή άποψη σχετικά με το γιατί, είτε οι διατάσεις, είτε η μάλαξη θα μπορούσαν να ανακουφίσουν τον ΚΜΠ.

#### 1.9.2.2 Κρυοθεραπεία και συμπίεστική περίδεση

Σε αντίθεση με τη μάλαξη και τις διατάσεις, υπάρχει μια ισχυρή άποψη για την χρήση της κρυοθεραπείας και της συμπίεστικής περιδέσης στην αντιμετώπιση του ΚΜΠ. Διάφοροι τρόποι εφαρμογής πάγου και συμπίεστικής περιδέσης χρησιμοποιούνται συχνά στην κλινική πρακτική προκειμένου να ανακουφιστεί ο πόνος, να περιοριστεί η φλεγμονώδης απάντηση και να μειωθεί το οίδημα σε πολλούς τύπους τραυματισμών [138]. Όσον αφορά τον ΚΜΠ, η εμβύθιση σε κρύο νερό [127], η διαλειμματική συμπίεση με αέρα [125] και τα ειδικά μανίκια συμπίεσης [139] έχει φανεί να προσφέρουν κάποιου βαθμού ανακούφιση από τον ΚΜΠ. Θεραπεία εμβύθισης σε κρύο νερό διάρκειας 15 λεπτών, αμέσως μετά από πλειομετρική άσκηση των καμπτηρών μυών του αγκώνα και για 6 ακόμη φορές κάθε 12 ώρες, ήταν αποτελεσματική στην μείωση της δυσκαμψίας, όπως αυτή μετριέται με την γωνία χαλαρής έκτασης του αγκώνα, ενώ ταυτόχρονα είχε ως αποτέλεσμα χαμηλότερες τιμές της δραστηριότητας της CK του πλάσματος [127]. Θεραπεία με διαλειμματική συμπίεση με αέρα διάρκειας 20 λεπτών, αμέσως μετά από πλειομετρική άσκηση των καμπτηρών μυών του αγκώνα και για τις επόμενες 5 ημέρες κάθε ημέρα, ήταν αποτελεσματική στην μείωση της δυσκαμψίας και του οιδήματος. Ωστόσο αυτές οι επιδράσεις ήταν φανερές μόνο αμέσως μετά από κάθε θεραπεία. Μεγαλύτερης διάρκειας επιδράσεις δεν εντοπίστηκαν επειδή πειραματικά δεν χρησιμοποιήθηκε



ομάδα ελέγχου στην οποία δεν θα εφαρμοζόταν καμία θεραπεία [125]. Πρόσφατα ο *Kraemer et al.* [139] παρουσίασαν πως το φόρεμα μανικιού συμπίεσης για 5 ημέρες, μετά από πλειομετρική άσκηση των καμπτηρών μυών του αγκώνα, ήταν αποτελεσματική στην μείωση της απώλειας δύναμης, του πόνου, του οιδήματος και της δυσκαμψίας.

Σε αντίθεση με αυτές τις αποτελεσματικές μεθόδους [125, 127, 139], η μάλαξη με πάγο βρέθηκε αναποτελεσματική ως θεραπεία [136]. Ωστόσο, αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός πως εφαρμόστηκε μόνο μία φορά η θεραπεία διάρκειας 15 λεπτών αμέσως μετά, 24 ώρες ή 48 ώρες μετά την άσκηση. Είναι ενδιαφέρον ότι ο συνδυασμός πάγου και συμπίεσης δεν έχει μελετηθεί συγκεκριμένα σε σχέση με τον ΚΜΠ. Βασιζόμενοι στην κλινική πρακτική και στα ενθαρρυντικά αποτελέσματα με τον πάγο [127] και την συμπίεση [125, 139] μεμονωμένα, αυτός ο συνδυασμός ίσως αποδειχθεί η πιο αποτελεσματική θεραπεία.

#### 1.9.2.3 Ξεκούραση ή θεραπευτική άσκηση;

Το αν είναι προτιμότερο να ασκείται ή να ξεκουράζεται κανείς όταν νιώθει ΚΜΠ, αποτελεί ένα θέμα με μεγάλο ενδιαφέρον. Πρόσφατα ο *Sayers et al.* [131] εξέτασαν τα πιθανά οφέλη της ελαφριάς άσκησης ή της ακινητοποίησης σε σύγκριση με την απλή ξεκούραση. Σε 9 άτομα ακινητοποιήθηκε η άρθρωση του αγκώνα στις 90° αμέσως μετά την πλειομετρική άσκηση. Άλλα 9 άτομα έκαναν ελαφριά άσκηση (50 κάμψεις δικέφαλων με 2,5 Kg), ενώ 8 άτομα απλώς ξεκούρασαν τους καμπτήρες μυς του αγκώνα τους. Η ανάκτηση της δύναμης ήταν καλύτερη και μετά την ελαφριά άσκηση, αλλά και μετά την ακινητοποίηση σε σχέση με την απλή ξεκούραση. Αυτά τα αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά γιατί υπάρχει μια φυσική τάση προς την ελαφριά άσκηση προκειμένου να ανακουφιστεί κανείς από τον ΚΜΠ. Τα οφέλη της ακινητοποίησης στηρίζουν την άποψη πως οι θεραπευτικές μέθοδοι θα πρέπει να στοχεύουν στην ενίσχυση της επουλωτικής ικανότητας του μυϊκού ιστού. Είναι ενδιαφέρον πως η ακινητοποίηση με τον μυ σε επιμήκυνση είναι η προτεινόμενη μέθοδος θεραπείας για μικρούς τραυματισμούς στον τετρακέφαλο [140]. Πιστεύεται πως με αυτόν τον τρόπο μειώνεται ο σχηματισμός ουλώδους ιστού και ενισχύεται η διαδικασία αναγέννησης των σαρκομερίων. Μολονότι μία ελαφριά μυϊκή θλάση είναι πολύ σοβαρότερος τραυματισμός από την ασκησιογενή μυϊκή βλάβη, πιθανώς να είναι εφαρμόσιμες οι ίδιες θεραπευτικές αρχές. Χρήζει, λοιπόν, μελλοντικής διερεύνησης η αποτελεσματικότητα της ακινητοποίησης της εμπλεκόμενης

άρθρωσης, σε κατάλληλη γωνία ώστε οι μύες με ΚΜΠ να βρίσκονται σε φάση επιμήκυνσης.

#### 1.9.2.4 Εναλλακτικές θεραπείες

Πρόσφατα η θεραπεία με υπερβαρικό οξυγόνο προσέλκυσε έντονο ενδιαφέρον ως πιθανός τρόπος αντιμετώπισης του ΚΜΠ. Η θεραπεία με υπερβαρικό οξυγόνο είναι μία κλινική πρακτική όπου το άτομο αναπνέει 100% οξυγόνο ( $O_2$ ) προκειμένου να υπερκορεσθεί το αίμα με οξυγόνο. Αυτή η μέθοδος υπερκορεσμού του αίματος με οξυγόνο έχει υποστηριχθεί πως μειώνει τον χρόνο ανάρρωσης διάφορων τραυματισμών [141]. Σε μία έρευνα, τα δείγματα εισέπνεαν 100% οξυγόνο για 60 λεπτά καθημερινά για τις 7 ημέρες μετά από την πρόκληση ασκησιογενούς βλάβης με πλειομετρική άσκηση στους καμπτήρες μυς του αγκώνα [134]. Οι συγγραφείς ανέφεραν πως δεν υπήρξε καμία επίδραση στον πόνο, στην απώλεια δύναμης ή στον ρυθμό ανάρρωσης σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου η οποία εισέπνεε 8% οξυγόνο για το ίδιο χρονικό διάστημα. Οι επιδράσεις του βελονισμού έχουν επίσης εξετασθεί ως προς τον ΚΜΠ. Οι *Lin & Yang* [142] αξιολόγησαν τις επιδράσεις του βελονισμού στον ΚΜΠ σε δείγμα 20 ανδρών και ανέφεραν σημαντική μείωση του πόνου στις 72 ώρες μετά την άσκηση. Ο βελονισμός έλαβε χώρα αμέσως μετά και 48 ώρες μετά από την άσκηση. Καμία επίδραση δεν αναφέρθηκε στις τιμές της CK. Είναι ενδιαφέρον ότι η διαφορά μεταξύ των μέσων όρων του πόνου ήταν μεγαλύτερη αμέσως μετά την άσκηση σε σχέση με την αντίστοιχη διαφορά στις 72 ώρες μετά την άσκηση, μολονότι δεν αναφέρεται ως στατιστικά σημαντική.

Πρόσφατα μία εργασία του *Zhang et al.* [135] παρείχε ισχυρά στοιχεία πως η εφαρμογή ενός ειδικού υφάσματος, προστατευτικού ως προς ηλεκτρομαγνητικά κύματα, σε πλειομετρικά ασκεθέντα μυ ελαττώνει τον ΚΜΠ. Η εργασία του *Zhang et al.* [135], που ήταν τύπου single-blind, τυχαιοποιημένου δείγματος και με ομάδα ελέγχου placebo, έδειξε πως η χρήση του ειδικού υφάσματος για 5 ημέρες μετά από πλειομετρική άσκηση στους τετρακέφαλους μυς μείωσε την απώλεια δύναμης, τον πόνο, τους βιοχημικούς δείκτες της βλάβης καθώς και τους δείκτες φλεγμονής. Αν και ο μηχανισμός της επίδρασης δεν ήταν εμφανής, υποστηρίχθηκε ότι το ειδικό ύφασμα εμφάνισε μία αντιφλεγμονώδη δράση. Αξίζει να σημειωθεί πως πρόκειται για μία καλά σχεδιασμένη κλινική έρευνα σε αντίθεση με την πλειοψηφία μελετών που εξετάζουν πιθανές θεραπείες για τον ΚΜΠ.

#### 1.9.2.5 Η πρακτικότητα των φυσιοθεραπευτικών παρεμβάσεων

Μολονότι υπάρχουν ορισμένα στοιχεία ότι ο ΚΜΠ μπορεί να ανακουφισθεί διαμέσου είτε της κρυοθεραπείας, είτε της ακινητοποίησης, αυτές οι πληροφορίες πιθανότατα τυγχάνουν μικρής πρακτικής αξίας. Στην πράξη, η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη σπάνια περιορίζεται σε μία μυϊκή ομάδα. Το σύνηθες είναι τα κλινικά συμπτώματα να αφορούν πολλές μυϊκές ομάδες και προκαλούνται μετά από ανεξοικείωτη αρχικά, πλειομετρικού τύπου άσκηση όπου συμμετέχουν πολλά μέρη του σώματος, όπως για παράδειγμα μία διαφορετική προπόνηση ή μία προπόνηση μετά από μεγάλο χρονικό διάστημα απραξίας. Σε αυτήν την περίπτωση, είναι συχνά ανέφικτο να θεραπευθούν όλες τις εμπλεκόμενες περιοχές του σώματος με πάγο, ενώ ταυτόχρονα η πλήρης ακινητοποίηση δεν αποτελεί μία ρεαλιστική εναλλακτική επιλογή. Σύμφωνα με ανεπίσημες πληροφορίες, ορισμένοι παίκτες του αμερικανικού ποδοσφαίρου επιλέγουν την πλήρη εμβύθιση του σώματός τους σε πάγο προκειμένου να θεραπεύσουν μη εστιασμένους τοπικά πόνους και ενοχλήσεις. Αν και αυτός ο τρόπος ίσως είναι επωφελής, λίγοι αθλητές θα άντεχαν την δυσφορία μιας τέτοιας θεραπευτικής μεθόδου.

#### 1.9.3 Παρεμβάσεις με χρήση διατροφικών συμπληρωμάτων

Εάν γίνει αποδεκτή η ιδέα ότι η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη έπεται μιας μηχανικής υπερδιάτασης ενεργοποιημένων μυϊκών ινών, τα διατροφικά συμπληρώματα θεωρητικά, θα μπορούσαν να δράσουν μειώνοντας την δευτερογενή ή «καθυστερημένη εμφάνιση» βλάβης και όχι την αρχική βλάβη, η οποία πιστεύεται ότι είναι μηχανικής αιτιολογίας. Επειδή πιθανότατα διάφορα στάδια λαμβάνουν χώρα στο εσωτερικό του μυός που οδηγούν σε αυτήν την δευτερογενή βλάβη, είναι πολύ δύσκολο η χορήγηση ενός μόνο θρεπτικού συστατικού, αφενός να μειώνει το μέγεθος της βλάβης και αφετέρου να συμβάλλει σε ταχύτερη ανάρρωση. Λόγω αυτού, ερευνητές έχουν εξετάσει τον ρόλο διάφορων διατροφικών θεραπειών, μεμονωμένα ή σε συνδυασμούς, στην μείωση της μυϊκής βλάβης και των συνοδών συμπτωμάτων. Τα αποτελέσματα των ερευνών εμφανίζονται στον πίνακα 1.7.

##### 1.9.3.1 Αντιοξειδωτικοί παράγοντες

Όπως αναφέρθηκε στην παράγραφο 1.6 (Εισαγωγή), ο πολλαπλασιασμός των ελευθέρων ριζών είναι ένας ισχυρά προτεινόμενος μηχανισμός στην ασκησιογενή βλάβη, ο οποίος κυρίως λαμβάνει χώρα διαμέσου της φαγοκυττάρωσης και της

ενεργοποίησης της «αναπνευστικής έκρηξης» από τα ουδετερόφιλα που προκαλείται κατά την διάρκεια της φλεγμονώδους απάντησης [143]. Πρόσφατα ο *Hellsten et al.* [144] ανέφεραν πως τα επίπεδα της οξειδάσης της ξανθίνης ήταν αυξημένα μετά από πλειομετρική άσκηση. Επειδή η οξειδάση της ξανθίνης έχει την ικανότητα δημιουργίας της υπεροξειδικής ρίζας, υπάρχει η δυναμική εξάπλωσης και πιο επικίνδυνων ελευθέρων ριζών και κατά συνέπεια μεγαλύτερης βλάβης [144]. Φαίνεται λοιπόν εύλογο ότι η συμπληρωματική λήψη αντιοξειδωτικών ουσιών πριν από την άσκηση θα μπορούσε να μειώσει την μετέπειτα βλάβη. Γενικά, η θεραπεία του ΚΜΠ χρησιμοποιώντας τα κλασικά αντιοξειδωτικά (βιταμίνες C και E) εμφανίζεται αντιφατική. Περισσότερο ενδιαφέρον εμφανίζει η υδατοδιαλυτή βιταμίνη C η οποία φαίνεται να εμφανίζει αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, ενώ είναι γνωστό ότι συμμετέχει στην σύνθεση κολλαγόνου. Η βιταμίνη E έχει υποστηριχθεί ότι σταθεροποιεί την κυτταρική μεμβράνη, γεγονός το οποίο οδηγεί σε μικρότερες απώλειες ενδοκυτταρικών πρωτεϊνών (π.χ. CK). Ωστόσο, παραμένει προς διερεύνηση η συνολική εκτίμηση της αποτελεσματικότητας αυτών των βιταμινών, καθώς επίσης και ο ακριβής μηχανισμός δράσης τους.

Μία από τις πρώτες εργασίες όπου εξετάστηκε ο ρόλος της αντιοξειδωτικής βιταμίνης C σχετικά με την μυϊκή βλάβη πραγματοποιήθηκε από τους *Kaminski & Boal* [145]. Σε αυτήν την έρευνα τύπου cross-over, σε 19 αγύμναστους άνδρες και γυναίκες γινόταν ημερήσια χορήγηση είτε 3 γραμ. ασκορβικού οξέος, είτε placebo λακτόζης, για 3 ημέρες πριν την άσκηση και για 4 ημέρες μετά την άσκηση. Η άσκηση αποτελείτο από 15 λεπτά κυκλικών ισοτονικών συστολών των καμπτήρων του πέλματος (15 sec συστολή και 15 sec ξεκούραση). Ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος (ΚΜΠ) μετρήθηκε χρησιμοποιώντας μία οπτική αναλογική κλίμακα 10 εκατοστών (VAS – Visual Analog Scale, 0 : καθόλου πόνος, 10 : υπερβολικός πόνος) πριν και μέχρι και 96 ώρες μετά την άσκηση, και εντοπίστηκε να είναι μικρότερος στην ομάδα του ασκορβικού οξέος στις χρονικές στιγμές 48, 58 και 72h μετά από την άσκηση. Η μεγαλύτερη διαφορά παρατηρήθηκε στην χρονική στιγμή των 58h όπου η ομάδα του placebo είχε μέσο όρο ΚΜΠ 6,3 ενώ για την ομάδα του ασκορβικού οξέος αναφέρθηκε μέσος όρος 3,5. Ωστόσο, όπως σημειώθηκε σε άλλες ερευνητικές εργασίες παρόμοιας φύσεως, υπήρχε μεγάλη ποικιλομορφία μεταξύ των ατόμων του δείγματος σχετικά με τις τιμές του ΚΜΠ. Επιπλέον, επειδή δεν υπήρχε πραγματική ομάδα ελέγχου, χρειάζεται προσοχή στην ερμηνεία των συγκεκριμένων ευρημάτων.

Ανεξαρτήτως αυτών των περιορισμών, η μελέτη των *Kaminski & Boal* [145] πράγματι παρουσίασε κάποιο όφελος από την χρήση βιταμίνης C σε αυτήν την υψηλή δόση. Ωστόσο, μία πιο πρόσφατη έρευνα απέτυχε να καταλήξει σε παρόμοια ευρήματα [146]. Σε αυτή την εργασία τύπου double blind, χορηγήθηκε σε 14 αγύμναστους άνδρες είτε ένα placebo ποτό, είτε ένα ποτό που περιείχε 12,5 mg βιταμίνης C και 10 mg N-ακέτυλο κυστεΐνης ανά κιλό σωματικού βάρους αμέσως μετά και για τις 7 ακόλουθες μέρες μετά την άσκηση. Η άσκηση περιλάμβανε 3 σετ των 10 επαναλήψεων στο 80% της μέγιστης πλειομετρικής δύναμης των καμπτήρων μυών του αγκώνα. Μολονότι ορισμένα αντιοξειδωτικά ένζυμα (υπεροξειδική δισμουτάση και υπεροξειδάση της γλουταθειόνης) ήταν υψηλότερα με την «θεραπεία», καμία διαφορά δεν παρατηρήθηκε μεταξύ των ομάδων ως προς τα επίπεδα του ΚΜΠ. Επιπλέον, η ιντερλευκίνη IL-6, ένας συχνά χρησιμοποιούμενος φλεγμονώδης δείκτης, δεν επηρεάστηκε από την θεραπεία όπως επίσης και το εύρος τροχιάς της άρθρωσης. Επιπροσθέτως, οι δύο ευρέως χρησιμοποιούμενοι δείκτες ακεραιότητας των κυτταρικών μεμβρανών, η CK και η LDH, στην πραγματικότητα αυξήθηκαν στην ομάδα θεραπείας, κάτι που δηλώνει πως το συμπλήρωμα πιθανώς ενίσχυσε την βλάβη. Οι συγγραφείς του άρθρου πίστευαν ότι ο βαθμός του οξειδωτικού στρες αυξήθηκε μετά την χορήγηση συμπληρώματος με τα συγκεκριμένα θρεπτικά συστατικά, ως αποτέλεσμα της δράσης τους ως προ-οξειδωτικά συστατικά, και αυτό επιδείνωσε την «καθυστερημένης εμφάνισης» βλάβη. Ωστόσο, όπως και σε άλλες εργασίες, οι ερευνητές παρέλειψαν να μετρήσουν περισσότερους άμεσους δείκτες ιστικής βλάβης όπως τη μυϊκή δύναμη, η οποία υποστηρίζεται πως απεικονίζει καλύτερα τον βαθμό της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης [6], ενώ μέτρησαν έμμεσους δείκτες που πιθανώς δεν απεικονίζουν με ακρίβεια το βαθμό αποδιοργάνωσης των μυοϊνιδίων [147]. Επομένως, είναι αβέβαιο εάν θα είχε επωφελείς ή επιβλαβείς συνέπειες, η εφαρμογή κάποιου από τα προαναφερθέντα πρωτόκολλα χορήγησης συμπληρώματος αντιοξειδωτικών στην πράξη, όπου το ενδιαφέρον εστιάζεται κυρίως στην μείωση της μυϊκής δύναμης και στην ανάρρωση.

Επιπροσθέτως, στην εργασία του *Childs et al.* [146], η παρέμβαση έλαβε χώρα μετά την άσκηση σε αντίθεση με την εργασία των *Kaminski & Boal* [145] όπου η παρέμβαση είχε ξεκινήσει πριν την άσκηση. Αυτό δείχνει ότι η προληπτική χρήση βιταμίνης C πιθανότατα έχει μεγαλύτερες προστατευτικές ιδιότητες συγκριτικά με την πρόσληψη μετά την πρόκληση τραυματισμού. Επιπλέον, το ότι η δοσολογία της

βιταμίνης C που χρησιμοποιήθηκε ήταν περίπου το 1/3 αυτής που χρησιμοποιήθηκε στην εργασία των *Kaminski & Boal* [145] ίσως βοηθά να εξηγηθούν οι διαφορές μεταξύ των ευρημάτων των δύο εργασιών.

Σε μία πρόσφατη έρευνα του *Bryer et al.* [148], αγύμναστοι άνδρες πήραν μία παρόμοια δόση βιταμίνης C (3 γραμ. ημερησίως) για δύο εβδομάδες πριν από την εκτέλεση 60 πλειομετρικών συστολών των καμπτήρων μυών του αγκώνα. Σε σύγκριση με τα άτομα στα οποία χορηγήθηκε placebo, παρουσίασαν χαμηλότερα επίπεδα ΚΜΠ, δραστηριότητας CK και οξειδωσης πρωτεϊνών κατά την διάρκεια των 4 ημερών μετά από την άσκηση. Ωστόσο, τα επίπεδα της γλουταθειόνης στο αίμα, ενός ενδογενούς αντιοξειδωτικού, έμειναν ανεπηρέαστα από την χορήγηση βιταμίνης C. Αυτά τα δεδομένα, σε συνδυασμό με αυτά των *Kaminski & Boal* [145], δείχνουν ότι ίσως είναι απαραίτητη μια υψηλότερη δόση βιταμίνης C προκειμένου να μειωθεί ο ΚΜΠ, να μειωθεί η δραστηριότητα της CK και να παρασχεθεί προστασία έναντι στην πρωτεϊνική βλάβη που ακολουθεί τις πλειομετρικές ασκήσεις υψηλών εντάσεων. Βέβαια, παραμένει να καθορισθεί εάν αυτή η πρακτική θα είχε επίδραση σε περισσότερους άμεσους δείκτες μυϊκής βλάβης όπως περιγράφηκε από τον *Hortobagyi et al.* [147].

Σε μία άλλη εργασία με αντιοξειδωτικές βιταμίνες χρησιμοποιήθηκε χορήγηση συμπληρώματος της λιποδιαλυτής βιταμίνης E [149]. Για 30 ημέρες πριν την εκτέλεση 24 σετ των 10 επαναλήψεων (κάμψεων – εκτάσεων του γόνατος) στους εθελοντές χορηγήθηκε (double blind) είτε placebo, ή 1200 IU/ημέρα βιταμίνης E. Πριν και για 7 ημέρες μετά την άσκηση, αξιολογήθηκαν διάφοροι άμεσοι και έμμεσοι δείκτες της μυϊκής βλάβης. Με εξαίρεση μιας χαμηλότερης δραστηριότητας της CK στις 3 ημέρες μετά από την άσκηση, η χορήγηση του συμπληρώματος δεν είχε καμία στατιστικά σημαντική επίδραση σε καμία παράμετρο που αξιολογήθηκε, συμπεριλαμβανομένης της άμεσης αξιολόγησης της ιστικής βλάβης και της κυτταροσκελετικής αποδιοργάνωσης. Επιπροσθέτως, η βιταμίνη E δεν είχε κάποια σημαντική επίδραση στην μυϊκή δύναμη, δείχνοντας με αυτόν τον τρόπο ότι η χορήγηση βιταμίνης E σε ανθρώπους που κάνουν κάποιο πρόγραμμα ασκήσεων αντίστασης, δεν μειώνει την βλάβη που ακολουθεί ένα πρόγραμμα πλειομετρικών ασκήσεων. Ωστόσο, είναι αρκετά πιθανό το πρωτόκολλο που χρησιμοποιήθηκε σε αυτήν την έρευνα να προξένησε τόσο μεγάλου βαθμού τραυματισμό, ώστε η πιθανή θετική επίδραση της βιταμίνης E να υπερκαλύφθηκε από τον τραυματισμό. Ο *McBride et al.* [150] ανέφεραν παρόμοια ευρήματα όπου έδειξαν χαμηλότερα επίπεδα

δραστηριότητας CK σε άτομα στα οποία έγινε χορήγηση βιταμίνης E για 2 εβδομάδες πριν από ένα πρόγραμμα ασκήσεων αντίστασης υψηλής έντασης, συγκριτικά με τα άτομα στα οποία χορηγήθηκε placebo. Ωστόσο, δεν υπήρχαν διαφορές ως προς τον ΚΜΠ ή την μαλονδιαλδεϋδη που είναι ένας ευρέως χρησιμοποιούμενος δείκτης λιπιδικής υπεροξειδωσης. Ωστόσο, θα πρέπει να σημειωθεί ότι σε αντίθεση με την πλειοψηφία των εργασιών σε αυτό το θέμα, τα άτομα αυτής της έρευνας ακολουθούσαν συστηματικά κάποιο πρόγραμμα προπόνησης με βάρη, και ίσως λόγω αυτού του γεγονότος να ήταν ήδη προστατευμένοι από τα ενδογενή αμυντικά συστήματα του σώματός τους. Αυτός ίσως να είναι ένας λόγος που εξηγεί γενικά τις ασυμφωνίες που παρατηρούνται μεταξύ εργασιών, σε συνδυασμό με τις διαφορές στις χορηγούμενες δοσολογίες των αντιοξειδωτικών καθώς επίσης και με την πληθώρα των πρωτοκόλλων ασκήσεων που επιλέγονται να εφαρμοστούν κάθε φορά από τα δείγματα της έρευνας.

Επιπροσθέτως, η έλλειψη επίδρασης σε άλλες εξαρτημένες μεταβλητές εκτός της δραστηριότητας της CK δεν πρέπει να προκαλεί έκπληξη, μιας και η απελευθέρωση της CK μπορεί απλώς να σχετίζεται με τον βαθμό της μεμβρανικής βλάβης, όπου η βιταμίνη E έχει βρεθεί να την μειώνει. Κατά συνέπεια, θα πρέπει να γίνει αντιληπτό ότι η δραστηριότητα της CK μεμονωμένα δεν αποτελεί αξιόπιστο μέτρο του βαθμού της μυϊκής βλάβης. Συγκεκριμένα, αυτό το εύρημα έχει υποστηριχθεί από την εργασία των *Van der Meulen et al.* [151] που εντόπισαν ότι η χορήγηση βιταμίνης E σε ποντίκια μετρίασε την δραστηριότητα της CK που ακολούθησε ασκησιογενή τραυματισμό, αλλά απέτυχε να προλάβει την πραγματική κυτταροσκελετική βλάβη που παρατηρήθηκε ενδομυϊκά. Επειδή είναι δύσκολο να διατυπωθούν αδιαμφισβήτητα συμπεράσματα σχετικά με την αποτελεσματικότητα αυτών των βιταμινών, κρίνεται αναγκαία η περαιτέρω έρευνα στο συγκεκριμένο επιστημονικό πεδίο, προτού να δίδονται συμβουλές χρήσης συγκεκριμένων αντιοξειδωτικών ουσιών προκειμένου να επιτευχθεί μείωση της μυϊκής βλάβης και ταχύτερη αποκατάστασή της.

#### 1.9.3.2 Παράγωγα αμινοξέων

Εκτός των αντιοξειδωτικών, διάφορα παράγωγα αμινοξέων φαίνεται να αποτελούν την επόμενη περισσότερο ευρέως προτεινόμενη και μελετώμενη κατηγορία διατροφικών συμπληρωμάτων σε σχέση με την μυϊκή βλάβη. Ο *Nissen et al.* [152] μελέτησαν αγύμναστους άνδρες στους οποίους δόθηκαν 0 ή 1,5 ή 3

γραμ./ημέρα του μεταβολίτη της λευκίνης β-υδροξυ-β-μεθυλβουτυρικό οξύ (HMB) για 3 εβδομάδες, παράλληλα με πρόγραμμα προπόνησης αντίστασης για ολόκληρο το σώμα. Πιστευόταν ότι η χορήγηση του HMB θα είχε ως αποτέλεσμα την μείωση του πρωτεϊνικού καταβολισμού και κατά συνέπεια θα δρούσε ως ένας ισχυρός παράγοντας μείωσης του βαθμού μυϊκής βλάβης που σχετίζεται με την χρόνια υψηλής έντασης προπόνησης αντίστασης. Ωστόσο, η χορήγηση του συμπληρώματος είχε ως μοναδικό αποτέλεσμα μία μέτρια μείωση των επιπέδων της 3-μεθυλιστιδίνης στα ούρα που αποτελεί γενικό δείκτη του πρωτεϊνικού καταβολισμού και της δραστηριότητας της CK, όταν μετρήθηκαν στο τέλος της 2<sup>ης</sup> και της 3<sup>ης</sup> εβδομάδας του προπονητικού προγράμματος. Επιπλέον, πρέπει να αναφερθεί ότι η συγκεκριμένη έρευνα περιλάμβανε και την χορήγηση ενός πρωτεϊνούχου ροφήματος σε συνδυασμό με την χορήγηση του HMB, γεγονός το οποίο ίσως επηρέασε τα αποτελέσματα (δείγματα κατανάλωναν διάφορες δόσεις πρωτεΐνης μαζί με το HMB). Συνεπώς, είναι δύσκολο να καταλήξει κανείς στο συμπέρασμα ότι το HMB μεμονωμένα αποτελεί ένα αποτελεσματικό διατροφικό συμπλήρωμα ως προς την μείωση της μυϊκής βλάβης. Επιπλέον, αν και οι ανωτέρω εξαρτημένες μεταβλητές μπορεί όντως να έχουν επηρεαστεί από την χορήγηση του συμπληρώματος, η μεταβολή τους αυτή δεν αντανakλά απαραίτητα μία μειωμένη βλάβη, επειδή αυτές οι παράμετροι είναι μόνο έμμεσοι δείκτες που ίσως έχουν μικρή σχέση με την πραγματική κυτταροσκελετική αποδιοργάνωση ή τις αλλαγές της μυϊκής δύναμης και ταυτόχρονα εμφανίζουν υψηλή αναξιοπιστία εμφανίζοντας μεγάλη ποικιλομορφία από δείγμα σε δείγμα.

Ο *Kreider et al.* [153] επίσης μελέτησαν τον ρόλο του HMB στην μείωση του μυϊκού καταβολισμού και της μυϊκής βλάβης, μετά από ασκήσεις αντίστασης. Όπως και στην εργασία του *McBride et al.* [150] οι ερευνητές χρησιμοποίησαν εθελοντές γυμνασμένους με προπονήσεις αντίστασης, των οποίων η «απόκριση» μπορεί να διαφέρει αρκετά σε σχέση με αγύμναστους ανθρώπους λόγω των ασκησιογενών προσαρμογών (προστασία) που παρέχει η συστηματική εκγύμναση. Στην συγκεκριμένη έρευνα, 40 άνδρες με εμπειρία προπόνησης αντίστασης μεγαλύτερη του 1 έτους, κατανάλωναν 0 ή 3 ή 6 γραμ./ημέρα HMB σε ένα ρόφημα του εμπορίου (υποκατάστατο γεύματος) για 28 ημέρες. Οι δραστηριότητες των CK και LDH μετρήθηκαν πριν από και κατά την διάρκεια των 4 εβδομάδων της προπόνησης. Οι εθελοντές έκαναν μόνοι τους τις προπονήσεις για διάφορες ώρες εβδομαδιαίως ( $6,9 \pm 0,7$ ). Τα αποτελέσματα δεν έδειξαν καμία διαφοροποίηση μεταξύ των εθελοντών σε καμία από τις τρεις ομάδες, εύρημα το οποίο υποδηλώνει ότι μολονότι η χορήγηση



HMB μπορεί να έχει μέτρια επίδραση σε αγύμναστα άτομα, όπως φάνηκε στην εργασία του *Nissen et al.* [152], τα γυμνασμένα άτομα δεν φαίνεται να επωφελούνται με τον ίδιο τρόπο. Συνεπώς, αν και ίσως φαίνεται κάπως λογικό να είναι χρήσιμο το συγκεκριμένο θρεπτικό συστατικό κατά τα αρχικά στάδια ενός προπονητικού προγράμματος, οι συστηματικώς εκγυμναζόμενοι πιθανότατα δεν θα επωφελούνται αρκετά από την χρήση του.

#### 1.9.3.3 Κρεατίνη, σκόνες πρωτεϊνών / υδατανανθράκων

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

Σε μία πρόσφατη ερευνητική εργασία, ο *Rawson et al.* [154] μελέτησαν 23 αγύμναστους άνδρες που έλαβαν είτε placebo ή κρεατίνη σε δοσολογία 20 γραμ./ημέρα για 5 ημέρες πριν από ένα πρωτόκολλο μέγιστων πλειομετρικών συστολών των καμπτήρων μυών του αγκώνα. Υποτέθηκε πως η κρεατίνη θα βοηθούσε στην σταθεροποίηση του σαρκειλήμματος και θα οδηγούσε σε μικρότερη διαρροή του ένζυμου CK στο αίμα. Ωστόσο, αν και τα επίπεδα της CK ήταν ελαφρώς μικρότερα στην ομάδα της κρεατίνης, η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Επιπλέον, κανένας από τους υπόλοιπους έμμεσους δείκτες της μυϊκής βλάβης που αξιολογήθηκαν σε αυτήν την εργασία δεν επηρεάστηκε από την χορήγηση του συμπληρώματος. Βασισμένοι σε αυτά τα ευρήματα, η προληπτική λήψη κρεατίνης δεν φαίνεται να επηρεάζει ευνοϊκά την απόκριση του μυός στην μυϊκή βλάβη. Ωστόσο, όπως και με την εργασία από τον *Beaton et al.* [149], οι συγγραφείς υποστήριζαν πως ίσως το πρωτόκολλο της άσκησης ήταν ιδιαίτερα έντονο με αποτέλεσμα οποιαδήποτε δράση σταθεροποίησης των κυτταρικών μεμβρανών από την κρεατίνη να υπερκεράστηκε από τις υπέρμετρες διατακτικές τάσεις που αναπτύχθηκαν στο σαρκειλήμμα κατά την διάρκεια του πλειομετρικού πρωτοκόλλου άσκησης.

Σε μία άλλη πρόσφατη έρευνα από τον *Wojcik et al.* [155], 26 αγύμναστοι άνδρες εκτέλεσαν ένα πρόγραμμα 100 (10 σετ των 10 επαναλήψεων) ισοτονικών συστολών πλειομετρικού τύπου του τετρακέφαλου μυός του ενός κάτω άκρου

(πλειομετρικό φορτίο: 120% της μέγιστης δύναμης του κάθε ατόμου σε μειομετρικού τύπου ισοτονική συστολή), το οποίο ακολουθήθηκε από κατανάλωση υδατανθρακούχου ή πρωτεϊνούχου και υδατανθρακούχου ή placebo ροφήματος αμέσως και 2 ώρες μετά την άσκηση. Θεωρήθηκε ότι η πρόσληψη αμινοξέων μετά την άσκηση θα επιδρούσε ευνοϊκά στην πρωτεϊνική ανακύκλωση, οδηγώντας ταυτόχρονα σε μείωση της απελευθέρωσης 3-μεθυλιστιδίνης και πιθανώς σε μεταβολή κάποιων από τις κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες έχοντας ως αποτέλεσμα μικρότερα επίπεδα βλάβης και επακόλουθων συμπτωμάτων. Ωστόσο, δεν εντοπίστηκαν διαφορές μεταξύ των τριών ομάδων ως προς την 3-μεθυλιστιδίνη, την μυϊκή δύναμη, τον ΚΜΠ ή τη CK, κάτι που δείχνει πως δεν υπάρχει καμία επίδραση της κατανάλωσης των συγκεκριμένων συμπληρωμάτων αμέσως μετά την άσκηση ως προς την μείωση της μυϊκής βλάβης.

#### 1.9.3.4 Άρνικα (30X), ουβικινόνη (συνένζυμο Q) και L-καρνιτίνη

Επιπλέον συμπληρώματα διατροφής που έχουν εξετασθεί, περιλαμβάνουν την ομοιοπαθητική άρνικα (30X), την ουβικινόνη (συνένζυμο Q) και την L-καρνιτίνη. Σε μία εργασία από τον *Tveiten et al.* [156] σε 36 μαραθωνοδρόμους υποστηρίζεται πως η άρνικα παρουσιάζει προστατευτική δράση· ωστόσο η βλάβη δεν προκλήθηκε άμεσα σε αυτήν την εργασία. Ο *Vickers et al.* [157] χορήγησαν την ομοιοπαθητική άρνικα (30X) σε 519 δρομείς που ολοκλήρωσαν αγώνες δρόμου μεγάλης απόστασης. Δεν ανέφεραν κάποια επίδραση στις τιμές του πόνου. Παρόμοια ευρήματα παρουσιάστηκαν προγενέστερα από τους ίδιους ερευνητές χρησιμοποιώντας πρωτόκολλο πρόκλησης ασκησιογενούς βλάβης τύπου «στέπινγκ» (bench stepping) [158]. Ο *Giamberardino et al.* [159] χορήγησαν 3 g L-καρνιτίνης ημερησίως σε 6 αγύμναστα άτομα για 3 εβδομάδες πριν από την πλειομετρική άσκηση. Ανέφεραν, μείωση στον πόνο, στην ευαισθησία και στη CK στην ομάδα θεραπείας σε σύγκριση με την ομάδα του placebo. Οι συγγραφείς υποθέτουν πως οι αγγειοδιασταλτική δράση της L-καρνιτίνης πιθανώς βελτιώνουν την διαδικασία της ανάρρωσης. Ο *Laaksonen et al.* [160] χορήγησαν σε δείγματα 1200 mg ουβικινόνης ημερησίως. Μετά από την άσκηση, ανέφεραν πως δεν παρατηρήθηκε καμία επίδραση στην αντιοξειδωτική ικανότητα. Μεγαλύτερου ενδιαφέροντος είναι η εργασία του *Malm et al.* [161] οι οποίοι στην ουσία αναφέρουν πως η χορήγηση ουβικινόνης για 6 εβδομάδες πριν από την άσκηση προκάλεσε αύξηση της κυτταρικής βλάβης. Η επίδραση λοιπόν της ουβικινόνης στους δείκτες του ΚΜΠ παραμένει ασαφής.

#### 1.9.3.5 Συμπέρασμα

Συνοψίζοντας, τα διαθέσιμα δεδομένα δείχνουν μικρές επιδράσεις επιλεκτικών θρεπτικών συστατικών στον μετριασμό του τραυματισμού που προκαλείται μετά από υψηλής έντασης προπόνηση αντίστασης και στην προώθηση μιας ταχύτερης ανακούφισης από τα συμπτώματα της μυϊκής βλάβης του συγκεκριμένου τύπου. Αν και φαίνεται πως υπάρχει θετική δράση τουλάχιστον των βιταμινών C και E και του HMB, είναι αβέβαιο εάν αυτά τα δεδομένα θα βρίσκουν αξιόπιστη εφαρμογή στο σύνολο του πληθυσμού και ειδικότερα στο σύνολο του πληθυσμού των αθλητών ανθρώπων. Επιπρόσθετα, δεν είναι ξεκάθαρο μέχρι σήμερα, ποια είναι η ιδανικότερη δοσολογία αυτών των θρεπτικών συστατικών, ή ποιος είναι ο ιδανικότερος συνδυασμός τους, προκειμένου να μεγιστοποιηθεί η αποτελεσματικότητά τους. Επιπλέον, επειδή όλες οι δημοσιευμένες ερευνητικές εργασίες, με εξαίρεση αυτή των *Kamisnky & Boal* [145], χρησιμοποιούσαν αποκλειστικά άνδρες εθελοντές, είναι επίσης αβέβαιο εάν αυτά τα ευρήματα βρίσκουν εφαρμογή και στις γυναίκες.

Πρέπει να σημειωθεί επίσης, πως γενικότερα ο αριθμός των έως σήμερα δημοσιευμένων εργασιών που ασχολούνται με τον επίδραση της διατροφής στον ΚΜΠ και γενικότερα στην ασκησιογενή μυϊκή βλάβη είναι σχετικά μικρός, παρά την υπερβολική συζήτηση του ρόλου των διατροφικών συμπληρωμάτων στην μείωση της μυϊκής βλάβης που είναι ευρέως διαθέσιμη σε έντυπα γενικού ενδιαφέροντος. Για το λόγο αυτό πρέπει να δίδεται προσοχή όταν συμβουλεύει κανείς αθλητές ή ερασιτέχνες ασκούμενους που συχνά διαβάζουν ή ακούν αυτές τις συζητήσεις και θεωρούν τις πληροφορίες εφαρμόσιμες. Είναι λοιπόν ξεκάθαρο, πως χρειάζεται περισσότερη έρευνα με μεγαλύτερα μεγέθη δείγματος προτού να συγκεκριμενοποιηθούν διατροφικές συστάσεις, προκειμένου να μειώνεται η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη. Πιο συγκεκριμένα, χρειάζεται να διεξαχθούν μελέτες προκειμένου να αξιολογηθούν όχι μόνο οι οξείες δράσεις της χορήγησης ενός συμπληρώματος διατροφής αλλά επίσης και οι μακροχρόνιες επιδράσεις για άτομα τα οποία ασκούνται σε συστηματική βάση.

**Πίνακας 1.7.** Επιδράσεις χορήγησης συμπληρωμάτων διατροφής σε δείκτες της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης

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

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

#### **1.9.4 Γενικός σχολιασμός προληπτικών και θεραπευτικών προσεγγίσεων**

Πολλές είναι οι θεραπευτικές μέθοδοι που έχουν προταθεί για την ανακούφιση από τον ΚΜΠ. Η αποτελεσματικότητα ή μη αυτών των μεθόδων δεν είναι δεδομένη μιας και αναφέρονται αντικρουόμενα ευρήματα. Φαίνεται πως αντιφλεγμονώδη φάρμακα όπως το ιμπουπροφέν, το ντικλοφενάκ και το κετοπροφέν, έχουν δείξει κάποια αποτελεσματικότητα στην βελτίωση κάποιων, αλλά όχι όλων των συμπτωμάτων του ΚΜΠ. Ωστόσο, η ποικιλία στην δοσολογία και στον τύπο της βλάβης που χρησιμοποιείται ως μοντέλο μελέτης, δυσχεραίνουν την γενίκευση των αποτελεσμάτων. Η θεραπεία χρησιμοποιώντας κλασικές τεχνικές όπως ο πάγος, η μάλαξη και οι διατάσεις είναι επίσης ανακόλουθη. Υπάρχουν όμως κάποιες περισσότερες ενδείξεις για την χρήση του πάγου ως θεραπεία. Άλλες μέθοδοι όπως ο βελονισμός, η χορήγηση βοτάνων και το υπερβαρικό οξυγόνο, φαίνεται πως έχουν περιορισμένη αποτελεσματικότητα. Αν και ορισμένες μέθοδοι όπως η χορήγηση αντιοξειδωτικών εμφανίζονται ελπιδοφόρες, είναι απαραίτητη πολύ περισσότερη έρευνα. Συγκεκριμένα, υπάρχει πολύ χώρος εφαρμογής πιο καλά οργανωμένων και τυχαιοποιημένων εργασιών, προκειμένου να αξιολογηθούν οι επιδράσεις πολλών από τις προαναφερθείσες θεραπευτικές μεθόδους.

## **1.10 Το σελήνιο ως θρεπτικό συστατικό**

### **1.10.1 Γενικές πληροφορίες**

Το σελήνιο είναι ένα αμέταλλο που βρίσκεται στη σειρά του οξυγόνου και εμφανίζεται σε πολλές μορφές οξείδωσης (-2, +4, +6). Μέσα στα βιολογικά συστήματα το στοιχείο αυτό είναι ένα συστατικό των αμινοξέων τα οποία συναποτελούν τις πρωτεΐνες. Η συνολική ποσότητα σεληνίου στο ανθρώπινο σώμα είναι περίπου 15 mg. Το στοιχείο μελετήθηκε για πρώτη φορά περίπου το 1930, αφότου οι επιστήμονες πρόσεξαν ότι οι αγελάδες που κατανάλωναν φυτά που αναπτύσσονταν σε έδαφος υψηλής περιεκτικότητας σε σελήνιο έπασχαν από αλκαλική ασθένεια. Οι μελέτες που συνέδεαν ασθένειες με την έλλειψη σεληνίου στα πρόβατα, τα βοοειδή, και τους χοίρους συνεχίστηκαν έως το 1973 όταν ανακαλύφθηκε η βιοχημική λειτουργία του στοιχείου. Οι ερευνητές ανακάλυψαν ότι το σελήνιο είναι ένα απαραίτητο συστατικό του ενζυμικού συστήματος της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης [162]. Η σημασία του σεληνίου στην ανθρώπινη διατροφή ανακαλύφθηκε το 1979. Κινέζοι επιστήμονες έδειξαν ότι τα παιδιά που ζούσαν σε περιοχές με ελλειπείς ποσότητες σεληνίου, έπασχαν από μια καρδιομυοπάθεια, γνωστή ως ασθένεια Keshan. Τα συμπτώματα της ασθένειας διορθώθηκαν όταν προστέθηκε το σελήνιο στη διατροφή. Αυτές οι ανακαλύψεις οδήγησαν σε εκτεταμένη έρευνα σχετικά με περαιτέρω άγνωστους ρόλους του σεληνίου μέσα στον ανθρώπινο οργανισμό. Η ογκώδης εισροή ερευνητικών δεδομένων για το σελήνιο συνέβαλε στην καθιέρωση των διαιτητικών συστάσεων από την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (ΠΟΥ). Η συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη (RDA) για το σελήνιο διαμορφώθηκε για πρώτη φορά από την ΠΟΥ το 1989 [162].

### **1.10.2 Πηγές**

Η περιεκτικότητα του εδάφους σε σελήνιο ποικίλει σε πολύ μεγάλο βαθμό – ίσως περισσότερο από κάθε άλλο απαραίτητο ιχνοστοιχείο για τον οργανισμό – μεταξύ των διαφόρων γεωγραφικών περιοχών. Οι φυτικοί οργανισμοί αντλούν το σελήνιο από το χώμα και επομένως ποικίλλουν ως προς το περιεχόμενο, ανάλογα με την περιοχή που αναπτύσσονται [163]. Μερικά φρούτα και λαχανικά εμφανίζονται να μην εξαρτάται η ανάπτυξή τους από το σελήνιο και γενικά να έχουν χαμηλή περιεκτικότητα στο συγκεκριμένο στοιχείο ανεξάρτητα από το περιεχόμενο του εδάφους. Λόγω της μεγάλης διακύμανσης της περιεκτικότητας σε σελήνιο του

εδάφους και των φυτών, είναι δύσκολο να διαμορφωθούν πίνακες που να παρέχουν την περιεκτικότητα τροφίμων σε σελήνιο. Ωστόσο, μερικά τρόφιμα είναι γνωστό ότι είναι γενικά πλούσια σε σελήνιο. Γενικά, τα προϊόντα ζωικής προέλευσης (ιδίως τα σπλάχνα) είναι πλουσιότερα από τις τροφές φυτικής προέλευσης (Πίνακας 1.8) [162, 163]. Τα θαλασσινά επίσης, θεωρούνται μια από τις καλύτερες πηγές σεληνίου, αν και η βιοδιαθεσιμότητα του σεληνίου από ψάρια που περιέχουν υδράργυρο είναι χαμηλή λόγω της δημιουργίας μη απορροφήσιμων συμπλόκων υδραργύρου – σεληνίου [164, 165]. Ωστόσο, η βιοδιαθεσιμότητα του σεληνίου από ψάρια χαμηλής περιεκτικότητας σε υδράργυρο μπορεί επίσης να είναι χαμηλή [164, 165]. Οι ζωικές πηγές σεληνίου εμφανίζονται πλουσιότερες επίσης, εξαιτίας της δράσης ισχυρότερων ομοιοστατικών μηχανισμών ελέγχου των επιπέδων του στοιχείου κάτω από ευρεία γκάμα συνθηκών.

**Πίνακας 1.8.** Μέση περιεκτικότητα σεληνίου σε διάφορα τρόφιμα ευρωπαϊκής προέλευσης [166]

| Τρόφιμο             | Μέση περιεκτικότητα Se<br>( $\mu\text{g}/100\text{g}$ ) |
|---------------------|---------------------------------------------------------|
| Γάλα                | 1,5                                                     |
| Μοσχαρίσιο κρέας    | 7,6                                                     |
| Χοιρινό κρέας       | 14,0                                                    |
| Αρνίσιο κρέας       | 3,8                                                     |
| Συκώτι              | 42,0                                                    |
| Νεφρός              | 145,0                                                   |
| Ψάρι                | 16,0                                                    |
| Φρούτα              | 1,0                                                     |
| Λαχανικά            | 2,0                                                     |
| Δημητριακά          | 11,0                                                    |
| Ψωμί                | 4,5                                                     |
| Βραζιλιάνικο καρύδι | 254,0                                                   |

### 1.10.3 Πέψη, απορρόφηση και μεταφορά

Η εντερική απορρόφηση του σεληνίου εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την διατροφική του μορφή. Στα τρόφιμα, στη φυσική τους μορφή, περιέχεται σχεδόν αποκλειστικά με την μορφή οργανικών ενώσεων, κυρίως σεληνιομεθειονίνης, σεληνιοκυστίνης, σεληνιοκυστεΐνης και Se – μέθυλο – σεληνιομεθειονίνης. Αυτές οι μορφές πιστεύεται πως αποτελούν «ανάλογα σεληνίου» των αμινοξέων που περιέχουν θείο, στα οποία η αντικατάσταση του στοιχείου είναι πιθανή λόγω της χημικής ομοιότητας μεταξύ του σεληνίου και του θείου. Αυτά τα «ανάλογα σεληνίου» ενσωματώνονται σε φυτικές πρωτεΐνες.

Στις χώρες όπου τα επίπεδα σεληνίου στα τρόφιμα στην φυσική τους μορφή είναι χαμηλά, συνήθως γίνεται προσθήκη άλατος σεληνίτη-νατρίου ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) στις ζωοτροφές. Συνεπώς, αυτή η χημική ένωση αποτελεί άλλη μία διατροφική μορφή σεληνίου μαζί με τις οργανικές δομές που περιέχουν σελήνιο. Κάτι που ενισχύει την σημαντικότητα του σεληνίτη στην διατροφή, είναι το γεγονός ότι το σελήνιο που προσλαμβάνεται σε οργανική μορφή, απελευθερώνεται ως σεληνίτης κατά τις μεταβολικές διαδικασίες που ακολουθούν την φάση της εντερικής απορρόφησης.

Μολονότι ο βαθμός απορρόφησης διαφέρει, τόσο οι οργανικές μορφές του σεληνίου όσο και ο σεληνίτης απορροφώνται αποτελεσματικά από τον γαστρεντερικό σωλήνα, κυρίως σε περιοχές του δωδεκαδακτύλου. Λιγότερη απορρόφηση λαμβάνει χώρα στην νήστιδα και στον ειλεό, και καθόλου στον στόμαχο. Το σελήνιο στην μορφή της σεληνιομεθειονίνης απορροφάται πιο αποτελεσματικά σε σχέση με τον σεληνίτη [167]. Γενικά η απορρόφηση αμινοξέων που περιέχουν σελήνιο κυμαίνεται μεταξύ 50 και 80%, ενώ ο βαθμός απορρόφησης υπό την μορφή του σεληνίτη υπολογίζεται να κυμαίνεται μεταξύ 44 και 70%.

Στους παράγοντες που επάγουν την εντερική απορρόφηση του σεληνίου περιλαμβάνονται οι βιταμίνες C, A και E καθώς επίσης και η παρουσία ανηγμένης γλουταθειόνης στον εντερικό αυλό [168]. Βαρέα μέταλλα, όπως ο υδράργυρος [165, 169], και φυτικά οξέα, θεωρείται πως εμποδίζουν την απορρόφηση του σεληνίου διαμέσου παραγωγής χηλικών αλάτων (chelation) και ιζηματοποίησης [163].

Αφότου απορροφηθεί το σελήνιο ενσωματώνεται σε μία ευρεία ποικιλία πρωτεϊνών που μπορούν να αναλάβουν και αποθηκευτικό και μεταφορικό ρόλο. Η σύνθεση αυτών των πρωτεϊνών φαίνεται πως επάγεται από το σελήνιο. Οι επαναλαμβανόμενες αυξομειώσεις των συγκεντρώσεων των διαφόρων σεληνιοπρωτεϊνών υποδηλώνει πως οι πρωτεΐνες αυτές πιθανώς είναι σημαντικές στην εισροή του σεληνίου στους ιστούς [170].

Ο μηχανισμός με τον οποίο το σελήνιο απελευθερώνεται από τις πρωτεΐνες-μεταφορείς του πλάσματος δεν είναι επαρκώς γνωστός. Πρέπει να αναφερθεί πως οι νεφροί, το ήπαρ, η καρδιά το πάγκρεας και ο μυϊκός ιστός εμφανίζουν σχετικά υψηλότερες συγκεντρώσεις σεληνίου [168]. Οι πνεύμονες, ο εγκέφαλος, τα οστά και τα ερυθρά αιμοσφαίρια επίσης περιέχουν σελήνιο. Η πρόσληψη του σεληνίου από τα ερυθρά αιμοσφαίρια πιστεύεται πως γίνεται μέσω διάχυσης [168].

Τα οργανικά σεληνιο-αμινοξέα που δεν ενσωματώνονται σε κάποια πρωτεΐνη, καταβολίζονται από μία λύαση προκειμένου να απελευθερωθεί το σελήνιο και να



χρησιμοποιηθεί εν συνεχεία από ένζυμα. Η λύση της σεληνιοκυστεΐνης, παραδείγματος χάριν, υδρολύει την σεληνιοκυστεΐνη προς αλανίνη και  $H_2Se$ .

#### **1.10.4 Φυσιολογικός ρόλος**

Το σελήνιο είναι ένα απαραίτητο ιχνοστοιχείο για τον ανθρώπινο οργανισμό μεγάλης φυσιολογικής σημασίας. Η βιολογικά ενεργή του μορφή είναι η σεληνοκυστεΐνη η οποία ενσωματώνεται στις σεληνοπρωτεΐνες [171]. Κατά συνέπεια το συγκεκριμένο ιχνοστοιχείο είναι ικανό να εκφράζει πολλαπλές δράσεις τροποποιώντας την έκφραση τουλάχιστον 30 σεληνοπρωτεϊνών, πολλών εκ των οποίων οι δράσεις είναι γνωστές (Πίνακας 1.9). Καλά χαρακτηρισμένα σεληνοένζυμα είναι οι οικογένειες των υπεροξειδασών της γλουταθειόνης (GPxs), των αναγωγασών της θυρεοειδοξίνης (TRs) και των δειωδινασών της ιωδοθυρονίνης (Ds). Αυτά τα σεληνοένζυμα είναι ικανά να ρυθμίζουν την κυτταρική λειτουργία δρώντας ως αντιοξειδωτικά, επηρεάζοντας την οξειδοαναγωγική κατάσταση και επιδρώντας στον μεταβολισμό των θυρεοειδικών ορμονών. Το σελήνιο επίσης συμμετέχει στην κυτταρική ανάπτυξη, στην απόπτωση καθώς και στην τροποποίηση της δράσης συστημάτων κυτταρικής σηματοδότησης και παραγόντων μεταγραφής [172]. Συνεπώς, διαμέσου των συγκεκριμένων δράσεων το σελήνιο κρίνεται απαραίτητο μεταξύ άλλων για την βέλτιστη λειτουργία του ενδοκρινικού και του ανοσοποιητικού συστήματος καθώς και για την μετρίαση της φλεγμονώδους απάντησης [172].

**Πίνακας 1.9.** Σεληνοπρωτεΐνες θηλαστικών και οι δράσεις τους [172]

| Σεληνοπρωτεΐνη                                | Προτεινόμενες δράσεις                                                                                                                                                |
|-----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης (GPxs)</b> |                                                                                                                                                                      |
| GPX1                                          | Αντιοξειδωτικό στο κυτταρόπλασμα, Αποθήκευση σεληνίου;                                                                                                               |
| GPX2                                          | Αντιοξειδωτικό στον γαστρεντερικό σωλήνα                                                                                                                             |
| GPX3                                          | Αντιοξειδωτικό στον εξωκυτταρικό χώρο και στο πλάσμα                                                                                                                 |
| GPX4                                          | Μεμβρανικό αντιοξειδωτικό, δομική πρωτεΐνη του σπέρματος, απόπτωση ;                                                                                                 |
| GPX5                                          | Άγνωστη                                                                                                                                                              |
| GPX6                                          | Ομόλογη της GPx1;                                                                                                                                                    |
| <b>Αναγωγάσες της θειορεδοξίνης (TRs)</b>     | Πολλαπλοί ρόλοι: αποτοξικοποίηση υπεροξειδίων, αναγωγή της θειορεδοξίνης (έλεγχος κυτταρικής ανάπτυξης), διατήρηση οξειδοαναγωγικής κατάστασης παραγόντων μεταγραφής |
| TR1                                           | Κυρίως στο κυτταρόπλασμα (παντού)                                                                                                                                    |
| TR2                                           | Εκφράζεται στους όρχεις                                                                                                                                              |
| TR3                                           | Στα μιτοχόνδρια (παντού)                                                                                                                                             |
| <b>Δείωδινάσες της ιωδοθυρονίνης (Ds)</b>     |                                                                                                                                                                      |
| D1 και D2                                     | Μετατροπή της θυροξίνης (T4) στην βιοενεργή 3,5,3'-τριωδοθυρονίνη (T3)                                                                                               |
| D1 και D3                                     | Μετατροπή της θυροξίνης (T4) στην βιοανεργή 3',3',5'-reverse T3                                                                                                      |
| <b>Σεληνοπρωτεΐνη P</b>                       | Πρωτεΐνη μεταφοράς σεληνίου, Αντιοξειδωτικό στο ενδοθήλιο                                                                                                            |
| <b>Σεληνοπρωτεΐνη W</b>                       | Αντιοξειδωτικό στον καρδιακό μυ και στους σκελετικούς μυς;                                                                                                           |
| <b>Σεληνοφωσφορική συνθετάση (SPS2)</b>       | Σύνθεση φωσφορικού σεληνίου για σύνθεση σεληνοπρωτεϊνών                                                                                                              |
| <b>15 kDa Σεληνοπρωτεΐνη (Sep 15)</b>         | Προστασία από καρκίνο;                                                                                                                                               |
| <b>H, I, K, M, N, O, R, S, T, V</b>           | Άγνωστες                                                                                                                                                             |

### 1.10.5 Απέκκριση

Οι κύριες οδοί απέκκρισης του σεληνίου είναι διαμέσου των ούρων (50-67% της συνολικής ποσότητας που απεκκρίνεται) και διαμέσου των κοπράνων (40-50%). Στο σημείο αυτό πρέπει να τονιστεί πως αρκετές ερευνητικές εργασίες σε ανθρώπους, έχουν αποδείξει ότι οι νεφροί διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ομοιοστάση του σεληνίου [173]. Σε υπέρμετρη πρόσληψη σεληνίου, απομάκρυνση σεληνίου μπορεί να πραγματοποιηθεί διαμέσου του δέρματος και των πνευμόνων. Η απομάκρυνση σεληνίου διαμέσου της αναπνευστικής οδού λαμβάνει χώρα με εκπνοή μιας πτητικής ουσίας σεληνίου (με οσμή σκόρδου) που ονομάζεται διμεθυλσεληνίο (dimethylselenide),  $[(CH_3)_2Se]$ .

### 1.10.6 Προτεινόμενες Διατροφικές Συντάσεις

Με τον όρο RDA (Recommended Dietary Allowance) αναφέρεται η προτεινόμενη μέση ημερήσια διατροφική πρόσληψη η οποία κρίνεται επαρκής προκειμένου να καλύπτονται οι απαιτήσεις για το συγκεκριμένο θρεπτικό συστατικό της συντριπτικής πλειοψηφίας των ανθρώπων (περίπου 97 – 98%), για κάθε ηλικιακή ομάδα και κάθε φύλο (Πίνακας 1.10).

**Πίνακας 1.10.** RDA για το σελήνιο για παιδιά και ενήλικες [174]

| Ηλικία<br>(έτη) | Άρρεν και Θήλυ<br>(μg/ημ.) | Εγκυμοσύνη<br>(μg/ημ.) | Θηλασμός<br>(μg/ημ.) |
|-----------------|----------------------------|------------------------|----------------------|
| 1-3             | 20                         | -                      | -                    |
| 4-8             | 30                         | -                      | -                    |
| 9-13            | 40                         | -                      | -                    |
| 14-18           | 55                         | 60                     | 70                   |
| 19 +            | 55                         | 60                     | 70                   |

Λόγω της έλλειψης επαρκών δεδομένων, δεν έχουν καθοριστεί τιμές RDA για τα βρέφη. Ωστόσο έχει καθοριστεί μία προτεινόμενη ποσότητα που θεωρείται επαρκής και βασίζεται στην περιεκτικότητα του μητρικού γάλακτος σε σελήνιο το οποίο το καταναλώναν υγιή βρέφη (Πίνακας 1.11).

**Πίνακας 1.11.** Επαρκής πρόσληψη σεληνίου για βρέφη [174]

| Ηλικία<br>(μήνες) | Άρρεν και Θήλυ<br>(μg/ημ.) |
|-------------------|----------------------------|
| 0-6               | 15                         |
| 7-12              | 20                         |

### 1.10.7 Αξιολόγηση κατάστασης του σεληνίου στον οργανισμό

Τα επίπεδα του σεληνίου στον ορό του αίματος είναι ο δείκτης που χρησιμοποιείται συνηθέστερα για την αξιολόγηση της κατάστασης του σεληνίου στον οργανισμό [175]. Οι προσλαμβανόμενες ποσότητες σεληνίου, τα επίπεδα του σεληνίου στον ορό και οι αντίστοιχες δραστητικότητες της GPx1 συσχετίζονται θετικά έως ένα «κατώφλι» συγκέντρωσης σεληνίου στον ορό της τάξης περίπου των 95 μg/L (1,2 μmol/L), πάνω από το οποίο η δραστητικότητα της GPx1 παρουσιάζει πλατώ [176]. Αυτή η μέγιστη συγκέντρωση της GPx1 θεωρείται ότι υποδηλώνει κορεσμό, ενώ ανάλογες διατροφικές προσλήψεις σεληνίου θέτουν την βάση των προτεινόμενων διατροφικών απαιτήσεων [174, 177]. Κατά συνέπεια, τα επίπεδα ορού του σεληνίου

μπορούν να παρέχουν χρήσιμες έμμεσες πληροφορίες σχετικά με την διατροφική αξιολόγηση του σεληνίου. Βέβαια, πρέπει να σημειωθεί ότι υπάρχουν σημαντικές γεωγραφικές διακυμάνσεις ως προς το περιεχόμενο σεληνίου στο έδαφος και στα τρόφιμα, και κατ' επέκταση στις διατροφικές προσλήψεις σεληνίου καθώς και στις συγκεντρώσεις του σεληνίου στο αίμα και στους ιστούς του ανθρώπου [178, 179]. Είναι λοιπόν απαραίτητη η χρήση «τοπικών» δεδομένων για την αξιολόγηση και την ερμηνεία της κατάστασης του σεληνίου στον οργανισμό [179].

Ανάμεσα στις συχνότερα εφαρμοζόμενες τεχνικές μέτρησης των επιπέδων του σεληνίου στον ορό του αίματος βρίσκεται η φθορισμομετρία, η φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης [180] και η φασματογραφία μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος ICP-MS (inductively coupled plasma-mass spectrometry) [181]. Εκτός από τον ορό και το πλάσμα του αίματος, αξιολόγηση των επιπέδων του σεληνίου στα ερυθροκύτταρα, σε τρίχες, νύχια, και ούρα παρέχουν επίσης χρήσιμες συμπληρωματικές πληροφορίες σχετικές με την κατάσταση του σεληνίου στον οργανισμό [175].

Μέθοδο έμμεσης αξιολόγησης της κατάστασης του σεληνίου στον οργανισμό αποτελεί η ανάλυση της διατροφικής πρόσληψης είτε μέσω ερωτηματολογίων ανάκλησης 24ώρου είτε μέσω ερωτηματολογίων τύπου συχνότητας (FFQ). Ωστόσο, η προσέγγιση αυτή δεν κρίνεται αρκετά αποτελεσματική, συγκεκριμένα για το σελήνιο, λόγω της μεγάλης ποικιλομορφίας που παρατηρείται στη σύσταση των τροφίμων από περιοχή σε περιοχή [163]. Κατά συνέπεια χρειάζεται πολύ προσεκτική ανάλυση των αποτελεσμάτων που προκύπτουν, προτού εξάγει κανείς τελικά συμπεράσματα.

#### **1.10.8 Έλλειψη**

Η έλλειψη σεληνίου έχει συνδεθεί με ορισμένες ασθένειες οικόσιτων ζώων καθώς επίσης και με γεωγραφικά εστιασμένες ανθρωπονόσους, όπως είναι η ασθένεια Keshan και η ασθένεια Kashin-Beck's στην Κίνα. Η ασθένεια Keshan χαρακτηρίζεται από καρδιομυοπάθεια που περιλαμβάνει καρδιογενές σοκ ή/και συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια μαζί με πολυεστιακή νέκρωση του καρδιακού ιστού ο οποίος αντικαθίσταται από ινώδη ιστό [182]. Η ασθένεια Kashin-Beck's χαρακτηρίζεται από οστεοαρθροπάθεια η οποία περιλαμβάνει εκφύλιση και νέκρωση των αρθρικών και επιφυσικών χόνδρων στα άνω και κάτω άκρα [182]. Διάφοροι είναι οι παράγοντες, στους οποίους συμπεριλαμβάνεται η έλλειψη σεληνίου, για τους οποίους πιστεύεται ότι συμβάλλουν στην ανάπτυξη της ασθένειας Kashin-Beck's.

Έλλειψη σεληνίου έχει παρατηρηθεί και σε ανθρώπους οι οποίοι λάμβαναν ολική παρεντερική διατροφή (TPN) [183-185]. Κυρίαρχα συμπτώματα της έλλειψης είναι ο μυϊκός πόνος και η μυϊκή αδυναμία, η απώλεια του χρώματος των μαλλιών και του δέρματος καθώς επίσης και η λεύκανση της βάσης των νυχιών.

Ορισμένες ερευνητικές εργασίες αναφέρουν πιθανή σχέση ανάμεσα στην έλλειψη σεληνίου και στην καρδιαγγειακή ασθένεια και στον καρκίνο, κάτι όμως το οποίο δεν έχει τεκμηριωθεί πλήρως [186, 187].

#### 1.10.9 Τοξικότητα

Υψηλά επίπεδα σεληνίου στο αίμα μπορούν να προκαλέσουν μία κατάσταση που αποκαλείται σελήνωση [188]. Συμπτώματα της σελήνωσης είναι γαστρεντερικές διαταραχές, απώλεια μαλλιών, νύχια με λευκά στίγματα, εκπνοή με οσμή σκόρδου, κούραση, ευερεθιστότητα, και ήπια νευρική βλάβη [189]. Προκειμένου να προληφθεί ο κίνδυνος σελήνωσης έχουν καθορισθεί όρια υψηλότερων ανεκτών προσλαμβανομένων ποσοτήτων σεληνίου για τον πληθυσμό [174] (Πίνακας 1.12).

**Πίνακας 1.12.** *Ανώτερη ανεκτή προσλαμβανόμενη ποσότητα σεληνίου για βρέφη, παιδιά και ενήλικες*

| Ηλικία     | Άρρεν και Θήλυ<br>(μg/ημ.) |
|------------|----------------------------|
| 0-6 μήνες  | 45                         |
| 7-12 μήνες | 60                         |
| 1-3 έτη    | 90                         |
| 4-8 έτη    | 150                        |
| 9-13 έτη   | 280                        |
| 14-18 έτη  | 400                        |
| 19 έτη +   | 400                        |

## 1.11 Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων

### 1.11.1 Εισαγωγή – Ιστορική αναδρομή

Ο Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων (Platelet-Activating Factor, PAF) είναι το πρώτο βιολογικά δραστικό φωσφολιποειδές το οποίο βρέθηκε στην φύση και παραμένει μέχρι σήμερα ένας από τους πιο δραστικούς, φυσικά παραγόμενους, χημικούς μεσολαβητές. Συντίθεται και εκκρίνεται από πλήθος κυττάρων, τόσο σε βασικά επίπεδα, όσο και σε απόκριση διαφόρων ερεθισμάτων, και συμμετέχει σε ένα μεγάλο αριθμό παθοφυσιολογικών καταστάσεων του οργανισμού.

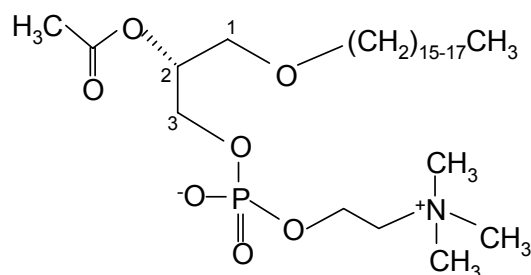
Οι πρώτες ενδείξεις για την ύπαρξη του PAF εμφανίστηκαν το 1966 με την ανακάλυψη μηχανισμού ενεργοποίησης των λευκοκυττάρων κουνελιού από αντιγόνα, ο οποίος ήταν ανεξάρτητος από το συμπλήρωμα και προκαλούσε έκκριση ισταμίνης από τα αιμοπετάλια [190]. Τέσσερα χρόνια αργότερα, βρέθηκε ότι ο μηχανισμός αυτός οφειλόταν σε διαλυτό παράγοντα, ο οποίος εκκρινόταν από τα λευκοκύτταρα, ευαισθητοποιημένων με IgE, κουνελιών και ο οποίος προκαλούσε συσσώρευση αιμοπεταλίων και έκκριση αγγειοδραστικών ουσιών από αυτά [191]. Εξαιτίας αυτών των δράσεων, στον παράγοντα δόθηκε το όνομα Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων [192]. Το 1977 αποδείχτηκε η φωσφολιποειδική φύση του μορίου [193] και τελικά το 1979 οι *Demopoulos, Hanahan* και *Pinckard* ανακοίνωσαν την ημισυνθετική παρασκευή της 1-O-αλκυλο-2-ακετυλο-sn-γλυκερο-3-φωσφοχολίνης [194], η οποία είχε την ίδια βιολογική, χημική, και χρωματογραφική συμπεριφορά με αυτή του φυσικά απομονωμένου PAF [195]. Αμέσως μετά, η ομάδα του *Benveniste* ανακοίνωσε μια διαφορετική ημισυνθετική πορεία παρασκευής του PAF [196] ενώ εννέα μήνες αργότερα διευκρινίστηκε και η δομή του φυσικά απαντώμενου PAF, από βασεόφιλα κουνελιού, η οποία ήταν η ίδια με αυτή του συνθετικού PAF [197]. Την ίδια χρονική περίοδο ο *Blank et al.* ανακοίνωσαν την ημισυνθετική παρασκευή του αντιυπερτασικού πολικού λιποειδούς του νεφρού (antihypertensive polar renomedullary lipid, APRL) το οποίο είχε απομονωθεί από μυελό νεφρού κουνελιού, είχε σημαντικές αντιυπερτασικές ιδιότητες και εμφάνιζε τα ίδια δομικά χαρακτηριστικά με τον PAF [198]. Τελικά αποδείχτηκε ότι το APRL και ο PAF αντιστοιχούσαν στο ίδιο μόριο. Η παρουσία του PAF είχε ανιχνευθεί και σε εκχυλίσματα εγκεφάλου βοδιού, από τα οποία απομονώθηκε, το 1976, αγγειοδιασταλτικός παράγοντας που ονομάστηκε depressor-I, ο οποίος είχε χρωματογραφική συμπεριφορά παρόμοια με την λυσο-φωσφατιδυλοχολίνη [199].

Αργότερα, αποδείχτηκε ότι παράγοντας αυτό ήταν ένα μίγμα μοριακών ειδών και αναλόγων του PAF [200-203].

Η ανακάλυψη της δομής του PAF έδωσε σημαντική ώθηση στην έρευνά του με αποτέλεσμα μέχρι σήμερα να έχουν δημοσιευτεί πάνω από 12000 άρθρα που αναφέρονται στην μελέτη του μεταβολισμού του, των μηχανισμών δράσης του και των παθοφυσιολογικών ρόλων που αυτός παίζει στους διάφορους οργανισμούς και κυρίως στον άνθρωπο [204].

### 1.11.2 Χημική δομή του PAF

Ο PAF είναι ένα γλυκεριναιθερικό φωσφολιποειδές. Στην πρώτη θέση του γλυκερινικού σκελετού συνδέεται, με αιθερικό δεσμό, μια λιπαρή αλυσίδα που περιλαμβάνει συνήθως 16 ή 18 άτομα άνθρακα και είναι κορεσμένη ή ακόρεστη με έναν ή δύο διπλούς δεσμούς, στη δεύτερη θέση βρίσκεται εστεροποιημένο ένα οξικό οξύ και στην τρίτη θέση υπάρχει μια ομάδα φωσφοχολίνης (Σχήμα 1.3). Η παραπάνω δομή αντιπροσωπεύει την πιο δραστική μορφή του PAF όχι όμως και τη μοναδική, αφού στη φύση έχει βρεθεί μια μεγάλη ποικιλία μοριακών ειδών και αναλόγων του PAF με παρόμοιες βιολογικές δράσεις.



**Σχήμα 1.3.** Χημική δομή του PAF.

### 1.11.3 Κυτταρικές πηγές PAF

Ο PAF παράγεται και εκκρίνεται από ένα πλήθος κυττάρων, τόσο σε φυσιολογικές καταστάσεις όσο και ύστερα από ενεργοποίηση των κυττάρων με διάφορα ερεθίσματα. Η σύνθεση του PAF διαπιστώθηκε αρχικά σε κύτταρα θηλαστικών που συμμετέχουν σε φλεγμονώδεις και αλλεργικές διεργασίες, όπως ουδετερόφιλα, βασεόφιλα, μονοκύτταρα/μακροφάγα, ηωσινόφιλα, μαστοκύτταρα,

αιμοπετάλια και ενδοθηλιακά κύτταρα. Στην συνέχεια βρέθηκε ότι τα κύτταρα των περισσότερων ιστών έχουν την ικανότητα να συνθέτουν PAF σε φυσιολογικές καταστάσεις αλλά και μετά από διέγερση. Φυσική συνέπεια της δυνατότητας των κυττάρων να εκκρίνουν τον PAF που συνθέτουν ήταν η αντίχνευσή του σε πολλά βιολογικά υγρά όπως στο πλάσμα [205], ούρα [206], σάλιο [207], γαστρικά υγρά [208] και αμνιακό υγρό [209]. Τα τελευταία χρόνια η ύπαρξη του PAF έχει βρεθεί και σε φυτικά κύτταρα, σε κατώτερους ζωικούς οργανισμούς και σε μονοκύτταρους ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Επίσης, έχει πιστοποιηθεί η ικανότητα πολλών προκαρυωτικών οργανισμών να συνθέτουν PAF μετά από χορήγηση της πρόδρομης ένωσης του PAF του λυσο-PAF (Πίνακας 1.13). Η ευρεία παρουσία του PAF σε οργανισμούς όλης της εξελικτικής βαθμίδας υποδηλώνει τον ευρύτερο ρόλο του ως αρχέγονου βιολογικού ρυθμιστή [210].

#### **1.11.4 Δράσεις PAF**

Ο παραγόμενος από τα κύτταρα PAF μπορεί να ακολουθήσει τις παρακάτω πορείες:

- Να εκκριθεί από τα κύτταρα και να δράσει, είτε αυτοκρινώς πάνω στα κύτταρα από τα οποία παράχθηκε, είτε παρακρινικά ενεργοποιώντας γειτονικά κύτταρα του ίδιου ή διαφορετικού είδους.
- Να ενσωματωθεί στην πλασματική μεμβράνη του κυττάρου από το οποίο συντέθηκε και να δράσει από εκεί ως διακυτταρικός μεσολαβητής ενεργοποιώντας γειτονικά κύτταρα. Αυτός ο τρόπος δράσης του PAF είναι ιδιαίτερα σημαντικός κατά την ενεργοποίηση και προσκόλληση των ουδετερόφιλων στα ενδοθηλιακά κύτταρα σε καταστάσεις φλεγμονής.
- Να παραμείνει στα κύτταρα και να δράσει ως ενδοκυτταρικός μεσολαβητής [210, 211].

Ο PAF ασκεί τις δράσεις του μέσω υποδοχέων που έχουν απομονωθεί, χαρακτηριστεί και κλωνοποιηθεί. Η σύνδεση του PAF με τους υποδοχείς του ενεργοποιεί πολλές ενδοκυτταρικές πορείες μεταγωγής σήματος που οδηγούν στην τελική απόκριση του κυττάρου. Οι δράσεις του PAF έχουν μελετηθεί, τόσο *in vitro* σε καλλιέργειες κυττάρων και απομονωμένους ιστούς (Πίνακας 1.14), όσο και *in vivo* μετά από χορήγηση του PAF σε πειραματόζωα αλλά και στον άνθρωπο (Πίνακας 1.15).



Πίνακας 1.13. Κύτταρα που παράγουν PAF.

| Κύτταρο                                                                                           | Είδος                                                            | Παραπομπή  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Βακτήρια</b>                                                                                   |                                                                  |            |
|                                                                                                   | Escherichia coli                                                 | [212]      |
|                                                                                                   | Helicobacter pylori                                              | [213]      |
|                                                                                                   | Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis, Proteus mirabilis | [214]      |
| <b>Πρωτόζωα</b>                                                                                   |                                                                  |            |
|                                                                                                   | Tetrahymena pyriformis                                           | [215]      |
|                                                                                                   | Dictyostelium discoideum                                         | [216]      |
| <b>Φυτικά κύτταρα</b>                                                                             |                                                                  |            |
|                                                                                                   | Φράουλα                                                          | [217]      |
|                                                                                                   | Τσουκνίδα                                                        | [218]      |
| <b>Ζυμομύκητες</b>                                                                                | Saccharomyces cerevisiae                                         | [219]      |
| <b>Κύτταρα ασπόνδυλων οργανισμών</b>                                                              |                                                                  |            |
|                                                                                                   | Incilaria bilineata (σαλιγκάρι)                                  | [220]      |
|                                                                                                   | Eisenia foetida (σκουλήκι)                                       | [221]      |
| <b>Κύτταρα κατώτερων σπονδυλωτών</b>                                                              | Salmo gairdneri (σολομός)                                        | [222]      |
| <b>Κύτταρα θηλαστικών</b>                                                                         |                                                                  |            |
| Έμμορφα συστατικά του αίματος (αιμοπετάλια, μονοκύτταρα/μακροφάγα, ηωσινόφιλα, λεμφοκύτταρα κ.α.) | Ανθρώπου, επίμυος, κουνελιού, ινδικού χοιριδίου κ.α.             | [223-226]  |
| Ενδοθηλιακά κύτταρα                                                                               | Ανθρώπου, ποντικού, κουνελιού κ.α.                               | [227]      |
| Νευρώνες, εγκεφαλικά κύτταρα                                                                      | Ανθρώπου, επίμυος, κουνελιού                                     | [228]      |
| Μυοκύτταρα καρδιάς                                                                                | Επίμυος                                                          | [229]      |
| Ηπατικά κύτταρα Kupffer                                                                           | Επίμυος                                                          | [230]      |
| Σπερματοζωάρια                                                                                    | Ανθρώπου, κουνελιού, βοδιού                                      | [231, 232] |
| Εμβρυϊκά κύτταρα                                                                                  | Ανθρώπου, ποντικού, κουνελιού                                    | [231, 232] |
| HaCaT κυτταρική σειρά κερατινοκυττάρων                                                            | Ανθρώπου                                                         | [233]      |
| Νεφρικά κύτταρα                                                                                   | Ανθρώπου, επίμυος κ.α.                                           | [234]      |

**Πίνακας 1.14.** Δράσεις του PAF σε κύτταρα και απομονωμένους ιστούς

| <b>Είδος<br/>κυττάρου/ιστού</b>   | <b>Δράσεις</b>                                                                                                                                                                                                         |
|-----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Αιμοπετάλια</b>                | Αποκοκκίωση, αλλαγή σχήματος, συσσώρευση, έκκριση εικοσανοειδών [226, 235]                                                                                                                                             |
| <b>Ουδετερόφιλα</b>               | Αποκοκκίωση, συσσώρευση, χημειοταξία, παραγωγή υπεροξειδίων, αύξηση προσκολλητικής ικανότητας, έκκριση εικοσανοειδών [235, 236]                                                                                        |
| <b>Μονοκύτταρα/<br/>Μακροφάγα</b> | Συσσώρευση, σύνθεση εικοσανοειδών, παραγωγή υπεροξειδίων, παραγωγή IL-1, έκκριση λυσοσωμιακών ενζύμων [235, 236]                                                                                                       |
| <b>Ηωσινόφιλα</b>                 | Χημειοταξία, έκκριση κατιοντικών πρωτεϊνών, αύξηση κυτταροτοξικότητας, σύνθεση LTC <sub>4</sub> , παραγωγή υπεροξειδίων, μετανάστευση διαμέσου των επιθηλιακών κυττάρων, σύνθεση IL-8, πολυμερισμός ακτίνης [235, 236] |
| <b>Λεμφοκύτταρα</b>               | Βλαστική τροποποίηση, καταστολή παραγωγής IL-2 [235]                                                                                                                                                                   |
| <b>Ενδοθηλιακά</b>                | Ανακατανομή κυτταροσκελετού και αλλαγή σχήματος, σύνθεση εικοσανοειδών, μετανάστευση, αύξηση της προσκολλητικής τους ικανότητα με τα ουδετερόφιλα [211, 227, 235]                                                      |
| <b>Νευρώνες</b>                   | Αύξηση ενδοκυτταρικού Ca <sup>2+</sup> , ενεργοποίηση του κύκλου της φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης, ενεργοποίηση της έκφρασης των πρωτοογκογονιδίων c-fos και c-jun, έκκριση προλακτίνης [228, 237]                            |
| <b>Σπερματοζώαρια</b>             | Αύξηση κινητικότητας, αύξηση της διεισδυτικότητας τους στον τράχηλο της μήτρας [231, 232]                                                                                                                              |
| <b>Πρωτόζωα</b>                   | Σύνθεση εικοσανοειδών, αύξηση γλυκογονόλυσης, μεταβολή στην σύσταση των λιποειδών [238, 239]                                                                                                                           |
| <b>Φυτικά κύτταρα</b>             | Ρύθμιση δραστηριότητας H <sup>+</sup> ATPασών, επίδραση στο φωτοσύστημα II των θυλακοειδών [240]                                                                                                                       |
| <b>Ήπαρ</b>                       | Αύξηση γλυκογονόλυσης, μεταβατική αύξηση στην πίεση της πυλαίας φλέβας, αύξηση έκκρισης γαλακτικού και οξαλοξικού οξέος [241, 242]                                                                                     |
| <b>Πνεύμονας</b>                  | Μείωση της επιφάνειας των τριχοειδών, σύσπαση απομονωμένου πνευμονικού ιστού και μείωση της διατασιμότητας του, αγγειοσύσπαση, πνευμονικό οίδημα [241, 243, 244]                                                       |
| <b>Καρδιά</b>                     | Μείωση της συσταλτικής ικανότητας της κοιλίας, σύσπαση των στεφανιαίων, μείωση της ροής αίματος, πρόκληση αρρυθμιών [229, 245]                                                                                         |
| <b>Έντερο</b>                     | Σύσπαση, ισχαιμική νέκρωση [246]                                                                                                                                                                                       |

### Πίνακας 1.15. Δράσεις του PAF in vivo

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Βρογχόσπασμος [235]</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| <b>Θρομβοπενία, ουδετεροπενία, βασεοφιλοπενία[235]</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>Σηπτικό σοκ [235, 247]</b><br>Μεσολαβητής του σηπτικού σοκ που επάγεται από βακτηριακές λοιμώξεις και χορήγηση ενδοτοξίνης                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Αναφυλακτικές αντιδράσεις</b><br>α) <i>Στον αναπνευστικό</i> [235, 243] : Μείωση αναπνευστικής συχνότητας, βρογχόσπασμο, αύξηση πνευμονικών αντιστάσεων, αύξηση της ενδοτικότητας του πνεύμονα, αύξηση της πίεσης στις πνευμονικές αρτηρίες με αποτέλεσμα πρόκληση πνευμονικού οιδήματος. Μεσολαβητής του άσθματος<br>β) <i>Στο κυκλοφοριακό</i> [229, 235] : Μείωση της συστολικής και διαστολικής πίεσης, αύξηση της κεντρικής φλεβικής πίεσης, αύξηση της πίεσης στο δεξιό κόλπο, μείωση της τελοδιαστολικής πίεσης |
| <b>Επίδραση στο καρδιαγγειακό σύστημα [229]</b><br>Αρνητική ινότροπη δράση, μείωση της μέσης αρτηριακής πίεσης (υπόταση), μείωση του κατά λεπτό όγκου αίματος, μείωση των περιφερειακών αντιστάσεων<br>Καρδιακή ισχαιμία και κοιλιακές αρρυθμίες<br>Συμμετέχει στην παθογένεια της αρτηριοσκλήρυνσης                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>Επίδραση στο πεπτικό σύστημα [241, 246]</b><br>Βλάβη γαστρικού βλεννογόνου, ισχαιμική νέκρωση εντέρου, μορφολογικές αλλοιώσεις στην άνω παγκρεατοδωδεκαδακτυλική αρτηρία<br>Συμμετοχή στην παθογένεια του πεπτικού έλκους και της παγκρεατίτιδας                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>Επίδραση στο σύστημα αναπαραγωγής [231, 232]</b><br>Συμμετοχή στην κινητοποίηση του σπέρματος, στην ωορρηξία, στην εμφύτευση του ωαρίου στη μήτρα και στην υπέρταση της εγκυμοσύνης<br>Συμμετοχή στην έναρξη και διατήρηση του τοκετού                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>Επίδραση στην εγκεφαλική λειτουργία [228, 237, 241]</b><br>Μεσολαβητής της εγκεφαλικής ισχαιμίας και του τραυματισμού των νευρώνων σε ισχαιμικές καταστάσεις<br>Ενεργοποίηση του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια και έκκριση ορμονών, ρυθμίζει τα επίπεδα των νευροπεπτιδίων<br>Συμμετέχει στο LTP και θεωρείται ανάδρομος (retrograde) μεσολαβητής                                                                                                                                                               |
| <b>Επίδραση στο ανοσολογικό [235, 247]</b><br>Συμμετέχει στην ανοσολογική κυτταρική απόκριση, είτε άμεσα ρυθμίζοντας τα επίπεδα και τον πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων και την παραγωγή κυτταροκινών από αυτά, είτε έμμεσα ενεργοποιώντας τα λευκοκύτταρα και την παραγωγή εικοσανοειδών από αυτά.<br>Μεσολαβητής της οξείας απόρριψης των μοσχευμάτων                                                                                                                                                                  |

#### 1.11.5 Υποδοχείς του PAF

Ο PAF ασκεί τις δράσεις του μέσω της σύνδεσης του σε ειδικό υποδοχέα στη μεμβράνη των κυττάρων. Η ύπαρξη ειδικού υποδοχέα για τον PAF ήταν μία από τις πρώτες εκπλήξεις στην έρευνά του, αφού μέχρι τότε δεν είχαν βρεθεί υποδοχείς για τα φωσφολιποειδή και οι ερευνητές πίστευαν ότι θα μπορούσε να ασκεί τις δράσεις του με απλή ενσωμάτωση του στις μεμβράνες των κυττάρων. Η πρώτη ένδειξη για την ύπαρξη ειδικών υποδοχέων του PAF ήταν η στερεοεξειδίκευση στις δράσεις του αφού μόνο η R μορφή προκαλούσε ενεργοποίηση αιμοπεταλίων κουνελιού και

ουδετερόφιλων ανθρώπου [248]. Στην συνέχεια, μελέτες σύνδεσης με ραδιενεργό PAF έδειξαν την παρουσία δύο θέσεων σύνδεσης του PAF στα κύτταρα: μία υψηλής συγγένειας και μικρού αριθμού θέσεων και μία χαμηλής συγγένειας και απεριόριστου αριθμού θέσεων [249]. Ωστόσο, η απομόνωση των υποδοχέων του PAF παρουσίαζε μεγάλες δυσκολίες, αφενός λόγω της μη ειδικής σύνδεσης του στις μεμβράνες των κυττάρων και στα μικκύλια των απορρυπαντικών τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για τον σκοπό αυτό, αφετέρου εξαιτίας του μικρού αριθμού υποδοχέων στα κύτταρα. Τελικά, το 1991 για πρώτη φορά ο *Honda et al* απομόνωσαν και κλωνοποίησαν το cDNA του υποδοχέα του PAF από πνεύμονα ινδικού χοιριδίου [250] ενώ μέχρι σήμερα έχει επιτευχθεί η κλωνοποίηση του cDNA από ιστούς ποντικού, επίμυος και ινδικού χοιριδίου [223, 249] καθώς και από λευκοκύτταρα [251], καρδιά [252] και τις κυτταρικές σειρές HL-60<sup>74</sup> και EoL-1 [249] ανθρώπου. Πρόσφατα, βρέθηκε ότι ο υποδοχέας του PAF εκφράζεται, όχι μόνο στην επιφάνεια, αλλά και σε ενδοσώματα ενδοθηλιακών κυττάρων [253] γεγονός που υποδηλώνει τον πιθανό ρόλο του PAF ως ενδοκυτταρικού μεσολαβητή.

Με τεχνικές μοριακής βιολογίας έχει μελετηθεί η κατανομή της έκφρασης του mRNA του υποδοχέα σε διάφορα πειραματόζωα και στον άνθρωπο. Το mRNA εκφράζεται στα περισσότερα κύτταρα και ιστούς, η κατανομή της έκφρασης όμως διαφέρει από οργανισμό σε οργανισμό γεγονός που δείχνει ότι υπάρχουν ειδικοί μηχανισμοί για κάθε ιστό άλλα και για κάθε οργανισμό που ρυθμίζουν την έκφραση του υποδοχέα του PAF [223, 249].

#### **1.11.6 Πορείες μεταγωγής σήματος που ενεργοποιούνται από τον PAF**

Η σύνδεση του PAF στον υποδοχέα του προκαλεί την ενεργοποίηση πορειών στο εσωτερικό του κυττάρου που οδηγούν στον σχηματισμό ή στην αύξηση της συγκέντρωσης ενδοκυτταρικών μηνυματοφόρων μορίων όπως  $\text{Ca}^{2+}$ , cAMP, 1,4,5-τριφωσφορική ινοσιτόλη ( $\text{IP}_3$ ), διακυλογλυκερόλη (DAG), αραχιδονικό οξύ, τα οποία με την σειρά τους προκαλούν την τελική απόκριση του κυττάρου. Στην ενεργοποίηση αυτών των μηχανισμών μεσολαβούν G πρωτεΐνες, οι οποίες είναι συζευγμένες με τον υποδοχέα του PAF. Το είδος του μηχανισμού μεταγωγής σήματος εξαρτάται από το είδος του κυττάρου και βρίσκεται υπό αυστηρή ρύθμιση ενώ πολλές φορές η σύνδεση του PAF στον υποδοχέα του ενεργοποιεί παραπάνω από ένα μηχανισμούς που αλληλεπιδρούν μεταξύ τους. Οι σημαντικότεροι μηχανισμοί μεταγωγής σήματος, που

επάγονται από τον PAF, αναφέρονται στον πίνακα 1.16 [223, 235, 241, 242, 249, 254, 255].

**Πίνακας 1.16.** Μηχανισμοί μεταγωγής σήματος που επάγονται από τον PAF

| Μηχανισμοί μεταγωγής σήματος που επάγονται από τον PAF                                             |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ενεργοποίηση G πρωτεϊνών                                                                           |
| Αναστολή της ενεργοποίησης της αδενυλικής κυκλάσης                                                 |
| Αύξηση του ενδοκυτταρικού ασβεστίου                                                                |
| Ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης C (PLC) και του κύκλου της φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης (PI)                |
| Ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης A <sub>2</sub> (PLA <sub>2</sub> ) και του σχηματισμού εικοσανοειδών |
| Ενεργοποίηση της κινάσης της φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης (PI <sub>3</sub> K)                             |
| Ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης D (PLD)                                                              |
| Ενεργοποίηση των τυροσινικών κινασών (PTK)                                                         |
| Ενεργοποίηση MAP κινασών (MAPK)                                                                    |
| Ενεργοποίηση γονιδιακής έκφρασης                                                                   |

#### 1.11.7 Αναστολείς του PAF

Η ανακάλυψη ειδικών ανταγωνιστών του PAF έδωσε σημαντική ώθηση στην έρευνα του αφού βοήθησε στη διευκρίνιση των παθοφυσιολογικών καταστάσεων στις οποίες εμπλέκεται, στην εξακρίβωση του τρόπου σύνδεσης του με τους υποδοχείς του καθώς και στους μηχανισμούς δράσης του. Οι πιο ισχυροί από αυτούς τους ανταγωνιστές έχουν ήδη δοκιμαστεί σε κλινικές μελέτες ώστε να εκτιμηθεί η πιθανή φαρμακευτική τους δράση σε παθολογικές καταστάσεις όπου ο PAF δρα ως μεσολαβητής. Οι αναστολείς του PAF διακρίνονται σε μη ειδικούς και ειδικούς (Πίνακας 1.17).

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

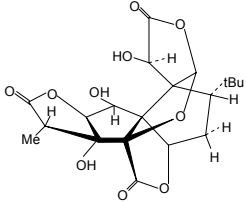
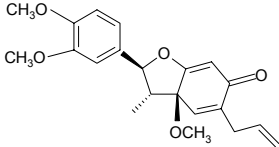
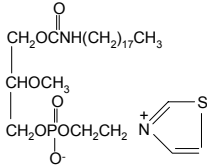
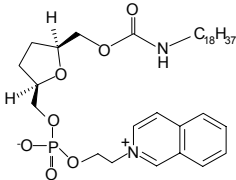
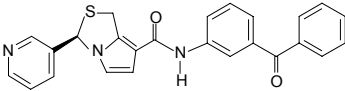
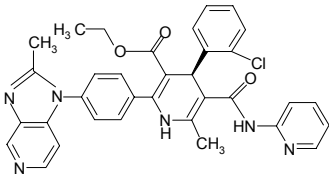
Οι ειδικοί αναστολείς του PAF δρουν ανταγωνιζόμενοι την σύνδεση του PAF με τον υποδοχέα του. Διακρίνονται σε φυσικούς και συνθετικούς. Οι ευρύτερα μελετημένη ομάδα φυσικών αναστολέων του PAF είναι τα γκινγκολίδια (ginkgolides) και ειδικότερα τα γκινγκολίδια της σειράς B με κύριο εκπρόσωπό τους το BN-52021.

Οι αναστολείς αυτοί, οι οποίοι είναι τριτερπένια, έχουν απομονωθεί το 1967 από τα φύλλα του φυτού *Ginkgo biloba*, ενός ιερού για τους Κινέζους δέντρου αφού είχε θεραπευτικές ιδιότητες. Τα τελευταία χρόνια ενώσεις με σημαντική ανασταλτική δράση εναντίον του PAF έχουν βρεθεί και σε ζωικά και φυτικά τρόφιμα [256-259]. Η ύπαρξη τέτοιων αναστολέων σε τρόφιμα της Μεσογειακής Δίαιτας εξηγεί εν μέρει την σημαντική διατροφική τους αξία όσον αφορά την σημασία τους στην πρόληψη των καρδιοπαθειών.

Πολλές ερευνητικές ομάδες και μεγάλες φαρμακευτικές εταιρίες σε όλο το κόσμο έχουν επιδοθεί τα τελευταία χρόνια στην ανάπτυξη μίας μεγάλης γκάμας συνθετικών ανταγωνιστών του PAF, οι οποίοι θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως φάρμακα σε παθολογικές καταστάσεις στις οποίες συμμετέχει ο PAF.

Από τα αποτελέσματα κλινικών μελετών στις οποίες χορηγήθηκαν σε ανθρώπους αναστολείς του PAF [255, 260-262], προκύπτει ότι οι αντίστοιχες κλινικές μελέτες μπορούν να διακριθούν σε τρεις κατηγορίες α) Σε κλινικές μελέτες χωρίς θετικά αποτελέσματα όπως στην αλλεργία και το άσθμα. Ο ρόλος του PAF στην παθογένεια αυτών των ασθενειών είχε πιστοποιηθεί από πλήθος ερευνών και τα αποτελέσματα των κλινικών μελετών αναμένονταν με αισιοδοξία από τους ερευνητές ωστόσο ούτε τα γκινγκολίδια, ούτε τα WEB-2086, MK-287, UK-74,505 είχαν θετικά αποτελέσματα, β) Μελέτες που έδωσαν αισιόδοξα αποτελέσματα αλλά απαιτούν περαιτέρω διερεύνηση. Τέτοιες μελέτες έχουν γίνει σε περιπτώσεις χρόνιας φλεγμονής όπως ρευματοειδή αρθρίτιδα, σκλήρυνση κατά πλάκας και φλεγμονές του στομάχου, γ) Κλινικές μελέτες που έδωσαν θετικά αποτελέσματα με την μείωση της απόρριψης του μοσχεύματος σε μεταμοσχεύσεις νεφρού και την μείωση της θνησιμότητας σε σηψαιμικές καταστάσεις ύστερα από χορήγηση BN-52021.

Πίνακας 1.17. Οι δομές μερικών από τους σημαντικότερους ανταγωνιστές του PAF

| Ονομασία                     | Χημική δομή                                                                         | Κατηγορία                                                           | Εταιρεία παρασκευής       |
|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| BN-52021                     |    | Φυσικός αναστολέας<br>Τριτερπένιο                                   | IPSEN-Beaufur<br>(Γαλλία) |
| Καντσουρενόνη                |    | Φυσικός αναστολέας<br>Βενζοφουρανοειδές<br>λιγνάνιο                 | Merck<br>(Η.Π.Α.)         |
| CV-3988                      |   | Συνθετικός<br>αναστολέας<br>Δομικό ανάλογο με<br>σκελετό γλυκερόλης | Takeda<br>(Ιαπωνία)       |
| SRI-63,441                   |  | Συνθετικός<br>αναστολέας<br>Δομικό ανάλογο με<br>κυκλική δομή       | Sandoz<br>(Ελβετία)       |
| RP-59227 (+)<br>(Tulopafant) |  | Συνθετικός<br>αναστολέας<br>Παράγωγο<br>πυροθειαζολίου              | Rhone-Poulenc             |
| UK-74,505<br>(Modipafant)    |  | Συνθετικός<br>αναστολέας<br>Παράγωγο<br>διϋδροπυριδίνης             | Pfizer<br>(Η.Π.Α.)        |

#### **1.11.8 Μέθοδοι ποιοτικού και ποσοτικού προσδιορισμού του PAF**

Ο προσδιορισμός του PAF στα βιολογικά δείγματα παρουσιάζει σημαντικές δυσκολίες αφενός λόγω των πολύ μικρών ποσοτήτων με τις οποίες βρίσκεται στα βιολογικά δείγματα, παρουσία μάλιστα πολύ μεγαλύτερων ποσοτήτων άλλων παρεμποδιζόντων λιποειδών, αφετέρου λόγω της ταχείας αποικοδόμησης του από την PAF ακετυλοϋδρολάση. Οι πρώτες μέθοδοι ποιοτικού-ποσοτικού προσδιορισμού ήταν βιολογικές, στηρίζονταν δηλαδή στην ικανότητα του PAF να προκαλεί συσσώρευση αιμοπεταλίων και έκκριση σεροτονίνης από αυτά. Οι μέθοδοι αυτές χρησιμοποιούνται ακόμα ευρύτατα αφού θεωρούνται οι πιο ευαίσθητες [226, 263]. Μετά την διευκρίνιση της χημικής του δομής αναπτύχθηκαν μέθοδοι χημικές, οι οποίες προσδιόριζαν τον PAF με την βοήθεια κυρίως της φασματομετρίας μάζας [264, 265]. Τα τελευταία χρόνια, η ανάπτυξη αντισωμάτων έναντι του PAF καθώς και η κλωνοποίηση του υποδοχέα του έδωσε την δυνατότητα στους ερευνητές να αναπτύξουν, τόσο ραδιοανοσολογικές μεθόδους, όσο και μεθόδους που βασίζονται στη δέσμευση ραδιενεργού PAF στους υποδοχείς του (radioreceptor binding assays) [266-268]. Ωστόσο, αν και κάποιες από αυτές τις μεθόδους διατίθενται στο εμπόριο δεν έχουν βρει ακόμα ευρεία εφαρμογή.



## 2. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας ερευνητικής προσπάθειας είναι να διερευνηθεί, με χρήση σύγχρονων και αξιόπιστων μεθόδων, ο ρόλος της διατροφής στον μηχανισμό της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης. Δεδομένου ότι ο ΚΜΠ που είναι το χαρακτηριστικό σύμπτωμα της συγκεκριμένης βλάβης είναι συνηθέστατος σε αθλητές και ασκούμενους, η παρούσα έρευνα αποκτά μεγάλη πρακτική σημασία.

Έχοντας εις γνώση από την διεθνή αρθρογραφία ότι το φαινόμενο της φλεγμονής συμμετέχει καθοριστικά στον μηχανισμό του συγκεκριμένου τύπου μυοσκελετικού τραυματισμού, θεωρήσαμε σκόπιμο να διερευνήσουμε την, άγνωστη έως σήμερα, «συμπεριφορά» ενός κατεξοχήν μεσολαβητή φλεγμονής σε πληθώρα παθοφυσιολογικών καταστάσεων, του PAF. Η ύπαρξη αναστολέων του PAF σε ποικιλία τροφίμων, ιδίως του μεσογειακού τύπου διατροφής, ενθάρρυνε την προσπάθεια αυτή, μιας και πιθανά ενδιαφέροντα αποτελέσματα θα άνοιγαν νέους δρόμους στην προσπάθεια πρόληψης αλλά και αντιμετώπισης της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης.

Η προσεκτική διατροφική αξιολόγηση των συμμετεχόντων στην έρευνα αποτέλεσε πρωτεύουσας σημασίας στόχο, μιας και η εν συνεχεία κατάλληλη εφαρμογή στατιστικών μεθόδων θα μας βοηθούσε στην εξαγωγή χρήσιμων συμπερασμάτων σχετικά με τον ρόλο συγκεκριμένων θρεπτικών συστατικών. Ιδιαίτερη βαρύτητα δόθηκε στην μελέτη του ρόλου του σεληνίου, το οποίο όπως προκύπτει από την σύγχρονη έρευνα συμμετέχει καθοριστικά σε αντιοξειδωτικά και αντιφλεγμονώδη συστήματα του ανθρώπινου οργανισμού.

Παράλληλα, κρίθηκε απαραίτητη η μέτρηση συγκεκριμένων βιοχημικών παραμέτρων καθώς και παραμέτρων της μυϊκής λειτουργίας που αποτελούν αποδεκτούς δείκτες της μυϊκής βλάβης, προκειμένου αφενός να αξιοποιηθούν ως σημείο αναφοράς για την αξιολόγηση της πορείας αποκατάστασης και αφετέρου να συμβάλλουν στην διερεύνηση του βαθμού και του τρόπου πιθανής εμπλοκής θρεπτικών συστατικών στον ευρύτερο μηχανισμό της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης.

Λόγω έλλειψης μονάδας ισοκινητικής αξιολόγησης στον χώρο του πανεπιστημίου κατά την φάση του σχεδιασμού του ερευνητικού πρωτοκόλλου, κρίθηκε απαραίτητο να αναπτυχθεί ένα έγκυρο και εύχρηστο μυϊκό δυναμόμετρο το οποίο θα προσέφερε την δυνατότητα αφενός πρόκλησης ασκησιογενούς μυϊκής

βλάβης και αφετέρου αξιολόγησης συγκεκριμένων χαρακτηριστικών μυϊκής λειτουργίας και κατ' επέκταση της γενικότερης πορείας αποκατάστασης της μυϊκής λειτουργίας μετά τον προκληθέντα τραυματισμό.

Συνοψίζοντας, με την παρούσα έρευνα γίνεται προσπάθεια να απαντηθούν τα κάτωθι ερωτήματα:

- 1) Εμπλέκεται ο PAF στον μηχανισμό της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης;
- 2) Συμμετέχει το σελήνιο στην πρόληψη ή και στην αποκατάσταση της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης;
- 3) Ποια άλλα θρεπτικά συστατικά πιθανώς συμμετέχουν στην πρόληψη ή και στην αποκατάσταση της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης;

### **3. ΜΕΘΟΔΟΙ & ΥΛΙΚΑ**

#### **3.1 Ανάπτυξη ισομετρικού δυναμομέτρου**

Κύριος στόχος της ανάπτυξης του δυναμομέτρου είναι η δημιουργία ενός συστήματος το οποίο θα έχει αφενός την ικανότητα πρόκλησης με ελεγχόμενο τρόπο ασκησιογενούς (πλειομετρικού τύπου) μυϊκής βλάβης στους καμπτήρες μυς του αγκώνα και αφετέρου την δυνατότητα ισομετρικής αξιολόγησης της ίδιας μυϊκής ομάδας, σε οποιαδήποτε προεπιλεγμένη γωνία του αγκώνα. Η εν συνεχεία μαθηματική επεξεργασία, με την βοήθεια κατάλληλου λογισμικού, της καταγραφόμενης καμπύλης μυϊκής ροπής – χρόνου κατά την διαδικασία της ισομετρικής αξιολόγησης, θα μπορεί να οδηγήσει στον υπολογισμό μιας σειράς ενδιαφερουσών παραμέτρων [269] όπως της μέγιστης ισομετρικής ροπής (maximal isometric torque, MIT), του ρυθμού ανάπτυξης ροπής σε δεδομένη χρονική στιγμή (rate of torque development, RTD) και της μέγιστης τιμής του (maximal rate of torque development, MRTD), του χρόνου μέχρι την μέγιστη ροπή, της ισχύος, του χρόνου αντίδρασης κ.α.

##### **3.1.1 Περιγραφή δυναμομέτρου**

Το νέο δυναμόμετρο αποτελείται από ένα ειδικά σχεδιασμένο κρεβάτι, μία δυναμομετρική μονάδα, μία ηλεκτρονική μονάδα και ένα ηλεκτρονικό υπολογιστή (Compaq Presario 1245, 333 MHz, 32 Mb RAM, Microsoft Windows 98) με ένα ειδικά σχεδιασμένο λογισμικό εγκατεστημένο (Εικ.3.1). Τα κύρια εξαρτήματα που απαρτίζουν την δυναμομετρική μονάδα είναι: ένας ηλεκτρικός κινητήρας συνεχούς ρεύματος (ισχύος 1HP, τάσης 24V και μέγιστης ταχύτητας 1800 rpm), ένας μειωτήρας στροφών γωνιακού τύπου (με λόγο μείωσης 280:1), ένας βραχίονας με χειρολαβή, ένας αισθητήρας ροπής (Load cell: YZ563Y, Youngzon Transducer Co., Ltd.), ένας αισθητήρας γωνιακής θέσης του βραχίονα (Ποτενσιόμετρο ακριβείας: 3540S-1-103, Bourns-Reliable Electronic Solutions) και ένας λαμπτήρας τύπου φλας. Επιπλέον, η δυναμομετρική μονάδα είναι προσαρτημένη στο κρεβάτι με την βοήθεια ειδικής μηχανικής κατασκευής η οποία παρέχει την δυνατότητα στον εξεταστή να τοποθετεί και ακολούθως να σταθεροποιεί την δυναμομετρική μονάδα σε οποιαδήποτε επιθυμητή θέση (δυνατότητα κίνησης και στους τρεις άξονες).

Η ηλεκτρονική μονάδα αποτελείται από ένα ελεγκτή κινητήρα συνεχούς ρεύματος (KBBC-44M, KB Electronics, Inc.) ο οποίος ελέγχει την λειτουργία του κινητήρα (και κατά συνέπεια την γωνιακή κίνηση του βραχίονα) και από ένα ειδικά σχεδιασμένο ηλεκτρονικό κύκλωμα. Οι κύριες λειτουργίες του συγκεκριμένου ηλεκτρονικού κυκλώματος είναι: α) ενίσχυση των εισερχομένων αναλογικών σημάτων από τους αισθητήρες, β) μετατροπή των ενισχυθέντων αναλογικών σημάτων σε ψηφιακά δεδομένα με την βοήθεια ενός 12 bit μετατροπέα (analog to digital converter), γ) αποστολή των ψηφιακών δεδομένων στον συνδεδεμένο ηλεκτρονικό υπολογιστή διαμέσου σειριακής επικοινωνίας (RS-232) για ακόλουθη καταγραφή, γραφική απεικόνιση και μαθηματική επεξεργασία των μετρήσεων ροπής και γωνιακής θέσης, δ) λήψη εντολών κίνησης του βραχίονα από το συνδεδεμένο ηλεκτρονικό υπολογιστή και μετατροπή τους σε μορφή αναγνωρίσιμη από τον ελεγκτή του κινητήρα και ε) άναμμα/σβήσιμο του λαμπτήρα μετά την λήψη αντίστοιχης εντολής από τον ηλεκτρονικό υπολογιστή.

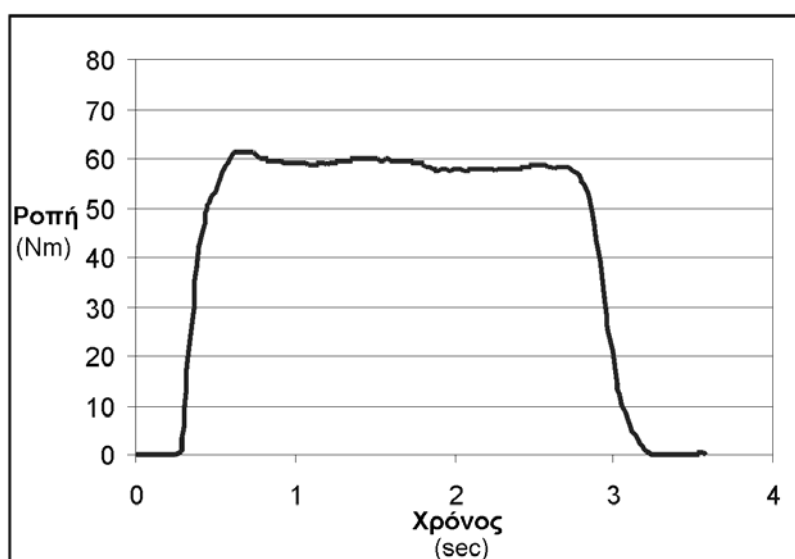


Εικ. 3.1. Το ισομετρικό δυναμόμετρο «Myoforce»

Οι προαναφερθείσες λειτουργίες του ηλεκτρονικού κυκλώματος βασίζονται στην δυνατότητα δύο μικροεπεξεργαστών τεχνολογίας RISK (AVR 90S-8535, Amtel), οι οποίοι προγραμματίστηκαν με την βοήθεια κατάλληλης σειριακής

συσκευής προγραμματισμού (STK500, Amtel). Το λογισμικό για τους μικροεπεξεργαστές αναπτύχθηκε σε υψηλού επιπέδου γλώσσα προγραμματισμού με την χρήση κατάλληλου μεταγλωτιστή (Fast AVR compiler). Οι ρυθμίσεις της σειριακής επικοινωνίας μεταξύ του ηλεκτρονικού κυκλώματος και του συνδεδεμένου ηλεκτρονικού υπολογιστή ήταν: 115200, N, 8, 1 (bits ανά sec, bits ισοτιμίας, bits δεδομένων, bits διακοπής) που επιτρέπουν ρυθμό δειγματοληψίας 1000Hz. Η ανάπτυξη της ηλεκτρονικής μονάδας πραγματοποιήθηκε από την εταιρεία Microforce Electronic (Αθήνα, Ελλάδα) η οποία είναι πιστοποιημένη (DIN EN ISO 9001-2000) για έρευνα και ανάπτυξη ιατρικών μηχανημάτων.

Το λογισμικό για τον ηλεκτρονικό υπολογιστή το οποίο αναπτύξαμε στη γλώσσα προγραμματισμού Microsoft Visual Basic 6.0 (Service Pack 6), παρέχει στον εξεταστή τις ακόλουθες δυνατότητες: α) επιλογή ρυθμίσεων λειτουργίας του δυναμομέτρου (π.χ. Τύπος συστολής: πλειομετρικός, γωνιακή ταχύτητα:  $30^\circ/\text{sec}$ , άκρο: αριστερό, αρχή εύρους κίνησης:  $110^\circ$ , τέλος εύρους κίνησης:  $30^\circ$ ), β) αποστολή εντολής για άναμμα/σβήσιμο του λαμπτήρα που απαιτείται για τον προσδιορισμό του χρόνου αντίδρασης, γ) μετατροπή των εισερχομένων ψηφιακών δεδομένων σε μονάδες ροπής και γωνιακής θέσης, χρησιμοποιώντας τους αριθμητικούς παράγοντες που προκύπτουν κατά την διαδικασία βαθμονόμησης (calibration), δ) καταγραφή και γραφική απεικόνιση σε πραγματικό χρόνο της καμπύλης ροπής – χρόνου σε κάθε ισομετρική μυϊκή συστολή (Σχήμα 3.1) και ε) υπολογισμός διαφόρων παραμέτρων της μυϊκής δύναμης μετά από μαθηματική επεξεργασία των καταγεγραμμένων καμπυλών ροπής – χρόνου.



Σχήμα 3.1. Διάγραμμα ροπής-χρόνου μιας τυπικής ισομετρικής συστολής.

### 3.1.2 Έλεγχος εγκυρότητας και επαναληψιμότητας του νέου δυναμόμετρου

Προτού χρησιμοποιηθεί στην κύρια έρευνα το νεοδημιουργηθέν σύστημα δυναμομέτρου, κρίθηκε απολύτως απαραίτητο να διενεργηθεί μία σειρά ελέγχων σχετικών με την εγκυρότητα και την επαναληψιμότητα των μετρήσεων του. Στα πειράματα αυτά συμμετείχαν 25 άνδρες, χαμηλής φυσικής δραστηριότητας, χωρίς μυοσκελετικά προβλήματα και γενικά σε καλή κατάσταση υγείας. Ο πίνακας 3.1 παρουσιάζει τα χαρακτηριστικά των συγκεκριμένων εθελοντών.

**Πίνακας 3.1.** Χαρακτηριστικά συμμετεχόντων στα πειράματα ελέγχου εγκυρότητας και επαναληψιμότητας του δυναμόμετρου ( $N=25$ )

|                         | <b>M.o. <math>\pm</math> S.d</b> |
|-------------------------|----------------------------------|
| <b>Ηλικία</b> (έτη)     | 29,3 $\pm$ 5,0                   |
| <b>Βάρος</b> (κιλά)     | 81,1 $\pm$ 8,0                   |
| <b>Ανάστημα</b> (εκατ.) | 180,1 $\pm$ 5,7                  |

#### 3.1.2.1 Πρωτόκολλο ελέγχου εγκυρότητας και επαναληψιμότητας

Το εξεταζόμενο άτομο καλούνταν να ολοκληρώσει μία σειρά ισομετρικών επαναλήψεων υπό διάφορες γωνίες του αγκώνα. Συγκεκριμένα, μετρήσεις (τρεις προσπάθειες σε κάθε θέση) γινόντουσαν με την ίδια σειρά στις εξής γωνίες του αγκώνα: 90°, 110°, 130°, 40°, και 20° (με 0° οριζόμενη ως η γωνία του αγκώνα σε πλήρη έκταση) οι οποίες καλύπτουν σχεδόν το πλήρες εύρος τροχιάς της συγκεκριμένης άρθρωσης. Η ίδια διαδικασία επαναλαμβανόταν την επόμενη ημέρα από τα ίδια άτομα. Επιπλέον, την ίδια ημέρα, δέκα εκ των συμμετεχόντων επανέλαβαν τις μετρήσεις μυϊκής δύναμης και με την χρήση ενός ισοκινητικού δυναμομέτρου υψηλής αξιοπιστίας (Cybex 6000), προκειμένου να αντληθούν χρήσιμα συγκριτικά στοιχεία σχετικά με την εγκυρότητα του δυναμομέτρου.

Επιπλέον έλεγχος της εγκυρότητας του συστήματος μέτρησης της ροπής έλαβε χώρα κρεμώντας γνωστά βάρη στον βραχίονα (έχοντας προηγουμένως σταθεροποιήσει τον βραχίονα στην οριζόντια θέση), σε διάφορες αποστάσεις από τον άξονα περιστροφής του, προκειμένου να συγκριθούν οι μετρούμενες τιμές ροπής με τις αντίστοιχες αναμενόμενες (ροπή = εφαρμοζόμενη δύναμη x απόσταση από τον άξονα περιστροφής). Η ακρίβεια μέτρησης της γωνιακής θέσης του βραχίονα καθώς και η σταθερότητα της δειγματοληψίας (1000Hz) επιβεβαιώθηκαν μέσω επαναλαμβανόμενων μετρήσεων και συγκρίσεων με αντίστοιχες τιμές που

προέκυπταν από την χρήση πιστοποιημένου εξωτερικού κλισιομέτρου (Acumar Single Digital Inclinator, Acumar Technology) και παλμογράφου (TDS 210, Tektronix), αντίστοιχα.

### 3.1.2.2 Στατιστική ανάλυση ελέγχου εγκυρότητας και επαναληψιμότητας

Η βαθμός εγκυρότητας του μηχανήματος εκτιμήθηκε υπολογίζοντας τον συντελεστή συσχέτισης του Pearson και το τυπικό σφάλμα εκτίμησης (typical error of estimate) [270] για τα ζεύγη τιμών των επιλεγμένων παραμέτρων (γωνιακή θέση βραχίονα, ροπή και MIT) που προέκυψαν από τη χρήση του μηχανήματος και από την εφαρμογή μιας αντίστοιχης μεθόδου αναφοράς (εξωτερικό κλισιόμετρο, διακριβωμένα βάρη και ισοκινητικό δυναμόμετρο, αντίστοιχα). Προκειμένου να εκτιμηθεί η επαναληψιμότητα των μετρήσεων υπολογίστηκαν ο συντελεστής συσχέτισης ICC<sub>[2,1]</sub> (intraclass correlation coefficient) [271] και το τυπικό σφάλμα μέτρησης SEM (standard error of the measurement) [272]. Όλοι οι ανωτέρω υπολογισμοί έγιναν με την βοήθεια του στατιστικού λογισμικού SPSS 11.5 (SPSS, Inc., Chicago, IL). Τα αποτελέσματα του ελέγχου εγκυρότητας και επαναληψιμότητας παρουσιάζονται στην παράγραφο 4.1 (Αποτελέσματα).

### 3.2 Δοκιμαζόμενοι κύριας έρευνας

Το δείγμα της κύριας έρευνας αποτέλεσαν 13 νέοι ενήλικες άνδρες ύστερα από πρόσκληση για εθελοντική συμμετοχή. Τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων παρουσιάζονται στον πίνακα 3.2. Προϋποθέσεις για την συμμετοχή τους στην έρευνα ήταν:

- α) Να μην εμπλέκονται σε προπόνηση αντίστασης (βάρη) ή άλλη μορφή έντονης άσκησης με τα άνω άκρα και ειδικότερα τους καμπτήρες μυς του αγκώνα, για ένα διάστημα τουλάχιστον 6 μηνών πριν από την έναρξη της έρευνας και,
- β) Να μην αντιμετωπίζουν κάποιο ορθοπεδικό πρόβλημα ή τραυματισμό άλλα ούτε κάποια ασθένεια, ή λοίμωξη, ή φλεγμονή τις τελευταίες τουλάχιστον εβδομάδες πριν την έναρξη της έρευνας

**Πίνακας 3.2.** Ηλικία και ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων στην κύρια έρευνα (N=13)

|                                                  | <b>M.o.±S.d.</b> |
|--------------------------------------------------|------------------|
| <b>Ηλικία</b><br>(έτη)                           | 27,5±3,8         |
| <b>Ανάστημα</b><br>(εκστ.)                       | 179,1±4,6        |
| <b>Βάρος</b><br>(κιλά)                           | 79,5±7,5         |
| <b>Ποσοστό</b><br><b>σωματικού λίπους</b><br>(%) | 15,4±5,0         |

Από όλους τους δοκιμαζόμενους ζητήθηκε, κατά την διάρκεια της συμμετοχής τους στην έρευνα, να αποφύγουν να χρησιμοποιήσουν οποιοδήποτε αντιφλεγμονώδες ή αναλγητικό φάρμακο, να μην κάνουν υδροθεραπεία, μάλαξη ή διατάσεις προκειμένου να ανακουφιστούν από το μυϊκό «πιάσιμο» που θα αντιμετώπιζαν, και να μην συμμετάσχουν σε κανένα πρόγραμμα σωματικής άσκησης. Επιπλέον, σε όλους τους συμμετέχοντες δόθηκε η οδηγία να διατηρήσουν τις διατροφικές τους συνήθειες, αλλά ωστόσο να μην καταναλώσουν οινοπνευματώδη ποτά ούτε κάποιο συμπλήρωμα διατροφής κατά το χρονικό διάστημα της συμμετοχής τους στην έρευνα. Επιπροσθέτως τους ζητήθηκε μόνο πριν από την πρώτη αιμοληψία να έχει προηγηθεί ένα 12ώρο νηστείας (απαραίτητο για την σωστή μέτρηση των επιπέδων του σεληνίου). Έχοντας λάβει όλες τις απαραίτητες πληροφορίες, προφορικά και



γραφτώς, σχετικά με τους σκοπούς και τις διαδικασίες της έρευνας, οι δοκιμαζόμενοι υπέγραψαν ειδικό έντυπο συγκατάθεσης (βλ. Παράρτημα). Επισημάνθηκε ότι η μη συνεπής τήρηση των οδηγιών και των περιορισμών που τους δόθηκαν συνιστούσε αιτία αποκλεισμού από τις διαδικασίες της έρευνας και έγινε παράκληση για τη συνεπή τήρηση των συστάσεων που τους έγιναν.

### 3.3 Πρωτόκολλο άσκησης πρόκλησης ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης

Προκειμένου να προκληθεί στους δοκιμαζόμενους ασκησιογενής μυϊκή βλάβη στους καμπτήρες μυς του αγκώνα του μη επιδέξιου άνω άκρου, τους ζητήθηκε, μετά από ολιγόλεπτη προθέρμανση και ορισμένες διατάσεις, να ακολουθήσουν συγκεκριμένο πρωτόκολλο άσκησης [273], με τη βοήθεια του νεοδημιουργηθέντος δυναμομέτρου, το οποίο πρωτόκολλο περιελάμβανε 36 μέγιστες πλειομετρικές μυϊκές συστολές (6 σετ των 6 επαναλήψεων) των καμπτήρων μυών του αγκώνα του μη επιδέξιου άνω άκρου. Όπως είναι γνωστό, κατά την πλειομετρική μυϊκή συστολή, ο μυς ενώ προσπαθεί να συσταλεί, επιμηκύνεται λόγω κάποιας μεγαλύτερης εξωτερικής αντίρροπης δύναμης. Στην παρούσα έρευνα ο δοκιμαζόμενος καλούνταν να αντισταθεί με όλη του τη δύναμη στην κίνηση του βραχίονα του δυναμομέτρου το οποίο εξανάγκαζε τελικά το «άνοιγμα» της άρθρωσης του αγκώνα μεταξύ των προεπιλεγμένων θέσεων. Συγκεκριμένα, σε κάθε πλειομετρική συστολή, το εύρος της κίνησης ήταν 90° με αρχική γωνία του αγκώνα τις 110° κάμψης και τελική τις 20° κάμψης, ενώ η γωνιακή ταχύτητα ήταν 30°/sec. Μεταξύ δύο διαδοχικών επαναλήψεων του ίδιου σετ παρείχτο στον δοκιμαζόμενο μικρό χρονικό διάστημα ξεκούρασης (~ 10 sec). Κατά τη διάρκεια αυτού του χρονικού διαστήματος ο βραχίονας του δυναμομέτρου επέστρεφε στην αρχική του θέση (110°) μετά από κατάλληλη εντολή από τον ερευνητή μέσω του λογισμικού, χωρίς να απαιτείται καμία ενεργητική προσπάθεια από τον δοκιμαζόμενο («γυρίζει μόνο του»). Μετά την ολοκλήρωση κάθε σετ των 6 επαναλήψεων, παρείχτο στον δοκιμαζόμενο 1 λεπτό ξεκούρασης.

Προκειμένου να αποφευχθούν ανεπιθύμητοι τραυματισμοί λόγω μη έγκαιρης ετοιμότητας του δοκιμαζομένου, η έναρξη κάθε πλειομετρικής συστολής γινόταν, μετά βέβαια από ένα ενημερωτικό ηχητικό σήμα (προερχόμενο από τον ειδικό χρονομετρητή του λογισμικού) αλλά, πάντοτε με την τελική απόφαση να ανήκει στον δοκιμαζόμενο. Συγκεκριμένα, η κίνηση του ηλεκτρικού κινητήρα (άρα και του βραχίονα) ξεκινούσε μόλις ο αισθητήρας ροπής «αντιλαμβανόταν» προσπάθεια κάμψης του αγκώνα (μεγαλύτερη από ένα κατώφλι ροπής = 2 Nm), ενώ αντίθετα σταματούσε σε οποιοδήποτε σημείο της τροχιάς, εάν «αντιλαμβανόταν» απουσία ιδιαίτερης προσπάθειας (μικρότερη από το ίδιο κατώφλι ροπής). Με αυτόν τον τρόπο

παράλληλα, εξασφαλιζόταν σε μεγάλο βαθμό ότι ο δοκιμαζόμενος θα ασκούσε την μέγιστη δυνατή προσπάθεια σε όλη την τροχιά της κίνησης.

### 3.4 Μετρήσεις

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

- μέγιστη ισομετρική ροπή (MIT) των καμπτήρων μυών του αγκώνα υπό γωνία άρθρωσης 90°,
- το εύρος τροχιάς της άρθρωσης του αγκώνα (range of motion - ROM), η ικανότητα μέγιστης βράχυνσης των καμπτήρων μυών του αγκώνα (γωνία μέγιστης ενεργητικής κάμψης του αγκώνα, Flexed Angle – FANG) και η αυτόματη μυϊκή βράχυνση (γωνία ανάπαυσης του αγκώνα σε απουσία μυϊκής σύσπασης, Relaxed Angle – RANG)
- η περίμετρος του βραχιονίου στο μέσον του (CIRC)
- η αντίληψη της έντασης του καθυστερημένου μυϊκού πόνου (VAS)
- τα επίπεδα στο αίμα του PAF (ελεύθερου, δεσμευμένου και ολικού), της PAF-ακετυλοϋδρολάσης (PAF-AH), της γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH), της κρεατινικής κινάσης (CK), της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP), του συμπληρώματος C3 (C3), του ινωδογόνου, των λευκών αιμοσφαιρίων και των υποομάδων τους.

Όλες οι ανωτέρω παράμετροι μετρήθηκαν αμέσως πριν την πρόκληση της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης («ώρα 0», 0h) και σε πέντε μεταγενέστερες χρονικές στιγμές οι οποίες ήταν 2, 24, 48, 72 και 96 ώρες μετά την πρόκληση της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης. Αξίζει να σημειωθεί πως οι μετρήσεις για όλους τους δοκιμαζόμενους γίνονταν πρωινές ώρες (9 με 10.00π.μ.). Εκτός των προαναφερθεισών παραμέτρων που μετρήθηκαν σε 6 διαφορετικά χρονικά σημεία, προσδιορίστηκαν τα αρχικά επίπεδα σεληνίου στο αίμα την χρονική στιγμή t=0h, ενώ παράλληλα εκτιμήθηκε η διατροφική πρόσληψη μέσω ερωτηματολογίου και για άλλα θρεπτικά συστατικά. Στην συνέχεια ακολουθεί λεπτομερής περιγραφή όλων των μεθόδων μέτρησης που εφαρμόστηκαν.

### 3.4.1 Προσδιορισμός μυϊκής δύναμης

Η μέτρηση της μέγιστης ισομετρικής ροπής, πραγματοποιήθηκε με την βοήθεια του ισομετρικού δυναμομέτρου (Myoforce) που κατασκευάστηκε. Η αναλυτική πορεία της διαδικασίας μέτρησης περιγράφεται ακολούθως:

Κάθε άτομο πριν τη διαδικασία μέτρησης έκανε προθέρμανση περίπου διάρκειας 5 λεπτών με απλές ασκήσεις και ελαφριές διατάσεις. Στη συνέχεια, όντας το άτομο ξαπλωμένο στο ειδικά σχεδιασμένο κρεβάτι, ο εξεταστής ρύθμιζε τη θέση της δυναμομετρικής μονάδας (δυνατότητα κίνησης και στους τρεις άξονες) και ακολούθως τη σταθεροποιούσε σε κατάλληλη θέση ώστε να ευθυγραμμιστεί ο άξονας περιστροφής του αγκώνα με τον άξονα περιστροφής του βραχίονα του μηχανήματος (Εικ.3.1). Αυτό είναι απαραίτητο επειδή σε διαφορετική περίπτωση οι μετρήσεις ροπής και γωνίας της άρθρωσης δεν θα ήταν αξιόπιστες. Επιπλέον, το μήκος του βραχίονα ρυθμιζόταν κατάλληλα ανάλογα με το μήκος του εξεταζόμενου άκρου. Ειδικοί ιμάντες τύπου “Velcro” βοηθούσαν στην ακινητοποίηση του υπόλοιπου σώματος ώστε αφενός το άτομο να διευκολύνεται κατά την ανάπτυξη μέγιστης δυνατής μυϊκής προσπάθειας και αφετέρου οι μετρήσεις ροπής να μην επηρεάζονται από την λειτουργία άλλων μη εξεταζόμενων μυϊκών ομάδων (π.χ. ανεπιθύμητες κινήσεις της μέσης). Για τον ίδιο λόγο υπήρχε λαβή στο πλαϊνό τμήμα του κρεβατιού την οποία κρατούσε το άτομο με το μη εξεταζόμενο άνω άκρο. Τέλος, ο βραχίονας με την βοήθεια του ηλεκτρικού κινητήρα οδηγείτο στην επιθυμητή θέση ισομετρικής αξιολόγησης (π.χ. γωνία άρθρωσης του αγκώνα =  $90^\circ$ ) και ακινητοποιείτο.

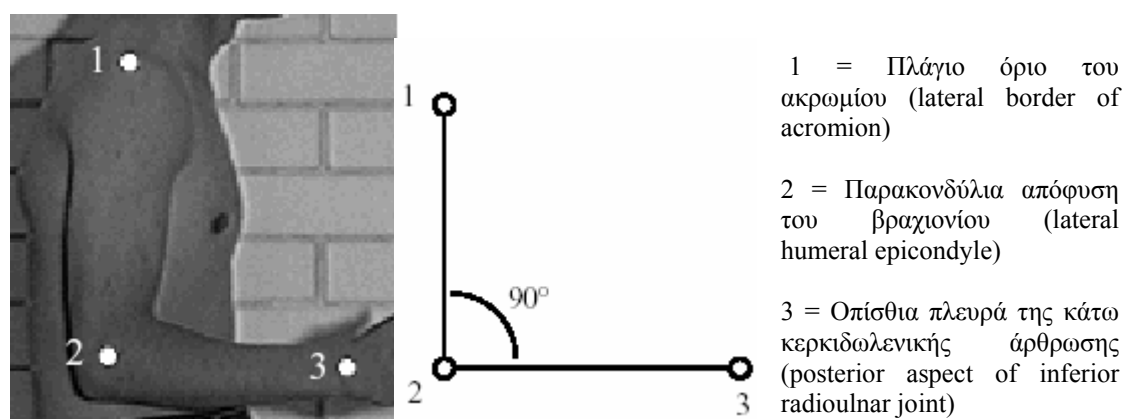
Κατά την διαδικασία της ισομετρικής αξιολόγησης (κάμψη του αγκώνα), κάθε εξεταζόμενο άτομο συμβουλευόταν να αναπτύξει μέγιστη δύναμη με τον ταχύτερο δυνατό ρυθμό και να προσπαθήσει να διατηρήσει μέγιστα επίπεδα δύναμης για χρονικό διάστημα 3 sec. Προκειμένου να είναι δυνατός ο προσδιορισμός χρόνου αντίδρασης, το εξεταζόμενο άτομο έπρεπε να περιμένει για να εκκινήσει να αναπτύσσει μυϊκή δύναμη, το άναμμα του λαμπτήρα τύπου φλας, το οποίο θα λάμβανε χώρα κάποια τυχαία χρονική στιγμή μέσα σε μικρό χρονικό διάστημα διάρκειας 6 sec.

Η διαδικασία εξοικείωσης με το μηχανήμα περιλάμβανε 5-10 υπομέγιστες επαναλήψεις και 1-2 μέγιστες προσπάθειες πριν από την έναρξη της καταγραφής των δεδομένων της ισομετρικής αξιολόγησης. Κάθε ισομετρική αξιολόγηση επαναλαμβανόταν άλλες δύο φορές (συνολικά 3 προσπάθειες), και για τους μετέπειτα υπολογισμούς χρησιμοποιήθηκε η μέγιστη τιμή ροπής εκ των τριών προσπαθειών.

Μεταξύ των διαδοχικών προσπαθειών, παρείχεται στον δοκιμαζόμενο χρόνος ξεκούρασης 2 λεπτών, ενώ λεκτική ενθάρρυνση παρείχεται σε κάθε εξεταζόμενο άτομο κατά την διάρκεια κάθε μυϊκής προσπάθειας, με τις ίδιες πάντα εκφράσεις (π.χ. «Πάμε, πάμε»).

### 3.4.2 Προσδιορισμός γωνιών άρθρωσης του αγκώνα

Το εύρος τροχιάς της άρθρωσης του αγκώνα (range of motion, ROM) εκτιμήθηκε μετρώντας την γωνία μέγιστης ενεργητικής κάμψης του αγκώνα (Flexed Angle, FANG) και την γωνία ανάπαυσης του αγκώνα σε απουσία μυϊκής σύσπασης (Relaxed Angle, RANG), εφαρμόζοντας μία μέθοδο γωνιομέτρησης που βασίζεται σε ψηφιακή φωτογράφιση [274]. Με την βοήθεια ενός ημι-μόνιμου μαρκαδούρου σηματοδύνονταν συγκεκριμένα ανατομικά σημεία (Εικ.3.2) στα οποία τοποθετούνταν κάθε φορά για τις ανάγκες της φωτογράφισης στρογγυλά αυτοκόλλητα έντονου χρώματος (διαμέτρου ~ 1 εκατ.). Αυτό μας εξασφάλιζε σταθερότητα στην τοποθέτηση των αυτοκόλλητων στις διαφορετικές χρονικές στιγμές εξέτασης.



**Εικ. 3.2.** Παράδειγμα γωνιομέτρησης αγκώνα μέσω μεθόδου ψηφιακής φωτογράφισης.

Στη συνέχεια, οι ληφθείσες ψηφιακές φωτογραφίες εισάγονταν σε λογισμικό επεξεργασίας εικόνας, όπου με την χρήση κατάλληλης λειτουργίας του λογισμικού υπολογιζόταν η γωνία που σχημάτιζαν μεταξύ τους τα τρία αυτοκόλλητα έντονου χρώματος. Η μέτρηση της FANG γινόταν καθώς ο δοκιμαζόμενος προσπαθούσε να κάμψει τον αγκώνα όσο το δυνατόν περισσότερο με στόχο να ακουμπήσει τον ώμο του με την παλάμη του, κρατώντας όμως τον αγκώνα πλάι στο σώμα του. Η μέτρηση της RANG γινόταν καθώς ο δοκιμαζόμενος άφηνε τελείως χαλαρό το άνω άκρο του στο πλάι του σώματός του. Το ROM υπολογιζόταν αφαιρώντας από την τιμή της

RANG την τιμή της FANG. Κάθε γωνία του αγκώνα μετριοταν τρεις φορές και ο μέσος όρος των τριών τιμών χρησιμοποιήθηκε στους μετέπειτα υπολογισμούς.

Η κάθε φωτογράφιση γινόταν από σταθερή εστιακή απόσταση 2 μέτρων, με χρήση τρίποδα στήριξης της μηχανής και προσέχοντας πάντοτε το επίπεδο που όριζε το εξεταζόμενο άνω άκρο να είναι κάθετο ως προς την νοητή ευθεία του φακού της φωτογραφικής μηχανής, ώστε η μέτρηση να είναι όσο το δυνατόν πιο έγκυρη. Για τις ανάγκες τις μεθόδου χρησιμοποιήθηκε ψηφιακή κάμερα Fuji (A303 Finerpix) και κατάλληλο λογισμικό επεξεργασίας εικόνας (CorelDraw v10).

### **3.4.3 Μέτρηση περιμέτρου βραχιονίου**

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

### **3.4.4 Αντίληψη καθυστερημένου μυϊκού πόνου**

Για την αξιολόγηση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου χρησιμοποιήθηκε μία κλίμακα υποκειμενικής αξιολόγησης (Visual Analog Scale – VAS), η οποία συνίσταται σε μία ευθεία γραμμή μήκους 10 εκατ. όπου η μία της άκρη αντιστοιχεί στην ένδειξη «καθόλου πόνος» και η άλλη της στην ένδειξη «ανυπόφορος πόνος» (βλ. Παράρτημα) [275]. Οι δοκιμαζόμενοι καλούνταν να σημειώνουν το σημείο της κλίμακας που καλύτερα αντανακλούσε τον πόνο που αντιλαμβανόταν, όταν ο ερευνητής ψηλαφούσε την περιοχή της κατάφυσης του δικέφαλου βραχιονίου μυός. Η κλίμακα αυτή έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως σε ανάλογες έρευνες και έχειδειχθεί ότι αποτελεί έγκυρη και αξιόπιστη κλίμακα λόγου (αριθμητική) για την αξιολόγηση του πόνου σε κλινικές ή πειραματικές συνθήκες. Παρέχει δε την δυνατότητα παραμετρικής στατιστικής ανάλυσης των δεδομένων.

## Προσδιορισμοί στο αίμα

Σε κάθε αιμοληψία λαμβάνονταν ~10 ml αίματος από την μέση (λοξή) φλέβα του πήχη του άκρου που δεν υποβαλλόταν σε άσκηση (επιδέξιο). Από το συνολικό λαμβανόμενο όγκο αίματος, 2 ml προορίζονταν για προσδιορισμούς στο πλάσμα, 3 ml για προσδιορισμούς στον ορό, 5 ml για τον προσδιορισμό του PAF και ελάχιστος όγκος για κυτταρικούς προσδιορισμούς. Τα δείγματα ορού φυλάσσονταν σε βαθιά κατάψυξη (-80°C) μέχρι να αναλυθούν, ενώ τα δείγματα πλάσματος (citrated) σχεδόν άμεσα χρησιμοποιούνταν προκειμένου να μετρηθεί το περιεχόμενο ινωδογόνο. Στην συνέχεια ακολουθεί αναλυτική περιγραφή όλων των μεθόδων προσδιορισμού στο αίμα που εφαρμόστηκαν για τις ανάγκες της έρευνας.

### **3.4.5 Προσδιορισμός επιπέδων PAF στο αίμα**

Ο προσδιορισμός του PAF στο αίμα βασίζεται στην απομόνωσή του με κατάλληλη εκχύλιση και κατάλληλους χρωματογραφικούς διαχωρισμούς και μέτρηση της συγκέντρωσής του με βιολογική δοκιμασία σε πλυμένα αιμοπετάλια κουνελιού [206].

#### 3.4.5.1 Εκχύλιση ολικών λιποειδών αίματος κατά *Bligh-Dyer*

##### Αντιδραστήρια-Όργανα

- Αέριο άζωτο
- Οργανικοί διαλύτες (αιθανόλη, μεθανόλη, χλωροφόρμιο, νερό) αναλυτικής καθαρότητας.
- Υάλινοι φυγοκεντρικοί σωλήνες
- Ποτήρια ζέσεως των 250 ml.
- Υάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες.
- Ογκομετρικός κύλινδρος των 100 ml.
- Φυγόκεντρος
- Περιστρεφόμενη συσκευή εξάτμισης υπό ελαττωμένη πίεση (flash evaporator)

##### Αρχή μεθόδου [276]

Με κατάλληλης πολικότητας μονοφασικό σύστημα διαλυτών επιτυγχάνεται η εκχύλιση όλων των λιποειδών καθώς επίσης και η εκχύλιση μικρών ποσοτήτων υδατοδιαλυτών ενώσεων όπως αλάτων, αμινοξέων κ.α. Με την μετατροπή του



μονοφασικού συστήματος σε διφασικό, στην μεν χλωροφορμική φάση κατανέμονται όλα τα λιποειδή, στην δε υδατική κατανέμονται τα υδατοδιαλυτά συστατικά.

#### Αναλυτική πορεία

Σε υάλινους φυγοκεντρικούς σωλήνες που περιέχουν 20 ml ψυχρής απόλυτης αιθανόλης λαμβάνονται 5 ml αίματος και ακολουθεί φυγοκέντρωση στα 1000g για 20 min και σε θερμοκρασία 4°C. Μετά τη φυγοκέντρωση, συλλέγεται το υπερκείμενο, που περιέχει τον ελεύθερο PAF (“Free PAF”) στο πλάσμα του αίματος. Το ίζημα, που περιέχει τον συνδεδεμένο στα κύτταρα του αίματος PAF (“Bound PAF”), αναμιγνύεται με 25 ml μίγματος  $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}:\text{H}_2\text{O}$  (1:2:0,8, v:v:v), αναδεύεται έντονα και επαναφυγοκεντρείται στα 1000g για 20 min. Το υπερκείμενο αυτής της φυγοκέντρωσης (που περιέχει τον Bound PAF) συλλέγεται επίσης. Στην συνέχεια προσθέτονται υπολογισμένες ποσότητες  $\text{CHCl}_3$  και  $\text{H}_2\text{O}$  ώστε η αναλογία των διαλυτών να γίνει  $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}:\text{H}_2\text{O}$  (1:1:0,9, v:v:v) και κάθε σύστημα να μετατραπεί σε διφασικό. Συγκεκριμένα, στο υπερκείμενο του Free PAF προστίθενται 20 ml  $\text{CHCl}_3$  και 13 ml  $\text{H}_2\text{O}$ , ενώ στο υπερκείμενο του Bound PAF προστίθενται 6,25 ml  $\text{CHCl}_3$  και 6,25 ml  $\text{H}_2\text{O}$ . Μετά από έντονη ανάδευση, αποχύνεται η υδατική φάση και μεταφέρεται η κάτω, χλωροφορμική φάση, σε σφαιρική φιάλη. Στη συνέχεια, οι διαλύτες εξατμίζονται σε περιστρεφόμενη συσκευή εξάτμισης (flash evaporator) υπό ελαττωμένη πίεση. Ακολουθώς, τα ολικά λιποειδή που παραμένουν στην σφαιρική φιάλη μεταφέρονται σε δοκιμαστικό σωλήνα με μικρό όγκο  $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$  (1:1). Τέλος, ακολουθεί εξάτμιση έως ξηρού σε ρεύμα αζώτου και επαναδιάλυση των λιποειδών σε 1-2 ml MeOH για περαιτέρω επεξεργασία

#### 3.4.5.2 Χρωματογραφικός καθαρισμός PAF με χρωματογραφία στήλης

##### Αντιδραστήρια-Όργανα

- Αέριο άζωτο
- Οργανικοί διαλύτες (αιθανόλη, μεθανόλη, χλωροφόρμιο, νερό) αναλυτικής καθαρότητας.
- Υλικό πλήρωσης στήλης: Πυριτικό οξύ (Kieselgel 60, 35-70 mesh ASTM, Merck), πλυμένο τρεις φορές με νερό και τρεις με μεθανόλη και ενεργοποιημένο σε πυριαντήριο στους 120°C για 12 h.
- Υάλινη στήλη με ηθμό πορσελάνης 60cm x 1cm ID
- Υάλινοι διανομείς διαλυτών των 300 ml.

- Υάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες.
- Ογκομετρικός κύλινδρος των 100 ml.
- Σιφώνι των 2 ml

#### Αναλυτική πορεία

Το πυριτικό οξύ διασπείρεται σε κατάλληλη ποσότητα CH<sub>3</sub>OH:H<sub>2</sub>O (1:1,5, v:v) που αποτελεί τον πρώτο διαλύτη έκλουσης και με το υλικό αυτό γίνεται η πλήρωση της στήλης με τρόπο ομοιογενή, και σε ύψος 20 cm. Στη συνέχεια η στήλη εκλούεται με 8 όγκους στήλης του πρώτου διαλύτη έκλουσης. Ακολουθώντας, με τη βοήθεια σιφωνίου τοποθετείται το δείγμα των ολικών λιποειδών που βρίσκεται σε όγκο 0.5 ml. Η στήλη εκλούεται αρχικά με 45 ml CH<sub>3</sub>OH:H<sub>2</sub>O (1:1,5, v:v) και στη συνέχεια με 50 ml CH<sub>3</sub>OH:H<sub>2</sub>O (2:1, v:v) (2<sup>ος</sup> διαλύτης έκλουσης). Τα τελευταία 15 ml του πρώτου διαλύτη έκλουσης μαζί με το σύνολο του δεύτερου διαλύτη έκλουσης συλλέγονται σε ένα κλάσμα. Στη συνέχεια το κλάσμα, όπου και περιέχεται ο PAF, εκχυλίζεται κατά Bligh-Dyer. Συνοπτικά, μετά από προσθήκη 39 ml CHCl<sub>3</sub> και 10 ml H<sub>2</sub>O και ισχυρή ανάδευση, το σύστημα μετατρέπεται σε διφασικό. Ακολουθώντας, λαμβάνεται η κάτω, χλωροφορμική, φάση, εξατμίζεται ο διαλύτης σε flash evaporator και το μίγμα λιποειδών που παραμένει, μεταφέρεται σε δοκιμαστικό σωλήνα με μικρό όγκο CHCl<sub>3</sub>:MeOH (1:1), για περαιτέρω επεξεργασία.

#### 3.4.5.3 Χρωματογραφικός καθαρισμός PAF με HPLC

##### Αντιδραστήρια - Όργανα

- Οργανικοί διαλύτες (μεθανόλη, ακετονιτρίλιο, νερό) χρωματογραφικής καθαρότητας
- Νερό χρωματογραφικής καθαρότητας
- Πρότυπα λιποειδή από Merck, Supelco, Sigma
- Υγρός χρωματογράφος Hewlett-Packard (HP SERIES 1050) συνδεδεμένος με ανιχνευτή υπεριώδους HP SERIES 1050 και καταγραφέα HP 3395
- Μικροσύριγγα ακριβείας 100 µL (Hamilton)
- Στήλη κατιονανταλλαγής SCX Partisil 10µm 25×4.6 cm ID (Whatman)
- Λουτρό υπερήχων Branson 1200

Αρχή μεθόδου [277]

Η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) ανήκει στις μεθόδους υγρής χρωματογραφίας κατά την οποία η κινητή φάση, υπό την επίδραση ελεγχόμενης πίεσης, περνάει μέσα από μία σχετικά στενή στήλη που περιέχει την στατική φάση, η οποία μπορεί να είναι είτε στερεή, είτε υγρή ενωμένη χημικά σε στερεό υπόστρωμα. Η HPLC θεωρείται σήμερα η καλύτερη μέθοδος υγρής χρωματογραφίας αλλά και ο πιο δόκιμος τρόπος χρωματογραφικού διαχωρισμού και ημιποσοτικού προσδιορισμού χημικών ενώσεων, αντικαθιστώντας την TLC.

Αναλυτική πορεία

Αρχικά, απερώνεται ο διαλύτης έκλουσης και η στήλη καθαρίζεται με κατάλληλους διαλύτες (ανάλογα με το υλικό πλήρωσης της) και σταθεροποιείται με τον διαλύτη έκλουσης, ACN:CH<sub>3</sub>OH:H<sub>2</sub>O 60:32:8 (v:v:v). Παράλληλα, το συλλεχθέν κλάσμα από την στήλη πυριτικού, το οποίο και περιέχει τον PAF, αναδιαλύεται σε 50  $\mu$ L CHCl<sub>3</sub>:MeOH (1:1), παραλαμβάνεται με την μικροσύριγγα ακριβείας Hamilton και το υπόλειμμα στον δοκιμαστικό σωλήνα ξεπλένεται με άλλα 50  $\mu$ L CHCl<sub>3</sub>:MeOH (1:1) τα οποία παραλαμβάνονται και αυτά με την μικροσύριγγα Hamilton. Ακολουθεί η εισαγωγή του συνολικού περιεχομένου της μικροσύριγγας στην ειδική θέση εισόδου δείγματος του HPLC. Το δείγμα εν συνεχεία υποβάλλεται σε χρωματογραφικό διαχωρισμό κατά τον οποίο το σύστημα διαλυτών έκλουσης έχει σταθερή σύσταση, η ροή των διαλυτών έκλουσης είναι ρυθμισμένη στο 1,5 ml/min, ενώ η έκλουση των διαχωριζόμενων ουσιών ελέγχεται με τη μεταβολή της απορρόφησης στα 208 nm (UV). Τέλος, συλλέγεται η περιοχή έκλουσης του PAF (μεταξύ σφιγγομυελίνης και λυσο-φωσφατιδυλοχολίνης) σε δοκιμαστικό σωλήνα, προκειμένου στο επόμενο στάδιο να προσδιοριστεί ποσοτικά ο περιεχόμενος PAF, διαμέσου βιολογικής δοκιμασίας σε πλυμένα αιμοπετάλια κουνελιού.

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

Αντιδραστήρια - Όργανα

- Διάλυμα 10x Tyrodes stock : Σε 1 lt νερού διαλύονται 80 g NaCl, 1,95 g MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O και 10 g γλυκόζης
- Διάλυμα 100x CaCl<sub>2</sub> stock : Σε 100 ml νερού διαλύονται 1,911 g CaCl<sub>2</sub>

- Διάλυμα 0,2 M EGTA stock : Ποσότητα 0,76 g EGTA διαλύεται σε 10 ml νερό. Ρυθμίζεται το pH του διαλύματος στο 7,5 με NaOH 5 M
- Διάλυμα ζελατίνης 10% σε νερό
- Διαλύματα Tyrodes-Gelatin pH 6,5 (Tg pH 6,5), Tyrodes-Gelatin-EGTA pH 6,5 (Tg EGTA pH 6,5) : Σε 80 ml νερό προσθέτονται 10 ml Tyrodes 10x stock. Χρησιμοποιώντας μαγνητικό αναδευτήρα κατά τη διάρκεια της προσθήκης, προσθέτονται 2,5 ml ζελατίνης 10% (λιωμένης στο σημείο βρασμού). Κατόπιν, προσθέτονται 5 ml διαλύματος NaHCO<sub>3</sub> (0,203 g NaHCO<sub>3</sub> σε 10 ml νερό) που πρέπει να χρησιμοποιείται αμέσως μετά την παρασκευή του. Συμπληρώνεται ο όγκος στα 100 ml με νερό και χωρίζεται σε δύο τμήματα των 50 ml. Στο ένα από τα δύο προσθέτονται 25  $\mu$ L EGTA 0,2 M. Ρυθμίζεται το pH και των δύο κλασμάτων στο 6,46 με HCl 1 N. Αμέσως γεμίζονται γυάλινοι σωλήνες των 16 ml μέχρι επάνω (χωρίς φυσαλίδες αέρα) και σκεπάζονται με παραφίλμ. Φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου.
- Διάλυμα Tyrodes-ασβεστίου pH 7,2 (Tg-Ca pH 7,2) : Σε 5 ml Tyrodes 10x προστίθενται 40 ml νερό. Χρησιμοποιώντας μαγνητικό αναδευτήρα προστίθενται 1,25 ml διαλύματος ζελατίνης 10%. Στη συνέχεια προσθέτονται 0,5 ml διαλύματος CaCl<sub>2</sub> 100x. Κατόπιν, προστίθενται 2,5 ml διαλύματος NaHCO<sub>3</sub> (παρασκευάζεται όπως παραπάνω). Συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τα 50 ml με νερό και ρυθμίζεται το pH στο 7,16 με HCl 1 N. Διατηρείται στους 37°C σε ερμητικά κλειστούς σωλήνες.
- Αντιπηκτικό διάλυμα ACD : Σε 1000 ml νερού διαλύονται 13,65 g κιτρικού οξέος, 25 g κιτρικού νατρίου και 20 g δεξτρόζης.
- Διάλυμα βόειας αλβουμίνης ορού (BSA) 100 mg/ml : Ποσότητα 100 mg BSA ελεύθερης λιπαρών οξέων (Sigma) διαλύεται σε 1 ml φυσιολογικού ορού. Φυλάσσεται στους -20°C
- Διάλυμα BSA 2,5 mg/ml : Από 10 ml φυσιολογικού ορού αφαιρούνται 250  $\mu$ L και προστίθενται 250  $\mu$ L BSA stock
- Ficoll-Paque (Pharmacia)
- Υγρό επίστρωσης σιλικόνης (Serva)
- Πλαστικοί σωλήνες των 50 ml
- Πλαστικά σιφώνια των 20 ml
- Συσσωρευματομέτρο, Chrono-log
- pHμετρο ORION 410A

- Φωτόμετρο Bausch-Lomb
- Υδρόλουτρο 37°C
- Φυγόκεντρος Sorvall RC-5B Refrigerated, DuPont

Αναλυτική πορεία [194]

Απομόνωση πλυμένων αιμοπεταλίων από αίμα κουνελιού

Σε πλαστικούς σωλήνες των 50 ml προστίθενται 7 ml ACD. Το αίμα συλλέγεται από την κεντρική αρτηρία του αυτιού του κουνελιού, ο σωλήνας γεμίζεται με αίμα μέχρι τα 50 ml και αναμιγνύεται ήπια με αναστροφή. Ακολουθεί φυγοκέντρηση για 15 min στους 24°C στα 500g (~ 1800 στροφές ανά λεπτό, rpm). Κατά την διάρκεια της φυγοκέντρησης μεταφέρουμε 2 ml Ficoll-Paque σε πλαστικούς σωλήνες των 14 ml. Αναρροφώνται τα 2/3 του υπερκείμενου πλάσματος (πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια, PRP) με πλαστικό σιφόνιο των 20 ml και μεταφέρονται σε άλλο πλαστικό σωλήνα των 50 ml. Τοποθετείται το πλάσμα πάνω στο στρώμα του Ficoll, με μέγιστο ποσοστό πλάσματος τα 9 ml για κάθε 2 ml Ficoll, χρησιμοποιώντας πλαστικά σιφόνια. Μεταφέρονται ίσοι όγκοι πλάσματος σε 2 ή 3 σωλήνες ανάλογα με το συνολικό όγκο του πλάσματος. Σκεπάζουμε με παραφίλμ και οι σωλήνες φυγοκεντρούνται για 20 min στους 24°C στα 750g (2200 rpm). Μετά την φυγοκέντρηση τα αιμοπετάλια εμφανίζονται σαν ταινία μεταξύ της στιβάδας του πλάσματος και του στρώματος του Ficoll. Το υπερκείμενο πλάσμα (φτωχό σε αιμοπετάλια) αναρροφάται και απορρίπτεται με πλαστική σύριγγα των 20 ml. Το στρώμα των αιμοπεταλίων διαπερνάται με σιλικοναρισμένη πιπέττα Pausteur, αναρροφάται το Ficoll και απορρίπτεται. Αν υπάρχουν 2 σωλήνες προστίθενται 7 ml Tg EGTA pH 6,5 σε κάθε σωλήνα. Το διάλυμα αφήνεται να τρέξει ήπια στα τοιχώματα του σωλήνα και χωρίς ανάμιξη αποχύνεται το αιώρημα σε άλλο πλαστικό σωλήνα των 14 ml, αφήνοντας έτσι τα ερυθρά αιμοσφαίρια στον αρχικό σωλήνα. Αν υπάρχουν 3 σωλήνες προστίθενται 3 ml Tg EGTA pH 6,5 σε κάθε σωλήνα. Το διάλυμα αφήνεται να τρέξει ήπια στα τοιχώματα του σωλήνα και χωρίς ανάμιξη αποχύνεται το αιώρημα σε άλλο πλαστικό σωλήνα των 14 ml του οποίου το περιεχόμενο χωρίζεται σε 2 ίσα μέρη που μεταφέρονται σε δύο ξεχωριστούς σωλήνες και προστίθενται περίπου 3 ml Tg EGTA pH 6,5. Το περιεχόμενο του κάθε σωλήνα μεταφέρεται σε 2 ml Ficoll (8 ml αιμοπεταλίων σε κάθε σωλήνα) και καλύπτεται με παραφίλμ. Ακολουθεί φυγοκέντρηση για 15 min στους 24°C στα 2400 rpm. Το υπερκείμενο ρυθμιστικό διάλυμα απορροφάται και απορρίπτεται. Διαπερνάται το

στρώμα αιμοπεταλίων με πιπέττα pasteur, αναρροφάται το Ficoll και απορρίπτεται. Στην συνέχεια προστίθενται ίσοι όγκοι (~ 8 ml) Tg pH 6,5 σε κάθε σωλήνα αφήνοντας το διάλυμα να τρέξει στα τοιχώματα του σωλήνα και χωρίς ανάμιξη μεταφέρεται το εναιώρημα σε καθαρό πλαστικό σωλήνα των 14 ml και καλύπτεται με παραφίλμ. Ακολουθεί φυγοκέντρωση για 15 min στους 24°C στα 2350 rpm. Το υπερκείμενο ρυθμιστικό διάλυμα απορροφάται και απορρίπτεται μέχρι και την τελευταία σταγόνα. Προστίθενται 0,8 ml Tg pH 6,5 σε κάθε συσσωμάτωμα αιμοπεταλίων αναδιασπείροντας τα κύτταρα με προσοχή. Το περιεχόμενο των σωλήνων ενώνεται με πλαστικό σωλήνα.

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

#### Συσσώρευση πλυμένων αιμοπεταλίων κουνελιού

Σε γυάλινες κυψελίδες συσσωρευματομέτρου προστίθενται 100  $\mu$ L από το εναιώρημα αιμοπεταλίων και 400  $\mu$ L Tg Ca pH 7,2 καθώς και μικρός μαγνητικός αναδευτήρας που περιστρέφεται με 1200 rpm. Επωάζονται για 15 min σε υδατόλουτρο στους 37°C. Ρυθμίζεται το 100 της κλίμακας του συσσωρευματομέτρου με Tg Ca pH 7,2 και το 0 με το εναιώρημα αιμοπεταλίων. Στην συνέχεια η κυψελίδα με το εναιώρημα των αιμοπεταλίων τοποθετείται στην ειδική θερμοστατούμενη κυψελίδα του συσσωρευματομέτρου και προστίθενται διάφορες ποσότητες PAF ή του εκάστοτε δείγματος το οποίο είναι διαλυτοποιημένο σε BSA 2,5 mg/ml και καταγράφεται η καμπύλη συσσώρευσης, ως αύξηση της διαπερατότητας. Η αύξηση της διαπερατότητας στηρίζεται στο γεγονός ότι κατά την συσσώρευση των αιμοπεταλίων διαυγάζεται το περιεχόμενο της κυψελίδας μέσα από την οποία διέρχεται η δέσμη ακτινοβολίας. Το ύψος και η μορφή της καμπύλης είναι ανάλογα με την συσσώρευση, το δε φαινόμενο της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων εξαρτάται από τη συγκέντρωση του συσσωρευτικού παράγοντα.

Με βάση γνωστής συγκέντρωσης διαλύματα συνθετικού PAF σχεδιάζεται η καμπύλη της επί τοις εκατό συσσώρευσης συναρτήσει της συγκέντρωσης του PAF.

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

#### **3.4.6 Προσδιορισμός συνολικής πρωτεΐνης σε ορό αίματος με τη μέθοδο Lowry**

##### Αντιδραστήρια - Όργανα

- Αντιδραστήριο Folin Ciocalteu (περιέχει άλατα Mo, W και φωσφορικό οξύ), Merck
- Αλβουμίνη βοείου ορού (BSA) 3,3 mg/10 ml : Διαλύονται 33 mg BSA σε 100 ml νερό ή ρυθμιστικό διάλυμα
- 2 %  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  σε 0,1N NaOH (Διάλυμα Α)
- 0,5 %  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  σε 1% τρυγικό καλιονάτριο (Διάλυμα Β)
- Διάλυμα Α + Διάλυμα Β σε αναλογία 50:1 (Διάλυμα Γ)
- Φωτόμετρο 4040-LKB Biochrom, Novaspec

##### Αρχή μεθόδου [278]

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

##### Αναλυτική πορεία

Σε ορισμένο όγκο δείγματος (μέχρι 50  $\mu\text{L}$ ) προστίθενται νερό και ρυθμιστικό διάλυμα, στο οποίο είναι διαλυμένο το δείγμα, έτσι ώστε ο συνολικός όγκος του ρυθμιστικού να είναι 50  $\mu\text{L}$  και ο τελικός όγκος 600  $\mu\text{L}$ . Στο διάλυμα αυτό προστίθενται 3 ml διαλύματος Γ και το μίγμα αφήνεται για 10 min σε θερμοκρασία

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

#### **3.4.7 Προσδιορισμός δραστηριότητας PAF ακετυλοϋδρολάσης (PAF-AH) σε ορό αίματος**

##### Αντιδραστήρια - Όργανα

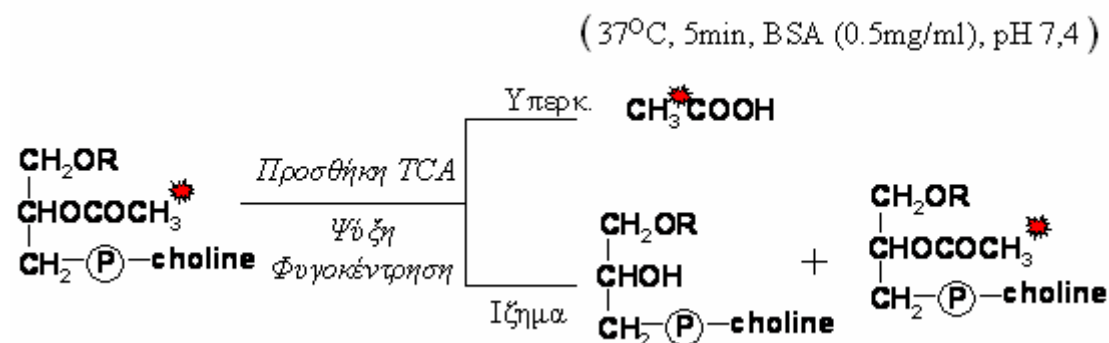
- PAF (C<sub>16:0</sub>), Sigma
- BSA ελεύθερης λιπαρών οξέων, Sigma
- Ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCl (50 mM-pH 7,4) : Διαλύονται 0,605 g Tris σε νερό, ρυθμίζεται το pH με HCl 1 M στο 7,4 και αραιώνεται το διάλυμα στα 100 ml νερό.
- Διάλυμα φύλαξης (stock) PAF σε CHCl<sub>3</sub>/MeOH (1:1), 10<sup>-4</sup> M
- Διάλυμα BSA 100 mg/ml : Διαλύονται 1000 mg BSA ελεύθερης λιπαρών οξέων (Sigma) σε 10 ml ρυθμιστικού διαλύματος Tris-HCl (50 mM-pH 7,4)
- Διάλυμα BSA 10 mg/ml : Διαλύονται 100 mg BSA ελεύθερης λιπαρών οξέων (Sigma) σε 10 ml ρυθμιστικού διαλύματος Tris-HCl (50 mM-pH 7,4)
- Διάλυμα PAF σε BSA (10 mg/ml) συγκέντρωσης 800  $\mu$ M και ειδικής δραστηριότητας 1000 cpm/nmol (διάλυμα εργασίας) : Φέρεται κατάλληλη ποσότητα διαλύματος PAF 10<sup>-4</sup> M σε βιδωτό σωλήνα, εξατμίζεται ο διαλύτης σε ρεύμα αζώτου και το ίζημα αναδιαλύεται σε κατάλληλη ποσότητα διαλύματος BSA 10 mg/ml έτσι ώστε να προκύψει συγκέντρωση PAF 800  $\mu$ M. Παρασκευάζεται καινούριο διάλυμα κάθε φορά. Προσθήκη 5  $\mu$ L από το διάλυμα αυτό στον ενζυμικό προσδιορισμό δίνουν τελική συγκέντρωση PAF 20  $\mu$ M (20.000 cpm) και τελική συγκέντρωση BSA 0,25 mg/ml.
- Διάλυμα TCA 40%



- Μικροφυγόκεντρος
- Ανακινούμενο υδρόλουτρο
- Σωλήνες eppendorf

#### Αρχή μεθόδου [279]

Ο προσδιορισμός της δραστικότητας της PAF-AH βασίζεται στη μέτρηση της ραδιενέργειας του ραδιενεργού προϊόντος ( $[H^3]$ -CH<sub>3</sub>COOH) που απελευθερώνεται στο υπερκείμενο διάλυμα μετά την επώαση του ενζυμικού παρασκευάσματος με  $[H^3]$ -PAF, παρουσία BSA και την καταβύθιση των πρωτεϊνών με TCA. Το επισημασμένο οξικό οξύ διαχωρίζεται από τον μη αντιδρών  $[H^3]$ -PAF αφού αυτός καταβυθίζεται ως σύμπλοκο με την BSA. Διαγραμματική αναπαράσταση του προσδιορισμού φαίνεται στο σχήμα 3.2.



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

#### Αναλυτική πορεία

Σε σωλήνα eppendorf φέρονται το ρυθμιστικό διάλυμα Tris-HCl (50 mM-pH 7,4), 5  $\mu$ L διαλύματος εργασίας λυσο-PAF (τελική συγκέντρωση 20  $\mu$ M), το ρυθμιστικό διάλυμα αναδιάλυσης και η αντίδραση ξεκινά με την προσθήκη του ενζυμικού παρασκευάσματος. Επειδή η προστιθέμενη ποσότητα του ενζυμικού παρασκευάσματος, το οποίο είναι διαλυμένο σε ρυθμιστικό διάλυμα αναδιάλυσης, μπορεί να κυμαίνεται από 10-50  $\mu$ L προστίθεται κατάλληλη ποσότητα ρυθμιστικού διαλύματος ώστε όλοι οι προσδιορισμοί να περιέχουν 50  $\mu$ L ρυθμιστικού διαλύματος αναδιάλυσης. Ο τελικός όγκος του μίγματος επώασης είναι 200  $\mu$ L. Η επώαση της αντίδρασης γίνεται σε θερμοστατούμενο υδρόλουτρο υπό ανάδευση στους 37°C για 15-30 min. Μετά το τέλος της αντίδρασης προσθέτονται 2  $\mu$ L διαλύματος BSA 100 mg/ml για να εξασφαλιστεί η ποσοτική δέσμευση του μη αντιδρώντος PAF και μετά

από 1 min προστίθενται 64  $\mu\text{L}$  ψυχρού διαλύματος TCA 40 % (τελικός όγκος TCA 10 %). Το διάλυμα αφήνεται σε πάγο για 30 min ώστε να καταβυθιστούν οι πρωτεΐνες και στην συνέχεια φυγοκεντρείται σε μικροφυγόκεντρο για 2 min. Παραλαμβάνονται 50-100  $\mu\text{L}$  από το υπερκείμενο και μεταφέρονται, με την βοήθεια του υγρού σπινθηρισμού (dioxane base), σε vials για την μέτρηση της ραδιενέργειας. Γίνεται επίσης και δείγμα αναφοράς, το οποίο δεν περιέχει ενζυμικό παρασκεύασμα. Η ειδική δραστηριότητα της PAF-AH υπολογίζεται από τον τύπο :

Ειδική δραστηριότητα PAF-AH (nmol/min/mg πρωτεΐνης) =

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

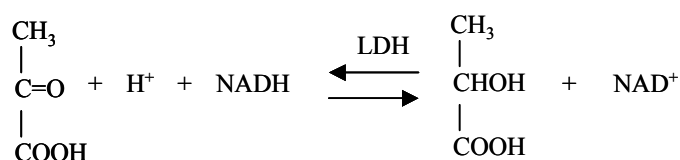
### 3.4.8 Προσδιορισμός δραστηριότητας γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH) σε ορό αίματος

#### Αντιδραστήρια - Όργανα

- Προκατασκευασμένα υποστρώματα (Dialab):
- R1: Πυροσταφυλικό οξύ 0,6 mM, νατραζίδιο 0,95 g/L σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών 50 mM
- R2: NADH 0,18 mM - pH 9,6
- Φωτόμετρο Novaspec II (Pharmacia Biotech, Cambridge, England)
- Υδατόλουτρο για ρύθμιση θερμοκρασίας στους 37°C

#### Αρχή μεθόδου [280]

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



**Σχήμα 3.3.** Αντίδραση προσδιορισμού της LDH.

Ο προσδιορισμός στηρίζεται στο γεγονός ότι στα 340 nm το NADH εμφανίζει μέγιστο απορρόφησης ενώ το  $\text{NAD}^+$  δεν απορροφά. Έτσι, η αντίδραση ξεκινά με την

προσθήκη NADH και πυροσταφυλικού οξέος και παρακολουθείται η ελάττωση της απορρόφησης στα 340 nm στους 37°C.

#### Αναλυτική πορεία

Ο προσδιορισμός της δραστηριότητας LDH γίνεται με προκατασκευασμένα αντιδραστήρια της εταιρίας Dialab σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή ως εξής: Αναμιγνύεται περιεχόμενο του φιαλιδίου με το αντιδραστήριο R1 με περιεχόμενο του φιαλιδίου με το αντιδραστήριο R2, με αναλογία 4:1 (R1:R2), προκειμένου να δημιουργηθεί το «διάλυμα εργασίας». Το διάλυμα «εργασίας» παραμένει 10 min πριν χρησιμοποιηθεί στους 37°C (στο υδατόλουτρο). Παράλληλα, θερμοστατούνται στους 37°C οι κυψελίδες του φωτομέτρου που θα χρησιμοποιηθούν. Στην συνέχεια, σε κυψελίδα φωτομέτρου αναμιγνύεται 1 ml από το διάλυμα «εργασίας» με ορισμένη ποσότητα (10  $\mu$ L) από το δείγμα ορού που πρόκειται να προσδιορισθεί ποσοτικά η δραστηριότητα της LDH και ύστερα από παραμονή 1 min μετρίεται η απορρόφηση στα 340 nm. Παίρνονται ακόμα τρεις μετρήσεις, μία ανά λεπτό και υπολογίζεται ο μέσος όρος της διαφοράς απορρόφησης ο οποίος πολλαπλασιαζόμενος με κατάλληλο συντελεστή, που δίνεται από την εταιρεία ( $LDH = \Delta A/min \times 20000$ ), μας δίνει την ενζυμική δραστηριότητα της LDH σε U/L.

### **3.4.9 Προσδιορισμός δραστηριότητας κρεατινικής κινάσης (CK) σε ορό αίματος**

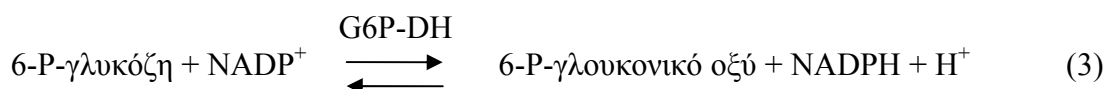
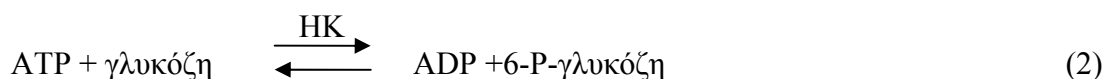
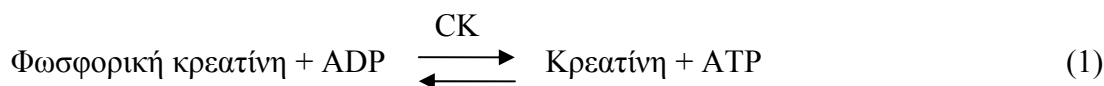
#### Αντιδραστήρια - Όργανα

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

#### Αρχή μεθόδου [281]

Η CK καταλύει την αντίδραση μεταξύ φωσφορικής κρεατίνης και ADP προς κρεατίνη και ATP. Το ATP, παρουσία γλυκόζης και εξοκινάσης (HK), δίνει ADP και

6-P γλυκόζη η οποία με την επίδραση της αφυδρογονάσης της 6-P-γλυκόζης (G6P-DH) δίνει 6-φωσφογλουκονικό οξύ ενώ ταυτόχρονα το  $\text{NADP}^+$  ανάγεται προς NADPH. Ο ρυθμός παραγωγής του NADPH καθορίζεται φωτομετρικά (340 nm) και είναι ευθέως ανάλογος με την δραστικότητα της CK στο δείγμα.



**Σχήμα 3.4.** Αλληλουχία αντιδράσεων προσδιορισμού της CK.

#### Αναλυτική πορεία

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

#### **3.4.10 Ποσοτικός προσδιορισμός της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) και του συμπληρώματος C3 (C3) σε ορό αίματος**

##### Αντιδραστήρια - Όργανα

- Προκατασκευασμένα αντιδραστήρια (Dade Behring): N High Sensitivity CRP και Complement C3 assays και τα αντίστοιχα πρότυπα διαλύματα.
- Νεφελόμετρο BN2 (Dade Behring, Marburg, Germany).

##### Αρχή μεθόδου [282, 283]

Σωματίδια πολυστυρενίου επικαλυμμένα με μονοκλωνικά αντισώματα για την CRP και το C3 συγκολλούνται όταν αναμιχθούν με δείγματα που περιέχουν CRP ή C3 αντίστοιχα. Η ένταση του «διασπειρόμενου» φωτός στο νεφελόμετρο εξαρτάται από την περιεχόμενη ποσότητα της CRP ή του C3 στο εξεταζόμενο δείγμα. Κατά συνέπεια η συγκέντρωση της CRP ή του C3 μπορεί να προσδιορισθεί σε συνδυασμό με κατάλληλη καμπύλη αναφοράς που προκύπτει από διάφορες αραιώσεις προτύπου διαλύματος CRP ή C3 αντίστοιχα.

##### Αναλυτική πορεία

Ακολουθούνται αυστηρά οι οδηγίες του κατασκευαστή του νεφελομέτρου σχετικά με τον τρόπο εισαγωγής και ανάλυσης κάθε δείγματος, προτύπου ή αγνώστου, στο νεφελόμετρο.

#### **3.4.11 Ποσοτικός προσδιορισμός του ινωδογόνου σε πλάσμα αίματος**

##### Αντιδραστήρια - Όργανα

- Προκατασκευασμένα αντιδραστήρια (Teco):
  - TEClot Fib 5x2ml
  - TEControl N 3x1 ml
  - TECal Abnormal 1x1 ml
  - FIB- Buffer (IBS) 135 ml
- Θρομβόμετρο Coatron 2 analyser (Biotechnology, Ελλάδα)

##### Αρχή μεθόδου [284]

Το TEClot Fib Kit 10 χρησιμοποιεί την μέθοδο *Clauss* [285] προσδιορισμού του χρόνου πήξης προκειμένου να μετρηθούν τα επίπεδα του ινωδογόνου στο πλάσμα του αίματος, σύμφωνα με την οποία χρησιμοποιείται περίσσεια βόειας θρομβίνης για

να πήξει το διάλυμα του πλάσματος. Αρχικά, σχηματίζουμε πρότυπη καμπύλη αναφοράς χρησιμοποιώντας διαλύματα γνωστής συγκέντρωσης ινωδογόνου (TEControl N). Αφότου προστεθεί η θρομβίνη, ο παρατηρούμενος χρόνος πήξης είναι αντιστρόφως ανάλογος με την συγκέντρωση του ινωδογόνου. Στη συνέχεια το άγνωστο δείγμα πλάσματος, σε κατάλληλη αραιώση, υφίσταται πήξη επίσης με προσθήκη θρομβίνης. Ο αντίστοιχος χρόνος πήξεως χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με την πρότυπη καμπύλη αναφοράς προκειμένου να προσδιορισθούν τα επίπεδα του ινωδογόνου στο άγνωστο δείγμα.

#### Αναλυτική πορεία

Αρχικά, προετοιμάζονται διαλύματα TEControl Normal (0,1 ml) σε αραιώσεις 1/5, 1/10, 1/20 και 1/40 χρησιμοποιώντας 0,4, 0,9, 1,9 και 3,9 ml αντίστοιχα από το ρυθμιστικό διάλυμα FIB Buffer (IBS). Ακολούθως, προθερμαίνονται 0,2 ml από κάθε διάλυμα στους 37°C για 2 min, ακολουθώντας τις οδηγίες του κατασκευαστή του θρομβομέτρου. Στη συνέχεια, προσθέτουμε 0,1 ml από το TEClot Fib (που βρίσκεται σε θερμοκρασία δωματίου) σε κάθε αραιωμένο διάλυμα (37°C). Αφού μετρηθεί ο χρόνος σχηματισμού θρόμβου (μέσος όρος διπλών προσδιορισμών) για όλα τα αραιωμένα διαλύματα του TEControl Normal, διαμορφώνεται η καμπύλη αναφοράς (χρόνος σχηματισμού θρόμβου – συγκέντρωση ινωδογόνου) σε λογαριθμική κλίμακα. Έστερα ετοιμάζεται αραιωμένο διάλυμα (1/10) του «αγνώστου» δείγματος πλάσματος χρησιμοποιώντας το ρυθμιστικό διάλυμα FIB Buffer (IBS). Επαναλαμβάνεται η διαδικασία μέτρησης του χρόνου σχηματισμού θρόμβου, αναμιγνύοντας αυτήν την φορά 0,2 ml αραιωμένου πλάσματος με 0,1 ml TEClot Fib. Συνδυάζοντας την πρότυπη καμπύλη αναφοράς και τον μετρηθέντα (μέσος όρος διπλού προσδιορισμού) χρόνο σχηματισμού θρόμβου για το άγνωστο δείγμα, προκύπτει η συγκέντρωση του ινωδογόνου στο αραιωμένο διάλυμα, η οποία πολλαπλασιαζόμενη επί 10 (λόγω της αραιώσης) δίνει την συγκέντρωση του ινωδογόνου στο πλάσμα.

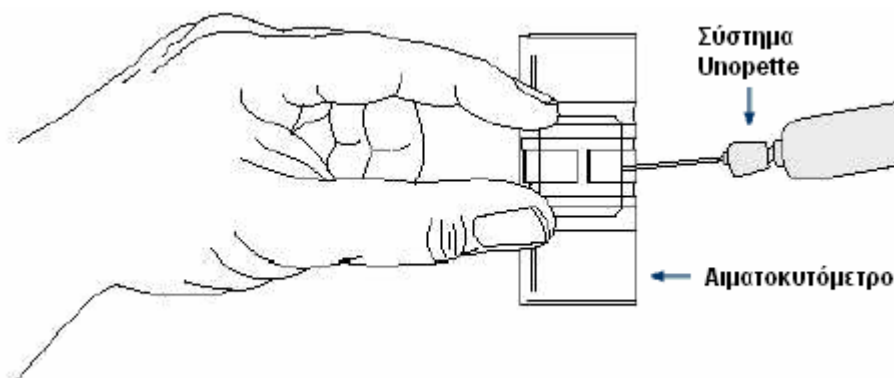
### 3.4.12 Ποσοτικός προσδιορισμός ολικού αριθμού λευκοκυττάρων στο αίμα

#### Αντιδραστήρια - Όργανα

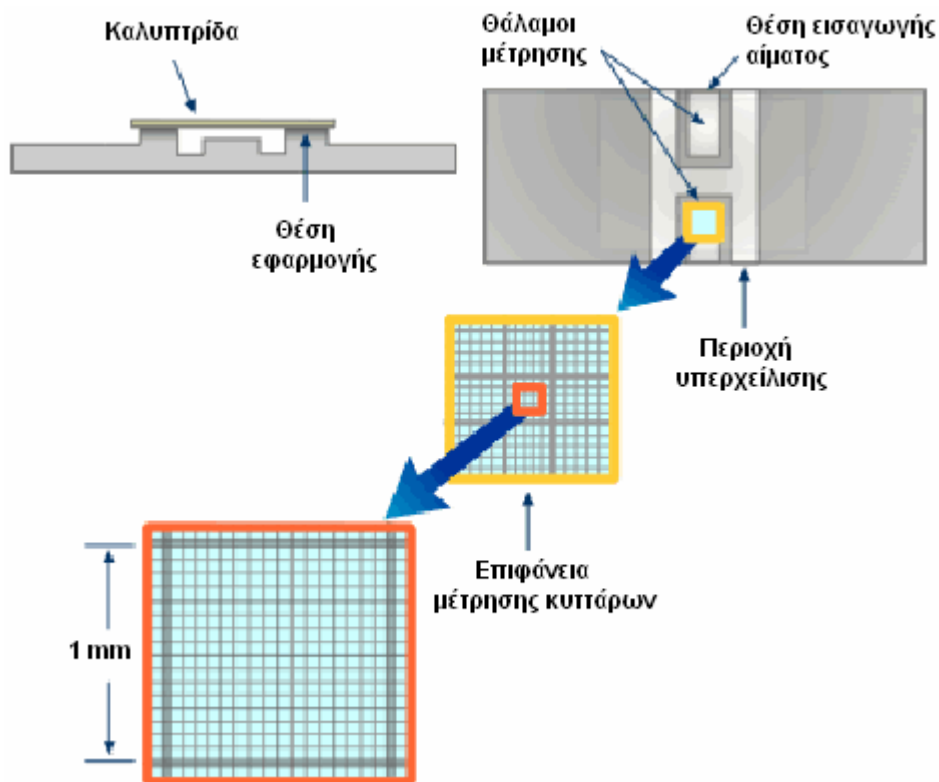
- Δ/μα αραιώσης με 11,45 g οξαλικού αμμωνίου, 1,0 g ρυθμιστικού δ/τος φωσφορικών (Sorensen's), 0,1 g θυμεροζάλης (Thimerosal) και υπερκάθαρο νερό μέχρι τελικού όγκου 1000ml
- Σύστημα Unopette για μέτρηση λευκών αιμοσφαιρίων το οποίο αποτελείται από:
  - μία σφραγισμένη μικροπιπέτα χωρητικότητας 20μl και
  - ένα πλαστικό ρεζερβουάρ (No. 5854/5855) που περιέχει προμετρημένο όγκο του διαλύματος αραιώσης (1,98 ml του δ/τος αραιώσης + 0,02 ml αίματος → 1:100 αραιώση)
- Αιματοκυτόμετρο (Neubauer)
- Καλυπτρίδα ειδική για το αιματοκυτόμετρο
- Δίσκος Petri
- Μικροσκόπιο

#### Αναλυτική πορεία

Ελεύθερα ρέον τριχοειδικό αίμα ή φλεβικό αίμα κατάλληλα αναμεμιγμένο με αντιπηκτικό προστίθεται, με την βοήθεια της μικροπιπέτας Unopette (20 μl), στο ρεζερβουάρ Unopette, όπου υπάρχει προμετρημένη ποσότητα (1,98 ml) του δ/τος αραιώσης οξαλικού αμμωνίου. Το αραιωτικό δ/μα προκαλεί λύση των ερυθροκυττάρων χωρίς να επηρεάζει τα λευκοκύτταρα και τα αιμοπετάλια. Το αραιωμένο αίμα προστίθεται στην θέση υποδοχής του αιματοκυτομέτρου το οποίο καλύπτεται με ειδική καλυπτρίδα προκειμένου ο εξεταζόμενος όγκος αίματος να είναι συγκεκριμένος (Σχήμα 3.5). Τα κύτταρα αφήνονται να σταθεροποιηθούν για χρονικό διάστημα περίπου 10 λεπτών και εν συνεχεία γίνεται καταμέτρηση των λευκών αιμοσφαιρίων σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή του αιματοκυτομέτρου.



**Σχήμα 3.5.** Σχηματική παρουσίαση εισαγωγής δείγματος στο αιματοκυτόμετρο.



Σχήμα 3.6. Σχηματική περιγραφή αιματοκυτομέτρου.

### 3.4.13 Προσδιορισμός λευκοκυτταρικού τύπου στο αίμα

#### Αντιδραστήρια - Όργανα

- Καθαρές και στεγνές υάλινες αντικειμενοφόρες πλάκες
- Δ/μα κυτταρικής βαφής Wright-Giemsa
- Δοχεία δ/τος βαφής
- Απιονισμένο ή απεσταγμένο νερό
- Μικροσκόπιο
- Έλαιο εμβύθισης (για τον καταδυτικό φακό του μικροσκοπίου)

#### Αναλυτική πορεία

Η διαδικασία προσδιορισμού του λευκοκυτταρικού τύπου (ποσοστιαία αναλογία των διαφορετικών τύπων λευκοκυττάρων – ηωσινόφιλα, βασεόφιλα, ουδετερόφιλα, λεμφοκύτταρα και μονοκύτταρα) περιλαμβάνει τρία βασικά στάδια: α) επίστρωση αίματος σε αντικειμενοφόρο πλάκα, β) βαφή των κυττάρων και γ) μέτρηση των κυττάρων. Αναλυτικότερα η διαδικασία έχει ως εξής: Αρχικά τοποθετούμε μία σταγόνα αίματος σε μία αντικειμενοφόρο πλάκα και εν συνεχεία με



την βοήθεια μιας δεύτερης πλάκας (υπό γωνία) την απλώνουμε κατάλληλα σε όλη την επιφάνεια της πρώτης πλάκας. Αφήνουμε την αντικειμενοφόρο σε οριζόντια θέση για λίγα λεπτά έως ότου στεγνώσει το δείγμα του αίματος, και ακολούθως προχωρούμε στο δεύτερο στάδιο της διαδικασίας που είναι η βαφή των κυττάρων. Η βαφή των κυττάρων κάνει πιο ευδιάκριτες τις διαφορές μεταξύ των διαφορετικών τύπων λευκοκυττάρων, διευκολύνοντας με αυτό τον τρόπο την μετέπειτα καταμέτρησή τους. Κατά το συγκεκριμένο στάδιο, εμβαπτίζουμε την πλάκα σε δοχείο που περιέχει το δ/μα βαφής (Wright-Giemsa) και το αφήνουμε για χρονικό διάστημα 15 – 30 δευτερολέπτων. Αφού επιτραπεί να απομακρυνθεί η περίσσεια της βαφής από την αντικειμενοφόρο πλάκα, εμβαπτίζουμε την πλάκα σε δεύτερο δοχείο που περιέχει απιονισμένο ή απεσταγμένο νερό για χρονικό διάστημα 5 – 15 δευτερολέπτων. Αφού απομακρυνθεί η περίσσεια του νερού, αφήνουμε την πλάκα σε οριζόντια θέση έως ότου στεγνώσει. Ακολούθως, χρησιμοποιώντας το μικροσκόπιο και επιλέγοντας τον καταδυτικό φακό (100x), καταμετρούμε 100 διαδοχικά λευκά αιμοσφαίρια, καταγράφοντας τον συνολικό αριθμό κάθε διαφορετικού τύπου κυττάρων που εντοπίσαμε. Με αυτόν τον τρόπο υπολογίζεται η ποσοστιαία αναλογία (relative count) όλων των υποομάδων των λευκών αιμοσφαιρίων. Για παράδειγμα εάν μέχρι την ολοκλήρωση της μέτρησης 100 λευκοκυττάρων εντοπίσουμε 20 λεμφοκύτταρα τότε το ποσοστό των λεμφοκυττάρων επί του συνόλου των λευκοκυττάρων είναι 20%. Προκειμένου να αναχθούν οι ποσοστιαίες αναλογίες των διαφορετικών τύπων λευκοκυττάρων σε απολύτους αριθμούς (absolute count), αρκεί να πολλαπλασιαστεί το κάθε επιμέρους ποσοστό με τον συνολικό αριθμό λευκών αιμοσφαιρίων εφόσον βέβαια έχει προηγηθεί ο ποσοτικός προσδιορισμός του συνολικού αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων π.χ. με την μέθοδο του αιματοκυτομέτρου.

#### **3.4.14 Ποσοτικός προσδιορισμός του σεληνίου σε ορό αίματος**

##### Αντιδραστήρια - Όργανα

- Διάλυμα νιτρικού οξέος 1%, X-triton 0,1% και 1-βουτανόλης 0,8%
- ICP-MS (Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometer), σύστημα φασματογράφου επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος-τετραπολικού ανιχνευτή μαζών (Agilent Technologies Model 7500, Γαλλία)

Αναλυτική πορεία [181]

Αρχικά κάθε δείγμα ορού αίματος υφίσταται το στάδιο της «χώνεψης» διαμέσου της αραίωσής του (1:9, v:v) σε όξινο διάλυμα που περιέχει νιτρικό οξύ 1%, X-triton 0,1% και 1-βουτανόλη 0,8%. Επιλέγονται οι κατάλληλες ρυθμίσεις λειτουργίας του συστήματος ICP-MS προκειμένου να επιτευχθεί η μεγαλύτερη δυνατή διακριτικότητα για το αναμενόμενο εύρος τιμών συγκεντρώσεων του σεληνίου. Στη συνέχεια κάθε δείγμα προς εξέταση εισάγεται στο ICP-MS δια ψεκασμού στο ρέον πλάσμα (αργόν) προκειμένου να αρχίσει η διαδικασία του ποσοτικού προσδιορισμού των επιπέδων σεληνίου.

### **3.4.15 Διατροφική αξιολόγηση**

Όλοι οι δοκιμαζόμενοι συμπλήρωσαν, μετά από λεπτομερή καθοδήγηση, ερωτηματολόγιο συχνότητας διατροφής 190 τροφίμων, του οποίου η εγκυρότητα έχει επιβεβαιωθεί σε προηγούμενες έρευνες [286, 287]. Από την ανάλυση των ερωτηματολογίων με την βοήθεια κατάλληλου διατροφικού λογισμικού προέκυψε εκτίμηση για την μέση διατροφική πρόσληψη ως προς τα αναλύόμενα θρεπτικά συστατικά. Η εκτίμηση της διατροφικής πρόσληψης του σεληνίου, που ενδιαφέρει περισσότερο την συγκεκριμένη έρευνα λόγω της συμμετοχής του στο κύριο αντιοξειδωτικό σύστημα του οργανισμού (υπεροξειδάση της γλουταθειόνης), συνδυάστηκε με την μέτρηση των προασκησιακών του επιπέδων στον ορό, προκειμένου η τελική διατροφική αξιολόγηση να είναι πιο εύστοχη. Τέλος, αξίζει να σημειωθεί πως η ανάλυση της διατροφικής πρόσληψης ως προς θρεπτικά συστατικά μέσω του λογισμικού βασίστηκε σε στοιχεία από τους «Πίνακες συνθέσεως τροφίμων και ελληνικών φαγητών» [288], ενώ τα ελλιπή στοιχεία της συγκεκριμένης βάσης και τα στοιχεία που αφορούσαν την περιεκτικότητα των τροφών σε σελήνιο, χαλκό και μαγγάνιο, καλύφθηκαν από αντίστοιχη αξιόπιστη βάση δεδομένων του Αμερικανικού Υπουργείου Γεωργίας (USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 16).

### **3.5 Στατιστική ανάλυση**

Όλες οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσος όρος  $\pm$  SE (standard error of the mean, σταθερό σφάλμα του μέσου) ή/και διάμεσος και τεταρτημόρια. Η κανονικότητα των συνεχών μεταβλητών εξετάσθηκε με εφαρμογή του ελέγχου Kolmogorov-Smirnov. Λόγω του γεγονότος ότι ελάχιστες από τις εξεταζόμενες μεταβλητές κατανέμονταν σύμφωνα με την κανονική κατανομή, σε συνδυασμό με το μικρό σχετικά μέγεθος δείγματος ( $N=13$ ), χρησιμοποιήθηκαν γενικά μη παραμετρικοί έλεγχοι. Συγκεκριμένα, η ύπαρξη στατιστικά σημαντικής διαφοράς μεταξύ των τιμών κάθε μεταβλητής στις διάφορες χρονικές στιγμές διερευνήθηκε εφαρμόζοντας τον έλεγχο Friedman, ενώ post-hoc συγκρίσεις έγιναν χρησιμοποιώντας τον έλεγχο Wilcoxon, προκειμένου να εντοπιστούν τα χρονικά σημεία όπου εμφανίζεται η εκάστοτε στατιστικά σημαντική διαφορά. Αξίζει να σημειωθεί ότι εφαρμόσθηκε ο κανόνας Bonferroni ώστε να αντισταθμιστεί το σφάλμα Τύπου 1 λόγω των πολλαπλών συγκρίσεων. Επιπλέον, η μέθοδος της ανάλυσης διακύμανσης επαναλαμβανομένων μετρήσεων (repeated measures ANOVA) εφαρμόσθηκε προκειμένου να αξιολογηθούν οι πιθανές συσχετίσεις μεταξύ διάφορων ανεξάρτητων (π.χ. επίπεδα σεληνίου) και εξαρτημένων μεταβλητών (π.χ. PAF) καθ'όλη την φάση αξιολόγησης. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε σε  $p<0,05$ . Όλες οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν μέσω του λογισμικού στατιστικής SPSS 11.5 (SPSS, Inc., Chicago, IL).

## 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 4.1 Έλεγχος εγκυρότητας και επαναληψιμότητας του νέου δυναμομέτρου

Όπως προαναφέρθηκε στην παράγραφο 3.1.2 (Μέθοδοι & Υλικά), προτού χρησιμοποιηθεί στην κύρια έρευνα το νεοδημιουργηθέν σύστημα δυναμομέτρου, κρίθηκε απολύτως απαραίτητο να διενεργηθεί μία σειρά ελέγχων ως προς την ακρίβεια των μετρήσεών του. Ακολούθως παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των αντίστοιχων ελέγχων.

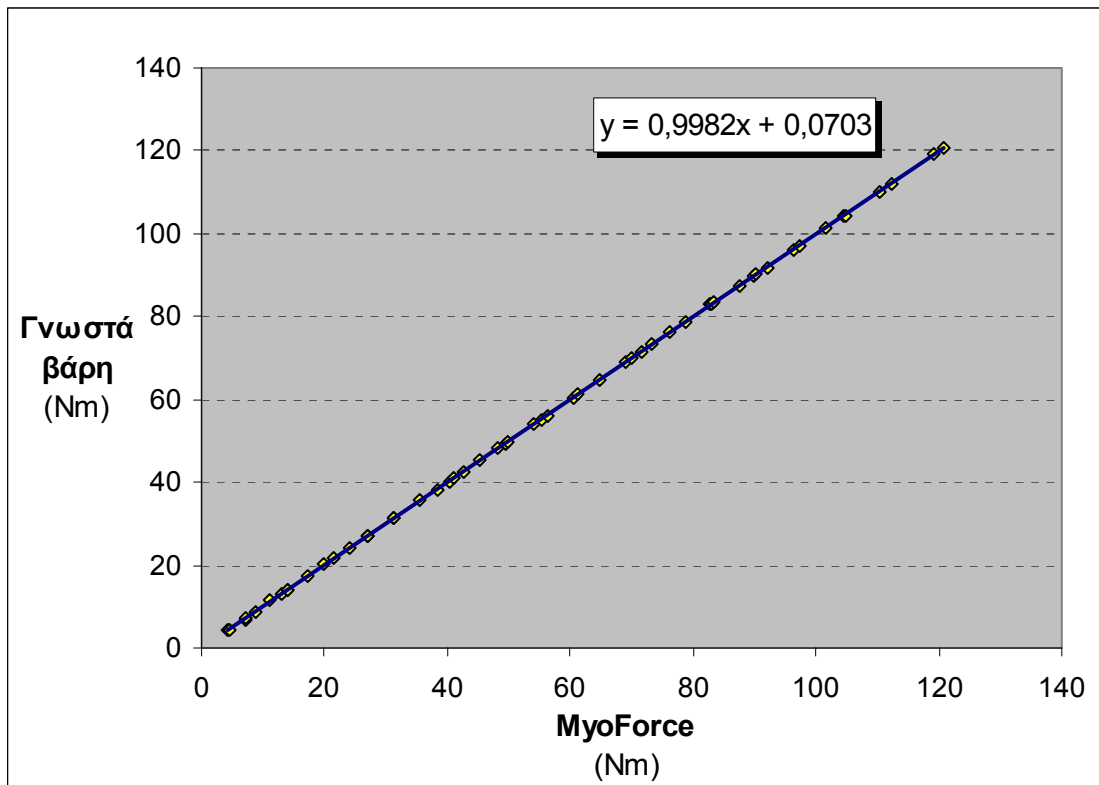
#### 4.1.1 Αποτελέσματα ελέγχων εγκυρότητας

Ο συντελεστής συσχέτισης του Pearson, το τυπικό σφάλμα εκτίμησης (typical error of estimate) και η αντίστοιχη εξίσωση εκτίμησης για κάθε εξεταζόμενη παράμετρο παρουσιάζονται στον πίνακα 4.1. Τα αποτελέσματα των συγκρίσεων μεταξύ των μετρούμενων τιμών θέσης και ροπής, με τις τιμές που προέκυψαν από την εφαρμογή των μεθόδων αναφοράς (εξωτερικό κλισιόμετρο, γνωστά βάρη, ισοκινητικό δυναμόμετρο) φανέρωσαν υψηλό βαθμό συμφωνίας (Σχήμα.4.1, 4.2 και 4.3).

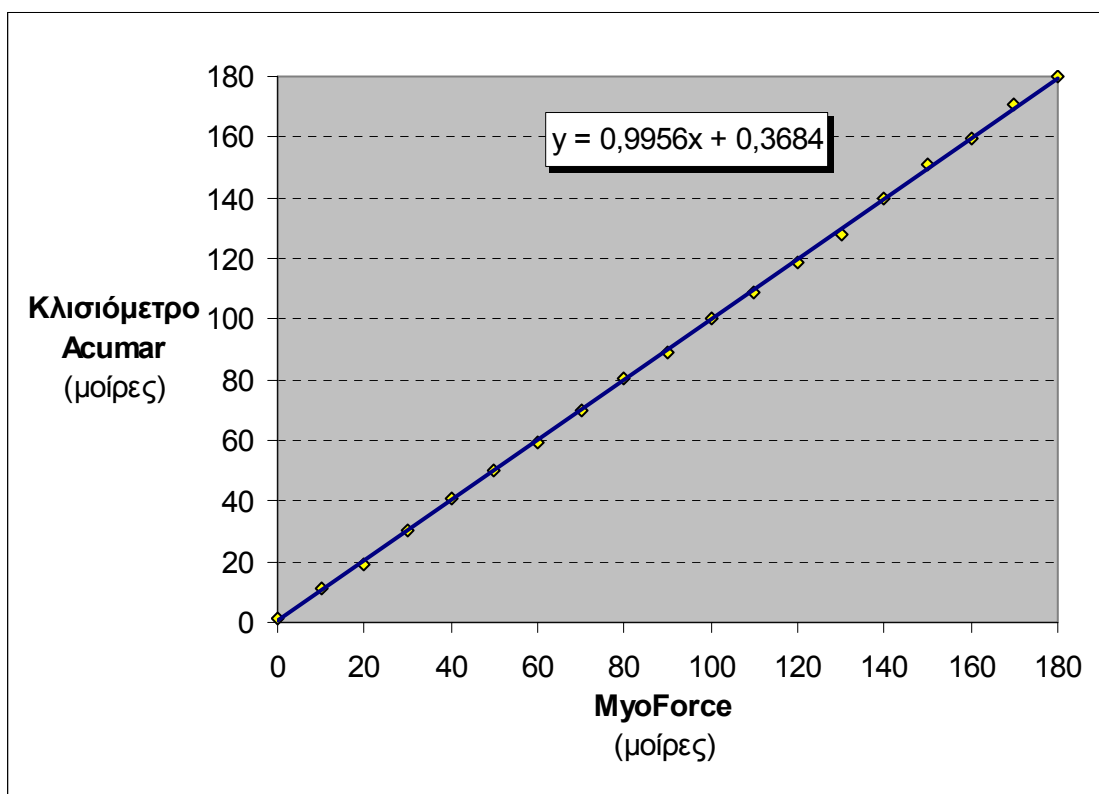
**Πίνακας 4.1.** Αποτελέσματα ελέγχων εγκυρότητας (validity tests)

| Εξεταζόμενη<br>παράμετρος<br>(x)     | Μέθοδος<br>αναφοράς<br>(y)                 | Συντελεστής<br>συσχέτισης<br>Pearson | Τυπικό<br>σφάλμα<br>εκτίμησης | Εξίσωση εκτίμησης      |
|--------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|------------------------|
| Γωνιακή θέση<br>βραχίονα<br>(μοίρες) | Εξωτερικό<br>κλισιόμετρο<br>(Acumar)       | 0,999                                | 0,96 μοίρες                   | $y = 0,9956x + 0,3684$ |
| Ροπή<br>(Nm)                         | Γνωστά βάρη                                | 0,999                                | 0,11 Nm                       | $y = 0,9982x + 0,0703$ |
| MIT (90°)<br>(Nm)                    | Ισοκινητικό<br>δυναμόμετρο<br>(Cybex 6000) | 0,952                                | 2,88 Nm                       | $y = 0,9244x + 6,5198$ |

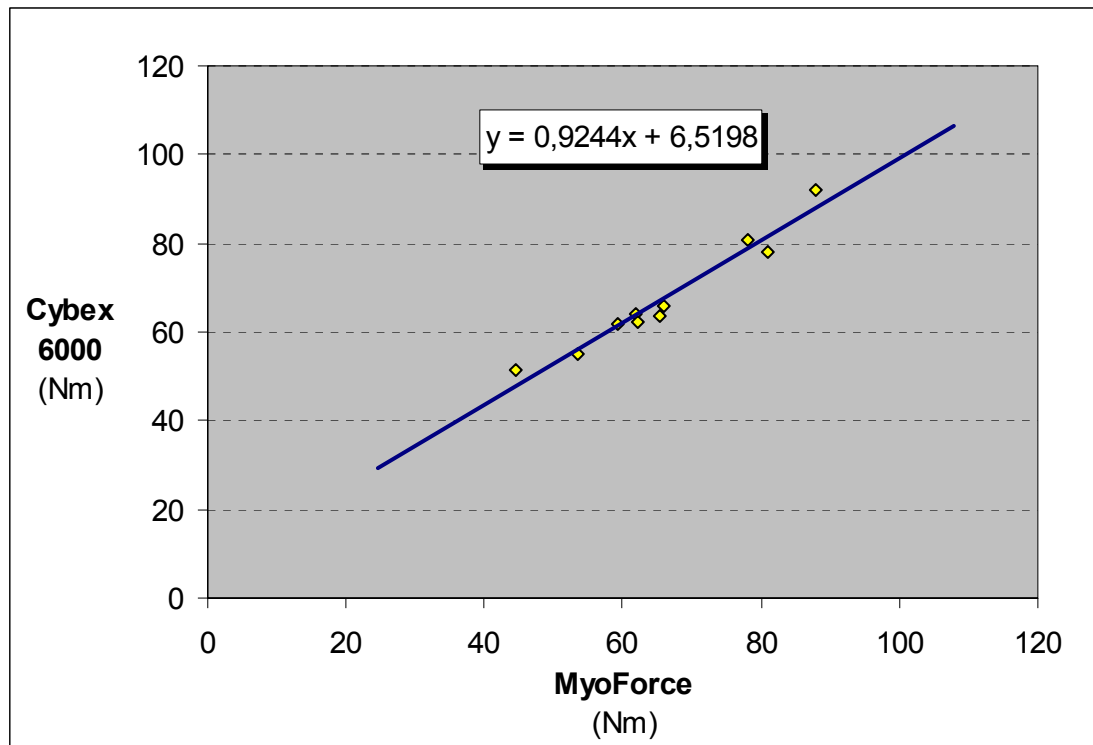
Σύντμηση: MIT (Μέγιστη Ισομετρική Ροπή)



Σχήμα 4.1. Έλεγχος εγκυρότητας με μέθοδο αναφοράς: «Γνωστά Βάρη».



Σχήμα 4.2. Έλεγχος εγκυρότητας με μέθοδο αναφοράς: «Εξωτερικό κλισιόμετρο (Acumar)».



**Σχήμα 4.3.** Έλεγχος εγκυρότητας με μέθοδο αναφοράς: «Ισοκινητικό δυναμόμετρο (Cybex 6000)».

#### 4.1.2 Αποτελέσματα ελέγχων επαναληψιμότητας

Οι τιμές του  $ICC_{[2,1]}$  που εκφράζουν τον βαθμό επαναληψιμότητας του μηχανήματος μεταξύ δύο διαδοχικών προσπαθειών (trial to trial) και μεταξύ δυο διαδοχικών ημερών (day to day) μαζί με τις αντίστοιχες τιμές των SEMs για κάθε εξεταζόμενη μεταβλητή παρουσιάζονται στους πίνακες 4.2, 4.3 και 4.4. Η ανάλυση των συσχετίσεων «trial to trial» που αφορούν την MIT στις διάφορες γωνίες του αγκώνα (Πίνακας 4.2) έδειξαν άριστο βαθμό επαναληψιμότητας, αφού οι τιμές του  $ICC_{[2,1]}$  κυμαίνονταν από 0,889 έως 0,971 με μεγαλύτερη τιμή στην μεσαία θέση (90°). Όσον αφορά τις υπόλοιπες παραμέτρους της μυϊκής δύναμης που αξιολογήθηκαν (Πίνακας 4.3), η ανάλυση των συσχετίσεων «trial to trial» επίσης έδειξε άριστη επαναληψιμότητα, εκτός από τον χρόνο αντίδρασης και τον χρόνο μέχρι την μέγιστη ροπή, οι οποίες παράμετροι εμφάνισαν απλώς καλό βαθμό επαναληψιμότητας ( $ICC_{[2,1]} < 0,75$ ). Οι συσχετίσεις «day-to-day» που αναλύθηκαν για την MIT σε γωνία αγκώνα 90° (Πίνακας 4.4) έδειξαν επίσης άριστο βαθμό επαναληψιμότητας ( $ICC_{[2,1]} = 0,986$ ).

**Πίνακας 4.2.** Αποτελέσματα συσχετίσεων «trial-to-trial» που αφορούν την μέγιστη ισομετρική ροπή σε διάφορες γωνίες του αγκώνα (με  $0^\circ$  οριζόμενη ως η γωνία του αγκώνα σε πλήρη έκταση)

| Παράμετρος | ICC <sub>[2,1]</sub> | SEM |
|------------|----------------------|-----|
| MIT(20°)   | 0,889                | 4,0 |
| MIT(40°)   | 0,932                | 3,1 |
| MIT(90°)   | 0,971                | 2,4 |
| MIT(110°)  | 0,941                | 2,6 |
| MIT(130°)  | 0,899                | 2,9 |

**Συντμήσεις:** MIT (Μέγιστη Ισομετρική Ροπή), ICC («Intraclass» συντελεστής συσχέτισης), SEM (Τυπικό σφάλμα μέτρησης)

**Πίνακας 4.3.** Αποτελέσματα συσχετίσεων «trial-to-trial» που αφορούν διάφορες παραμέτρους της ισομετρικής μυϊκής δύναμης

| Παράμετρος                        | ICC <sub>[2,1]</sub> | SEM   |
|-----------------------------------|----------------------|-------|
| MRTD<br>(Nm/sec)                  | 0,847                | 59,6  |
| Ισχύς (t= 200 msec)<br>(Nm.sec)   | 0,903                | 0,6   |
| Κλίση (t= 200 msec)<br>(Nm/sec)   | 0,915                | 18,6  |
| Χρόνος μέχρι ροπή = MIT<br>(msec) | 0,513                | 636,2 |
| Ροπή (t=200 msec)<br>(Nm)         | 0,915                | 3,7   |
| Χρόνος αντίδρασης<br>(msec)       | 0,646                | 48,9  |

**Συντμήσεις:** ICC («Intraclass» συντελεστής συσχέτισης), SEM (Τυπικό σφάλμα μέτρησης), MRTD (Μέγιστος ρυθμός ανάπτυξης ροπής)

**Πίνακας 4.4.** Αποτελέσματα συσχετίσεων «day-to-day» που αφορούν την μέγιστη ισομετρική ροπή

| Παράμετρος | ICC <sub>[2,1]</sub> | SEM                  |
|------------|----------------------|----------------------|
| MIT (90° ) | 0,986                | 1,5                  |
| (Nm)       | Ημέρα 1 <sup>η</sup> | Ημέρα 2 <sup>η</sup> |
|            | M.o. ± S.d.          | M.o. ± S.d.          |
|            | 63,41 ± 12,8         | 64,73 ± 12,7         |

**Συντμήσεις:** MIT (Μέγιστη Ισομετρική Ροπή), ICC («Intraclass» συντελεστής συσχέτισης), SEM (Τυπικό σφάλμα μέτρησης), SD (Τυπική απόκλιση)

#### 4.1.3 Σχολιασμός αποτελεσμάτων ελέγχου εγκυρότητας και επαναληψιμότητας του δυναμομέτρου

Τα αποτελέσματα του συνόλου των ελέγχων εγκυρότητας και επαναληψιμότητας που διενεργήθηκαν υποστηρίζουν πως η ισομετρική αξιολόγηση των χαρακτηριστικών της μυϊκής δύναμης των καμπτήρων μυών του αγκώνα με το νεοδημιουργηθέν σύστημα δυναμομέτρησης είναι έγκυρη και επαναλήψιμη. Αυτό το εύρημα είναι σε συμφωνία και με την γενικότερη παρατήρηση σύμφωνα με την οποία ο ισομετρικός τύπος αξιολόγησης διακρίνεται συνήθως για τον υψηλό βαθμό αξιοπιστίας του [289]. Ωστόσο, σχετικά με τον χρόνο αντίδρασης και τον χρόνο μέχρι την μέγιστη ροπή, οι συσχετίσεις trial to trial έδειξαν απλώς καλή επαναληψιμότητα ( $ICC_{[2,1]} < 0,75$ ). Αυτό το εύρημα δεν θα μπορούσε να αποδοθεί σε κάποια πιθανή αδυναμία του λογισμικού του συστήματος, αφού η αξιοπιστία της μέτρησης του χρόνου ελέγχθηκε επανειλημμένως με την βοήθεια πιστοποιημένου παλμογράφου που επιβεβαίωσε την αναμενόμενη ακρίβεια του 1 msec. Η πιο πιθανή εξήγηση για την συγκεκριμένη παρατήρηση είναι πως οι συμμετέχοντες στην παρούσα έρευνα, όντας μη αθλητές, δεν ήταν εξοικιωμένοι αρκετά στο να αναπτύσσουν με το ταχύτερο δυνατό τρόπο μέγιστη προσπάθεια αμέσως μετά το τυχαίο χρονικά άναμμα του ειδικού λαμπτήρα. Κατά συνέπεια, κρίνεται απαραίτητη η διεξαγωγή μελλοντικών μελετών αξιοπιστίας του μηχανήματος με αθλητές ως δείγματα (π.χ. δρομείς ταχύτητας) οι οποίες θα διαλευκάνουν τα αίτια της συγκεκριμένης παρατήρησης.



Το εύρημα που προέκυψε από τις συσχετίσεις για την MIT στις διάφορες γωνίες του αγκώνα, σύμφωνα με το οποίο ο συντελεστής ICC<sub>[2,1]</sub> εμφάνισε την υψηλότερη τιμή στην μεσαία θέση (90°) και τις χαμηλότερες στις ακραίες θέσεις (20° και 130°), είναι σε συμφωνία με τα αποτελέσματα σχετικής έρευνας του *Thomis et al.* [290]. Στην συγκεκριμένη έρευνα οι ερευνητές αξιολόγησαν την μέγιστη ισομετρική ροπή σε πέντε διαφορετικές γωνίες του αγκώνα (10°, 40°, 70°, 100° και 130°) με τη βοήθεια ενεργητικού δυναμομέτρου (Promett Evaluation System). Τα αποτελέσματα των trial to trial συσχετίσεων κυμαίνονταν από 0,93 στις ακραίες θέσεις έως 0,97 στην μεσαία θέση (70°). Πιθανότατα, αυτή η διακύμανση μπορεί να οφείλεται στον μεγαλύτερο βαθμό «δυσφορίας» που νιώθουν τα εξεταζόμενα άτομα όταν καλούνται να αναπτύξουν μέγιστη δύναμη στις ακραίες θέσεις συγκριτικά με την μεσαία θέση. Αυτή η άποψη ενισχύεται και από τα αποτελέσματα εργασίας του *Leemputte et al.* [291] όπου διαμέσου ηλεκτρομυογραφικής αξιολόγησης διαπιστώθηκε πως ο βαθμός μυϊκής ενεργοποίησης είναι περισσότερο ασταθής στις ακραίες θέσεις (130° και 10°) σε σχέση με τις μεσαίες θέσεις.

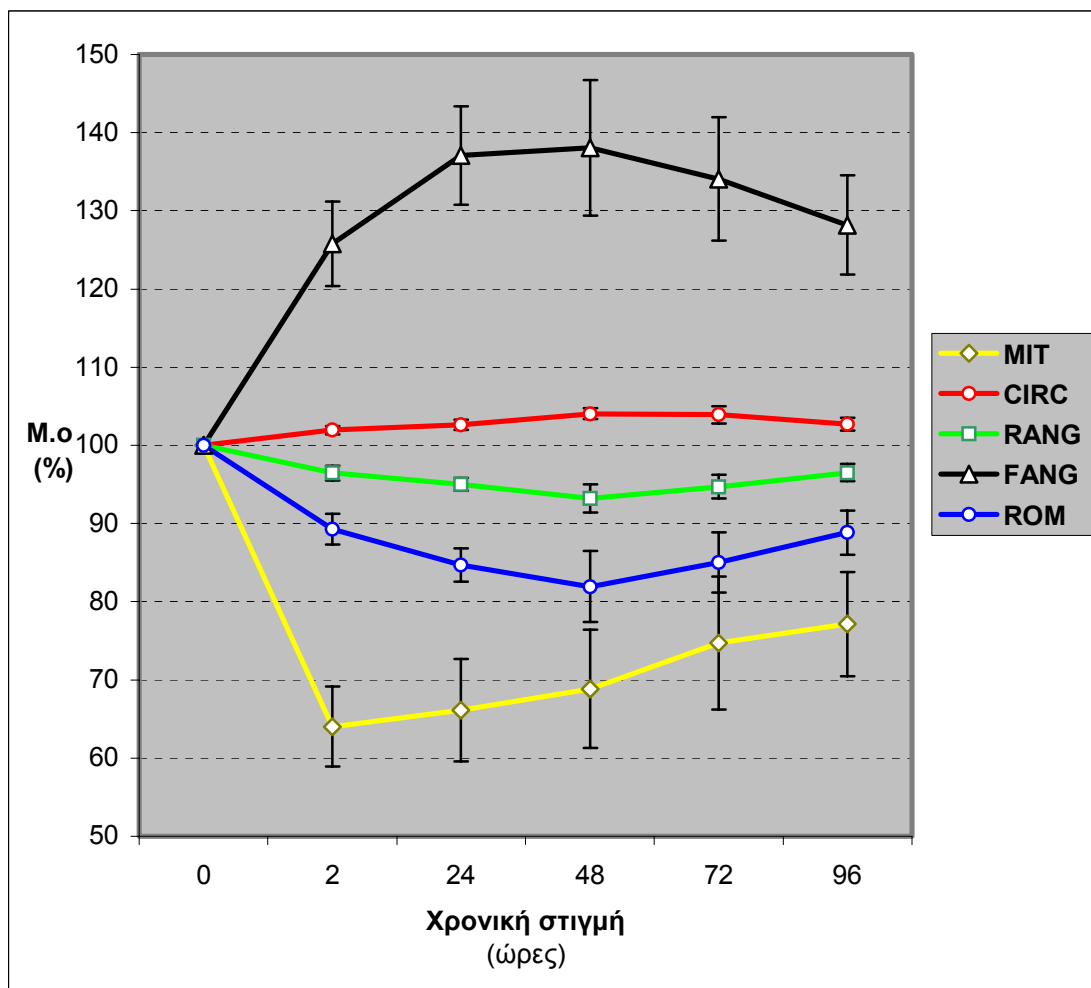
Συνοψίζοντας, το νεοδημιουργηθέν σύστημα αξιολόγησης φαίνεται πως τηρεί τις απαραίτητες προϋποθέσεις εγκυρότητας και επαναληψιμότητας προκειμένου να μπορεί να χρησιμοποιηθεί ανεπιφύλακτα στα μετέπειτα στάδια της παρούσας έρευνας.

## **4.2 Αποτελέσματα κύριας έρευνας**

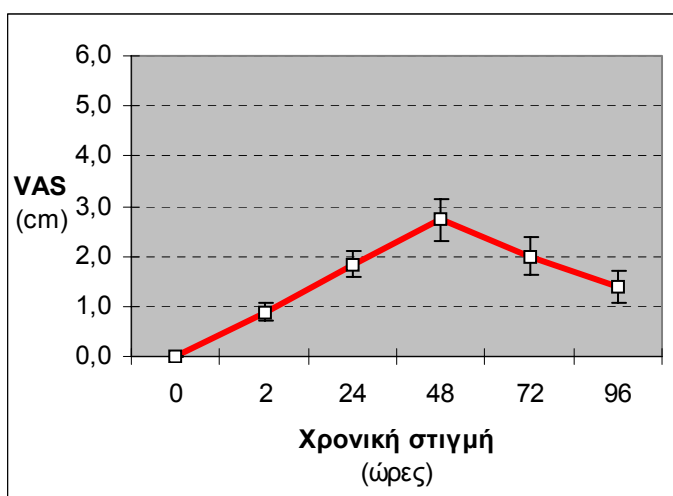
Η προκληθείσα μυϊκή βλάβη μετά την εκτέλεση από τους δοκιμαζόμενους του επιλεγμένου πρωτοκόλλου πλειομετρικών μυϊκών συστολών, συνοδεύτηκε από σημαντικές αλλαγές σε πολλές από τις μετρηθείσες παραμέτρους. Ακολουθεί αναλυτική παρουσίαση του συνόλου των μετρήσεων υπό μορφή πινάκων, αλλά και γραφημάτων. Τέλος, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των στατιστικών ελέγχων οι οποίοι εξέτασαν την ύπαρξη στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων ανάμεσα στις μετρηθείσες μεταβλητές.

### **4.2.1 Μυϊκή δύναμη, γωνίες άρθρωσης, περίμετρος βραχιονίου, μυϊκός πόνος**

Οι μετασκησιακές μεταβολές των συγκεκριμένων δεικτών μυϊκής βλάβης παρουσιάζονται στον πίνακα 4.5. Η μέγιστη ισομετρική ροπή σε γωνία αγκώνα 90° (MIT-90°) παρουσίασε μία σημαντική πτώση ( $p<0,05$ ) στις 2h μετά την άσκηση φτάνοντας κατά μέσο όρο περίπου στο 63% του επιπέδου πριν την άσκηση. Πλήρης ανάκτηση της MIT (90°) δεν παρατηρήθηκε μέχρι το πέρας του πειράματος (~77% του αρχικού επιπέδου). Το εύρος τροχιάς της άρθρωσης του αγκώνα (ROM) εμφάνισε επίσης σημαντική πτώση, με την ελάχιστη τιμή να παρατηρείται στην χρονική στιγμή  $t=48h$  (~82% του αρχικού επιπέδου). Αυτή η μείωση οφειλόταν σε μεγαλύτερο βαθμό στην αύξηση της FANG, η οποία εκφράζει την ικανότητα μέγιστης ενεργητικής βράχυνσης των ασκηθέντων μυών, και λιγότερο στην μείωση της RANG που εκφράζει την αυτόματη μυϊκή βράχυνση. Η περίμετρος του βραχιονίου (CIRC) εμφάνισε σταδιακή αύξηση η οποία άρχισε ήδη από τις δύο πρώτες ώρες μετά την άσκηση και μεγιστοποιήθηκε 48 ώρες μετά. Ο μυϊκός πόνος (VAS), όπως αυτός καταγράφηκε, εμφάνισε επίσης μία σταδιακή αύξηση μέχρι τις 48h η οποία ακολουθήθηκε από σταδιακή μείωση. Αξίζει να σημειωθεί ότι όλες οι προαναφερθείσες παράμετροι εμφάνισαν σημεία αποκατάστασης κυρίως μετά τις 48h. Επιπλέον, πρέπει να προστεθεί πως οι τιμές των συγκεκριμένων παραμέτρων (MIT, ROM, FANG, RANG, CIRC, VAS) σε όλες τις χρονικές στιγμές μετά την άσκηση που εξετάστηκαν ήταν στατιστικώς σημαντικά ( $p<0,05$ ) διαφορετικές συγκριτικά με τα αρχικά επίπεδα. Οι μεταβολές των ανωτέρω παραμέτρων (εκτός του μυϊκού πόνου) εκφράζονται ποσοστιαία στα σχήματα 4.4 και 4.5, προκειμένου να διευκολύνεται η σύγκριση μεταξύ των μεταβολών μεταβλητών με διαφορετικές μονάδες μέτρησης.



**Σχήμα 4.4.** Μεταβολές (μ.ο. %  $\pm$  SE) της μέγιστης ισομετρικής ροπής (MIT) στις 90°, της περιμέτρου του βραχιονίου (CIRC), της γωνίας ανάπαυσης του αγκώνα σε απουσία μυϊκής σύσπασης (RANG), της γωνίας μέγιστης ενεργητικής κάμψης του αγκώνα (FANG) και του εύρους τροχιάς του αγκώνα (ROM) κατά την διάρκεια των πρώτων 96 ωρών μετά την εκτέλεση του πλειομετρικού πρωτοκόλλου. Το (%) υποδηλώνει ότι οι μέσοι όροι εκφράζονται ως ποσοστό των αρχικών επιπέδων. Όλες οι τιμές των παραμέτρων μετά την άσκηση διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά ( $p < 0,05$ ) συγκριτικά με τις αντίστοιχες τιμές προ άσκησης.



**Σχήμα 4.5.** Μεταβολές (μ.ο.  $\pm$  SE) του μυϊκού πόνου όπως αυτός αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας κλίμακα υποκειμενικής αξιολόγησης (VAS, 0–10 cm). Όλες οι τιμές μετά την άσκηση διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά ( $p < 0,05$ ) συγκριτικά με τα αρχικά επίπεδα.

**Πίνακας 4.5.** Επίπεδα δεικτών μυϊκής λειτουργίας πριν και μετά το πρωτόκολλο άσκησης

|                         | 0h        | 2h         | 24h        | 48h        | 72h        | 96h        |
|-------------------------|-----------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>MIT</b><br>(Nm)      | 54,9±3,2  | 34,4±2,7*  | 35,9±3,8*  | 36,7±3,4*  | 40,4±4,3*  | 42,1±3,9*  |
| <b>ROM</b><br>(μοίρες)  | 126,5±1,9 | 112,8±2,2* | 106,9±2,3* | 103,4±5,5* | 107,2±4,5* | 112,0±3,0* |
| <b>FANG</b><br>(μοίρες) | 32,2±1,3  | 40,2±2,0*  | 43,7±2,0*  | 44,4±3,4*  | 43,0±3,0*  | 41,0±2,4*  |
| <b>RANG</b><br>(μοίρες) | 158,7±1,8 | 153,0±1,8* | 150,6±1,4* | 147,7±2,8* | 150,2±2,4* | 153,0±1,6* |
| <b>CIRC</b><br>(εκατ.)  | 30,4±0,7  | 31,0±0,7*  | 31,2±0,7*  | 31,6±0,8*  | 31,6±0,8*  | 31,2±0,7*  |
| <b>VAS</b><br>(εκατ.)   | 0,0±0,0   | 0,89±0,18* | 1,84±0,26* | 2,73±0,41* | 2,00±0,39* | 1,40±0,32* |

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

#### 4.2.2 Βιοχημικοί και φλεγμονώδεις δείκτες στο αίμα

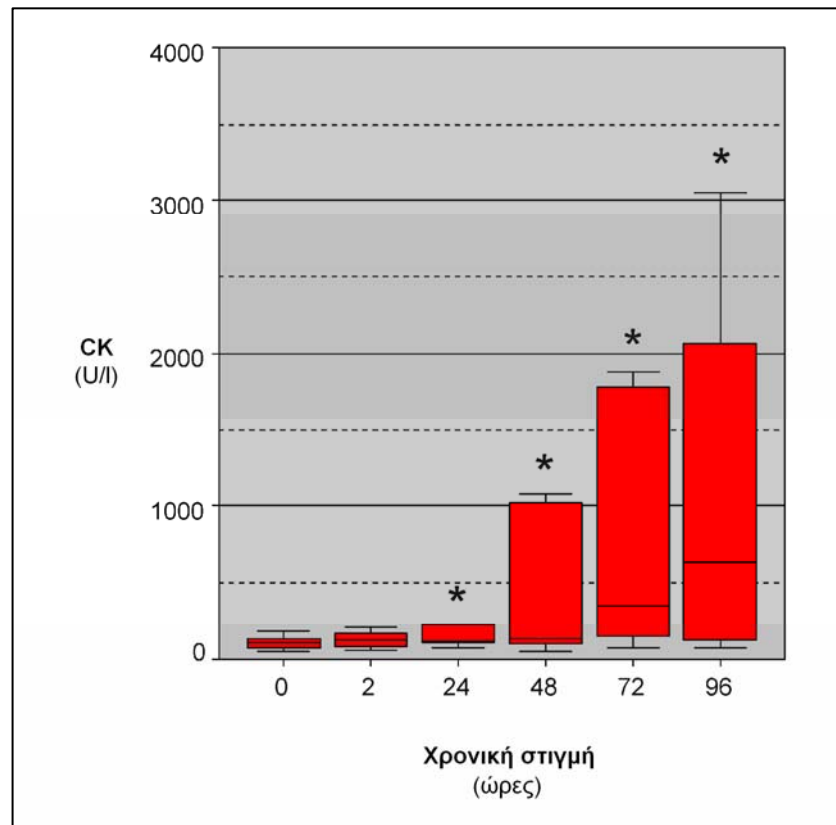
Ανάμεσα στους δείκτες αίματος οι οποίοι αξιολογήθηκαν, μόνο η κρεατινική κινάση (Σχήμα 4.6), η γαλακτική αφυδρογονάση (Σχήμα 4.7), τα λευκά αιμοσφαίρια (Πίνακας 4.7) και ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (Σχήμα 4.8) εμφάνισαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές μετά την άσκηση. Αντιθέτως, οι υπόλοιποι φλεγμονώδεις δείκτες (PAF-AH, CRP, C3 και ινωδογόνο – Πίνακας 4.6) δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές. Οι ενζυμικές δραστηριότητες της CK και της LDH εμφάνισαν σημαντική αύξηση ήδη από τις 24h ενώ τα υψηλότερα επίπεδα τους βρέθηκαν σε χρόνο 96h μετά την άσκηση. Τα λευκά αιμοσφαίρια εμφάνισαν στατιστικώς σημαντικά μεγαλύτερες τιμές από τα αρχικά τους επίπεδα, στους χρόνους 2 και 48h, παραμένοντας ωστόσο εντός φυσιολογικών ορίων. Όσον αφορά τις επιμέρους υποκατηγορίες των λευκοκυττάρων (Πίνακας 4.7), τα ηωσινόφιλα εμφάνισαν στατιστικώς σημαντική αύξηση στις 2 και στις 72h με μεγαλύτερη τιμή στις 72h, τα ουδετερόφιλα στους χρόνους 2, 24 και 48h με μέγιστη τιμή στις 48h, τα μονοκύτταρα στις 2, 48, 72 και 96h με μέγιστη τιμή στις 96h, ενώ τα

λεμφοκύτταρα παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικά μειωμένα επίπεδα σε χρόνους 2 και 72h με ελάχιστα επίπεδα να παρατηρούνται στις 2h. Ο ελεύθερος (Free PAF), ο δεσμευμένος (Bound PAF) και ο ολικός PAF (Total PAF) παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικά αυξημένα επίπεδα σε χρόνους 48h, σε 24 και 48h και σε 24, 48 και 72h αντίστοιχα (Σχήμα 4.8). Στον πίνακα 4.6 παρουσιάζονται συγκεντρωτικά οι διακυμάνσεις των επιπέδων μυϊκών ενζύμων και φλεγμονωδών δεικτών που μετρήθηκαν στον ορό αίματος πριν και μετά το πρωτόκολλο πρόκλησης ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, ενώ ο πίνακας 4.7 και τα σχήματα 4.9 και 4.10 παρουσιάζουν την «συμπεριφορά» του ολικού αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων καθώς επίσης και των επιμέρους υποομάδων τους στο ίδιο χρονικό διάστημα.

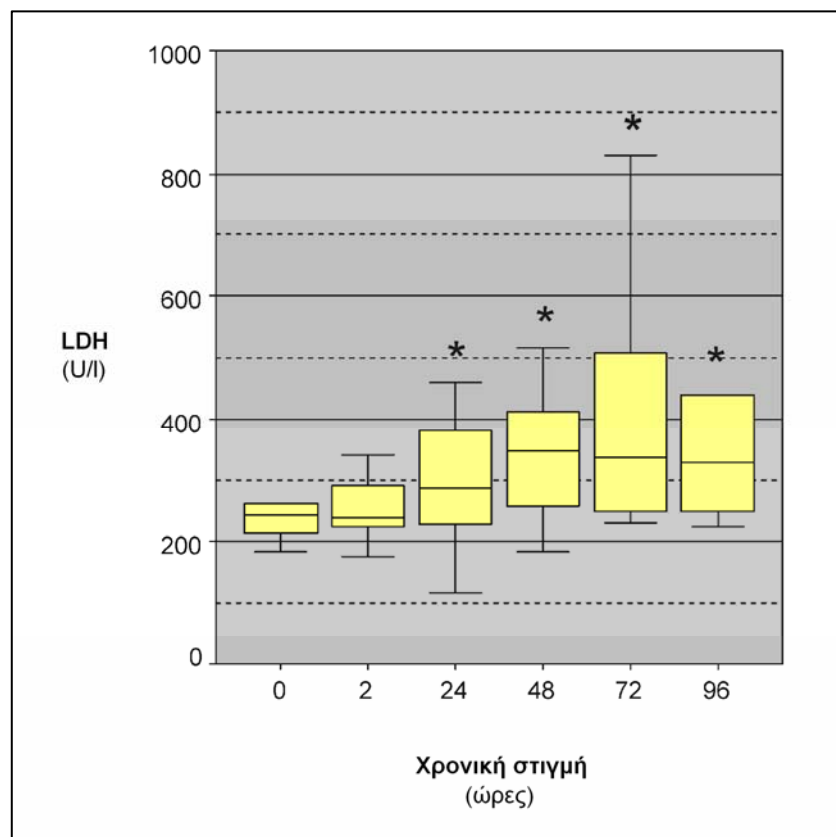
**Πίνακας 4.6.** Επίπεδα μυϊκών ενζύμων και φλεγμονωδών δεικτών στο αίμα πριν και μετά το πρωτόκολλο πρόκλησης ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης

|                                                   | 0h          | 2h          | 24h          | 48h          | 72h          | 96h          |
|---------------------------------------------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| <b>CK</b><br>(U/L)                                | 112,2±12,2  | 125,3±13,3  | 236,3± 62,0* | 2194±1482*   | 4709±3372*   | 6315±4561*   |
| <b>LDH</b><br>(U/L)                               | 255,7±32,7  | 267,3±30,6  | 320,9±44,7*  | 451,9±127,5* | 621,4±225,4* | 657,5±263,9* |
| <b>Free PAF</b><br>(pmoles/ml)                    | 31,6±15,5   | 21,2±4,9    | 313,7±296,9  | 32,5±13,3*   | 399,9±336,8  | 37,4±13,7    |
| <b>Bound PAF</b><br>(pmoles/ml)                   | 24,5±7,0    | 24,1±4,1    | 594,0±389,3* | 172,6±75,3*  | 62,6±31,4    | 16,2±3,2     |
| <b>Total PAF</b><br>(pmoles/ml)                   | 56,1±19,3   | 45,3±6,4    | 907,7±462,8* | 205,1±80,4*  | 462,5±337,5* | 53,6±15,0    |
| <b>PAF AH</b><br>(pmoles PAF /<br>min / mg πρωτ.) | 0,569±0,282 | 0,570±0,281 | 0,658±0,349  | 0,590±0,281  | 0,673±0,375  | 0,578±0,277  |
| <b>CRP</b><br>(mg/dl)                             | 2,6±0,9     | 2,4±0,9     | 2,8±0,9      | 2,5±0,8      | 2,4±0,7      | 2,4±0,8      |
| <b>C3</b><br>(g/L)                                | 1,20±0,06   | 1,21±0,07   | 1,20±0,07    | 1,15±0,06    | 1,15±0,04    | 1,14±0,05*   |
| <b>Ινωδογόνο</b><br>(mg/dl)                       | 329±23      | 337±19      | 334±18       | 338±15       | 325±20       | 335±18       |

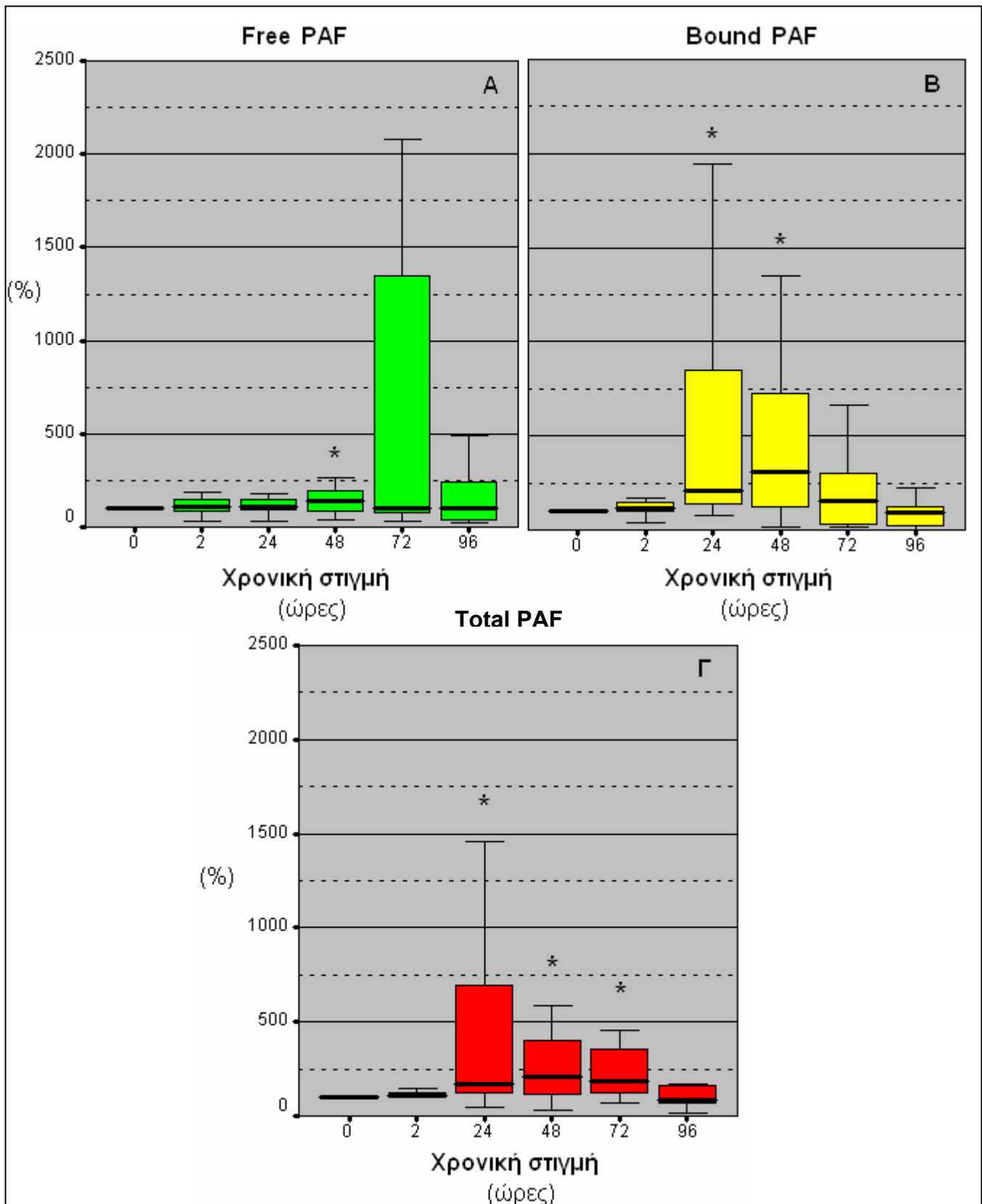
\*p<0,05 στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή t=0h. Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±SEM. **Συντμήσεις:** CK (κρεατινική κινάση), LDH (γαλακτική αφυδρογονάση), Free PAF (ελεύθερος παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων), Bound PAF (δεσμευμένος PAF), Total PAF (ολικός PAF), PAF-AH (PAF-ακετυλοϋδρολάση), CRP (C-αντιδρώσα πρωτεΐνη), C3 (συμπλήρωμα C3)



**Σχήμα 4.6.**  
Μεταβολές της δραστηριότητας της κρεατινικής κινάσης (CK) στον ορό αίματος, στις πρώτες 96h μετά από την εκτέλεση του πρωτοκόλλου άσκησης. \* $p < 0,05$  στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή  $t=0h$ .



**Σχήμα 4.7.**  
Μεταβολές της δραστηριότητας της γαλακτικής αφυδρογονάσης (LDH) στον ορό αίματος, στις πρώτες 96h μετά από την εκτέλεση του πρωτοκόλλου άσκησης. \* $p < 0,05$  στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή  $t=0h$ .

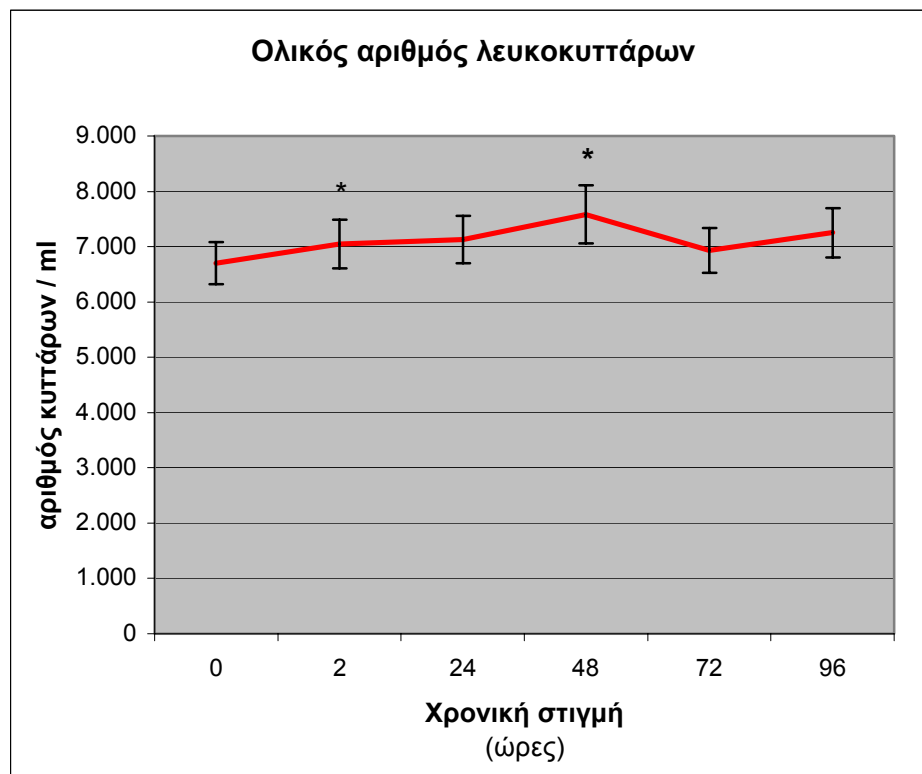


**Σχήμα 4.8.** Μεταβολές των επιπέδων του παράγοντα ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (PAF) στο αίμα στις πρώτες 96h μετά την εκτέλεση του πρωτοκόλλου άσκησης. Το σύμβολο (%) δείχνει πως οι μέσοι όροι των μεταβλητών σε όλες τις χρονικές στιγμές εκφράζονται ως ποσοστό των αντίστοιχων αρχικών επιπέδων. \* $p < 0,05$  στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή  $t=0h$ .

**Πίνακας 4.7.** Επίπεδα λευκών αιμοσφαιρίων και των υποομάδων τους στον ορό αίματος πριν και μετά το πρωτόκολλο πρόκλησης ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης

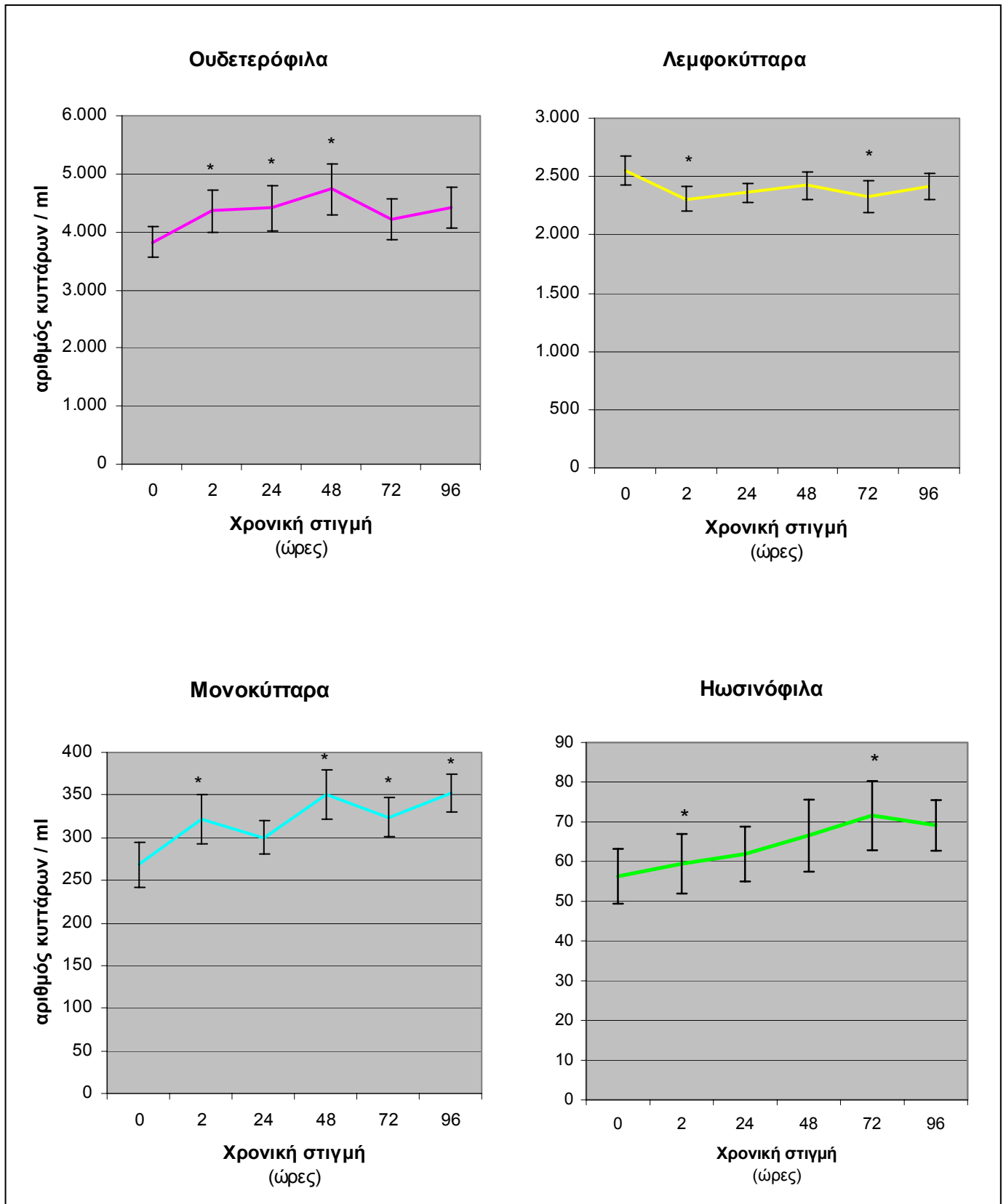
|                     | 0h           | 2h          | 24h        | 48h         | 72h         | 96h         |
|---------------------|--------------|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>Λευκοκύτταρα</b> | 100,0±0,0    | 105,1±2,0*  | 107,3±4,0  | 113,7±5,6*  | 104,4±4,8   | 109,7±6,4   |
| (%)                 | (6700±384,3) |             |            |             |             |             |
| <b>Ηωσινόφιλα</b>   | 100,0±0,0    | 105,0±1,9*  | 115,9±9,8  | 132,3±18,8  | 136,1±14,7* | 137,4±18,5  |
| (%)                 | (56±6,9)     |             |            |             |             |             |
| <b>Ουδετερόφιλα</b> | 100,0±0,0    | 113,4±4,2*  | 116,0±7,1* | 124,7±9,2*  | 112,3±8,8   | 118,5±10,4  |
| (%)                 | (3826±261,8) |             |            |             |             |             |
| <b>Λεμφοκύτταρα</b> | 100,0±0,0    | 91,2±2,4*   | 94,2±3,6   | 95,8±3,3    | 91,8±3,6*   | 95,7±3,4    |
| (%)                 | (2546±128,3) |             |            |             |             |             |
| <b>Μονοκύτταρα</b>  | 100,0±0,0    | 139,7±30,3* | 127,4±18,7 | 157,7±36,6* | 138,8±24,5* | 147,6±18,8* |
| (%)                 | (268±26,7)   |             |            |             |             |             |

\* $p < 0,05$  στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή  $t=0h$ . Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μ.ο.±SEM. Το σύμβολο (%) δείχνει πως οι μέσοι όροι των μεταβλητών σε όλες τις χρονικές στιγμές εκφράζονται ως ποσοστό των αντίστοιχων αρχικών επιπέδων. Οι τιμές εντός παρενθέσεων φανερώνουν τα βασικά επίπεδα των μεταβλητών σε απόλυτους αριθμούς.



**Σχήμα 4.9.** Μεταβολές του ολικού αριθμού λευκοκυττάρων στο αίμα, στις πρώτες 96h μετά την εκτέλεση του πρωτοκόλλου άσκησης. \* $p < 0,05$  στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή  $t=0h$ .





**Σχήμα 4.10.** Μεταβολές του αριθμού κυττάρων των επιμέρους υποομάδων των λευκοκυττάρων στο αίμα, στις πρώτες 96h μετά την εκτέλεση του πρωτοκόλλου άσκησης. \* $p < 0,05$  στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή στην χρονική στιγμή  $t=0h$ .

#### 4.2.3 Διατροφική Αξιολόγηση

Η εκτίμηση της μέσης ημερήσιας διατροφικής πρόσληψης των μακροθρεπτικών συστατικών καθώς και βιταμινών και ιχνοστοιχείων, η οποία προέκυψε μετά την ανάλυση των ερωτηματολογίων διατροφής τύπου συχνότητας, παρουσιάζεται συγκεντρωτικά στους πίνακες 4.8, 4.9 και 4.10. Στο σχήμα 4.11 εμφανίζεται η ποσοστιαία συνεισφορά των επιμέρους μακροθρεπτικών συστατικών στην συνολική ενεργειακή πρόσληψη.

Εύκολα γίνεται αντιληπτό (Σχήμα 4.11) πως το δείγμα της έρευνας μολονότι διαθέτει ισορροπία ως προς το ενεργειακό ισοζύγιο, εμφανίζει σχετικά υψηλά επίπεδα πρόσληψης συνολικού λίπους σε σύγκριση με τις διεθνείς συστάσεις [174], εις βάρος της πρόσληψης υδατανθράκων και κυρίως των σύνθετων. Παράλληλα, φαίνεται (Πίνακας 4.8) πως υπερκαλύπτονται οι πρωτεϊνικές ανάγκες των συγκεκριμένων ατόμων, δεδομένου ότι η σύσταση για την συγκεκριμένη ομάδα ατόμων είναι 0,8 gr πρωτ./Kg σ.β. ενώ η πρόσληψη κατά μέσο όρο εκτιμήθηκε ότι είναι περίπου 1,56 gr/Kg σ.β. Παρατηρήθηκε επίσης υψηλή πρόσληψη χοληστερόλης καθώς και μη επαρκής πρόσληψη φυτικών ινών. Όσον αφορά τις βιταμίνες και τα ιχνοστοιχεία, η σύγκριση (πίνακες 4.9 και 4.10.) των εκτιμώμενων διατροφικών προσλήψεων με τις αντίστοιχες διεθνείς συστάσεις (RDAs) έδειξε πως οι συμμετέχοντες κατά μέσο όρο καλύπτουν τις ανάγκες τους για όλες τις βιταμίνες και όλα τα ιχνοστοιχεία για τα οποία έγινε εκτίμηση της διατροφικής πρόσληψης.

Επιπροσθέτως, σχετικά με το σελήνιο, το οποίο ενδιαφέρει περισσότερο την παρούσα έρευνα, βρέθηκε ότι η μέση τιμή των συμμετεχόντων ως προς την συγκέντρωση του συγκεκριμένου ιχνοστοιχείου στον ορό του αίματος πριν το πρωτόκολλο άσκησης ήταν  $80,0 \pm 19,1$   $\mu\text{g/L}$  ( $\mu.o. \pm S.d.$ ). Επιπροσθέτως, 11 από τους 13 συμμετέχοντες είχαν επίπεδα σεληνίου χαμηλότερα από την συνιστώμενη τιμή (95  $\mu\text{g/L}$ ). Μετά από την ανάλυση των ερωτηματολογίων διατροφής (τύπου συχνότητας), η μέση διατροφική πρόσληψη σεληνίου εκτιμήθηκε ότι ήταν  $155,2 \pm 39,5$   $\mu\text{g/ημέρα}$  ( $\mu.o. \pm S.d.$ ). Επιπλέον, η σύγκριση μεταξύ της εκτιμηθείσας διατροφικής πρόσληψης για κάθε συμμετέχοντα με την συνιστώμενη ημερήσια διατροφική πρόσληψη για τους ενήλικες (RDA - 55 $\mu\text{g/ημέρα}$ ) αφενός, και με το καθορισμένο όριο τοξικότητας (400  $\mu\text{g/ημέρα}$ ) [292] αφετέρου, έδειξε ότι όλοι οι συμμετέχοντες είχαν διατροφικές προσλήψεις σεληνίου εντός του προτεινόμενου εύρους. Το σχήμα 4.12 παρουσιάζει την σχετικά ασθενή θετική συσχέτιση ( $R^2 = 0,3575$ ) η οποία παρατηρήθηκε ανάμεσα

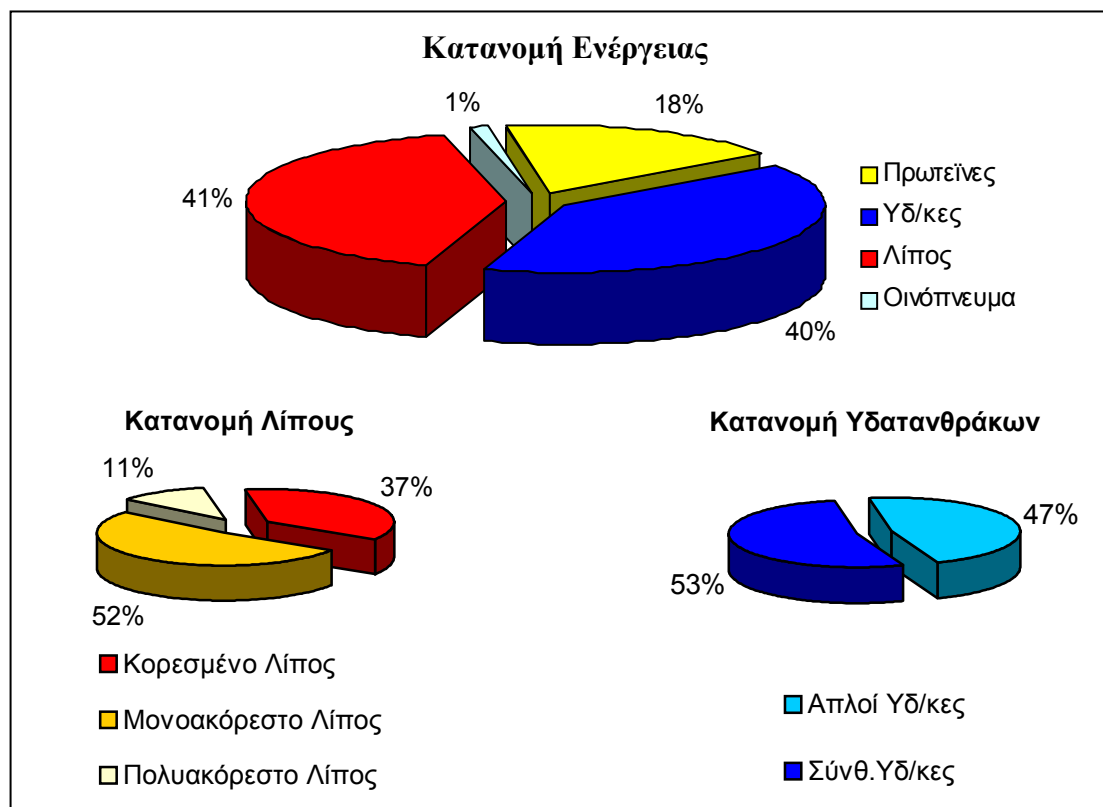
στην εκτίμηση της μέσης ημερήσιας διατροφικά προσλαμβανόμενης ποσότητας σεληνίου και των αντίστοιχων επιπέδων του στον ορό του αίματος.

**Πίνακας 4.8.** Μέση ημερήσια πρόσληψη μακροθρεπτικών συστατικών των συμμετεχόντων

|                     | M.o ± S.d.       |                  | Σύσταση [174]            |
|---------------------|------------------|------------------|--------------------------|
| <b>Ενέργεια</b>     | 2816 ± 570 Kcal  |                  | ~ 2630 Kcal <sup>β</sup> |
|                     | (gr)             | (%) <sup>α</sup> |                          |
| <b>Πρωτεΐνες</b>    | 124,1 ± 31,3     | 17,54 ± 1,99     | > 0,8gr/Kg σ.β.          |
| <b>Υδ/κες</b>       | 279,1 ± 62,7     | 39,73 ± 4,96     | 45 - 65%                 |
| Απλοί Υδ/κες        | 120,9 ± 39,5     | 17,26 ± 5,16     |                          |
| Σύνθ.Υδ/κες         | 136,9 ± 46,7     | 19,60 ± 5,76     |                          |
| <b>Λίπος</b>        | 127,9 ± 27,2     | 40,96 ± 4,19     | 20 - 35%                 |
| Κορ.Λίπος           | 41,7 ± 11,8      | 13,39 ± 2,81     |                          |
| Μονοακ.Λίπος        | 59,4 ± 11,3      | 19,05 ± 1,47     |                          |
| Πολυακ.Λίπος        | 13,1 ± 4,2       | 4,16 ± 0,72      | 10%                      |
| Λινολεϊκό Οξύ       | 9,6 ± 3,4        | 3,04 ± 0,63      | 5 - 10%                  |
| <b>Οινόπνευμα</b>   | 7,6 ± 8,3        | 1,01 ± 1,01      |                          |
| <b>Φυτικές Ίνες</b> | 26,3 ± 9,9 gr    |                  | > 38 gr                  |
| <b>Χοληστερόλη</b>  | 413,4 ± 116,7 mg |                  | <300 mg                  |

<sup>α</sup> ποσοστό επί της συνολικής προσλαμβανόμενης ενέργειας

<sup>β</sup> προκύπτει εφαρμόζοντας τούς μέσους όρους ηλικίας, ύψους, βάρους, επιπέδου φυσικής δραστηριότητας του δείγματος στον προτεινόμενη μαθηματική εξίσωση



**Σχήμα 4.11.** Γραφική απεικόνιση προέλευσης προσλαμβανόμενης ενέργειας.

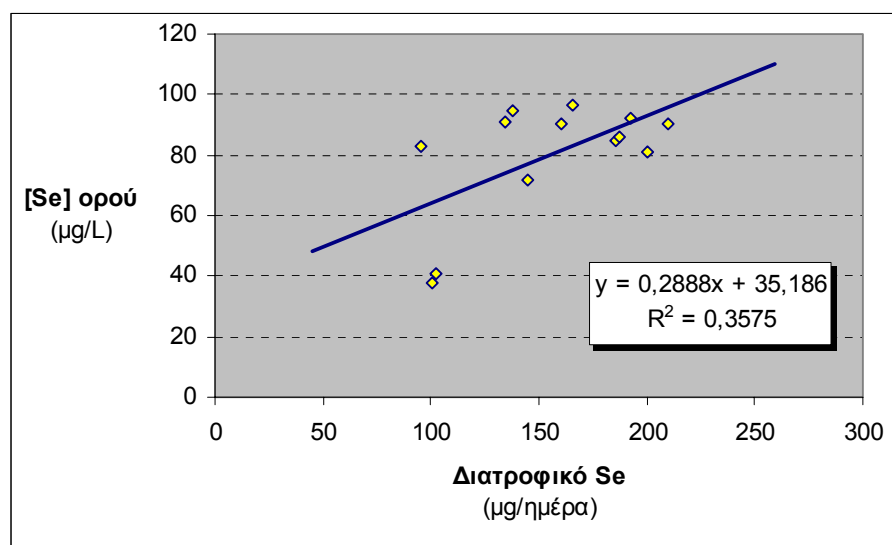
**Πίνακας 4.9.** Μέση ημερήσια πρόσληψη βιταμινών των συμμετεχόντων

| Βιταμίνη                | M.o ± S.d.    | RDA [174] |
|-------------------------|---------------|-----------|
| <b>Βιτ.Α</b> (RE)       | 2918 ± 3019   | 900       |
| Ρετινόλη (μg)           | 1567 ± 2455   | -         |
| β-καροτένιο (μg)        | 8108 ± 10435  | -         |
| <b>Θειαμίνη</b> (mg)    | 2,07 ± 0,71   | 1,2       |
| <b>Ριβοφλαβίνη</b> (mg) | 2,22 ± 0,75   | 1,3       |
| <b>Νιασίνη</b> (mg)     | 71,6 ± 17,8   | 16        |
| <b>Βιτ.Β</b> (mg)       | 248,8 ± 102,3 | 90        |
| <b>Βιτ.Β6</b> (mg)      | 2,13 ± 0,59   | 1,3       |

**Πίνακας 4.10.** Μέση ημερήσια πρόσληψη ιχνοστοιχείων των συμμετεχόντων

| Ιχνοστοιχείο    | M.o ± S.d.    | RDA [174] |
|-----------------|---------------|-----------|
| <b>Na</b> (mg)  | 2242 ± 659,5  | >500      |
| <b>K</b> (mg)   | 5064 ± 1202   | >2000     |
| <b>Ca</b> (mg)  | 1190 ± 382,1  | 1000      |
| <b>Mg</b> (mg)  | 419,3 ± 108,9 | 400       |
| <b>P</b> (mg)   | 1689 ± 423,9  | 700       |
| <b>Fe</b> (mg)  | 16,23 ± 3,73  | 8         |
| <b>Zn</b> (mg)  | 23,90 ± 5,21  | 11        |
| <b>Cu</b> (mg)* | 2,78 ± 1,79   | 0,9       |
| <b>Mn</b> (mg)* | 5,82 ± 1,96   | 2,3       |
| <b>Se</b> (μg)* | 155,2 ± 39,5  | 55        |

\* Η ανάλυση των συγκεκριμένων συστατικών βασίστηκε σε πίνακες συνθέσεως τροφίμων του Αμερικανικού Υπουργείου Γεωργίας (USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 16) λόγω μη διαθέσιμων στοιχείων από τους Ελληνικούς πίνακες.



**Σχήμα 4.12.** Διάγραμμα γραμμικής συσχέτισης ανάμεσα στη μέση ημερήσια διατροφική πρόσληψη σεληνίου και των αρχικών( $t=0h$ ) επιπέδων νηστείας του σεληνίου στον ορό του αίματος.

#### 4.2.4 Στατιστικές συσχετίσεις

Ο πίνακας 4.11 παρουσιάζει μόνο τις στατιστικώς σημαντικές ( $p < 0,05$ ) συσχετίσεις οι οποίες εντοπίστηκαν ανάμεσα σε δείκτες της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης (π.χ. η μυϊκή δύναμη και η CK) και διάφορους φλεγμονώδεις δείκτες (π.χ. αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων και ο PAF). Παρόμοια στους πίνακες 4.12 και 4.13 εμφανίζονται οι στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις που εντοπίστηκαν ανάμεσα σε δείκτες της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης και στα αρχικά επίπεδα σεληνίου στον ορό του αίματος και σε εκτιμώμενες προσλήψεις θρεπτικών συστατικών αντίστοιχα.

**Πίνακας 4.11.** Στατιστικά σημαντικές ( $p < 0,05$ ) συσχετίσεις που παρατηρήθηκαν ανάμεσα σε φλεγμονώδεις δείκτες και δείκτες μυϊκής βλάβης

| Ανεξάρτητη μεταβλητή (-ες)               | Εξαρτημένη μεταβλητή (-ες)        | Θετική (+) ή αρνητική (-) συσχέτιση ανάμεσα σε ανεξάρτητη και εξαρτημένη μεταβλητή |
|------------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>PAF</b>                               | <b>Δείκτες μυϊκής βλάβης</b>      |                                                                                    |
| Bound & Total PAF (%) <sup>a</sup> (48h) | MIT (48, 72, 96h)                 | -                                                                                  |
| Free PAF (%) (48h)                       | CK (48, 72, 96h) & LDH (48h)      | +                                                                                  |
| Free PAF (%) (24h)                       | CIRC (48h)                        | +                                                                                  |
| <b>Δείκτες μυϊκής βλάβης</b>             | <b>PAF</b>                        |                                                                                    |
| LDH (0, 2, 24, 48h)                      | Free PAF (%) (48h)                | +                                                                                  |
| CK & LDH (48, 72h)                       | Free & Total PAF (%) (96h)        | +                                                                                  |
| FANG (24, 48, 72, 96h)                   | Free & Total PAF (%) (96h)        | +                                                                                  |
| ROM (24, 48, 72, 96h)                    | Free & Total PAF (%) (96h)        | -                                                                                  |
| CIRC (72h)                               | Free & Total PAF (%) (96h)        | +                                                                                  |
| <b>Λευκοκύτταρα και υποομάδες</b>        | <b>Δείκτες μυϊκής βλάβης</b>      |                                                                                    |
| WC & Neu & Mon & Eos (%) (2, 24h)        | CK & LDH (48, 72, 96h)            | +                                                                                  |
| WC & Neu & Eos (%) (2, 24h)              | VAS (48)                          | +                                                                                  |
| <b>PAF</b>                               | <b>Λευκοκύτταρα και υποομάδες</b> |                                                                                    |
| Bound & Total PAF (%) (48h)              | Eos (%) (48h)                     | -                                                                                  |
| Bound & Total PAF (%) (2h)               | Eos (%) (2h) & Neu (%) (2, 24h)   | -                                                                                  |
| Free PAF (%) (2h)                        | Mon (%) (2 – 96h)                 | +                                                                                  |

<sup>a</sup> Το σύμβολο (%) δείχνει πως οι μέσοι όροι των μεταβλητών εκφράζονται ως ποσοστό των αντίστοιχων αρχικών επιπέδων.

**Συντμήσεις:** CK (κρεατινική κινάση), LDH (γαλακτική αφυδρογονάση), MIT (μέγιστη ισομετρική ροπή), FANG (γωνία μέγιστης ενεργητικής κάμψης του αγκώνα), ROM (εύρος τροχιάς της άρθρωσης του αγκώνα), CIRC (περίμετρος βραχιονίου), VAS (μυϊκός πόνος), Free PAF (ελεύθερος παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων), Bound PAF (δεσμευμένος PAF), Total PAF (ολικός PAF), WC (ολικά λευκοκύτταρα), Eos (ηωσινόφιλα), Neu (ουδετερόφιλα), Mon (μονοκύτταρα).

**Πίνακας 4.12.** Στατιστικά σημαντικές ( $p < 0,05$ ) συσχετίσεις που εντοπίστηκαν ανάμεσα σε δείκτες μυϊκής βλάβης και τα αρχικά επίπεδα σεληνίου στον ορό του αίματος

| Εξαρτημένη μεταβλητή        | Θετική (+) ή αρνητική (-) συσχέτιση ανάμεσα στην εξαρτημένη μεταβλητή και τα επίπεδα σεληνίου στον ορό πριν την άσκηση |
|-----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| CK (48, 72, 96h)            | -                                                                                                                      |
| LDH (0, 2, 24, 48, 72, 96h) | -                                                                                                                      |
| MIT (2, 24h)                | +                                                                                                                      |
| FANG (48, 72, 96h)          | -                                                                                                                      |
| ROM (48, 72, 96h)           | +                                                                                                                      |

**Συντμήσεις:** CK (κρεατινική κινάση), LDH (γαλακτική αφυδρογονάση), MIT (μέγιστη ισομετρική ροπή), FANG (γωνία μέγιστης ενεργητικής κάμψης του αγκώνα), ROM (εύρος τροχιάς της άρθρωσης του αγκώνα)

**Πίνακας 4.13.** Στατιστικά σημαντικές ( $p < 0,05$ ) συσχετίσεις που εντοπίστηκαν ανάμεσα σε εκτιμώμενες προσλήψεις θρεπτικών συστατικών και σε δείκτες μυϊκής βλάβης

| Ανεξάρτητη μεταβλητή | Εξαρτημένη μεταβλητή       | Θετική (+) ή αρνητική (-) συσχέτιση ανάμεσα σε ανεξάρτητη και εξαρτημένη μεταβλητή |
|----------------------|----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| Θρεπτικό συστατικό   | Δείκτες μυϊκής βλάβης      |                                                                                    |
| Cu                   | RANG (%) (2h)              | -                                                                                  |
| Cu                   | ROM (%) (2h)               | -                                                                                  |
| Cu                   | MIT (0, 24, 48, 72, 96h)   | +                                                                                  |
| Zn                   | CK& CK (%) (48, 72, 96h)   | -                                                                                  |
| Zn                   | LDH (48, 72, 96h)          | -                                                                                  |
| Mn                   | RANG (%) (24, 48, 72, 96h) | +                                                                                  |

**Συντμήσεις:** CK (κρεατινική κινάση), LDH (γαλακτική αφυδρογονάση), MIT (μέγιστη ισομετρική ροπή), RANG (γωνία ανάπαυσης του αγκώνα σε απουσία μυϊκής σύσπασης), ROM (εύρος τροχιάς της άρθρωσης του αγκώνα), CIRC (περίμετρος βραχιονίου στο μέσον του)

Είναι αξιοσημείωτο ότι, όπως προκύπτει από τον πίνακα 4.13, δεν εντοπίστηκε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της εκτιμώμενης διατροφικής πρόσληψης του σεληνίου και κάποιου αποδεκτού δείκτη της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, μολονότι τα αρχικά επίπεδα ορού του σεληνίου, τα οποία αποτελούν έμμεσο δείκτη της διατροφικής πρόσληψης του συγκεκριμένου ιχνοστοιχείου, συσχετίζονται με αρκετούς αντίστοιχους δείκτες (Πίνακας 4.12).

## 5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα ενότητα πραγματοποιείται ανάλυση των αποτελεσμάτων του συνόλου των μετρήσεων καθώς και της στατιστικής τους επεξεργασίας (συσχετίσεις), με οδηγό τεκμηριωμένα ευρήματα από την διεθνή αρθρογραφία, προκειμένου στη συνέχεια να εξαχθούν χρήσιμα συμπεράσματα. Θεωρήθηκε σκόπιμη η ταξινόμηση των αναλυόμενων αποτελεσμάτων σε επιμέρους κατηγορίες.

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

Το επιλεγθέν πρωτόκολλο πλειομετρικής άσκησης, το οποίο εφαρμόσθηκε στους συμμετέχοντες της έρευνας με την βοήθεια του νεοδημιουργηθέντος δυναμομέτρου (Myoforce), μολονότι κρίνεται χαμηλής επιβάρυνσης [273], πράγματι προκάλεσε μυϊκή βλάβη στους καμπτήρες μυς του αγκώνα, κάτι το οποίο επιβεβαιώθηκε από τις στατιστικά σημαντικές διακυμάνσεις όλων των αποδεκτών δεικτών ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης που αξιολογήθηκαν. Ειδικότερα, ευρήματα τα οποία παρατηρήθηκαν σε όλα τα άτομα του δείγματος, όπως η μείωση της μέγιστης ισομετρικής ροπής των εμπλεκόμενων μυών, η μείωση του εύρους τροχιάς της άρθρωσης του αγκώνα, η εμφάνιση οιδήματος στην εμπλεκόμενη περιοχή (Σχήμα 4.4), ο έντονος καθυστερημένος μυϊκός πόνος (Σχήμα 4.5) και η αύξηση των επιπέδων μυϊκών ενζύμων (CK και LDH) στην αιματική κυκλοφορία (Σχήμα 4.6 και 4.7), μαρτυρούν την πρόκληση μυϊκής βλάβης, όντας σε συμφωνία με αποτελέσματα παρόμοιων ερευνών [273, 293-295].

## 5.2 Βιοχημικοί και φλεγμονώδεις δείκτες στο αίμα

Αμέσως μετά την πρόκληση του συγκεκριμένου τύπου μυϊκού τραυματισμού, λαμβάνει χώρα οξεία φλεγμονώδης απάντηση προκειμένου να συμβάλει στην αποκατάσταση των τραυματισμένων ιστών [64, 296, 297]. Τα αποτελέσματα της αξιολόγησης του μυϊκού πόνου και της περιμέτρου του βραχιονίου έδειξαν πως ο πόνος και το οίδημα, τα οποία είναι κλασικά σημεία της οξείας φλεγμονής, εμφανίστηκαν στους εμπλεκόμενους μυς. Όπως ήδη αναφέρθηκε, προγενέστερες έρευνες υποστηρίζουν επίσης την άποψη ότι η φλεγμονή του μυϊκού ή/και του συνδετικού ιστού είναι «τμήμα» του φαινομένου του ΚΜΠ. Συγκεκριμένα, έχει προταθεί ότι ένα από τα επακόλουθα του ΚΜΠ που προκαλείται μετά από πλειομετρικού τύπου άσκηση από μη εξοικειωμένα άτομα είναι η μυϊκή φλεγμονή [64, 144, 298, 299] καθώς και ότι το ανοσοποιητικό σύστημα εμπλέκεται στην διαδικασία επιδιόρθωσης της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης [298-300]. Λόγω του γεγονότος ότι η φλεγμονώδης απάντηση αποτελεί μία πολυσύνθετη διαδικασία που περιλαμβάνει ποικίλα στάδια μεταξύ των οποίων η χημειοταξία, η ενεργοποίηση, η προσκόλληση και η μετανάστευση κυττάρων, κρίνεται απαραίτητη η εκτίμηση πολλών παραμέτρων προκειμένου να περιγραφούν καλύτερα τα συγκεκριμένα στάδια.

### 5.2.1 C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, συμπλήρωμα C3 και ινωδογόνο

Τα αποτελέσματα των σχετικών μετρήσεων (Πίνακας 4.6) έδειξαν ότι τα επίπεδα της CRP και του C3 στον ορό και του ινωδογόνου στο πλάσμα του αίματος, που αποτελούν γνωστούς δείκτες οξείας φλεγμονής, δεν μεταβλήθηκαν στατιστικώς σημαντικά σε κανένα από τα μετασχησιακά χρονικά σημεία εξέτασης, σε σύγκριση με τα αρχικά τους επίπεδα. Το εύρημα για την CRP είναι σε συμφωνία με αποτελέσματα που αναφέρθηκαν από άλλους ερευνητές [98, 301, 302]. Σε αντίθεση, μία άλλη εργασία [303] έδειξε ότι η CRP αυξήθηκε κατά 392% 24 ώρες μετά από ποδηλασία πλειομετρικού τύπου μέχρι εξουθένωσης. Μία εργασία του Cannon *et al.* [304] υποστήριξε την ύπαρξη ενεργοποίησης του συστήματος του συμπληρώματος μετά από 45 λεπτά τρεξίματος σε κατηφορικό επίπεδο, μετρώντας τα επίπεδα του des-Arg-C3a στο πλάσμα αμέσως μετά την άσκηση. Ωστόσο, σχετικά με τις δύο προαναφερθείσες μελέτες, το πρωτόκολλο πρόκλησης ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, εκτός του πλειομετρικού τμήματος, περιλάμβανε και κομμάτι αντοχής στο οποίο



πιθανώς οφείλεται η αλλαγή των επιπέδων της CRP καθώς και η ενεργοποίηση του συστήματος του συμπληρώματος.

Επισταμένη αρθρογραφική ανασκόπηση δεν ανέδειξε έρευνες που να έχουν μελετήσει την συμπεριφορά των επιπέδων του ινωδογόνου στο πλάσμα του αίματος μετά από κάποιο πρωτόκολλο πλειομετρικής άσκησης. Ωστόσο, ο Yu [305] παρατήρησε, με την βοήθεια ανοσοϊστολογικών τεχνικών, είσοδο ινωδογόνου στον τραυματισμένο μυϊκό ιστό αμέσως μετά (1 ώρα) από άσκηση πλειομετρικού τύπου.

### 5.2.2 Λευκά αιμοσφαίρια και υποομάδες

Η μετασκησιακή λευκοκυττάρωση που παρατηρήθηκε στην παρούσα ερευνητική εργασία αποδίδεται κυρίως στην αύξηση του αριθμού των ουδετερόφιλων αλλά και στον αυξημένο αριθμό των μονοκυττάρων και των ηωσινόφιλων, εύρημα το οποίο είναι σε συμφωνία με συμπεράσματα προγενέστερων μελετών όπου χρησιμοποιήθηκε άσκηση πλειομετρικού τύπου ή αντιστάσεων [306-308]. Ωστόσο, στατιστικώς σημαντική αύξηση του συνολικού αριθμού των λευκοκυττάρων δεν εντοπίστηκε μόνο 2 ώρες μετά την άσκηση αλλά και 48 ώρες μετά, κάτι που πιθανώς φανερώνει μία δεύτερη φάση της φλεγμονώδους απάντησης (Σχήμα 4.9).

Η λευκοκυττάρωση έχει προταθεί ως δείκτης ηπατικής και μυϊκής βλάβης τουλάχιστον μετά από εξοντωτικού βαθμού άσκηση αντοχής [309]. Η συσχέτιση ανάμεσα στον αριθμό των κυκλοφορούντων λευκών αιμοσφαιρίων και της CK του πλάσματος που παρουσιάστηκε από τον Kayashima *et al.* [309] παρατηρήθηκε και στην παρούσα έρευνα, όπου ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων (%) στις χρονικές στιγμές 2 και 24h συσχετίστηκαν θετικά με τις δραστηρότητες της CK και της LDH 48, 72 και 96 ώρες μετά την άσκηση (Πίνακας 4.11). Ο ίδιος τύπος συσχέτισης εντοπίστηκε για όλες τις υποομάδες των λευκοκυττάρων εκτός αυτής των λεμφοκυττάρων, κάτι το οποίο είναι εν μέρει σε συμφωνία με εύρημα του Malm *et al.* [307] όπου ο αριθμός των ουδετερόφιλων στις 6h συσχετίζονταν θετικά με την CK στις 48h μετά την άσκηση. Επιπλέον, για τις ίδιες χρονικές στιγμές (2 και 24h) παρατηρήθηκε ότι ο αριθμός των λευκοκυττάρων (%), των ουδετερόφιλων (%) και των ηωσινόφιλων (%) συσχετίζονται θετικά με την ένταση του μυϊκού πόνου στις 48h (όπου εμφανίζεται η μέγιστη τιμή του). Το τελευταίο εύρημα δηλώνει ότι τα λευκά αιμοσφαίρια πιθανώς συμμετέχουν στον μηχανισμό πρόκλησης του καθυστερημένου μυϊκού πόνου.

Επιπροσθέτως, τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας δείχνουν μία στατιστικώς σημαντική μείωση του αριθμού των λεμφοκυττάρων στις χρονικές στιγμές 2 και 72h μετά την άσκηση, γεγονός το οποίο, σε συμφωνία με τα συμπεράσματα του *Malm et al.* [307], υποδηλώνει την ύπαρξη μίας άμεσης μετασκησιακής επίδρασης της πλειομετρικής άσκησης στον αριθμό των κυκλοφορούντων λεμφοκυττάρων αλλά και μίας χρονικά καθυστερημένης.

### **5.2.3 Παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (PAF) και PAF-ακευλοϋδρολάση (PAF-AH)**

Ένα από τα σημαντικότερα ευρήματα της παρούσας ερευνητικής προσπάθειας είναι το ότι η πλειομετρική άσκηση προκάλεσε, εκτός της λευκοκυττάρωσης η οποία έχει περιγραφεί πολλές φορές στο παρελθόν και από άλλες ερευνητικές ομάδες, αυξημένα επίπεδα του PAF στο αίμα (Σχήμα 4.8), χωρίς ωστόσο να συνοδεύονται από σημαντικές μεταβολές στη δραστικότητα του ενζύμου απενεργοποίησής του, της PAF-AH. Αξίζει να τονιστεί ότι δεν έχει μελετηθεί επαρκώς η επίδραση της άσκησης, και πολύ περισσότερο της πλειομετρικού τύπου άσκησης, στα κυκλοφορούντα επίπεδα του συγκεκριμένου φλεγμονώδη διαμεσολαβητή. Ωστόσο, το εύρημα μας είναι σε αντίθεση με τα αποτελέσματα εργασίας του *Γκουντέβενου* και των συνεργατών του [310], οι οποίοι δεν παρατήρησαν μεταβολές στη συγκέντρωση στο αίμα του PAF σε ομάδα υγιών ατόμων μετά από φυσική άσκηση, ως προς τα αντίστοιχα επίπεδα πριν από την άσκηση. Βέβαια υπάρχουν αρκετά σοβαρές διαφορές ανάμεσα στις δύο εργασίες. Συγκεκριμένα, ο μειομετρικός τύπος του πρωτοκόλλου άσκησης που επιλέχθηκε από τον *Γκουντέβενου* και τους συνεργάτες του είναι γνωστό ότι προκαλεί πολύ μικρότερης έντασης μυϊκή βλάβη και καθυστερημένο μυϊκό πόνο συγκριτικά με τον πλειομετρικό τύπο [61, 311]. Επιπλέον, τα χρονικά σημεία αξιολόγησης του PAF διαφέρουν αρκετά ανάμεσα στις δύο εργασίες. Τέλος, ο *Γκουντέβενος* και οι συνεργάτες του επέλεξαν ως μέθοδο καθαρισμού για τον PAF την TLC χρωματογραφία όπου ο PAF εκλύεται μαζί με μικρές ποσότητες και άλλων φωσφολιποειδών στα οποία συμπεριλαμβάνονται και ενδογενείς αναστολείς του PAF [206].

Το γεγονός ότι η δραστικότητα, στον ορό του αίματος, του ενζύμου απενεργοποίησης του PAF (PAF-AH) δεν μεταβλήθηκε στατιστικώς σημαντικά σε κανένα από τα μετασκησιακά χρονικά σημεία αξιολόγησης, υποδηλώνει ότι κατά το φαινόμενο της ασκησιογενούς (πλειομετρικού τύπου) μυϊκής βλάβης δεν λαμβάνει

χώρα αύξηση της συγκέντρωσης της PAF-AH μέσω γονιδιακής ρύθμισης λόγω των αυξημένων επιπέδων του PAF. Η πιο πιθανή εξήγηση για τα υψηλά επίπεδα του PAF θα πρέπει να αποδοθεί σε ενεργοποίηση της βιοσυνθετικής του πορείας και ειδικότερα της πορείας ανασχηματισμού, η οποία είναι γνωστό ότι ενεργοποιείται κάτω από φλεγμονώδεις διεργασίες [312].

Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι ο PAF (%) στις 48h συσχετίζεται με την CK και την MIT στις 48, 72 και 96h καθώς και με την CIRC στις 48h (Πίνακας 4.11), γεγονός το οποίο δείχνει ότι ο βαθμός αύξησης του PAF μετά από πλειομετρική άσκηση πιθανώς επηρεάζει με κάποιο τρόπο την ένταση της προκαλούμενης μυϊκής βλάβης. Συνδυάζοντας τις μετασχηματιστικές μεταβολές του PAF και τις στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις που εντοπίστηκαν και εμπλέκεται ο PAF, με τις καλά τεκμηριωμένες διεργασίες που λαμβάνουν χώρα κατά το φαινόμενο της ασκησιογενούς (πλειομετρικού τύπου) μυϊκής βλάβης, θα ήταν δυνατό να διατυπωθεί ένας υποθετικός μηχανισμός που να εξηγεί τον ρόλο του PAF στο συγκεκριμένο φαινόμενο.

Είναι καλά τεκμηριωμένο το ότι κατά το αρχικό στάδιο του ασκησιογενούς (πλειομετρικού τύπου) μυϊκού τραυματισμού, η βλάβη σε επίπεδο μεμβράνης των μυϊκών κυττάρων έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων του ενδοκυτταρικού ασβεστίου [313]. Η συγκεκριμένη αύξηση, ενεργοποιεί, εκτός των ασβεστιο-εξαρτώμενων ενζύμων, την φωσφολιπάση  $A_2$  [57] η οποία με την σειρά της μπορεί να επάγει την βιοσύνθεση του PAF [314]. Ο PAF είτε κυκλοφορεί ως ελεύθερος PAF (free PAF) ο οποίος μπορεί να απενεργοποιηθεί άμεσα από το ένζυμο PAF-ακετυλοϋδρολάση (PAF-AH), είτε βρίσκεται με την μορφή του δεσμευμένου PAF (bound PAF) ο οποίος εκφράζεται στην επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης. Αυξημένη επιφανειακή έκφραση του δεσμευμένου PAF θα μπορούσε να συμβάλλει στην έναρξη της τοπικά εστιασμένης φλεγμονής προκαλώντας αγγειοδιαστολή, αύξηση αγγειακής διαπερατότητας, αύξηση της χημειοταξίας πολυμορφοπύρηνων και μονοκυττάρων καθώς και αυξημένη έκφραση των μορίων διακυτταρικής προσκόλλησης από τα ουδετερόφιλα, οι οποίες είναι ορισμένες από τις πλήρως τεκμηριωμένες δράσεις του PAF σε άλλες φλεγμονώδεις καταστάσεις [315].

Η διήθηση ουδετερόφιλων και μονοκυττάρων στον τραυματισμένο ιστό και η επιδείνωση της μυϊκής βλάβης που παρατηρείται στις 48h μετά την άσκηση πιθανώς έχουν ως αποτέλεσμα την δεύτερη αύξηση του PAF που παρατηρείται. Η υπόθεση αυτή ενισχύεται από μία σειρά συσχετίσεων που εντοπίστηκαν ανάμεσα σε δείκτες

της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης όπως η CK, η LDH, η FANG, το ROM και η CIRC, σε πρότερες χρονικές στιγμές (24, 48 και 72h) και τον ελεύθερο αλλά και τον ολικό PAF στις 96h μετά την άσκηση (Πίνακας 4.11). Αυτό το δεύτερο «κύμα» αύξησης του ελεύθερου PAF ίσως έχει κάποιον θετικό ρόλο στις διεργασίες αναγέννησης των μυϊκών κυττάρων. Ο ελεύθερος PAF ίσως αλληλεπιδρά με τα μονοκύτταρα/μακροφάγα διαμέσου του υποδοχέα του [316] οδηγώντας σε ενεργοποίηση και απελευθέρωση διάφορων κυτοκινών και παραγόντων ανάπτυξης [317, 318] που έχουν κυρίαρχο ρόλο κατά τις διεργασίες της αναγέννησης μυϊκών ινών. Σε οποιαδήποτε περίπτωση, μία λεπτή ισορροπία διάφορων παραγόντων φαίνεται πως υπάρχει στην περιοχή του τραυματισμού η οποία τελικώς καθορίζει την ταχύτητα και την έκταση της μυοϊνδιακής αναγέννησης.

Μολονότι τα αποτελέσματα της παρούσας ερευνητικής προσπάθειας υποδεικνύουν πιθανό ρόλο του PAF στο μηχανισμό της ασκησιογενούς (πλειομετρικού τύπου) μυϊκής βλάβης, κρίνεται αναγκαία η διεξαγωγή περισσότερων μελετών προκειμένου να διαλευκανθούν οι δράσεις του PAF στο συγκεκριμένο φαινόμενο και να απαντηθεί το εάν αυτός ο φλεγμονώδης μεσολαβητής θα μπορούσε να αξιοποιηθεί ως ένας νέος αξιόπιστος δείκτης της προκαλούμενης μυϊκής βλάβης. Πάντως, ο υποθετικός μηχανισμός που διατυπώθηκε προηγουμένως μπορεί να αξιοποιηθεί ως βάση για περαιτέρω έρευνα.

## 5.3 Διατροφική Αξιολόγηση

### 5.3.1 Αρχικά επίπεδα σεληνίου

Ένα από τα κύρια ευρήματα της παρούσας έρευνας είναι η παρατήρηση ότι τα αρχικά επίπεδα του σεληνίου στον ορό του αίματος συσχετίζονται με ορισμένους αποδεκτούς δείκτες της ασκησιογενούς (πλειομετρικού τύπου) μυϊκής βλάβης (Πίνακας 4.12). Συγκεκριμένα, οι στατιστικώς σημαντικές συσχετίσεις που εντοπίστηκαν ανάμεσα στα προασκησιακά επίπεδα του σεληνίου στον ορό του αίματος με την CK, την LDH και την FANG (αντίστροφης μορφής) αφενός και με την MIT και το ROM (θετικής μορφής) αφετέρου, δείχνουν ότι οι συμμετέχοντες στην έρευνα που διέθεταν υψηλότερα επίπεδα σεληνίου στον ορό του αίματος, εμφάνισαν μικρότερη μείωση της πτώσης δύναμης κατά το πρώτο 24ώρο, μετρίαση της «διαρροής» μυϊκών πρωτεϊνών στο αίμα και ταχύτερη αποκατάσταση της μυϊκής δυσκαμψίας. Αλλά πώς πιθανόν το σελήνιο επηρέασε την συνολική απάντηση των μυϊκών κυττάρων απέναντι στον τραυματισμό; Όπως ήδη προαναφέρθηκε στην παράγραφο 1.10.4 (Εισαγωγή), το σελήνιο είναι ένας απαραίτητος συμπαράγοντας μιας σειράς σεληνοπρωτεϊνών οι οποίες έχουν πολλαπλούς ρόλους μεταξύ των οποίων αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις δράσεις. Επιπλέον, πρόσφατες έρευνες δείχνουν ότι η φωσφολιπιδικού υδροπεροξειδίου υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx4 ή αλλιώς PHGPx, phospholipids hydroperoxide glutathione peroxidase) συμμετέχει στην ρύθμιση σταδίων φλεγμονής όπως η σύνθεση λευκοτριενίων και η σηματοδότηση που εξαρτάται από την ιντερλευκίνη-1 [319, 320]. Λαμβάνοντας υπόψη ότι τα λευκοτριένια και η ιντερλευκίνη IL-1 $\beta$  συμμετέχουν καθοριστικά στην ρύθμιση της φλεγμονώδους απάντησης που λαμβάνει χώρα στην ασκησιογενή (πλειομετρικού τύπου) μυϊκή βλάβη [84, 311], αυτός ο τρόπος εμπλοκής του σεληνίου θα μπορούσε να είναι μία πιθανή εξήγηση.

Τα περισσότερα άρθρα ανασκόπησης που μελετούν τις συνέπειες της έλλειψης σεληνίου στον άνθρωπο εστιάζουν σε καταστάσεις που δεν σχετίζονται με προβλήματα των σκελετικών μυών. Ωστόσο, όπως αναφέρεται σε ένα πρόσφατο άρθρο [321], υπάρχουν ορισμένα δεδομένα τα οποία φανερώνουν ότι μυοσκελετικές διαταραχές που εκδηλώνονται ως μυϊκό πόνος, κόπωση, αδυναμία και αυξημένα επίπεδα κρεατινικής κινάσης εμφανίζονται σε ασθενείς με έλλειψη σεληνίου [184, 322-324]. Στις συγκεκριμένες περιπτώσεις η έλλειψη του ιχνοστοιχείου αποδόθηκε στο χαμηλό περιεχόμενο σεληνίου των παρεντερικών ή εντερικών φόρμουλων που

χρησιμοποιήθηκαν κατά την ακολουθούμενη θεραπεία. Επιπροσθέτως, μολονότι η ασθένεια Keshan είναι πρωτευόντως καρδιομυοπάθεια, έχουν αναφερθεί ευρήματα και σε σκελετικούς μυς σε δημοσιευμένες μελέτες αυτοψίας ήδη από το 1959 [325]. Όλα τα προαναφερθέντα δεδομένα σε συνδυασμό με στοιχεία που προέρχονται από μελέτες με πειραματόζωα [326-329] υποστηρίζουν την ύπαρξη «σύνδεσης» μεταξύ έλλειψης σεληνίου και δυσλειτουργίας σκελετικών μυών.

Όλες οι προαναφερθείσες ερευνητικές εργασίες περιγράφουν μυοσκελετικές διαταραχές ως αποτέλεσμα εμφανούς έλλειψης σεληνίου. Ωστόσο, στην παρούσα έρευνα κανένας από τους συμμετέχοντες δεν θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως ελλιπής σε σελήνιο. Σύμφωνα με ολοένα αυξανόμενα δεδομένα, η «εξάντληση αποθεμάτων» σεληνίου σε αντιπαράθεση με την «εμφανή έλλειψη» σεληνίου φαίνεται πως συσχετίζεται με μία πληθώρα προβλημάτων υγείας, όπως ιογενείς λοιμώξεις, προβληματική αναπαραγωγή, διαταραχές της ψυχολογικής διάθεσης, διαταραχές της θυρεοειδικής λειτουργίας, καρδιαγγειακή νόσος, διάφορες φλεγμονώδεις καταστάσεις, προβληματική λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος καθώς και αυξημένος κίνδυνος για καρκίνο [330]. Συνεπώς, εκτός των υπολοίπων προβλημάτων υγείας που αναφέρθηκαν, κάθε κατάσταση που σχετίζεται με αυξημένο οξειδωτικό στρες και φλεγμονή αναμένεται να επηρεάζεται από τα επίπεδα του σεληνίου, γεγονός το οποίο φαίνεται πως ισχύει τουλάχιστον στην ρευματοειδή αρθρίτιδα, την παγκρεατίτιδα και το άσθμα [330]. Τα ευρήματα της παρούσας ερευνητικής προσπάθειας στηρίζουν την συγκεκριμένη υπόθεση, μιας και υποστηρίζουν ότι τα βέλτιστα επίπεδα αυτού του ιχνοστοιχείου στον ορό του αίματος πιθανώς παρέχουν οφέλη σε υγιή άτομα όσον αφορά την πρόληψη ή/και την ταχύτερη αποκατάσταση της ασκησιογενούς (πλειομετρικού τύπου) μυϊκής βλάβης.

Σύμφωνα με μία ανασκόπηση δημοσιευμένων αναφορών σχετικών με συγκεντρώσεις σεληνίου στον ορό ή το πλάσμα καλύπτοντας διάφορες χώρες από το 1983 έως το 1993 (TRACY project), η εκτιμώμενη τιμή για τον Ελληνικό πληθυσμό ήταν  $62,4 \pm 13,4$   $\mu\text{g/L}$ . Επιπλέον, ο Ελληνικός πληθυσμός σε σύγκριση με πληθυσμούς άλλων Ευρωπαϊκών κρατών, είχε πολύ χαμηλά επίπεδα σεληνίου ορού [176]. Μία άλλη επιδημιολογική μελέτη κατά την οποία αξιολογήθηκαν τα επίπεδα σεληνίου του ορού σε 160 υγιείς ενήλικες Έλληνες το 1994 [331] βρήκε ότι ο μέσος όρος για τους άνδρες ήταν  $70,7 \pm 16,2$   $\mu\text{g/L}$  και για τις γυναίκες  $64,9 \pm 14,7$   $\mu\text{g/L}$ . Παρά τις μικρές διαφοροποιήσεις μεταξύ των εκτιμώμενων τιμών, οι οποίες μπορούν να αποδοθούν σε διάφορους παράγοντες (περιοχή, ηλικία, φύλο, κάπνισμα κ.α.), όλες οι

προαναφερθείσες έρευνες συμφωνούν ότι η μέση συγκέντρωση του σεληνίου στον ορό στον Ελληνικό πληθυσμό είναι υπό-βέλτιστος. Αυτό το εύρημα παρατηρήθηκε επίσης και στα δείγματα της έρευνας μας ( $80,0 \pm 19,1$   $\mu\text{g/L}$ ). Αναντίρρητα, χρειάζεται επαναπροσδιορισμός των συστάσεων σχετικά με την πρόσληψη σεληνίου για τον Ελληνικό πληθυσμό. Βέβαια, είναι αξιοσημείωτο ότι το σελήνιο είναι τοξικό σε συγκεντρώσεις λίγο υψηλότερες από την απαιτούμενη ποσότητα. Συνεπώς με βάση τις υπάρχουσες συστάσεις [174] δεν θα πρέπει να ενθαρρύνεται η υπερκατανάλωση συμπληρωμάτων σεληνίου και θα πρέπει να περιορίζεται η συνολική πρόσληψη σεληνίου από ενήλικες σε ποσότητες χαμηλότερες από ένα μέγιστο επιτρεπόμενο όριο των 400  $\mu\text{g}$  ημερησίως.

Όπως ήδη αναφέρθηκε, η στατιστική ανάλυση δεν εντόπισε στατιστικώς σημαντικές συσχετίσεις ανάμεσα στην εκτίμηση της διατροφικής πρόσληψης σεληνίου και τους δείκτες ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης που αξιολογήθηκαν. Ωστόσο, η επιλεγμένη μέθοδος διατροφικής αξιολόγησης σχετικά με το σελήνιο αντιμετωπίζει συγκεκριμένους περιορισμούς. Ειδικότερα, οι πιο πρόσφατοι ελληνικοί πίνακες συνθέσεως τροφίμων [332] δεν παρέχουν δεδομένα σχετικά με την περιεκτικότητα των τροφών σε σελήνιο. Κατά συνέπεια, η εκτίμηση της διατροφικά προσλαμβανόμενης ποσότητας σεληνίου διαμέσου της ανάλυσης των ερωτηματολογίων διατροφής έπρεπε να βασιστεί σε πληρέστερους πίνακες που παρέχει το Υπουργείο Γεωργίας των Η.Π.Α., και, είναι πλήρως τεκμηριωμένο ότι, η περιεκτικότητα των τροφών σε σελήνιο είναι συνάρτηση της περιεκτικότητας σεληνίου του αντίστοιχου εδάφους, το οποίο εμφανίζει μεγάλες γεωγραφικές διακυμάνσεις.

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας υποστηρίζουν ότι το σελήνιο εμπλέκεται στον μηχανισμό της ασκησιογενούς (πλειομετρικού τύπου) μυϊκής βλάβης. Σε αυτό το πλαίσιο πιθανώς να συμμετέχουν σεληνοπρωτεΐνες με αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές δράσεις. Ωστόσο, ο ακριβής ρόλος που διαδραματίζει το σελήνιο στην αποκατάσταση της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης χρειάζεται να επιβεβαιωθεί από μελλοντικές έρευνες, οι οποίες θα φανερώσουν και τον βαθμό αναγκαιότητας χορήγησης συμπληρωμάτων σεληνίου σε ασκούμενους προκειμένου να αντιμετωπίζουν ελαφρύτερα συμπτώματα του συγκεκριμένου είδους μυϊκού τραυματισμού.

### 5.3.2 Εκτίμηση διατροφικής πρόσληψης θρεπτικών συστατικών

Η ανάλυση των ερωτηματολογίων διατροφής (τύπου FFQ) και η μετέπειτα εφαρμογή κατάλληλων στατιστικών ελέγχων προκειμένου να αναζητηθούν τυχόν επιδράσεις (θετικές κατά πρώτο λόγο) διατροφικών παραγόντων στην μετασκησιακή «συμπεριφορά» αποδεκτών δεικτών της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, οδήγησε σε χρήσιμα ευρήματα που αφορούν και άλλα θρεπτικά συστατικά, εκτός του σεληνίου για το οποίο έγινε εκτενής αναφορά στην προηγούμενη παράγραφο.

Από το σύνολο των στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων που παρατηρήθηκαν ανάμεσα σε διατροφικούς παράγοντες και δείκτες ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι συσχετίσεις που αφορούν τον χαλκό (Cu), τον ψευδάργυρο (Zn), και το μαγγάνιο (Mn) (Πίνακας 4.13). Το ενδιαφέρον αυτό εξηγείται αφενός από τον εντοπισμό πολλαπλών συσχετίσεων με διαφορετικούς δείκτες μυϊκής βλάβης και αφετέρου από την ύπαρξη αρκετών δεδομένων στην διεθνή αρθρογραφία που μπορούν να «στοιχειοθετήσουν» την πιθανή τους ανάμιξη στον μηχανισμό της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης. Ωστόσο, δεν πρέπει να διαφεύγει της προσοχής, ότι η εφαρμοσθείσα μέθοδος εκτίμησης της διατροφικής πρόσληψης του χαλκού και του μαγγανίου αντιμετωπίζει τους ίδιους περιορισμούς που ισχύουν και για το σελήνιο, δεδομένου ότι οι υπάρχοντες πίνακες συνθέσεως ελληνικών τροφίμων δεν παρέχουν δεδομένα για τα συγκεκριμένα ιχνοστοιχεία. Βέβαια, η εκτίμηση της διατροφικής πρόσληψης του χαλκού και του μαγγανίου είναι σαφώς πιο ασφαλής σε σχέση με το σελήνιο, λόγω του γεγονότος ότι οι συνήθεις ημερήσιες προσλαμβανόμενες ποσότητες του χαλκού και του μαγγανίου είναι αρκετά μεγαλύτερες (τάξεως mg) σε σχέση με το σελήνιο (τάξεως μg) (Πίνακας 4.10).

Είναι γνωστό ότι διάφορα ιχνοστοιχεία παίζουν σημαντικούς αλλά έμμεσους ρόλους στην παροχή αντιοξειδωτικής προστασίας στα κύτταρα (Πίνακας 5.1). Στα ιχνοστοιχεία που εμπλέκονται σε αντιοξειδωτικές λειτουργίες ανήκουν ο χαλκός (Cu), ο ψευδάργυρος (Zn), ο σίδηρος (Fe), το σελήνιο (Se) και το μαγγάνιο (Mn). Αυτά τα στοιχεία συμβάλλουν στον αντιοξειδωτικό αμυντικό μηχανισμό του οργανισμού δρώντας ως συμπαραγόντες σε αντιοξειδωτικά ένζυμα [333].



**Πίνακας 5.1.** Ιχνοστοιχεία που συμμετέχουν στην αντιοξειδωτική προστασία

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

**Συντμήσεις:** SOD (Superoxide Dismutase – Υπεροξειδική δισμουτάση)

Ο χαλκός συμβάλλει στην κυτταρική αντιοξειδωτική προστασία ως συμπαράγοντας ενός αντιοξειδωτικού ενζύμου, της CuZn-υπεροξειδικής δισμουτάσης (CuZn-SOD). Αυτό το ένζυμο βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων και είναι υπεύθυνο για τον περιορισμό των υπεροξειδικών ριζών. Μολονότι η έλλειψη χαλκού στις δυτικές κοινωνίες είναι σπάνιες, ελλιπής πρόσληψη χαλκού θα μπορούσε να έχει ως αποτέλεσμα την μειωμένη δραστηριότητα της CuZn-SOD και κατ' επέκταση την αρνητική επίδραση στο αντιοξειδωτικό κυτταρικό μηχανισμό. Ο ψευδάργυρος έχει αναγνωρισθεί ως απαραίτητο θρεπτικό συστατικό ήδη από το 1900 και αποτελεί συμπαράγοντα για περισσότερα από 300 διαφορετικά ένζυμα [334]. Όσον αφορά την αντιοξειδωτική δράση του ψευδαργύρου, πρέπει να αναφερθεί ότι αποτελεί απαραίτητο συμπαράγοντα της CuZn-SOD. Όπως ήδη αναφέρθηκε, το συγκεκριμένο ένζυμο είναι υπεύθυνο για την απομάκρυνση των υπεροξειδικών ριζών από το κυτταρόπλασμα των κυττάρων. Κατά συνέπεια, έλλειψη ψευδαργύρου θα ήταν λογικό να οδηγήσει σε μειωμένη δραστηριότητα της CuZn-SOD και κατ' επέκταση σε μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα. Το μαγγάνιο είναι συμπαράγοντας σε διάφορα ένζυμα, στα οποία ανήκει το σημαντικό αντιοξειδωτικό ένζυμο, η Mn-υπεροξειδική δισμουτάση (Mn-SOD). Αυτό το αντιοξειδωτικό ένζυμο «κλειδί» βρίσκεται στα μιτοχόνδρια και είναι υπεύθυνο για τον περιορισμό των υπεροξειδικών ριζών που παράγονται κατά την οξειδωτική φωσφορυλίωση [335].

Επιπλέον των δεδομένων που προαναφέρθηκαν και δείχνουν ότι τα συγκεκριμένα μέταλλα (Cu, Zn, Mn) έχουν αντιοξειδωτικό ρόλο στον ανθρώπινο οργανισμό, αξίζει να σημειωθεί ότι πρόσφατες έρευνες [146, 336-338] υποστηρίζουν ότι οι υπεροξειδικές δισμουτάσες (SOD) συμμετέχουν προστατευτικά κατά την διάρκεια αποκατάστασης της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης. Πιο αναλυτικά, έχει παρατηρηθεί τόσο σε ανθρώπους [146] όσο και σε πειραματόζωα [336, 337] ότι μετά

από πρόκληση ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης αυξάνουν τα επίπεδα δραστηριότητας της SOD στο πλάσμα, εύρημα το οποίο φανερώνει την εμπλοκή της στον συνολικό μηχανισμό. Επιπρόσθετα, σύμφωνα με αποτελέσματα πρόσφατης έρευνας [338], η καθημερινή (ξεκινώντας μετά την πρόκληση του τραυματισμού) χορήγηση (με ενδοπεριτοναϊκή ένεση), CuZn-SOD (10.000 U/Kg σ.β.) σε πειραματόζωα είχε ως αποτέλεσμα την μειωμένη μετασκησιακή αύξηση της CK αλλά και της μαλονδιαλδεϋδης (MDA, δείκτης οξειδωτικού στρες) στο πλάσμα, μετά από πρόκληση ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης στους γαστροκνήμιους μυς.

Από την εφαρμογή των κατάλληλων στατιστικών ελέγχων στα αποτελέσματα των μετρήσεων της παρούσας μελέτης, προέκυψαν πολλαπλοί στατιστικά σημαντικοί συσχετισμοί ανάμεσα στη μέση ημερήσια διατροφική πρόσληψη του ψευδαργύρου, του χαλκού και του μαγγανίου και σε αποδεκτούς δείκτες της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης όπως η CK, η LDH και το ROM (αντιστρόφως), η RANG και η MIT (θετικώς) (Πίνακας 4.13). Οι συγκεκριμένοι συσχετισμοί δείχνουν ότι από το συνολικό δείγμα της έρευνάς μας, τα άτομα που είχαν υψηλότερες διατροφικές προσλήψεις των συγκεκριμένων ιχνοστοιχείων εμφάνισαν μετασκησιακά μικρότερο βαθμό διαρροής μυϊκών ενζύμων στο αίμα, μικρότερη μείωση της μυϊκής δυσκαμψίας καθώς και μικρότερη πτώση της μέγιστης δύναμης, ευρήματα που σαφώς υποδηλώνουν θετικότερη έκβαση της προκληθείσας βλάβης.

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

Στο σημείο αυτό κρίνεται σκόπιμο να αναλυθεί περαιτέρω ένα εύρημα που αφορά συγκεκριμένα τον ψευδάργυρο. Όπως προαναφέρθηκε, η αντίστροφη συσχέτιση που παρατηρήθηκε μεταξύ της διατροφικής πρόσληψης Zn τόσο με τα μετασκησιακά επίπεδα της CK όσο και της LDH, δηλώνει πως όσο υψηλότερη ήταν η πρόσληψη του Zn ανάμεσα στα άτομα του δείγματος, τόσο ανθεκτικότερη ήταν η μεμβρανική ακεραιότητα των μυϊκών τους κυττάρων, αφού ως γνωστόν τα επίπεδα των συγκεκριμένων ενζύμων στο αίμα αποτελούν δείκτες του βαθμού ρήξης των μυϊκών κυττάρων. Είναι ενδιαφέρον, ότι το συγκεκριμένο εύρημα είναι σε συμφωνία

με συμπέρασμα αρκετών ερευνητών [339], οι οποίοι υποστηρίζουν ότι ο ψευδάργυρος αποτελεί θρεπτικό συστατικό «κλειδί» για την ακεραιότητα των κυτταρικών μεμβρανών, χωρίς ωστόσο να έχουν εξακριβωθεί πλήρως οι λειτουργίες στις οποίες συμμετέχει για τον σκοπό αυτό. Είναι λοιπόν πολύ πιθανόν ο ψευδάργυρος να συμβάλλει στην προστασία των μυϊκών κυττάρων κατά την πρόκληση ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, όχι μόνο δρώντας αντιοξειδωτικά ως συμπαράγοντας στην CuZn-SOD αλλά και με πολλαπλούς άλλους ρόλους.

Συνοψίζοντας, τα ευρήματα της παρούσας ερευνητικής προσπάθειας προτείνουν την εμπλοκή του PAF στον μηχανισμό της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, ενώ όσον αφορά το σελήνιο, φαίνεται ότι, πιθανότατα διαμέσου της συμμετοχής του σε αντιοξειδωτικά και αντιφλεγμονώδη συστήματα, μετριάξει τις αρνητικές επιπτώσεις του ΚΜΠ που προκαλείται από πλειομετρικές μυϊκές συστολές, στην λειτουργία των μυών. Από τους στατιστικά σημαντικούς συσχετισμούς που εντοπίστηκαν ανάμεσα σε προσλήψεις θρεπτικών συστατικών και σε δείκτες μυϊκής βλάβης και φλεγμονής, προκύπτει ότι η διατροφική πρόσληψη του ψευδαργύρου, του χαλκού και του μαγγάνιου πιθανώς επηρεάζει την συνολική απόκριση του οργανισμού στην βλάβη. Ωστόσο, οι ακριβείς ρόλοι που διαδραματίζουν ο PAF, το σελήνιο, ο ψευδάργυρος, ο χαλκός και το μαγγάνιο στον μηχανισμό της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης πρέπει να διερευνηθούν σε βάθος με μελλοντικές μελέτες, από τις οποίες τελικά θα προκύψει η αναγκαιότητα ή μη πραγματοποίησης συστάσεων για αυξημένη κατανάλωση τροφών ή συμπληρωμάτων διατροφής πλούσιων σε αναστολείς του PAF, σελήνιο, ψευδάργυρο ή μαγγάνιο ή κάποιον συνδυασμό τους. Η διατροφική αξιολόγηση είναι αναμφισβήτητα ένα πολύτιμο εργαλείο στον σχεδιασμό κάθε εργασίας αυτής της κατηγορίας. Συνεπώς, όσον αφορά την διατροφική αξιολόγηση Ελλήνων, κρίνεται αποφασιστικής σημασίας η συμπλήρωση των ελληνικών πινάκων συνθέσεως τροφίμων με δεδομένα που αφορούν το σελήνιο, το μαγγάνιο και τον χαλκό, μιας και αυτό θα συμβάλλει στην εγκυρότερη εκτίμηση της διατροφικά προσλαμβανόμενης ποσότητας των αντίστοιχων ιχνοστοιχείων.

## 5.4 Γενικά Συμπεράσματα – Προτάσεις για το μέλλον

- ✓ Η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη και ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος που την συνοδεύει είναι μία κατάσταση γνωστή στον ευρύ πληθυσμό. Μολονότι πολυάριθμες είναι οι μελέτες στο συγκεκριμένο πεδίο έρευνας, παραμένουν πολλά αναπάντητα ερωτηματικά σχετικά με τον μηχανισμό καθώς και με την εύρεση αποτελεσματικών παρεμβάσεων (χωρίς να ενέχουν κίνδυνο εμφάνισης παρενεργειών).
- ✓ Η επιμονή σε διεθνές επίπεδο στην μελέτη στο συγκεκριμένο ερευνητικό πεδίο εξηγείται επειδή η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη:
  - αφορά μεγάλες πληθυσμιακές ομάδες
    - αθλητές, που επιστρέφουν στο κανονικό πρόγραμμα προπονήσεων μετά από κάποιον τραυματισμό ή μετά από κάποια περίοδο ανάπαυσης, επηρεάζοντας σοβαρά την απόδοσή τους
    - αθλητές, που ξεκινούν κάποιο πρόγραμμα φυσικής άσκησης
  - αποτελεί ένα μοντέλο έμμεσης μελέτης μιας μεγάλης κατηγορίας μυοσκελετικών τραυματισμών, των θλάσεων που παρουσιάζει αρκετά κοινά σημεία.
- ✓ Από την διεθνή αρθρογραφία προκύπτει ότι η σύγχρονη έρευνα σε σχέση με την διατροφική υποστήριξη των ασκούμενων δεν στοχεύει μόνο στην βελτιστοποίηση της αθλητικής απόδοσης, αλλά και στην αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση των διάφορων μυοσκελετικών τραυματισμών. Η μελέτη των επιδράσεων παραγόντων όπως η αλλαγή διατροφικών συνηθειών, η τροποποίηση της πρόσληψης μακρο- και μικροθρεπτικών συστατικών καθώς και η χορήγηση συμπληρωμάτων διατροφής στην εξέλιξη της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, αποτελεί ένα ανοικτό πεδίο έρευνας προς την κατεύθυνση αυτή.

- ✓ Για τις ανάγκες της παρούσας ερευνητικής προσπάθειας κρίθηκε απαραίτητο να αναπτυχθεί ένα έγκυρο και εύχρηστο μυϊκό δυναμόμετρο. Τα αποτελέσματα του συνόλου των ελέγχων εγκυρότητας και επαναληψιμότητας που διενεργήθηκαν επέτρεψαν την χρήση του στα μετέπειτα στάδια της έρευνας.
- ✓ Το επιλεγθέν πρωτόκολλο πλειομετρικής άσκησης, το οποίο εφαρμόστηκε στους συμμετέχοντες της έρευνας με την βοήθεια του νεοδημιουργηθέντος δυναμομέτρου, μολονότι κρίνεται χαμηλής επιβάρυνσης, πράγματι προκάλεσε μυϊκή βλάβη στους καμπτήρες μυς του αγκώνα κάτι το οποίο επιβεβαιώθηκε από τις στατιστικά σημαντικές διακυμάνσεις όλων των αποδεκτών δεικτών ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης που αξιολογήθηκαν. Ειδικότερα, ευρήματα τα οποία παρατηρήθηκαν σε όλα τα άτομα του δείγματος, όπως:
  - η μείωση της μέγιστης ισομετρικής ροπής των εμπλεκόμενων μυών,
  - η μείωση του εύρους τροχιάς της άρθρωσης του αγκώνα,
  - η εμφάνιση οιδήματος στην εμπλεκόμενη περιοχή,
  - ο έντονος καθυστερημένος μυϊκός πόνος και
  - η αύξηση των επιπέδων μυϊκών ενζύμων (CK και LDH) στην αιματική κυκλοφορίαμαρτυρούν την πρόκληση μυϊκής βλάβης, όντας σε συμφωνία με αποτελέσματα παρόμοιων ερευνών.
- ✓ Τα επίπεδα της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης και του συμπληρώματος C3 στον ορό και του ινωδογόνου στο πλάσμα του αίματος, που αποτελούν γνωστούς δείκτες οξείας φλεγμονής, δεν μεταβλήθηκαν στατιστικώς σημαντικά σε κανένα από τα μετασκησιακά χρονικά σημεία εξέτασης, σε σύγκριση με τα αρχικά τους επίπεδα.
- ✓ Παρατηρήθηκε μετασκησιακή λευκοκυττάρωση που οφειλόταν κυρίως στην αύξηση του αριθμού των ουδετερόφιλων αλλά και στον αυξημένο αριθμό των μονοκυττάρων και των ηωσινόφιλων στην αιματική κυκλοφορία, εύρημα το οποίο είναι σε συμφωνία με συμπεράσματα προγενέστερων μελετών όπου χρησιμοποιήθηκε άσκηση πλειομετρικού τύπου ή αντιστάσεων.

Επιπροσθέτως, παρατηρήθηκε μία στατιστικώς σημαντική μείωση του αριθμού των λεμφοκυττάρων στις χρονικές στιγμές 2 και 72h μετά την άσκηση, γεγονός το οποίο υποδηλώνει την ύπαρξη μίας άμεσης μετασκησιακής επίδρασης της πλειομετρικής άσκησης στον αριθμό των κυκλοφορούντων λεμφοκυττάρων αλλά και μίας χρονικά καθυστερημένης.

- ✓ Ένα από τα σημαντικότερα ευρήματα της παρούσας ερευνητικής προσπάθειας είναι το ότι η πλειομετρική άσκηση προκάλεσε, εκτός της λευκοκυττάρωσης η οποία έχει περιγραφεί πολλές φορές στο παρελθόν και από άλλες ερευνητικές ομάδες, αυξημένα κυκλοφορούντα επίπεδα του παράγοντα ενεργοποίησης αιμοπεταλίων (PAF), χωρίς ωστόσο να συνοδεύονται από σημαντικές μεταβολές στη δραστηριότητα του ενζύμου απενεργοποίησής του, της PAF-AH. Αξίζει να τονιστεί ότι δεν έχει μελετηθεί επαρκώς η επίδραση της άσκησης, και πολύ περισσότερο της πλειομετρικού τύπου άσκησης, στα κυκλοφορούντα επίπεδα του συγκεκριμένου φλεγμονώδη διαμεσολαβητή.
- ✓ Ο βαθμός αύξησης του PAF στο αίμα μετά από πλειομετρική άσκηση φαίνεται ότι επηρεάζει με κάποιο τρόπο την ένταση της προκαλούμενης μυϊκής βλάβης. Αυτό προκύπτει από τις συσχετίσεις που εντοπίστηκαν ανάμεσα στον PAF και σε αποδεκτούς δείκτες μυϊκής βλάβης. Συγκεκριμένα, τα άτομα που εμφάνισαν μεγαλύτερες αυξήσεις των επιπέδων του PAF είχαν:
  - μεγαλύτερο βαθμό ρήξης μυϊκών κυττάρων,
  - πιο καθυστερημένη ανάκτηση της μέγιστης δύναμης
  - εντονότερο οίδημα
- ✓ Τα αρχικά επίπεδα σεληνίου φαίνεται ότι συσχετίζονται με αποδεκτούς δείκτες μυϊκής βλάβης. Συγκεκριμένα, τα άτομα που διέθεταν υψηλότερα επίπεδα σεληνίου στον ορό του αίματος εμφάνισαν:
  - μικρότερο βαθμό ρήξης μυϊκών κυττάρων,
  - μικρότερη πτώση της δύναμης κατά τις πρώτες 24h (όπου εμφανίζεται η ελάχιστη τιμή) και
  - γρηγορότερη βελτίωση της μυϊκής δυσκαμψίας

- ✓ Η μέση ημερήσια διατροφική πρόσληψη του ψευδαργύρου, του χαλκού και του μαγγανίου φαίνεται ότι συσχετίζεται με αποδεκτούς δείκτες της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης. Συγκεκριμένα, τα άτομα που είχαν υψηλότερες διατροφικές προσλήψεις των συγκεκριμένων ιχνοστοιχείων εμφάνισαν:
  - μικρότερο βαθμό ρήξης μυϊκών κυττάρων
  - μικρότερη μείωση της μυϊκής δυσκαμψίας
  - μικρότερη πτώση της μέγιστης δύναμης

που σαφώς υποδηλώνουν θετικότερη έκβαση της προκληθείσας βλάβης.

- ✓ Από τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας προκύπτει ερευνητικό ενδιαφέρον για οργάνωση μελλοντικών εργασιών, που θα εξετάσουν σε επαρκές δείγμα συμμετεχόντων την αποτελεσματικότητα της χορήγησης τροφών ή συμπληρωμάτων διατροφής πλούσιων σε αναστολείς του PAF, σελήνιο, ψευδάργυρο, χαλκό ή μαγγάνιο ή κάποιον συνδυασμό τους, στην πρόληψη και στην ταχύτερη αποκατάσταση της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης.
- ✓ Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας υποστηρίζουν ότι το σελήνιο εμπλέκεται στον μηχανισμό της ασκησιογενούς (πλειομετρικού τύπου) μυϊκής βλάβης. Σε αυτό το πλαίσιο πιθανώς να συμμετέχουν σεληνοπρωτεΐνες με αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές δράσεις. Ωστόσο, ο ακριβής ρόλος που διαδραματίζει το σελήνιο στην αποκατάσταση της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης χρειάζεται να επιβεβαιωθεί από μελλοντικές έρευνες, οι οποίες θα φανερώσουν και τον βαθμό αναγκαιότητας χορήγησης συμπληρωμάτων σεληνίου σε ασκούμενους προκειμένου να αντιμετωπίζουν ελαφρύτερα συμπτώματα του συγκεκριμένου είδους μυϊκού τραυματισμού.
- ✓ Επιπλέον θεωρείται απαραίτητη η οργάνωση πειραμάτων που θα στοχεύουν στην βαθύτερη διερεύνηση της εμπλοκής του PAF αλλά και του σεληνίου, του ψευδαργύρου, του χαλκού και του μαγγανίου σε επίπεδο μηχανισμού της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, ενώ ενδιαφέρον αποκτά το εάν θα μπορούσε ο προαναφερθείς φλεγμονώδης διαμεσολαβητής να αξιοποιηθεί στο μέλλον

ως ένας νέος αξιόπιστος ποσοτικός δείκτης της ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης.

- ✓ Η διατροφική αξιολόγηση είναι αναμφισβήτητα ένα πολύτιμο εργαλείο στον σχεδιασμό κάθε εργασίας αυτής της κατηγορίας. Συνεπώς, όσον αφορά την διατροφική αξιολόγηση Ελλήνων, κρίνεται αποφασιστικής σημασίας η συμπλήρωση των ελληνικών πινάκων συνθέσεως τροφίμων με δεδομένα που αφορούν ιδίως το σελήνιο (που εμφανίζει μεγάλες γεωγραφικές διακυμάνσεις) αλλά και τον χαλκό και το μαγγάνιο, μιας και αυτό θα συμβάλλει στην εγκυρότερη εκτίμηση της διατροφικά προσλαμβανόμενης ποσότητας των συγκεκριμένων ιχνοστοιχείων.



## 6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ – ΑΡΘΡΟΓΡΑΦΙΑ

1. Clarkson PM, Hubal MJ: **Exercise-induced muscle damage in humans.** *Am J Phys Med Rehabil* 2002, **81**(11 Suppl):S52-69.
2. Hough T: **Ergographic studies in muscular soreness.** *Am J Physiol* 1902, **7**:76-92.
3. Newham DJ, McPhail G, Mills KR, Edwards RH: **Ultrastructural changes after concentric and eccentric contractions of human muscle.** *J Neurol Sci* 1983, **61**(1):109-122.
4. Friden J, Sjostrom M, Ekblom B: **A morphological study of delayed muscle soreness.** *Experientia* 1981, **37**(5):506-507.
5. Friden J, Sjostrom M, Ekblom B: **Myofibrillar damage following intense eccentric exercise in man.** *Int J Sports Med* 1983, **4**(3):170-176.
6. Warren GL, Lowe DA, Armstrong RB: **Measurement tools used in the study of eccentric contraction-induced injury.** *Sports Med* 1999, **27**(1):43-59.
7. Lieber RL, Friden J: **Mechanisms of muscle injury gleaned from animal models.** *Am J Phys Med Rehabil* 2002, **81**(11 Suppl):S70-79.
8. Shils M, Olson J, Moshe S: **Modern nutrition in health and disease**, 8th edn. Philadelphia: Lea & Febiger; 1994.
9. Bloom W, Fawcett DW: **A Textbook of Histology.** Philadelphia: WB Saunders; 1975.
10. Henneman E, Olson CB: **Relations Between Structure And Function In The Design Of Skeletal Muscles.** *J Neurophysiol* 1965, **28**:581-598.
11. Simon SR, Riggins RS, Wirth CR, Fox ML: **Orthopaedic Science.** Chicago: AAOS Press; 1986.
12. Elftman H: **Biomechanics of muscle with particular application to studies of gait.** *J Bone Joint Surg Am* 1966, **48**(2):363-377.
13. Feinstein B, Lindegard B, Nyman E, Wohlfart G: **Morphologic studies of motor units in normal human muscles.** *Acta Anat (Basel)* 1955, **23**(2):127-142.
14. Burke RE: **Motor unit properties and selective involvement in movement.** *Exerc Sport Sci Rev* 1975, **3**:31-81.
15. Gollnick PD, Matoba H: **The muscle fiber composition of skeletal muscle as a predictor of athletic success. An overview.** *Am J Sports Med* 1984, **12**(3):212-217.
16. Huxley AF, Simmons RM: **Proposed mechanism of force generation in striated muscle.** *Nature* 1971, **233**(5321):533-538.

17. Huxley HE: **The mechanism of muscular contraction.** *Science* 1969, **164**(886):1356-1365.
18. Raven PB: **"Contraction," a definition of muscle action.** *Med Sci Sports Exerc* 1991, **23**(7):777-778.
19. Ehman RL, Berquist TH: **Magnetic resonance imaging of musculoskeletal trauma.** *Radiol Clin North Am* 1986, **24**(2):291-319.
20. Canale ST, Cantler ED, Jr., Sisk TD, Freeman BL, 3rd: **A chronicle of injuries of an American intercollegiate football team.** *Am J Sports Med* 1981, **9**(6):384-389.
21. Garrett WE, Jr.: **Muscle strain injuries: clinical and basic aspects.** *Med Sci Sports Exerc* 1990, **22**(4):436-443.
22. Garrett WE, Jr.: **Muscle strain injuries.** *Am J Sports Med* 1996, **24**(6 Suppl):S2-8.
23. Verrall GM, Slavotinek JP, Barnes PG, Fon GT, Spriggins AJ: **Clinical risk factors for hamstring muscle strain injury: a prospective study with correlation of injury by magnetic resonance imaging.** *Br J Sports Med* 2001, **35**(6):435-439; discussion 440.
24. Fleckenstein JL, Weatherall PT, Parkey RW, Payne JA, Peshock RM: **Sports-related muscle injuries: evaluation with MR imaging.** *Radiology* 1989, **172**(3):793-798.
25. Nguyen B, Brandser E, Rubin DA: **Pains, strains, and fasciculations: lower extremity muscle disorders.** *Magn Reson Imaging Clin N Am* 2000, **8**(2):391-408.
26. Fleckenstein JL, Shellock FG: **Exertional muscle injuries: magnetic resonance imaging evaluation.** *Top Magn Reson Imaging* 1991, **3**(4):50-70.
27. Gulick DT, Kimura IF: **Delayed onset muscle soreness: What is it and how do we treat it?** *J Sport Rehab* 1996, **5**(3):234-243.
28. Safran MR, Seaber AV, Garrett WE, Jr.: **Warm-up and muscular injury prevention. An update.** *Sports Med* 1989, **8**(4):239-249.
29. Armstrong RB, Warren GL: **Strain-induced skeletal muscle fibre injury.** London: E & FN Spon; 1993.
30. Armstrong RB: **Mechanisms of exercise-induced delayed onset muscular soreness: a brief review.** *Med Sci Sports Exerc* 1984, **16**(6):529-538.
31. MacIntyre DL, Reid WD, McKenzie DC: **Delayed muscle soreness. The inflammatory response to muscle injury and its clinical implications.** *Sports Med* 1995, **20**(1):24-40.

32. Noonan TJ, Garrett WE, Jr.: **Injuries at the myotendinous junction.** *Clin Sports Med* 1992, **11**(4):783-806.
33. Newham DJ, Mills KR, Quigley BM, Edwards RH: **Pain and fatigue after concentric and eccentric muscle contractions.** *Clin Sci (Lond)* 1983, **64**(1):55-62.
34. Friden J, Sfikianos PN, Hargens AR: **Muscle soreness and intramuscular fluid pressure: comparison between eccentric and concentric load.** *J Appl Physiol* 1986, **61**(6):2175-2179.
35. Tidball JG: **Myotendinous junction injury in relation to junction structure and molecular composition.** *Exerc Sport Sci Rev* 1991, **19**:419-445.
36. Stauber WT: **Eccentric action of muscles: physiology, injury, and adaptation.** *Exerc Sport Sci Rev* 1989, **17**:157-185.
37. Cleak MJ, Eston RG: **Delayed onset muscle soreness: mechanisms and management.** *J Sports Sci* 1992, **10**(4):325-341.
38. Francis KT, Hoobler T: **Effects of aspirin on delayed muscle soreness.** *J Sports Med Phys Fitness* 1987, **27**(3):333-337.
39. Asmussen E: **Observations on experimental muscular soreness.** *Acta Rheumatol Scand* 1956, **2**(2):109-116.
40. Schwane JA, Hatrous BG, Johnson SR, Armstrong RB: **Is lactic acid related to delayed-onset muscle soreness?** *Physiol Sportsmed* 1983, **11**:124-131.
41. Cazorla G, Petibois C, Bosquet L: **Lactate at exercise: mythes et realites.** *Rev Sci Tech Activ Phys Sport (Grenoble)* 2001, **22**(54):63-76.
42. De Vries HA: **Electromyographic observations of the effects of static stretching upon muscular distress.** *Res Q* 1961, **32**:468-479.
43. Bobbert MF, Hollander AP, Huijing PA: **Factors in delayed onset muscular soreness of man.** *Med Sci Sports Exerc* 1986, **18**(1):75-81.
44. Cleak MJ, Eston RG: **Muscle soreness, swelling, stiffness and strength loss after intense eccentric exercise.** *Br J Sports Med* 1992, **26**(4):267-272.
45. De Vries HA: **Quantitative electromyographic investigation of the spasm theory of muscle pain.** *Am J Phys Med* 1966, **45**(3):119-134.
46. Talag TS: **Residual muscular soreness as influenced by concentric, eccentric, and static contractions.** *Res Q* 1973, **44**(4):458-469.
47. Abraham WM: **Factors in delayed muscle soreness.** *Med Sci Sports* 1977, **9**(1):11-20.
48. Newham DJ, Jones DA, Edwards RH: **Large delayed plasma creatine kinase changes after stepping exercise.** *Muscle Nerve* 1983, **6**(5):380-385.

49. De Vries HA: **Prevention of muscular distress after exercise.** *Res Q* 1960, **32**(2):177-185.
50. Sydney-Smith M, Quigley BM: **Delayed onset muscle soreness: evidence of connective tissue damage, liquid peroxidation and altered renal function after exercise.** *Report to the Australian Sports Commission's Applied Sport Research Canberra: Australian Sports Commission* 1992:77.
51. Jones DA, Newham DJ, Round JM, Tolfree SE: **Experimental human muscle damage: morphological changes in relation to other indices of damage.** *J Physiol* 1986, **375**:435-448.
52. Friden J, Kjorell U, Thornell LE: **Delayed muscle soreness and cytoskeletal alterations: an immunocytological study in man.** *Int J Sports Med* 1984, **5**(1):15-18.
53. Friden J, Seger J, Ekblom B: **Sublethal muscle fibre injuries after high-tension anaerobic exercise.** *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1988, **57**(3):360-368.
54. Friden J, Lieber RL: **Structural and mechanical basis of exercise-induced muscle injury.** *Med Sci Sports Exerc* 1992, **24**(5):521-530.
55. Newham DJ, Jones DA, Edwards RH: **Plasma creatine kinase changes after eccentric and concentric contractions.** *Muscle Nerve* 1986, **9**(1):59-63.
56. Brown SJ, Child RB, Day SH, Donnelly AE: **Indices of skeletal muscle damage and connective tissue breakdown following eccentric muscle contractions.** *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1997, **75**(4):369-374.
57. Armstrong RB: **Initial events in exercise-induced muscular injury.** *Med Sci Sports Exerc* 1990, **22**(4):429-435.
58. Walsh B, Tonkonogi M, Malm C, Ekblom B, Sahlin K: **Effect of eccentric exercise on muscle oxidative metabolism in humans.** *Med Sci Sports Exerc* 2001, **33**(3):436-441.
59. Evans WJ, Meredith CN, Cannon JG, Dinarello CA, Frontera WR, Hughes VA, Jones BH, Knuttgen HG: **Metabolic changes following eccentric exercise in trained and untrained men.** *J Appl Physiol* 1986, **61**(5):1864-1868.
60. Clarkson PM, Ebbeling C: **Investigation of serum creatine kinase variability after muscle-damaging exercise.** *Clin Sci (Lond)* 1988, **75**(3):257-261.
61. Clarkson PM, Byrnes WC, McCormick KM, Turcotte LP, White JS: **Muscle soreness and serum creatine kinase activity following isometric, eccentric, and concentric exercise.** *Int J Sports Med* 1986, **7**(3):152-155.
62. Jones DA, Newham DJ: **The effect of training on human muscle pain and damage.** *J Physiol* 1985, **365**:76.

63. Clarkson PM, Apple FS, Byrnes WC, McCormick KM, Triffletti P: **Creatine kinase isoforms following isometric exercise.** *Muscle Nerve* 1987, **10**(1):41-44.
64. Smith LL: **Acute inflammation: the underlying mechanism in delayed onset muscle soreness?** *Med Sci Sports Exerc* 1991, **23**(5):542-551.
65. Hasson SM, Daniels JC, Divine JG, Niebuhr BR, Richmond S, Stein PG, Williams JH: **Effect of ibuprofen use on muscle soreness, damage, and performance: a preliminary investigation.** *Med Sci Sports Exerc* 1993, **25**(1):9-17.
66. Lightfoot JT, Char D, J. M, Goya C: **Immediate postexercise massage does not attenuate delayed onset muscle soreness.** *J Strength Cond Res* 1997, **11**(2):119-124.
67. Schwane JA, Johnson SR, Vandenakker CB, Armstrong RB: **Delayed-onset muscular soreness and plasma CPK and LDH activities after downhill running.** *Med Sci Sports Exerc* 1983, **15**(1):51-56.
68. Smith ME, Jackson CGR: **Delayed onset muscle soreness (DOMS), serum creatine kinase (SCK) and creatine kinase-MB (%CK-MB) related to performance measurements in football [abstract].** *Med Sci Sports Exerc* 1990, **Suppl 2**:S34.
69. Fielding RA, Manfredi TJ, Ding W, Fiatarone MA, Evans WJ, Cannon JG: **Acute phase response in exercise. III. Neutrophil and IL-1 beta accumulation in skeletal muscle.** *Am J Physiol* 1993, **265**(1 Pt 2):R166-172.
70. Kuipers H, Drukker J, Frederik PM, Geurten P, van Kranenburg G: **Muscle degeneration after exercise in rats.** *Int J Sports Med* 1983, **4**(1):45-51.
71. Altstaedt J, Kirchner H, Rink L: **Cytokine production of neutrophils is limited to interleukin-8.** *Immunology* 1996, **89**(4):563-568.
72. Dubravec DB, Spriggs DR, Mannick JA, Rodrick ML: **Circulating human peripheral blood granulocytes synthesize and secrete tumor necrosis factor alpha.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990, **87**(17):6758-6761.
73. Best TM, Fiebig R, Corr DT, Brickson S, Ji L: **Free radical activity, antioxidant enzyme, and glutathione changes with muscle stretch injury in rabbits.** *J Appl Physiol* 1999, **87**(1):74-82.
74. Best TM, McElhaney JH, Garrett WE, Jr., Myers BS: **Axial strain measurements in skeletal muscle at various strain rates.** *J Biomech Eng* 1995, **117**(3):262-265.
75. Schneider BS, Sannes H, Fine J, Best T: **Desmin characteristics of CD11b-positive fibers after eccentric contractions.** *Med Sci Sports Exerc* 2002, **34**(2):274-281.

76. Bintliff S, Walker B: **Radioautographic study of skeletal muscle regeneration.** *Am J Anat* 1960, **106**:233-245.
77. Honda H, Kimura H, Rostami A: **Isolation and characterization of macrophages from rat embryonic muscle culture.** *J Leukoc Biol* 1992, **52**(5):537-544.
78. Honda H, Kimura H, Rostami A: **Demonstration and phenotypic characterization of resident macrophages in rat skeletal muscle.** *Immunology* 1990, **70**(2):272-277.
79. Arkins S, Rebeiz N, Biragyn A, Reese DL, Kelley KW: **Murine macrophages express abundant insulin-like growth factor-I class I Ea and Eb transcripts.** *Endocrinology* 1993, **133**(5):2334-2343.
80. Le JM, Weinstein D, Gubler U, Vilcek J: **Induction of membrane-associated interleukin 1 by tumor necrosis factor in human fibroblasts.** *J Immunol* 1987, **138**(7):2137-2142.
81. Walther Z, May LT, Sehgal PB: **Transcriptional regulation of the interferon-beta 2/B cell differentiation factor BSF-2/hepatocyte-stimulating factor gene in human fibroblasts by other cytokines.** *J Immunol* 1988, **140**(3):974-977.
82. King JB: **Post-traumatic ectopic calcification in the muscles of athletes: a review.** *Br J Sports Med* 1998, **32**(4):287-290.
83. Kovacs EJ, DiPietro LA: **Fibrogenic cytokines and connective tissue production.** *Faseb J* 1994, **8**(11):854-861.
84. Cannon JG, St Pierre BA: **Cytokines in exertion-induced skeletal muscle injury.** *Mol Cell Biochem* 1998, **179**(1-2):159-167.
85. Pober JS, Gimbrone MA, Jr., Lapierre LA, Mendrick DL, Fiers W, Rothlein R, Springer TA: **Overlapping patterns of activation of human endothelial cells by interleukin 1, tumor necrosis factor, and immune interferon.** *J Immunol* 1986, **137**(6):1893-1896.
86. Hershko A: **Ubiquitin-mediated protein degradation.** *J Biol Chem* 1988, **263**(30):15237-15240.
87. McHugh MP, Connolly DA, Eston RG, Gleim GW: **Exercise-induced muscle damage and potential mechanisms for the repeated bout effect.** *Sports Med* 1999, **27**(3):157-170.
88. Connolly DA, Sayers SP, McHugh MP: **Treatment and prevention of delayed onset muscle soreness.** *J Strength Cond Res* 2003, **17**(1):197-208.
89. McHugh MP: **Can exercise-induced muscle damage be avoided?** *West J Med* 2000, **172**(4):265-266.

90. Rowlands AV, Eston RG, Tilzey C: **Effect of stride length manipulation on symptoms of exercise-induced muscle damage and the repeated bout effect.** *J Sports Sci* 2001, **19**(5):333-340.
91. Paddon-Jones DJ, Quigley BM: **Effect of cryotherapy on muscle soreness and strength following eccentric exercise.** *Int J Sports Med* 1997, **18**(8):588-593.
92. Weber MD, Servedio FJ, Woodall WR: **The effects of three modalities on delayed onset muscle soreness.** *J Orthop Sports Phys Ther* 1994, **20**(5):236-242.
93. Harris C, Wilcox A, Smith G, Quinn C, Lawson L: **The effect of delayed onset muscle soreness (DOMS) on running kinematics.** *Med Sci Sports Exerc* 1990, **22**(2):S34.
94. Vasudevan SV: **Handbook of pain assessment.** New York: The Guilford Press; 1993.
95. Saxton JM, Clarkson PM, James R, Miles M, Westerfer M, Clark S, Donnelly AE: **Neuromuscular dysfunction following eccentric exercise.** *Med Sci Sports Exerc* 1995, **27**(8):1185-1193.
96. 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**:75-90.
97. Evans RK, Knight KL, Draper DO, Parcell AC: **Effects of warm-up before eccentric exercise on indirect markers of muscle damage.** *Med Sci Sports Exerc* 2002, **34**(12):1892-1899.
98. Nosaka K, Clarkson PM: **Changes in indicators of inflammation after eccentric exercise of the elbow flexors.** *Med Sci Sports Exerc* 1996, **28**(8):953-961.
99. Howell JN, Chleboun G, Conatser R: **Muscle stiffness, strength loss, swelling and soreness following exercise-induced injury in humans.** *J Physiol* 1993, **464**:183-196.
100. Hamill J, Freedson PS, Clarkson PM, Braun B: **Muscle soreness during running.** *Int J Sports Biomechanics* 1991, **7**(2):125-137.
101. Ebbeling CB, Clarkson PM: **Exercise-induced muscle damage and adaptation.** *Sports Med* 1989, **7**(4):207-234.
102. Newham DJ, Jones DA, Clarkson PM: **Repeated high-force eccentric exercise: effects on muscle pain and damage.** *J Appl Physiol* 1987, **63**(4):1381-1386.
103. Smith LL: **Causes of delayed onset muscle soreness and the impact on athletic performance: A review.** *J Appl Sport Sci Res* 1992, **6**(3):135-141.

104. Edgerton VR, Wolf SL, Levendowski DJ, Roy RR: **Theoretical basis for patterning EMG amplitudes to assess muscle dysfunction.** *Med Sci Sports Exerc* 1996, **28**(6):744-751.
105. Orchard J, Marsden J, Lord S, Garlick D: **Preseason hamstring muscle weakness associated with hamstring muscle injury in Australian footballers.** *Am J Sports Med* 1997, **25**(1):81-85.
106. Marieb E: **Human anatomy and physiology**, 2nd edn. Redwood City, CA: Benjamin/Cummings Publishing Co; 1992.
107. Brooks PM, Day RO: **Nonsteroidal antiinflammatory drugs--differences and similarities.** *N Engl J Med* 1991, **324**(24):1716-1725.
108. Hertel J: **The role of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the treatment of acute soft tissue injuries.** *J Athl Train* 1997, **32**:350-357.
109. Abramson SB, Weissmann G: **The mechanisms of action of nonsteroidal antiinflammatory drugs.** *Arthritis Rheum* 1989, **32**(1):1-9.
110. Dudley GA, Czerkawski J, Meinrod A, Gillis G, Baldwin A, Scarpone M: **Efficacy of naproxen sodium for exercise-induced dysfunction muscle injury and soreness.** *Clin J Sport Med* 1997, **7**(1):3-10.
111. Bourgeois J, MacDougall D, MacDonald J, Tarnopolsky M: **Naproxen does not alter indices of muscle damage in resistance-exercise trained men.** *Med Sci Sports Exerc* 1999, **31**(1):4-9.
112. Donnelly AE, Maughan RJ, Whiting PH: **Effects of ibuprofen on exercise-induced muscle soreness and indices of muscle damage.** *Br J Sports Med* 1990, **24**(3):191-195.
113. Mishra DK, Friden J, Schmitz MC, Lieber RL: **Anti-inflammatory medication after muscle injury. A treatment resulting in short-term improvement but subsequent loss of muscle function.** *J Bone Joint Surg Am* 1995, **77**(10):1510-1519.
114. Kuipers H, Janssen E, Keizer H, Verstappen S: **Serum CPK and amount of muscle damage in rats.** *Med Sci Sports Exerc* 1985, **17**:195.
115. Grossman JM, Arnold BL, Perrin DH, M. KD: **Effect of ibuprofen use on delayed onset muscle soreness of the elbow flexors.** *J Sport Rehab* 1995, **4**:253-263.
116. Pizza FX, Cavender D, Stockard A, Baylies H, Beighle A: **Anti-inflammatory doses of ibuprofen: effect on neutrophils and exercise-induced muscle injury.** *Int J Sports Med* 1999, **20**(2):98-102.
117. Howell JN, Conatser RR, Chleboun GS, Karapondo DL, Chila AG: **The effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on recovery from exercise-induced muscle injury. 1.Flurbiprofen.** *J Musculoskeletal Pain* 1998, **6**:59-68.



118. Howell JN, Conatser RR, Chleboun GS, Karapondo DL, Chila AG: **The effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on recovery from exercise-induced muscle injury. 2.Ibuprofen.** *J Musculoskeletal Pain* 1998, **6**:69-83.
119. Semark A, Noakes TD, St Clair Gibson A, Lambert MI: **The effect of a prophylactic dose of flurbiprofen on muscle soreness and sprinting performance in trained subjects.** *J Sports Sci* 1999, **17**(3):197-203.
120. Barlas P, Craig JA, Robinson J, Walsh DM, Baxter GD, Allen JM: **Managing delayed-onset muscle soreness: lack of effect of selected oral systemic analgesics.** *Arch Phys Med Rehabil* 2000, **81**(7):966-972.
121. Donnelly AE, McCormick K, Maughan RJ, Whiting PH, Clarkson PM: **Effects of a non-steroidal anti-inflammatory drug on delayed onset muscle soreness and indices of damage.** *Br J Sports Med* 1988, **22**(1):35-38.
122. Lecomte JM, Lacroix VJ, Montgomery DL: **A randomized controlled trial of the effect of naproxen on delayed onset muscle soreness and muscle strength.** *Clin J Sport Med* 1998, **8**(2):82-87.
123. O'Grady M, Hackney AC, Schneider K, Bossen E, Steinberg K, Douglas JM, Jr., Murray WJ, Watkins WD: **Diclofenac sodium (Voltaren) reduced exercise-induced injury in human skeletal muscle.** *Med Sci Sports Exerc* 2000, **32**(7):1191-1196.
124. Sayers SP, Knight CA, Clarkson PM, Van Wegen EH, Kamen G: **Effect of ketoprofen on muscle function and sEMG activity after eccentric exercise.** *Med Sci Sports Exerc* 2001, **33**(5):702-710.
125. Chleboun GS, Howell JN, Baker HL, Ballard TN, Graham JL, Hallman HL, Perkins LE, Schauss JH, Conatser RR: **Intermittent pneumatic compression effect on eccentric exercise-induced swelling, stiffness, and strength loss.** *Arch Phys Med Rehabil* 1995, **76**(8):744-749.
126. Craig JA, Bradley J, Walsh DM, Baxter GD, Allen JM: **Delayed onset muscle soreness: lack of effect of therapeutic ultrasound in humans.** *Arch Phys Med Rehabil* 1999, **80**(3):318-323.
127. Eston R, Peters D: **Effects of cold water immersion on the symptoms of exercise-induced muscle damage.** *J Sports Sci* 1999, **17**(3):231-238.
128. Tiidus PM: **Massage and ultrasound as therapeutic modalities in exercise-induced muscle damage.** *Can J Appl Physiol* 1999, **24**(3):267-278.
129. Lund H, Vestergaard-Poulsen P, Kanstrup IL, Sejrsen P: **The effect of passive stretching on delayed onset muscle soreness, and other detrimental effects following eccentric exercise.** *Scand J Med Sci Sports* 1998, **8**(4):216-221.
130. Rodenburg JB, Steenbeek D, Schiereck P, Bar PR: **Warm-up, stretching and massage diminish harmful effects of eccentric exercise.** *Int J Sports Med* 1994, **15**(7):414-419.

131. Sayers SP, Clarkson PM, Lee J: **Activity and immobilization after eccentric exercise: I. Recovery of muscle function.** *Med Sci Sports Exerc* 2000, **32**(9):1587-1592.
132. Tiidus PM, Shoemaker JK: **Effleurage massage, muscle blood flow and long-term post-exercise strength recovery.** *Int J Sports Med* 1995, **16**(7):478-483.
133. Viitasalo JT, Niemela K, Kaappola R, Korjus T, Levola M, Mononen HV, Rusko HK, Takala TE: **Warm underwater water-jet massage improves recovery from intense physical exercise.** *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1995, **71**(5):431-438.
134. Mekjavic IB, Exner JA, Tesch PA, Eiken O: **Hyperbaric oxygen therapy does not affect recovery from delayed onset muscle soreness.** *Med Sci Sports Exerc* 2000, **32**(3):558-563.
135. Zhang J, Clement D, Taunton J: **The efficacy of Farabloc, an electromagnetic shield, in attenuating delayed-onset muscle soreness.** *Clin J Sport Med* 2000, **10**(1):15-21.
136. Yackzan L, Adams C, Francis KT: **The effects of ice massage on delayed muscle soreness.** *Am J Sports Med* 1984, **12**(2):159-165.
137. Rodenburg JB, Bar PR, De Boer RW: **Relations between muscle soreness and biochemical and functional outcomes of eccentric exercise.** *J Appl Physiol* 1993, **74**(6):2976-2983.
138. Swenson C, Sward L, Karlsson J: **Cryotherapy in sports medicine.** *Scand J Med Sci Sports* 1996, **6**(4):193-200.
139. Kraemer WJ, Bush JA, Wickham RB, Denegar CR, Gomez AL, Gotshalk LA, Duncan ND, Volek JS, Putukian M, Sebastianelli WJ: **Influence of compression therapy on symptoms following soft tissue injury from maximal eccentric exercise.** *J Orthop Sports Phys Ther* 2001, **31**(6):282-290.
140. Ryan JB, Wheeler JH, Hopkinson WJ, Arciero RA, Kolakowski KR: **Quadriceps contusions. West Point update.** *Am J Sports Med* 1991, **19**(3):299-304.
141. Davis JC, Hunt TK: **Problem wounds: the role of oxygen.** New York: Elsevier Science Publishing Co., Inc.; 1988.
142. Lin JG, Yang SH: **Effects of acupuncture on exercise-induced muscle soreness and serum creatine kinase activity.** *Am J Chin Med* 1999, **27**(3-4):299-305.
143. Pyne DB: **Regulation of neutrophil function during exercise.** *Sports Med* 1994, **17**(4):245-258.

144. Hellsten Y, Frandsen U, Orthenblad N, Sjodin B, Richter EA: **Xanthine oxidase in human skeletal muscle following eccentric exercise: a role in inflammation.** *J Physiol* 1997, **498** (Pt 1):239-248.
145. Kaminski M, Boal R: **An effect of ascorbic acid on delayed-onset muscle soreness.** *Pain* 1992, **50**(3):317-321.
146. Childs A, Jacobs C, Kaminski T, Halliwell B, Leeuwenburgh C: **Supplementation with vitamin C and N-acetyl-cysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise.** *Free Radic Biol Med* 2001, **31**(6):745-753.
147. Hortobagyi T, Houmard J, Fraser D, Dudek R, Lambert J, Tracy J: **Normal forces and myofibrillar disruption after repeated eccentric exercise.** *J Appl Physiol* 1998, **84**(2):492-498.
148. Bryer SC, Goldfarb AH: **The effect of Vitamin C supplementation on blood glutathione status, DOMS, and creatine kinase.** *Med Sci Sports Exerc* 2001, **33**(5):S122.
149. Beaton LJ, Allan DA, Tarnopolsky MA, Tiidus PM, Phillips SM: **Contraction-induced muscle damage is unaffected by vitamin E supplementation.** *Med Sci Sports Exerc* 2002, **34**(5):798-805.
150. McBride JM, Kraemer WJ, Triplett-McBride T, Sebastianelli W: **Effect of resistance exercise on free radical production.** *Med Sci Sports Exerc* 1998, **30**(1):67-72.
151. Van Der Meulen JH, McArdle A, Jackson MJ, Faulkner JA: **Contraction-induced injury to the extensor digitorum longus muscles of rats: the role of vitamin E.** *J Appl Physiol* 1997, **83**(3):817-823.
152. Nissen S, Sharp R, Ray M, Rathmacher JA, Rice D, Fuller JC, Jr., Connelly AS, Abumrad N: **Effect of leucine metabolite beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on muscle metabolism during resistance-exercise training.** *J Appl Physiol* 1996, **81**(5):2095-2104.
153. Kreider RB, Ferreira M, Wilson M, Almada AL: **Effects of calcium beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation during resistance-training on markers of catabolism, body composition and strength.** *Int J Sports Med* 1999, **20**(8):503-509.
154. Rawson ES, Gunn B, Clarkson PM: **The effects of creatine supplementation on exercise-induced muscle damage.** *J Strength Cond Res* 2001, **15**(2):178-184.
155. Wojcik JR, Walber-Rankin J, Smith LL, Gwazdauskas FC: **Comparison of carbohydrate and milk-based beverages on muscle damage and glycogen following exercise.** *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2001, **11**(4):406-419.

156. Tveiten D, Bruset S, Borchgrevink CF, Norseth J: **Effect of Arnica D 30 during hard physical exertion: A double-blind randomized trial during the 1995 Oslo Marathon.** *Ther Med (complement)* 1998, **6**:71-74.
157. Vickers AJ, Fisher P, Smith C, Wyllie SE, Rees R: **Homeopathic Arnica 30x is ineffective for muscle soreness after long-distance running: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial.** *Clin J Pain* 1998, **14**(3):227-231.
158. Vickers AJ, Fisher P, Smith C, Wyllie SE, Lewith GT: **Homoeopathy for delayed onset muscle soreness: a randomised double blind placebo controlled trial.** *Br J Sports Med* 1997, **31**(4):304-307.
159. Giamberardino MA, Dragani L, Valente R, Di Lisa F, Saggini R, Vecchiet L: **Effects of prolonged L-carnitine administration on delayed muscle pain and CK release after eccentric effort.** *Int J Sports Med* 1996, **17**(5):320-324.
160. Laaksonen R, Fogelholm M, Himberg JJ, Laakso J, Salorinne Y: **Ubiquinone supplementation and exercise capacity in trained young and older men.** *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1995, **72**(1-2):95-100.
161. Malm C, Svensson M, Sjoberg B, Ekblom B, Sjodin B: **Supplementation with ubiquinone-10 causes cellular damage during intense exercise.** *Acta Physiol Scand* 1996, **157**(4):511-512.
162. Burk RF, Levander OA: **Modern nutrition in health and disease**, 9th edn. Baltimore: Williams & Wilkins; 1999.
163. Groff JL, Gropper SS, Hunt SM: **Advanced nutrition and human metabolism.** Minneapolis: West Publishing Company; 1995.
164. Levander OA: **Considerations in the design of selenium bioavailability studies.** *Fed Proc* 1983, **42**(6):1721-1725.
165. Forbes RM, Erdman JW, Jr.: **Bioavailability of trace mineral elements.** *Annu Rev Nutr* 1983, **3**:213-221.
166. Brown KM, Arthur JR: **Selenium, selenoproteins and human health: a review.** *Public Health Nutr* 2001, **4**(2B):593-599.
167. McAdam PA, Lewis SA: **Absorption of selenite and L-selenomethionine in healthy young men, using a <sup>74</sup>Se tracer.** *Fed Proc* 1985, **44**:1671.
168. Combs GF, Combs SB: **The role of selenium in nutrition.** Orlando: Academic Press; 1986.
169. Burk RF, Hill KE: **Regulation of selenoproteins.** *Annu Rev Nutr* 1993, **13**:65-81.
170. Evenson JK, Sunde RA: **Selenium incorporation into selenoproteins in the Se-adequate and Se-deficient rat.** *Proc Soc Exp Biol Med* 1988, **187**(2):169-180.

171. Cone JE, Del Rio RM, Davis JN, Stadtman TC: **Chemical characterization of the selenoprotein component of clostridial glycine reductase: identification of selenocysteine as the organoselenium moiety.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 1976, **73**(8):2659-2663.
172. Beckett GJ, Arthur JR: **Selenium and endocrine systems.** *J Endocrinol* 2005, **184**(3):455-465.
173. Robinson JR, Robinson MF, Levander OA, Thomson CD: **Urinary excretion of selenium by New Zealand and North American human subjects on differing intakes.** *Am J Clin Nutr* 1985, **41**(5):1023-1031.
174. **National Academies Institute of Medicine: Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes: Recommended Intakes for Individuals.** Available at: <http://www.iom.edu/Object.File/Master/21/372/0.pdf>
175. Neve J: **Methods in determination of selenium states.** *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1991, **5**(1):1-17.
176. Alfthan G, Neve J: **Reference values for serum selenium in various areas-evaluated according to the TRACY protocol.** *J Trace Elem Med Biol* 1996, **10**(2):77-87.
177. Neve J: **New approaches to assess selenium status and requirement.** *Nutr Rev* 2000, **58**(12):363-369.
178. Combs GF, Jr.: **Selenium in global food systems.** *Br J Nutr* 2001, **85**(5):517-547.
179. Daniels LA, Gibson RA, Simmer KN: **Indicators of selenium status in Australian infants.** *J Paediatr Child Health* 2000, **36**(4):370-374.
180. Lockitch G: **Selenium: clinical significance and analytical concepts.** *Crit Rev Clin Lab Sci* 1989, **27**(6):483-541.
181. Labat L, Dehon B, Lhermitte M: **Rapid and simple determination of selenium in blood serum by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS).** *Anal Bioanal Chem* 2003, **376**(2):270-273.
182. Ge K, Yang G: **The epidemiology of selenium deficiency in the etiological study of endemic diseases in China.** *Am J Clin Nutr* 1993, **57**(2 Suppl):259S-263S.
183. Abrams CK, Siram SM, Galsim C, Johnson-Hamilton H, Munford FL, Mezghbe H: **Selenium deficiency in long-term total parenteral nutrition.** *Nutr Clin Pract* 1992, **7**(4):175-178.
184. van Rij AM, Thomson CD, McKenzie JM, Robinson MF: **Selenium deficiency in total parenteral nutrition.** *Am J Clin Nutr* 1979, **32**(10):2076-2085.

185. Vinton NE, Dahlstrom KA, Strobel CT, Ament ME: **Macrocytosis and pseudoalbinism: manifestations of selenium deficiency.** *J Pediatr* 1987, **111**(5):711-717.
186. Levander OA: **Trace elements in human and animal nutrition**, vol. 2. Orlando: Academic Press; 1986.
187. Virtamo J, Huttunen JK: **Minerals, trace elements and cardiovascular disease. An overview.** *Ann Clin Res* 1988, **20**(1-2):102-113.
188. Koller LD, Exon JH: **The two faces of selenium-deficiency and toxicity--are similar in animals and man.** *Can J Vet Res* 1986, **50**(3):297-306.
189. Goldhaber SB: **Trace element risk assessment: essentiality vs. toxicity.** *Regul Toxicol Pharmacol* 2003, **38**(2):232-242.
190. Barbaro JF, Zvaifler NJ: **Antigen onduced histamine release from platelets of rabbits producing homologous PCA antibody.** *Proc Soc Exp Biol Med* 1966, **122**(4):1245-1247.
191. Henson PM: **Release of vasoactive amines from rabbit platelets induced by sensitized mononuclear leukocytes and antigen.** *J Exp Med* 1970, **131**(2):287-306.
192. Benveniste J, Henson PM, Cochrane CG: **Leukocyte-dependent histamine release from rabbit platelets. The role of IgE, basophils, and a platelet-activating factor.** *J Exp Med* 1972, **136**(6):1356-1377.
193. Benveniste J, Le Couedic JP, Polonsky J, Tence M: **Structural analysis of purified platelet-activating factor by lipases.** *Nature* 1977, **269**(5624):170-171.
194. Demopoulos CA, Pinckard RN, Hanahan DJ: **Platelet-activating factor. Evidence for 1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol-3-phosphorylcholine as the active component (a new class of lipid chemical mediators).** *J Biol Chem* 1979, **254**(19):9355-9358.
195. Pinckard RN, Farr RS, Hanahan DJ: **Physicochemical and functional identity of rabbit platelet-activating factor (PAF) released in vivo during IgE anaphylaxis with PAF released in vitro from IgE sensitized basophils.** *J Immunol* 1979, **123**(4):1847-1857.
196. Benveniste J, Tence M, Varenne P, Bidault J, Boullet C, Polonsky J: **[Semi-synthesis and proposed structure of platelet-activating factor (P.A.F.): PAF-acether an alkyl ether analog of lysophosphatidylcholine].** *C R Seances Acad Sci D* 1979, **289**(14):1037-1040.
197. Hanahan DJ, Demopoulos CA, Liehr J, Pinckard RN: **Identification of platelet activating factor isolated from rabbit basophils as acetyl glycerol ether phosphorylcholine.** *J Biol Chem* 1980, **255**(12):5514-5516.

198. Blank ML, Snyder F, Byers LW, Brooks B, Muirhead EE: **Antihypertensive activity of an alkyl-ether analogue of phosphatidylcholine.** *Biochem Biophys Res Commun* 1979, **90**:1194-1200.
199. Tsukatani H, Yamada S, Tokumura A, Miyamoto T, Takauchi K: **Isolation of an acute hypotensive substance from bovine brain lipid fraction.** *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1976, **24**:2294-2300.
200. Tokumura A, Asai T, Takauchi K, Kamiyasu K, Ogawa T, Tsukatani H: **Novel phospholipids with aliphatic dicarboxylic acid residues in lipid extracts from bovine brain.** *Biochem Biophys Res Commun* 1988, **155**(2):863-869.
201. Tokumura A, Kamiyasu K, Takauchi K, Tsukatani H: **Evidence for existence of various homologues and analogues of platelet activating factor in a lipid extract of bovine brain.** *Biochem Biophys Res Commun* 1987, **145**(1):415-425.
202. Tokumura A, Takauchi K, Asai T, Kamiyasu K, Ogawa T, Tsukatani H: **Novel molecular analogues of phosphatidylcholines in a lipid extract from bovine brain: 1-long-chain acyl-2-short-chain acyl-sn-glycero-3-phosphocholines.** *J Lipid Res* 1989, **30**(2):219-224.
203. Tokumura A, Tanaka T, Yotsumoto T, Tsukatani H: **Identification of sn-2-omega-hydroxycarboxylate-containing phospholipids in a lipid extract from bovine brain.** *Biochem Biophys Res Commun* 1991, **177**(1):466-473.
204. Νομικός Τ, Αντωνοπούλου Σ, Δημόπουλος ΚΑ: **Η έρευνα του PAF μέσα από στατιστικά στοιχεία.** *Χημικά Χρονικά, Γενική Έκδοση* 1997, **1997**:59.
205. Sugatani J, Miwa M, Komiyama Y, Murakami T: **Quantitative analysis of platelet-activating factor in human plasma. Application to patients with liver cirrhosis and disseminated intravascular coagulation.** *J Immunol Methods* 1993, **166**(2):251-261.
206. Demopoulos CA, Andrikopoulos NK, Antonopoulou S: **A simple and precise method for the routine determination of platelet-activating factor in blood and urine.** *Lipids* 1994, **29**(4):305-309.
207. Cooney SJ, Smal MA, Baldo BA: **Quantitation by radioimmunoassay of PAF in human saliva.** *Lipids* 1991, **26**(12):1140-1143.
208. Sobhani I, Denizot Y, Vissuzaine C, Vazier J, Benveniste J, Lewin MJ, Mignon M: **Significance and regulation of gastric secretion of platelet-activating factor (PAF-acether) in man.** *Dig Dis Sci* 1992, **37**(10):1583-1592.
209. Billah MM, Johnston JM: **Identification of phospholipid platelet-activating factor (1-0-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine) in human amniotic fluid and urine.** *Biochem Biophys Res Commun* 1983, **113**(1):51-58.

210. Venable ME, Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM: **Platelet-activating factor: a phospholipid autacoid with diverse actions.** *J Lipid Res* 1993, **34**(5):691-702.
211. Prescott SM, Zimmerman GA, McIntyre TM: **Platelet-activating factor.** *J Biol Chem* 1990, **265**(29):17381-17384.
212. Denizot Y, Dassa E, Kim HY, Bossant MJ, Salem N, Jr., Thomas Y, Benveniste J: **Synthesis of paf-acether from exogenous precursors by the prokaryote Escherichia coli.** *FEBS Lett* 1989, **243**(1):13-16.
213. Denizot Y, Sobhani I, Rambaud JC, Lewin M, Thomas Y, Benveniste J: **Paf-acether synthesis by Helicobacter pylori.** *Gut* 1990, **31**(11):1242-1245.
214. Andriotis M, Demopoulos CA, Tournis S, Siafaka-Kapadai A, Mavris-Vavayannis M: **Evidence for the existence of PAF in bacteria.** In: *Platelet-Activating Factor The Second International Conference: 1986; Tennessee, USA*; 1986: 26-29.
215. Tsoukatos DC, Tselepis AD, Lekka ME: **Studies on the subcellular distribution of 1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glycero phosphocholine (PAF) and on the enzymic activities involved in its biosynthesis within the ciliate Tetrahymena pyriformis.** *Biochim Biophys Acta* 1993, **1170**(3):258-264.
216. Bussolino F, Sordano C, Benfenati E, Bozzaro S: **Dictyostelium cells produce platelet-activating factor in response to cAMP.** *Eur J Biochem* 1991, **196**(3):609-615.
217. Calligerou M, Siafaka-Kapadai A, Galanopoulou D, Weintraub ST, Mavri-Vavayanni M: **Platelet activating factor and lyso-phosphatidylcholines from strawberry.** *Phytochemistry* 1996, **41**(1):89-92.
218. Antonopoulou S, Demopoulos CA, Andrikopoulos NK: **Lipid separation from Urtica-Diodica. Existence of PAF.** *J Agr Food Chem* 1996, **44**(10):3052-3056.
219. Nakayama R, Udagawa H, Mitsui S, Kumagai H: **Saccharomyces cerevisiae cells produce PAF in response to calcium ionophore A23187.** *Biosci Biotechnol Biochem* 1994, **58**(6):1115-1119.
220. Sugiura T, Ojima T, Fukuda T, Satouchi K, Saito K, Waku K: **Production of platelet-activating factor in slugs.** *J Lipid Res* 1991, **32**(11):1795-1803.
221. Sugiura T, Yamashita A, Kudo N, Fukuda T, Miyamoto T, Cheng NN, Kishimoto S, Waku K, Tanaka T, Tsukatani H *et al*: **Platelet-activating factor and its structural analogues in the earthworm Eisenia foetida.** *Biochim Biophys Acta* 1995, **1258**(1):19-26.
222. Turner MR, Lumb RH: **Synthesis of platelet activating factor by tissues from the rainbow trout, Salmo gairdneri.** *Biochim Biophys Acta* 1989, **1004**(1):49-52.



223. Ishii S, Shimizu T: **Platelet-activating factor (PAF) receptor and genetically engineered PAF receptor mutant mice.** *Prog Lipid Res* 2000, **39**(1):41-82.
224. McManus LM, Woodard DS, Deavers SI, Pinckard RN: **PAF molecular heterogeneity: pathobiological implications.** *Lab Invest* 1993, **69**(6):639-650.
225. Pinckard RN, Woodard DS, Showell HJ, Conklyn MJ, Novak MJ, McManus LM: **Structural and (patho)physiological diversity of PAF.** *Clin Rev Allergy* 1994, **12**(4):329-359.
226. Hanahan DJ: **Platelet activating factor: a biologically active phosphoglyceride.** *Annu Rev Biochem* 1986, **55**:483-509.
227. Bussolino F, Camussi G: **Platelet-activating factor produced by endothelial cells. A molecule with autocrine and paracrine properties.** *Eur J Biochem* 1995, **229**(2):327-337.
228. MacLennan KM, Smith PF, Darlington CL: **Platelet-activating factor in the CNS.** *Prog Neurobiol* 1996, **50**(5-6):585-596.
229. Montrucchio G, Alloatti G, Camussi G: **Role of platelet-activating factor in cardiovascular pathophysiology.** *Physiol Rev* 2000, **80**(4):1669-1699.
230. Chao W, Siafaka-Kapadai A, Olson MS, Hanahan DJ: **Biosynthesis of platelet-activating factor by cultured rat Kupffer cells stimulated with calcium ionophore A23187.** *Biochem J* 1989, **257**(3):823-829.
231. Frenkel RA, Muguruma K, Johnston JM: **The biochemical role of platelet-activating factor in reproduction.** *Prog Lipid Res* 1996, **35**(2):155-168.
232. Minhas BS, Ripps BA, Zhu YP, Kim HN, Burwinkel TH, Gleicher N: **Platelet activating factor and conception.** *Am J Reprod Immunol* 1996, **35**(3):267-271.
233. Travers JB, Harrison KA, Johnson CA, Clay KL, Morelli JG: **Platelet-activating factor biosynthesis induced by various stimuli in human HaCaT keratinocytes.** *J Invest Dermatol* 1996, **107**(1):88-94.
234. Ιατρού Χ, Δημόπουλος ΚΑ, Ζηρογιάννης ΠΝ: **Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων και νεφρός.** *Ελληνική Νεφρολογία* 1989, **1**:241.
235. Koltai M, Hosford D, Guinot P, Esanu A, Braquet P: **Platelet activating factor (PAF). A review of its effects, antagonists and possible future clinical implications (Part I).** *Drugs* 1991, **42**(1):9-29.
236. Snyder F: **Platelet-activating factor and related acetylated lipids as potent biologically active cellular mediators.** *Am J Physiol* 1990, **259**(5 Pt 1):C697-708.

237. Feuerstein GZ: **Platelet-activating factor: a case for its role in CNS function and brain injury.** *J Lipid Mediat Cell Signal* 1996, **14**(1-3):109-114.
238. Tsangaris GT, Demopoulos CA, Tsoukatos DC, Kapoulas VM: **Study of the glycogenolytic action of platelet activating factor in Tetrahymena pyriformis.** *Comp Biochem Physiol C* 1992, **102**(3):495-502.
239. Tselepis A, Tsoukatos D, Demopoulos CA, Kapoulas VM: **Effects of AGEPC on the intracellular levels of ions in Tetrahymena pyriformis.** *Biochem Int* 1986, **13**(6):999-1008.
240. Kulikov VI, Muzya GI: **Ether lipids and platelet-activating factor: evolution and cellular function.** *Biochemistry (Mosc)* 1997, **62**(10):1103-1108.
241. Koltai M, Hosford D, Guinot P, Esanu A, Braquet P: **PAF. A review of its effects, antagonists and possible future clinical implications (Part II).** *Drugs* 1991, **42**(2):174-204.
242. Chao W, Olson MS: **Platelet-activating factor: receptors and signal transduction.** *Biochem J* 1993, **292** (Pt 3):617-629.
243. Barnes PJ, Chung KF, Page CP: **Platelet-activating factor as a mediator of allergic disease.** *J Allergy Clin Immunol* 1988, **81**(5 Pt 1):919-934.
244. Schellenberg RR: **Airway responses to platelet-activating factor.** *Am Rev Respir Dis* 1987, **136**(4 Pt 2):S28-32.
245. Goldstein RE, Feuerstein GZ, Bradley LM, Stambouly JJ, Laurindo FR, Davenport NJ: **Cardiovascular effects of platelet-activating factor.** *Lipids* 1991, **26**(12):1250-1256.
246. Izzo AA: **PAF and the digestive tract. A review.** *J Pharm Pharmacol* 1996, **48**(11):1103-1111.
247. Sturk A, ten Cate JW, Hosford D, Mencia-Huerta JM, Braquet P: **The synthesis, catabolism, and pathophysiological role of platelet-activating factor.** *Adv Lipid Res* 1989, **23**:219-276.
248. Wykle RL, Miller CH, Lewis JC, Schmitt JD, Smith JA, Surles JR, Piantadosi C, O'Flaherty JT: **Stereospecific activity of 1-O-alkyl-2-O-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine and comparison of analogs in the degranulation of platelets and neutrophils.** *Biochem Biophys Res Commun* 1981, **100**(4):1651-1658.
249. Izumi T, Honda Z, Mutoh H, Kume K, Shimizu T: **Regulation and signal transduction of PAF receptor.** *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res* 1995, **23**:461-466.
250. Honda Z, Nakamura M, Miki I, Minami M, Watanabe T, Seyama Y, Okado H, Toh H, Ito K, Miyamoto T *et al*: **Cloning by functional expression of**

- platelet-activating factor receptor from guinea-pig lung.** *Nature* 1991, **349**(6307):342-346.
251. Nakamura M, Honda Z, Izumi T, Sakanaka C, Mutoh H, Minami M, Bito H, Seyama Y, Matsumoto T, Noma M *et al*: **Molecular cloning and expression of platelet-activating factor receptor from human leukocytes.** *J Biol Chem* 1991, **266**(30):20400-20405.
252. Sugimoto T, Tsuchimochi H, McGregor CG, Mutoh H, Shimizu T, Kurachi Y: **Molecular cloning and characterization of the platelet-activating factor receptor gene expressed in the human heart.** *Biochem Biophys Res Commun* 1992, **189**(2):617-624.
253. Ihida K, Predescu D, Czekay RP, Palade GE: **Platelet activating factor receptor (PAF-R) is found in a large endosomal compartment in human umbilical vein endothelial cells.** *J Cell Sci* 1999, **112** (Pt 3):285-295.
254. Shukla SD: **Inositol phospholipid turnover in PAF transmembrane signalling.** *Lipids* 1991, **26**(12):1028-1033.
255. Saunders RN, Handley DA: **Platelet-activating factor antagonists.** *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1987, **27**:237-255.
256. Fragopoulou E, Nomikos T, Antonopoulou S, Mitsopoulou CA, Demopoulos CA: **Separation of biologically active lipids from red wine.** *J Agric Food Chem* 2000, **48**(4):1234-1238.
257. Koussissis S, Semidalas CE, Antonopoulou S, Kapoulas VM, Demopoulos CA, Kalyvas V: **PAF antagonists in food: isolation and identification of PAF antagonists in virgin olive oil.** *Revue Francaise Des Corps Gras* 1994, **9/10**:323.
258. Koussissis S, Semidalas CE, Hadzistavrou EC, Kalyvas V, Antonopoulou S, Demopoulos CA: **PAF antagonists in food: isolation and identification of PAF antagonists in honey and wax.** *Revue Francaise Des Corps Gras* 1994, **5/6**:127.
259. Rementzis J, Antonopoulou S, Demopoulos CA: **Identification and study of gangliosides from scomber-scombrus muscle.** *J Agr Food Chem* 1997, **45**(3):611-615.
260. Koltai M, Guinot P, Hosford D, Braquet PG: **Platelet-activating factor antagonists: scientific background and possible clinical applications.** *Adv Pharmacol* 1994, **28**:81-167.
261. Guinot P: **Clinical experience with platelet-activating factor antagonists. Past, present, and near future.** *Clin Rev Allergy* 1994, **12**(4):397-417.
262. Summers JB, Albert DH: **Platelet activating factor antagonists.** *Adv Pharmacol* 1995, **32**:67-168.

263. Snyder F: **Chemical and biochemical aspects of platelet activating factor: a novel class of acetylated ether-linked choline-phospholipids.** *Med Res Rev* 1985, **5**(1):107-140.
264. Murphy RC, Clay KL: **Measurement of platelet-activating factor by physicochemical techniques.** *Am Rev Respir Dis* 1987, **136**(1):207-210.
265. Clay KL: **Quantitation of platelet-activating factor by gas chromatography-mass spectrometry.** *Methods Enzymol* 1990, **187**:134-142.
266. Cooney SJ, Smal MA, Baldo BA: **Measurement of PAF in blood by radioimmunoassay. Examination of interfering factors and problems involved in accurate quantification.** *J Immunol Methods* 1992, **151**(1-2):131-138.
267. Sugatani J, Lee DY, Hughes KT, Saito K: **Development of a novel scintillation proximity radioimmunoassay for platelet-activating factor measurement: comparison with bioassay and GC/MS techniques.** *Life Sci* 1990, **46**(20):1443-1450.
268. Baldo BA, Smal MA, McCaskill AC: **A specific, sensitive and high-capacity immunoassay for PAF.** *Lipids* 1991, **26**(12):1136-1139.
269. Haff GG, Stone M, O'Bryant HS, Harman E, Dinan C, Johnson R, Han KH: **Force-time dependent characteristics of dynamic and isometric muscle actions.** *J Strength Cond Res* 1997, **11**:269-272.
270. Hopkins WG: **Measures of reliability in sports medicine and science.** *Sports Med* 2000, **30**(1):1-15.
271. Shrout PE, Fleiss JL: **Intraclass correlations: uses in assessing rater reliability.** *Psychol Bull* 1979, **86**(2):420-428.
272. Denegar CR, Ball DW: **Assessing reliability and precision of measurement: An introduction to intraclass correlation and standard error of measurement.** *J Sport Rehab* 1993, **2**:35-42.
273. Paddon-Jones D, Abernethy PJ: **Acute adaptation to low volume eccentric exercise.** *Med Sci Sports Exerc* 2001, **33**(7):1213-1219.
274. Stillman BC: **An investigation of the clinical assessment of joint position sense.** *PhD Dissertation.* Victoria, Australia: University of Melbourne; 2000.
275. Melzack R: **The short-form McGill Pain Questionnaire.** *Pain* 1987, **30**(2):191-197.
276. Bligh EG, Dyer WJ: **A rapid method of total lipid extraction and purification.** *Can J Biochem Physiol* 1959, **37**(8):911-917.
277. Andrikopoulos NK, Demopoulos CA, Siafaka-Kapadai A: **High-performance liquid chromatographic analysis of platelet activating factor on a cation-**

- exchange column by direct ultraviolet detection. *J Chromatogr* 1986, **363**(2):412-417.
278. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ: **Protein measurement with the Folin phenol reagent.** *J Biol Chem* 1951, **193**:265-275.
279. Pinckard RN, Ludwig JC: **Determination of PAF-2 acylhydrolase activity.** In: *Fed Proc (abstract): 1986* 1986; 1986: 856.
280. **LDH-P, Dialab Ges.m.b.H., Austria, Catalog Number D94651.**
281. **CK NAC activated, SGMItalia, Italy, Catalog Number 10195.**
282. **N High Sensitivity CRP, Dade Behring Marburg GmbH, Germany, Catalog Number OQIY21.**
283. **Complement C3, Dade Behring Marburg GmbH, Germany, Catalog Number DF101.**
284. **TEClot Fib Kit 10, TECO GmbH, Germany, Catalog Number 050-500.**
285. Clauss A: **[Rapid physiological coagulation method in determination of fibrinogen.].** *Acta Haematol* 1957, **17**(4):237-246.
286. Gnardellis C, Trichopoulou A, Katsouyanni K, Polychronopoulos E, Rimm EB, Trichopoulos D: **Reproducibility and validity of an extensive semiquantitative food frequency questionnaire among Greek school teachers.** *Epidemiology* 1995, **6**(1):74-77.
287. Katsouyanni K, Rimm EB, Gnardellis C, Trichopoulos D, Polychronopoulos E, Trichopoulou A: **Reproducibility and relative validity of an extensive semi-quantitative food frequency questionnaire using dietary records and biochemical markers among Greek schoolteachers.** *Int J Epidemiol* 1997, **26 Suppl 1**:S118-127.
288. Τριχοπούλου Α: **Πίνακες συνθέσεως τροφίμων και ελληνικών φαγητών.** Αθήνα; 1992.
289. Abernethy P, Wilson G, Logan P: **Strength and power assessment. Issues, controversies and challenges.** *Sports Med* 1995, **19**(6):401-417.
290. Thomis MA, Van Leemputte M, Maes HH, Blimkie CJ, Claessens AL, Marchal G, Willems E, Vlietinck RF, Beunen GP: **Multivariate genetic analysis of maximal isometric muscle force at different elbow angles.** *J Appl Physiol* 1997, **82**(3):959-967.
291. Leemputte MV, Willems EJ: **EMG quantification and its application to the analysis of human movements.** *Med Sports Sci* 1987, **25**:177-194.
292. Institute of Medicine Food and Nutrition Board: **Dietary Reference Intakes: Vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids.** Washington: National Academy Press; 2000.

293. Clarkson PM, Nosaka K, Braun B: **Muscle function after exercise-induced muscle damage and rapid adaptation.** *Med Sci Sports Exerc* 1992, **24**(5):512-520.
294. Nosaka K, Clarkson PM: **Variability in serum creatine kinase response after eccentric exercise of the elbow flexors.** *Int J Sports Med* 1996, **17**(2):120-127.
295. Nosaka K, Clarkson PM: **Changes in plasma zinc following high force eccentric exercise.** *Int J Sport Nutr* 1992, **2**(2):175-184.
296. Kushner I: **The phenomenon of the acute phase response.** *Ann N Y Acad Sci* 1982, **389**:39-48.
297. Camus G, Deby-Dupont G, Deby C, Juchmes-Ferir A, Pincemail J, Lamy M: **Inflammatory response to strenuous muscular exercise in man.** *Mediators Inflamm* 1993, **2**:335-342.
298. Pyne DB: **Exercise-induced muscle damage and inflammation: a review.** *Aust J Sci Med Sport* 1994, **26**(3-4):49-58.
299. Tidball JG: **Inflammatory cell response to acute muscle injury.** *Med Sci Sports Exerc* 1995, **27**(7):1022-1032.
300. Evans WJ, Cannon JG: **The metabolic effects of exercise-induced muscle damage.** *Exerc Sport Sci Rev* 1991, **19**:99-125.
301. Malm C, Sjodin TL, Sjoberg B, Lenkei R, Renstrom P, Lundberg IE, Ekblom B: **Leukocytes, cytokines, growth factors and hormones in human skeletal muscle and blood after uphill or downhill running.** *J Physiol* 2004, **556**(Pt 3):983-1000.
302. Franklin ME, Chamness MS, Smith LL, Chenier TC, Sizemore CS, Rogers M, Forgione K: **Effects of isokinetic soreness-inducing exercise on blood levels of C-reactive protein and creatine kinase.** *J Orthop Sports Phys Ther* 1992, **16**(5):208-214.
303. 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 1:243-262.
304. Cannon JG, Fiatarone MA, Fielding RA, Evans WJ: **Aging and stress-induced changes in complement activation and neutrophil mobilization.** *J Appl Physiol* 1994, **76**(6):2616-2620.
305. Yu JG: **Re-evaluation of exercise-induced muscle soreness. An immunohistochemical and ultrastructural study.** Umea, Sweden: Umea University; 2003.
306. Pizza FX, Davis BH, Henrickson SD, Mitchell JB, Pace JF, Bigelow N, DiLauro P, Naglieri T: **Adaptation to eccentric exercise: effect on CD64 and CD11b/CD18 expression.** *J Appl Physiol* 1996, **80**(1):47-55.

- 307. Malm C, Lenkei R, Sjodin B: **Effects of eccentric exercise on the immune system in men.** *J Appl Physiol* 1999, **86**(2):461-468.
- 308. Nieman DC, Henson DA, Sampson CS, Herring JL, Suttles J, Conley M, Stone MH, Butterworth DE, Davis JM: **The acute immune response to exhaustive resistance exercise.** *Int J Sports Med* 1995, **16**(5):322-328.
- 309. Kayashima S, Ohno H, Fujioka T, Taniguchi N, Nagata N: **Leucocytosis as a marker of organ damage induced by chronic strenuous physical exercise.** *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1995, **70**(5):413-420.
- 310. Goudevenos J, Tselepis AD, Tsoukatos D, Grekas G, Kritikakos J, Sideris D: **Platelet aggregability to platelet activating factor at rest and after exercise in patients with coronary artery disease.** *Eur Heart J* 1995, **16**(8):1036-1043.
- 311. Armstrong RB, Warren GL, Warren JA: **Mechanisms of exercise-induced muscle fibre injury.** *Sports Med* 1991, **12**(3):184-207.
- 312. Snyder F, Fitzgerald V, Blank ML: **Biosynthesis of platelet-activating factor and enzyme inhibitors.** *Adv Exp Med Biol* 1996, **416**:5-10.
- 313. Brotto MA, Nosek TM: **Hydrogen peroxide disrupts Ca<sup>2+</sup> release from the sarcoplasmic reticulum of rat skeletal muscle fibers.** *J Appl Physiol* 1996, **81**(2):731-737.
- 314. Snyder F: **Platelet-activating factor and its analogs: metabolic pathways and related intracellular processes.** *Biochim Biophys Acta* 1995, **1254**(3):231-249.
- 315. Prescott SM, Zimmerman GA, Stafforini DM, McIntyre TM: **Platelet-activating factor and related lipid mediators.** *Annu Rev Biochem* 2000, **69**:419-445.
- 316. Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM, Stafforini DM: **The platelet-activating factor signaling system and its regulators in syndromes of inflammation and thrombosis.** *Crit Care Med* 2002, **30**(5 Suppl):S294-301.
- 317. Weyrich AS, McIntyre TM, McEver RP, Prescott SM, Zimmerman GA: **Monocyte tethering by P-selectin regulates monocyte chemotactic protein-1 and tumor necrosis factor-alpha secretion. Signal integration and NF-kappa B translocation.** *J Clin Invest* 1995, **95**(5):2297-2303.
- 318. Best TM, Hunter KD: **Muscle injury and repair.** *Phys Med Rehabil Clin N Am* 2000, **11**(2):251-266.
- 319. Brigelius-Flohe R, Banning A, Kny M, Bol GF: **Redox events in interleukin-1 signaling.** *Arch Biochem Biophys* 2004, **423**(1):66-73.
- 320. Banning A, Schnurr K, Bol GF, Kupper D, Muller-Schmehl K, Viita H, Yla-Herttuala S, Brigelius-Flohe R: **Inhibition of basal and interleukin-1-induced VCAM-1 expression by phospholipid hydroperoxide glutathione**

- peroxidase and 15-lipoxygenase in rabbit aortic smooth muscle cells.** *Free Radic Biol Med* 2004, **36**(2):135-144.
321. Chariot P, Bignani O: **Skeletal muscle disorders associated with selenium deficiency in humans.** *Muscle Nerve* 2003, **27**(6):662-668.
322. Brown MR, Cohen HJ, Lyons JM, Curtis TW, Thunberg B, Cochran WJ, Klish WJ: **Proximal muscle weakness and selenium deficiency associated with long term parenteral nutrition.** *Am J Clin Nutr* 1986, **43**(4):549-554.
323. Kelly DA, Coe AW, Shenkin A, Lake BD, Walker-Smith JA: **Symptomatic selenium deficiency in a child on home parenteral nutrition.** *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1988, **7**(5):783-786.
324. Rannem T, Ladefoged K, Hylander E, Christiansen J, Laursen H, Kristensen JH, Linstow M, Beyer N, Liguori R, Dige-Petersen H *et al*: **The effect of selenium supplementation on skeletal and cardiac muscle in selenium-depleted patients.** *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1995, **19**(5):351-355.
325. Gu BQ: **Pathology of Keshan disease. A comprehensive review.** *Chin Med J (Engl)* 1983, **96**(4):251-261.
326. Doni MG, Falanga A, Delaini F, Vicenzi E, Tomasiak M, Donati MB: **The effect of vitamin E or selenium on the oxidant-antioxidant balance in rats.** *Br J Exp Pathol* 1984, **65**(1):75-80.
327. Ji LL, Stratman FW, Lardy HA: **Antioxidant enzyme response to selenium deficiency in rat myocardium.** *J Am Coll Nutr* 1992, **11**(1):79-86.
328. Matsuda A, Kimura M, Itokawa Y: **Influence of selenium deficiency on vital functions in rats.** *Biol Trace Elem Res* 1998, **61**(3):287-301.
329. Walsh DM, Kennedy DG, Goodall EA, Kennedy S: **Antioxidant enzyme activity in the muscles of calves depleted of vitamin E or selenium or both.** *Br J Nutr* 1993, **70**(2):621-630.
330. Rayman MP: **The importance of selenium to human health.** *Lancet* 2000, **356**(9225):233-241.
331. Van Cauwenbergh R, Robberecht H, Deelstra H, Picramenos D, Kostakopoulos A: **Selenium concentration in serum of healthy Greek adults.** *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1994, **8**(2):99-109.
332. Trichopoulou A: **Food Composition Tables and Composition of Greek Cooked Food and Dishes.** Athens: School of Public Health; 1992.
333. Powers SK, DeRuisseau KC, Quindry J, Hamilton KL: **Dietary antioxidants and exercise.** *J Sports Sci* 2004, **22**(1):81-94.
334. Wardlaw G, Insel P: **Perspectives in Nutrition.** St Louis, MO: C.V. Mosby; 1996.



- 335. Halliwell B, Gutteridge J: **Free Radicals in Biology and Medicine**. New York: Oxford University Press; 1999.
- 336. Leeuwenburgh C, Fiebig R, Chandwaney R, Ji LL: **Aging and exercise training in skeletal muscle: responses of glutathione and antioxidant enzyme systems**. *Am J Physiol* 1994, **267**(2 Pt 2):R439-445.
- 337. Leeuwenburgh C, Ji LL: **Alteration of glutathione and antioxidant status with exercise in unfed and refed rats**. *J Nutr* 1996, **126**(7):1833-1843.
- 338. Li G, Feng X, Wang S: **Effects of Cu/Zn superoxide dismutase on strain injury-induced oxidative damage to skeletal muscle in rats**. *Physiol Res* 2005, **54**(2):193-199.
- 339. Bettger W, Odell B: **Physiological roles of zinc in the plasma membrane of mammalian cells**. *J Nutr Biochem* 1993, **4**:194-207.

## **7. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ**

## **Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο**

### **Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής**

#### **ΕΝΗΜΕΡΩΣΗ ΔΟΚΙΜΑΖΟΜΕΝΟΥ ΚΑΙ ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗΣ ΤΟΥ**

Η υψηλής έντασης άσκηση και η ασυνήθιστη μυϊκή προσπάθεια συνοδεύεται συχνά από τα ενοχλητικά συμπτώματα μυϊκού πόνου («πιάσιμο» των μυών). Η αίσθηση του μυϊκού αυτού πόνου είναι συνήθης και οικεία, ειδικά σε αθλούμενους. Σκοπός της παρούσας ερευνητικής προσπάθειας είναι να διερευνηθεί, με χρήση σύγχρονων και αξιόπιστων μεθόδων, ο ρόλος της διατροφής στον μηχανισμό πρόκλησης του συγκεκριμένου τύπου μυϊκού πόνου.

Για το σκοπό αυτό, Θα χρειαστεί να αφιερώσετε συνολικά πέντε ημέρες για τις διαδικασίες των μετρήσεων που προβλέπει η έρευνα, στη διάρκεια των οποίων Θα πρέπει να διατηρήσετε τις διατροφικές σας συνήθειες και να απέχετε από τη λήψη αλκοολούχων ποτών, φαρμάκων, συμπληρωμάτων διατροφής, όπως επίσης και από κάθε είδους έντονη φυσική δραστηριότητα. Θα χρειαστεί επίσης να υποβληθείτε σε μία συγκεκριμένη διαδικασία άσκησης των καμπτηρών μυών του αγκώνα του άνω άκρου σας, σε ένα ειδικό μηχάνημα (δυναμόμετρο). Η άσκηση αυτή Θα προκαλέσει στους ασκηθέντες μυς σας συμπτώματα ήπιου ή περισσότερου οξύ πόνου, που θα είναι αισθητός για το χρονικό διάστημα από μία μέχρι πέντε ημέρες μετά την άσκηση.

Για τις ανάγκες της έρευνας θα πρέπει προσέρχεσθε στο χώρο των μετρήσεων με αθλητική περιβολή (αμάνικο φανελάκι, αθλητική φόρμα). Την πρώτη ημέρα αφού προηγηθεί η λήψη μικρής ποσότητας αίματος από φλέβα του αγκώνα από ειδικευμένο προσωπικό, θα σας γίνουν ορισμένες μετρήσεις (μέτρηση δύναμης, εύρους τροχιάς της άρθρωσης, περιμέτρου βραχιονίου) και ακολούθως θα ασκηθείτε στο μηχάνημα χρησιμοποιώντας τους καμπτήρες μυς του αγκώνα του μη επιδέξιου άνω άκρου σας. Μετά από 2 ώρες από την ολοκλήρωση της άσκησης θα επαναληφθούν οι ίδιες μετρήσεις καθώς και η αιμοληψία, χωρίς το πρόγραμμα άσκησης. Τις επόμενες τέσσερις ημέρες (με διαφορά 24 ωρών) θα επαναληφθούν οι ίδιες μετρήσεις καθώς και η αιμοληψία.

Πρέπει να γνωρίζετε ότι η διαδικασία της άσκησης Θα σας επιφέρει ήπιο ή περισσότερο έντονο πόνο και μια αίσθηση αδυναμίας στους μυς που θα ασκηθούν, λόγω της έντονης προσπάθειας και καταπόνησής τους. Θα καλείστε δε περιοδικά να αξιολογείτε την ένταση του πόνου αυτού, ως προς την ένταση του, δίνοντας ιδιαίτερη προσοχή στην ακρίβεια εκτίμησής του. Παράλληλα, θα πρέπει να συμπληρώσετε ένα ερωτηματολόγιο διατροφής προκειμένου να αναλυθούν εν συνεχεία οι διατροφικές σας συνήθειες.

Η άσκηση στο ειδικό μηχάνημα που θα χρησιμοποιηθεί είναι ασφαλής. Θα μπορείτε δε ανά πάσα στιγμή να την διακόψετε. Το εργαστήριο Θα διαθέτει ειδικευμένο προσωπικό, προκειμένου να επιληφθεί ασυνήθιστων περιπτώσεων ανάγκης σε θέματα υγείας. Είναι υποχρέωσή σας όμως, να μην αποκρύψετε οποιαδήποτε πληροφορία σχετίζεται με την κατάσταση της υγείας σας. Αν και είναι καθοριστικής σημασίας να συμμετέχετε με συνέπεια μέχρι την ολοκλήρωση των διαδικασιών της έρευνας που σας παρουσιάστηκαν παραπάνω, παρόλα αυτά μπορείτε

ελευθέρα να διακόψετε τη συμμετοχή σας σε κάποια διαδικασία ή στην έρευνα για οποιοδήποτε λόγο κρίνετε εσείς σοβαρό.

Τα δεδομένα, που αφορούν προσωπικά σας στοιχεία και πληροφορίες από τη συμμετοχή σας στην έρευνα, είναι εμπιστευτικά, για χρήση δική σας και της ερευνητικής ομάδας. Για την εξασφάλιση της ανωνυμίας και του απόρρητου των στοιχείων θα γίνει κατάλληλη κωδικοποίηση τους. Δημοσιοποίηση των αποτελεσμάτων μπορεί να γίνει μόνο ανώνυμα. Μπορείτε ελεύθερα να εκφράσετε προς τα μέλη τη ερευνητικής ομάδας, ερωτήσεις ή αμφιβολίες που σχετίζονται με όλες τις προηγούμενες διαδικασίες.

Διάβασα το παραπάνω κείμενο και κατάλαβα πλήρως τις διαδικασίες στις οποίες θα υποβληθώ. Συγκατέθεμαι να συμμετάσχω αβίαστα και διατηρώ το δικαίωμα να σταματήσω ή να αποσυρθώ σύμφωνα με την προσωπική μου κρίση.

|                           |
|---------------------------|
| <b>Όνομα συμμετέχοντα</b> |
|                           |
| <b>Υπογραφή</b>           |
|                           |

**Ημερομηνία :** ...../...../200...

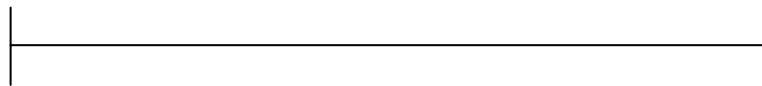
Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο  
Τμήμα Επιστήμης Διατροφής – Διατροφής

Όνοματεπώνυμο : .....

Κωδικός : .....

Ημέρα ....<sup>η</sup> - ....., ..... / ..... / 200... Ώρα : .....

Κλίμακα Υποκειμενικής Αξιολόγησης του Πόνου



Καθόλου πόνος

Ανυπόφορος πόνος

## **Δημοσιεύσεις**

**(οι οποίες προέκυψαν από την παρούσα ερευνητική προσπάθεια)**