



ΤΙΤΛΟΣ

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΚΚΕΝΤΡΗΣ ΑΣΚΗΣΗΣ ΣΕ ΔΕΙΚΤΕΣ
ΜΥΪΚΗΣ ΒΛΑΒΗΣ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΕ ΑΤΟΜΑ ΜΕ
ΕΛΛΕΙΨΗ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗ ΤΗΣ
6-ΦΩΣΦΟΡΙΚΗΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ (G6PD)**

ΤΟΥ
Θεοδώρου Αναστάσιου

Επιβλέπων Καθηγητής
Τζιαμούρτας Αθανάσιος

Μεταπτυχιακή Διατριβή που υποβάλλεται στο καθηγητικό σώμα για τη μερική εκπλήρωση των υποχρεώσεων απόκτησης του μεταπτυχιακού τίτλου του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών «Άσκηση και Υγεία» του Τμήματος Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Εγκεκριμένο από το Καθηγητικό σώμα:

1^{ος} Επιβλέπων Καθηγητής: Τζιαμούρτας Αθανάσιος

2^{ος} Επιβλέπων Καθηγητής: Φατούρος Ιωάννης

3^{ος} Επιβλέπων Καθηγητής: Νικολαΐδης Μιχάλης

Τρίκαλα
2008



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»

Αριθ. Εισ.: 6295/1

Ημερ. Εισ.: 05/06/2008

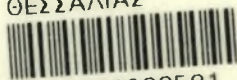
Δωρεά:

Ταξιθετικός Κωδικός: Δ

612.015 1

ΘΕΟ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000088581

Περίληψη

ΘΕΟΔΩΡΟΥ ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ: Η επίδραση της έκκεντρης άσκησης σε δείκτες μυϊκής βλάβης και οξειδωτικού στρες σε άτομα με έλλειψη του ένζυμου αφυδρογονάση τη 6 φωσφορική γλυκόζης.
(Υπό την επίβλεψη του Δρ Τζιαμούρτα Αθανάσιου)

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να διερευνήσει αν η έκκεντρη άσκηση προκαλεί μεγαλύτερη μυϊκή βλάβη και εκδήλωση οξειδωτικού στρες σε άτομα με έλλειψη του ένζυμου G6PD. Στην έρευνα συμμετείχαν 9 άνδρες με έλλειψη του ένζυμου G6PD και 9 άνδρες με κανονική δραστικότητα του ένζυμου. Οι συμμετέχοντες εκτέλεσαν μια συνεδρία έκκεντρης άσκησης σε ισοκινητικό δυναμόμετρο η οποία αποτελείται από 5 σετ των 15 μέγιστων έκκεντρων μυϊκών συστολών του τετρακέφαλου μηριαίου μυός. Για την εκτίμηση της προκληθείσας μυϊκής βλάβης έγινε μέτρηση της μέγιστης ισομετρικής δύναμης, του εύρους κίνησης του μυός (ROM), της υποκειμενικής αντίληψης του καθυστερημένου μυϊκού πόνου (DOMS) και της δραστικότητας της κρεατινικής κινάσης (CK) πριν, αμέσως μετά, την 1, 2, 3, 4, και 5 μέρα μετά το τέλος της άσκησης. Στα ίδια χρονικά σημεία έγιναν αιμοληψίες και μετρήθηκαν η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα, η ανηγμένη γλουταθειόνη, η χολερυθρίνη και το ουρικό οξύ. Ανάλυση διακύμανσης 2 παραγόντων ANOVA (ομάδα × χρόνος) με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις και στους δυο παράγοντες χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση της μέγιστης ισομετρικής δύναμης, του ROM, του DOMS καθώς και για την ανάλυση των αντιοξειδωτικών μορίων. Η δραστικότητα της CK αναλύθηκε με το μη παραμετρικό Friedman's test. Αν υπήρχε σημαντική αλληλεπίδραση συνδυασμένες συγκρίσεις γίνονταν μέσω της απλής ανάλυσης της κυρίας επίδρασης. Η έκκεντρη

άσκηση επέφερε στατιστικά σημαντική πτώση της μέγιστης ισομετρικής δύναμης ($p < 0.001$) (κύρια επίδραση χρόνου), μείωση του ROM ($p < 0.05$) (κύρια επίδραση χρόνου), αύξηση του DOMS κατά την βάρδιαση ($p < 0.001$) (κύρια επίδραση χρόνου), και κατά την ψηλάφηση ($p < 0.001$) (κύρια επίδραση χρόνου), καθώς και αύξηση στη δραστικότητα της CK ($p < 0.05$) (κύρια επίδραση χρόνου και ομάδας). Επιπλέον η άσκηση επέφερε αύξηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας ($p < 0.05$) (κύρια επίδραση χρόνου), της ανηγμένης γλουταθειόνης ($p < 0.05$) (κύρια επίδραση ομάδας), και αύξηση του ουρικού οξέος ($p < 0.05$) (κύρια επίδραση χρόνου και ομάδας). Άτομα με έλλειψη του G6PD δεν φαίνεται να υπόκεινται σε μεγαλύτερη μυϊκή βλάβη η οξειδωτικό στρες σε σχέση με τα άτομα με κανονική δραστικότητα του ένζυμου.

Abstract

THEODOROU ANASTASIOS: The effect of eccentric exercise on muscle damage and oxidative stress indices in individuals with Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD) deficiency

(Under the supervision of Dr Jamurtas Athanasios)

The aim of the study was to investigate whether muscle-damaging exercise induce greater muscle damage and oxidative stress in G6PD deficient individuals. Nine men with established G6PD deficiency and nine men with normal G6PD activity underwent an isokinetic exercise protocol of the knee extensor muscles consisted of 5 sets of 15 eccentric maximal voluntary contractions in the seated (120° hip angle) position. Isometric torque, range of movement (ROM), delayed-onset muscle soreness (DOMS), creatine kinase (CK), reduced glutathione (GSH), uric acid, bilirubin, and total antioxidant capacity (TAC) in blood were measured before, immediately after, and 1, 2, 3, 4, and 5 d after lengthening contractions. Two way ANOVA (group × time) with repeated measures on both factors were used to analyzed isometric peak, torque, ROM, DOMS and all antioxidants parameters. CK activity was analyzed non parametrically by Friedman's test. If a significant interaction was obtained, pairwise comparisons were performed through simple main-effects test. Eccentric exercise induced significant changes on muscle damage indices. Isometric torque ($p < 0.001$) (main effect of time), and ROM ($p < 0.05$) (main effect of time), decreased, DOMS during movement ($p < 0.05$) (main effect of time), DOMS during palpation ($p < 0.05$) (main effect of time) and CK ($p < 0.05$) (main effect of group and time) increased. TAC ($p < 0.05$) (main effect of time), GSH ($p < 0.05$) (main effect of group) and uric acid ($p < 0.05$) (main effect of group and time). G6PD deficient individuals are able to perform muscle –damaging exercise without greater muscle damage or higher oxidative stress compared with non–G6PD-deficient individuals.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όλους, οι οποίοι συνέβαλαν ουσιαστικά στην εκπόνηση και την ολοκλήρωση αυτής της διατριβής. Θεωρώ τον εαυτό μου πραγματικά τυχερό που είχε την ευκαιρία να συνεργαστεί και να λάβει τη βοήθεια αυτών των ανθρώπων και αναγνωρίζω ότι τους οφείλω πολλά.

Αρχικά, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον κ Αθανάσιο Τζιαμούρτα, ο οποίος υπήρξε και ο εμπνευστής της έρευνας αυτής. Τον ευχαριστώ για την πολύτιμη βοήθειά του, την καθοδήγησή και συμπαράσταση του όλα αυτά τα χρόνια.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα άλλα δύο μέλη της τριμελούς επιτροπής, τον κ Ιωάννη Φατούρο και τον κ Μιχάλη Νικολαΐδη για τη βοήθεια, τις συμβουλές και τις συστάσεις τους.

Πολλά ευχαριστώ οφείλω και στους συνεργάτες και φίλους, του Κέντρου Έρευνας και Αξιολόγησης της Φυσικής Απόδοσης, Βασίλη Πασχάλη, Θέμη Τσαταλά και Γιώργο Σακελλαρίου για την συνεργασία, και τη μέγιστη βοήθειά τους.

Σας ευχαριστώ όλους, Τάσος.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	ΣΕΛΙΔΑ
1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	3
2. ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	5
3. ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	6
4. ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ	7
2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
Ερευνητικές υποθέσεις.....	15
Στατιστικές υποθέσεις.....	15
Περιορισμοί της εργασίας.....	16
Σημασία της εργασίας.....	16
3. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ	18
4. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	31
Συμμετέχοντες.....	31
Ανθρωπομετρικές μετρήσεις.....	31
Ισοκινητική έκκεντρη άσκηση.....	33
Καθυστερημένος μυϊκός πόνος.....	33
Συλλογή και χειρισμός αίματος.....	34
Διαιτητική ανάλυση	35
Στατιστική ανάλυση	35
5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	36
Δείκτες μυϊκής καταστροφής.....	35
Δείκτες οξειδωτικού στρες.....	38
6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	42
7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ	45
8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	45
9. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ	51

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1: Το μεταβολικό μονοπάτι των φωσφορυλιωμένων πεντόζων.....	19
Σχήμα 2: Υποθετικός μηχανισμός πρόκλησης οξειδωτικού στρες μέσω της άσκησης.....	27
Σχήμα 3: Μεταβολές της μέγιστης ισομετρικής ροπής.....	37
Σχήμα 4: Μεταβολές του εύρους κίνησης.....	37
Σχήμα 5: Μεταβολές της υποκειμενικής αντίληψης του πόνου (βάδιση).....	38
Σχήμα 6: Μεταβολές της υποκειμενικής αντίληψης του πόνου (ψηλάφιση).....	38
Σχήμα 7: Μεταβολές στη συγκέντρωση της κρεατινικής κινάσης.....	39
Σχήμα 8: Μεταβολές της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας.....	40
Σχήμα 9: Μεταβολές στη συγκέντρωση της ανηγμένης γλουταθειόνης.....	40
Σχήμα 10: Μεταβολές στη συγκέντρωση της χολερυθρίνης.....	41
Σχήμα 11: Μεταβολές στη συγκέντρωση του ουρικού οξέος.....	41

Εισαγωγή

Έλλειψη της Αφυδρογονάσης της 6-φωσφορικής Γλυκόζης

Η έλλειψη της αφυδρογονάσης της 6 φωσφορικής γλυκόζης (G6PD) αποτελεί μια από τις πιο ευρέως διαδεδομένες ενζυμοπάθειες, επηρεάζοντας περισσότερα από 400 εκατομμύρια άτομα σ'όλο τον κόσμο (Mehta, Mason, & Vulliamy, 2000). Στην Ελλάδα περίπου το 3.2% του πληθυσμού πάσχει από έλλειψη του ένζυμου G6PD (Missiou-Tsagaraki, 1991). Ειδικά στην περιοχή της Θεσσαλίας η συχνότητα εμφάνισης της έλλειψης του ένζυμου G6PD πλησιάζει το 10% του συνολικού πληθυσμού, ποσοστό που αποτελεί το υψηλότερο στην ελληνική επικράτεια (Missiou-Tsagaraki, 1991). Αποτέλεσμα αυτής της γενετικής ανωμαλίας είναι τα ερυθροκύτταρα των ατόμων αυτών να παρουσιάζουν αυξημένη ευαισθησία στο οξειδωτικό στρες το οποίο προκαλεί την καταστροφή τους (Mehta et al., 2000).

Η γενετική αυτή ανωμαλία των ερυθροκυττάρων ανακαλύφθηκε πριν 50 χρόνια σε μια προσπάθεια των ερευνητών να καταλάβουν γιατί ορισμένα άτομα ήταν ιδιαίτερα ευαίσθητα στις αιμολυτικές παρενέργειες του φαρμάκου κατά της μαλάριας πριμακίνη (Alving, Carson, Flanagan, & Ickes, 1956). Συνέχεια της παρατήρησης αυτής ήταν η διατύπωση κάποιας σχέσης ανάμεσα στη προκαλούμενη αιμόλυση και στα χαμηλά επίπεδα γλουταθειόνης που οφείλονται στην έλλειψη του G6PD (Alving et al., 1956). Επιπλέον, έγινε φανερό ότι μεγάλο ποσοστό των πασχόντων από έλλειψη G6PD ήταν ασυμπτωματικό. Ωστόσο, άτομα με έλλειψη του ενζύμου βρίσκονται σε κίνδυνο εμφάνισης νεογνικού ίκτερου και αιμολυτικής αναιμίας μετά από χορήγηση συγκεκριμένων φαρμάκων κατά τη διάρκεια κάποιων μολύνσεων, και κυρίως μετά την κατανάλωση κουκιών (Mehta et al., 2000). Πρόσθετες μελέτες υποδεικνύουν ότι η έλλειψη του G6PD είναι αποτέλεσμα εξελικτικού

πλεονεκτήματος που προσέφερε κατά τη διάρκεια μόλυνσης από το πλασμώδιο της ελονοσίας (*Plasmodium falciparum*).

Η G6PD καταλύει την πρώτη αντίδραση στο μονοπάτι των φωσφορικών πεντοζών. Το μονοπάτι αυτό περιλαμβάνει την μετατροπή της γλυκόζης σε πεντόζες (σάκχαρα με πέντε άτομα άνθρακα). Επιπρόσθετα, το μονοπάτι των φωσφορικών πεντοζών παρέχει αναγωγική ισχύ με τη μορφή του αδενοσινικού νικοτιναμίδιου (NADPH) (Mehta et al., 2000) που αποτελεί δότη ηλεκτρονίων για τη βιοσύνθεση διάφορων μορίων αλλά και για την αναγέννηση της αναχθείσας γλουταθειόνης (GSH) από την οξειδωμένη της μορφή (GSSG),.

Ένα ποσοστό 9% της γλυκόζης στο ερυθροκύτταρο, αντί να ακολουθήσει το εργογόνο μεταβολικό μονοπάτι της μετατροπής της γλυκόζης σε γαλακτικό οξύ για την παραγωγή ενέργειας για τις λειτουργίες του ερυθροκυττάρου, μετατρέπεται σε μια πεντόζη (Ronquist & Theodorsson, 2007). Στο πρώτο στάδιο αυτής της μετατροπής, η G6PD χρησιμοποιεί ως υπόστρωμα την 6-φωσφορική γλυκόζη και την μετατρέπει σε 6-φωσφογλυκονολακτόνη, η οποία με τη σειρά της μετατρέπεται σε 5-φωσφορική ριβόζη μέσω του 6-φωσφογλυκονικού οξέος και της 5-φωσφορικής ριβουλόζης (Mehta et al., 2000). Τα ριβοζικά σάκχαρα χρησιμοποιούνται ως πρόδρομοι στη βιοσύνθεση πολλών σημαντικών μορίων όπως του ATP, του συνεχζύμου A, του NAD, του FAD, του RNA και του DNA (Mehta et al., 2000).

Το NADPH που παράγεται στο μονοπάτι των φωσφορικών πεντοζών από τη δράση της G6PD και της αφυδρογονάσης του 6-φωσφογλυκονικού χρησιμεύει ως δότης ηλεκτρονίων στη βιοσύνθεση κυρίως της χοληστερόλης και των λιπαρών οξέων, καθώς και στην σύνθεση του μονοξειδίου του αζώτου (νιτρικού οξέος). Πέραν από το μονοπάτι αυτό, το NADPH μπορεί να παραχθεί μόνο από το μαλικό ένζυμο στα μιτοχόνδρια. Με δεδομένο ότι τα ερυθροκύτταρα στερούνται μιτοχονδρίων, το

μονοπάτι των φωσφορικών πεντοζών αποτελεί τη μοναδική τους πηγή παραγωγής NADPH. Επομένως η παραγωγή NADPH είναι καίριας σημασίας για την προστασία των ερυθροκυττάρων από το οξειδωτικό στρες (Mehta et al., 2000).

Η μειωμένη ικανότητα των ερυθροκυτάρων με έλλειψη του G6PD να ανάγουν το NADP^+ σε NADPH σε φυσιολογικό ρυθμό λόγω αυξημένης ευαισθησίας στο οξειδωτικό στρες, αποτελεί την αιτία για την αιμόλυση τους. Κύριος ρόλος των παραγομένων NADPH είναι να διατηρούν την ανηγμένη μορφή της γλουταθειόνης (GSH) σε ένα λόγο μεγαλύτερο του 500:1 έναντι της οξειδωμένης μορφής (GSSG). Η ανηγμένη γλουταθειόνη κατέχει σημαντικό ρόλο στην αναγωγή οξειδωμένων μορίων, αντιδρώντας με το υπεροξειδίο του υδρογόνου και οργανικές υπεροξειδάσες. Τα υπεροξειδία του υδρογόνου μπορούν επίσης να αναχθούν από την καταλάση, η οποία, όπως και στο μονοπάτι της γλουταθειόνης, εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα του NADPH. Με την παρουσία οξειδωτικών παραγόντων, το μονοπάτι των φωσφορικών πεντοζών ενός φυσιολογικού κυττάρου επιταχύνεται έντονα, με αποτέλεσμα τα επίπεδα των NADPH και της ανηγμένης γλουταθειόνης να παραμένουν αμετάβλητα. Η επιτάχυνση του μονοπατιού προκαλείται κυρίως μέσω αύξησης της έκφρασης του G6PD. Σε ένα ερυθροκύτταρο, όμως, με έλλειψη του ενζύμου G6PD, η ροή της γλυκόζης μέσω του μονοπατιού δεν μπορεί να αυξηθεί, και ως αποτέλεσμα τα επίπεδα του NADPH και της ανηγμένης γλουταθειόνης μειώνονται. Ο κύριος μηχανισμός μέσω του οποίου τα μειωμένα επίπεδα αναγωγικών μέσων κατά τη διάρκεια οξειδωτικού στρες οδηγούν σε αιμόλυση δεν έχει ξεκαθαριστεί. Συμπερασματικά, τα ερυθροκύτταρα των ατόμων με έλλειψη G6PD θεωρητικά, έχουν μειωμένη ικανότητα αντίστασης στο οξειδωτικό στρες (Mehta et al., 2000).

Οι ελεύθερες ρίζες και το οξειδωτικό στρες

Οι ελεύθερες ρίζες αποτελούν μια κατηγορία ατόμων ή μορίων που περιέχουν ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική τους στοιβάδα, και παράγονται σε όλα τα κύτταρα. Οι περισσότερες ελεύθερες ρίζες προέρχονται από τα δραστικά στοιχεία οξυγόνου ή τα δραστικά στοιχεία αζώτου. Τα δραστικά είδη οξυγόνου περιλαμβάνουν τα μόρια που περιέχουν οξυγόνο, όπως το υπεροξειδίο ($O_2^{\bullet-}$) και το υδροξύλιο (OH^{\bullet}), αλλά και μερικά προϊόντα του οξυγόνου που δεν είναι ρίζες, όπως το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) και το υποχλωρικό οξύ ($HOCl$). Τα δραστικά στοιχεία μπορούν να οξειδώσουν διάφορα βιομόρια λόγω της έντονης χημικής δραστηρότητάς τους (Kohen & Nyska, 2002).

Ο όρος οξειδωτικό στρες αναφέρεται σε μια σοβαρή δυσαναλογία μεταξύ της παραγωγής δραστικών ειδών και του αντιοξειδωτικού μηχανισμού του οργανισμού. Έχει οριστεί ως μια διαταραχή στην προοξειδωτική και αντιοξειδωτική ισορροπία του οργανισμού, γεγονός το οποίο μπορεί να οδηγήσει σε καταστροφή βιομορίων (Halliwell & Whiteman, 2004). Το οξειδωτικό στρες μπορεί να προκαλέσει μείωση των αμυντικών συστημάτων του οργανισμού και οξείδωση μορίων όπως λιπιδίων, πρωτεϊνών, υδατανθράκων και DNA (Halliwell & Whiteman, 2004). Η αποφυγή της δημιουργίας ελευθέρων ριζών από τον ανθρώπινο οργανισμό είναι αδύνατη. Συνεπώς, ένα εύρος αντιοξειδωτικής άμυνας έχει αναπτυχθεί στους οργανισμούς. Υπάρχουν τόσο ενζυμικές όσο και μη ενζυμικές αντιοξειδωτικές ουσίες.

Έρευνες στην βιβλιογραφία δίνουν ξεκάθαρες ενδείξεις ότι η έντονη άσκηση που προκαλεί μυϊκή βλάβη μπορεί να αυξήσει την παραγωγή ελευθέρων ριζών και να οδηγήσει σε οξειδωτικό στρες (Close, Kayani, Vasilaki, & McArdle, 2005; Nikolaidis et al., 2007; Paschalis, Nikolaidis, Fatouros et al., 2007).

Η έκκεντρη μορφή σύσπασης του μυός αποτελεί ένα σημαντικό και απαραίτητο κομμάτι των καθημερινών μας φυσικών δραστηριοτήτων όπως είναι το περπάτημα, και ειδικά το περπάτημα σε κατηφόρα ή το κατέβασμα σκαλιών. Κατά την έκκεντρη συστολή ο μυς επιμηκύνεται αντενεργώντας σε μια εξωτερική επιβάρυνση ισχυρότερη από τη δύναμη που παράγει με αποτέλεσμα την επιμηκυνση του. Το κυριότερο χαρακτηριστικό της είναι ότι προκαλεί μυϊκή βλάβη, η οποία κορυφώνεται 24 έως 72 ώρες μετά την άσκηση (Paschalis, Nikolaidis, Giakas et al., 2007). Ο μυϊκός πόνος, η πτώση της μυϊκής δύναμης, η αποδιοργάνωση της δομής του μυός και η εκκροή μυϊκών πρωτεϊνών στο αίμα είναι μερικά από τα συμπτώματα που προκαλεί η μυϊκή βλάβη στο μυϊκό ιστό.

Τα τελευταία χρόνια μικρός αριθμός μελετών εστίασαν το ερευνητικό τους ενδιαφέρον στις επιδράσεις που έχει η ασκησιογενές μυϊκή βλάβη στην οξειδοαναγωγική κατάσταση του οργανισμού (Close, Ashton, Cable, Doran, & MacLaren, 2004; Close, Kayani et al., 2005; Nikolaidis et al., 2007; Paschalis, Nikolaidis, Fatouros et al., 2007; Sacheck, Milbury, Cannon, Roubenoff, & Blumberg, 2003). Σύμφωνα με τις έρευνες αυτές η μυϊκή βλάβη μπορεί να αυξήσει το οξειδωτικό στρες, για μέρες μετά την άσκηση. Αποτέλεσμα αυτής της παρατήρησης είναι η προτροπή από ερευνητές να αντιμετωπίζεται διαφορετικά η άσκηση η οποία προκαλεί μυϊκή βλάβη (π.χ έκκεντρη άσκηση) σε σχέση με την άσκηση που δεν προκαλεί μυϊκή βλάβη λόγω της σημαντικής αύξησης του οξειδωτικού στρες που επιφέρει (Nikolaidis et al., 2007).

Κύρια πηγή της αύξησης των δραστικών στοιχείων αμέσως μετά αλλά και ώρες μετά απο μυϊκή καταστροφή φαίνεται να είναι η φλεγμονώδης λευκοκυτταρική αντίδραση και η είσοδος φαγοκυττάρων στο σκελετικό για την αντιμετώπιση της φλεγμονής (Close, Ashton, McArdle, & Maclaren, 2005). Η φλεγμονή αυτή προκαλεί

λευκοκυτταρική διήθηση και κατ' επέκταση σημαντική οξειδωτική καταστροφή (Close, Ashton et al., 2005). Αιτία για αυτό είναι τα ουδετερόφιλα που ενεργοποιούνται στην περιοχή και προκαλούν την παραγωγή αρκετών οξειδωτικών για την απομάκρυνση του κατεστραμμένου μυϊκού ιστού (Close, Ashton et al., 2005).

Αναφορές στη βιβλιογραφία υποδεικνύουν ότι άτομα με έλλειψη του G6PD παρουσιάζουν αυξημένο οξειδωτικό στρες σε διάφορους ιστούς. Επίσης, παρουσιάζουν αυξημένη γλυκοσυλίωση πρωτεϊνών, γεγονός που μπορεί να προκαλέσει καταρράκτη σε αυτά τα άτομα. Υπάρχουν επίσης αρκετές αναφορές που υποδεικνύουν πως όταν η δραστηριότητα της G6PD είναι πολύ χαμηλή και το οξειδωτικό στρες αυξημένο, τότε μπορεί να προκληθεί αυξημένη καταστροφή ερυθρών αιμοσφαιρίων, και κατά συνέπεια να εμφανιστεί αιμολυτική αναιμία (Cooper, Vollaard, Choueiri, & Wilson, 2002).

Θεωρητικά λοιπόν τα άτομα με έλλειψη του G6PD, βρίσκονται σε μειονεκτικότερη θέση επειδή τα επίπεδα της ανηγμένης γλουταθειόνης είναι χαμηλότερα, και επομένως υπολείπονται σε έναν από τους κύριους μηχανισμούς του οργανισμού για αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες κατά την μυϊκή βλάβη. Ωστόσο, παρά την ύπαρξη θεωρητικής βάσης για μειωμένη αντοχή στο οξειδωτικό στρες στα άτομα που πάσχουν από έλλειψη του G6PD, δεν υπάρχει καμία σχετική έρευνα που να έχει μελετήσει την ανταπόκριση του οργανισμού ατόμων έπειτα από άσκηση μεγάλης επιβάρυνσης και έντασης για τον οργανισμό που προκαλεί μυϊκή καταστροφή.

Τρεις μελέτες περίπτωσης (case studies), στη βιβλιογραφία (Bresolin et al., 1989; Ninfali & Bresolin, 1995; Ninfali et al., 1991) αναφέρουν περιπτώσεις ατόμων με έλλειψη του G6PD όπου εισήχθησαν σε νοσοκομείο μετά από έντονη άσκηση. Τα άτομα αυτά παρουσίασαν διάφορα συμπτώματα που υποδηλώνουν μυϊκή βλάβη,

όπως αυξημένα επίπεδα μυοσφαιρίνης και κρεατινικής κινάσης στο αίμα αλλά και σκουρόχρωμα ούρα. Σε αντίθεση με αυτές τις μελέτες τρεις άλλες σχετικές μελέτες (Jamurtas, Fatouros, Alexiou, Chung, & Goldfarb, 2004; Jamurtas et al., 2006; Nikolaidis et al., 2006), δεν αναφέρουν οποιεσδήποτε επιπτώσεις στην υγεία ατόμων με έλλειψη του G6PD έπειτα από εξαντλητική άσκηση.

Όσο αφορά τις μελέτες που αναφέρουν επιπτώσεις στη υγεία των ατόμων σημαντικό στοιχείο είναι να διευκρινιστεί εάν αυτές οφείλονται στην έλλειψη του G6PD ή ήταν απλά αποτέλεσμα της έντονης άσκησης που προηγήθηκε; Επομένως, σημαντικό στοιχείο για την παρούσα παρεμβατική μελέτη είναι η συμμετοχή ομάδας ατόμων με έλλειψη του G6PD καθώς και ομάδας ελέγχου με φυσιολογική δραστηριότητα του ενζύμου. Παράλληλα θα πρέπει να ελεγχθούν όλοι οι εξωτερικοί παράγοντες που μπορούν να επηρεάζουν το οξειδωτικό στρες και την μυϊκή βλάβη (πχ, διατροφή και τύπος άσκησης).

Σημασία της έρευνας

Η Ελλάδα είναι μία από τις χώρες με την υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης της έλλειψης του G6PD (περίπου 3,2 % του πληθυσμού εμφανίζει έλλειψη G6PD) (Missiou-Tsagaraki, 1991). Είναι χαρακτηριστικό, ότι η Θεσσαλία (έδρα του πανεπιστημίου όπου και θα πραγματοποιηθεί η έρευνα) παρουσιάζει την υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης της έλλειψης του G6PD (περίπου 10 %) από όλα τα γεωγραφικά διαμερίσματα της χώρας (Missiou-Tsagaraki, 1991). Το γεγονός αυτό προσδίδει μεγάλη πρακτική σημασία στα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας, τόσο στην τοπική κοινωνία, όσο και γενικότερα στην Ελλάδα.

Η συγκεκριμένη εργασία αποτελεί την πρώτη προσπάθεια χαρακτηρισμού των ανταποκρίσεων που προκαλούνται από την άσκηση που προκαλεί μυϊκή βλάβη

στον οργανισμό ατόμων με έλλειψη του G6PD. Με τον τρόπο αυτό, θα εξεταστεί αν η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη μπορεί να επηρεάσει την γενικότερη κλινική κατάσταση των ατόμων με έλλειψη G6PD και θα αξιολογηθεί το κατά πόσο τα άτομα αυτά μπορούν να ασκούνται με ασφάλεια. Με αυτόν τον τρόπο θα διαπιστωθεί αν η προτροπή των Ninfali et al. (1995), ότι δηλαδή τα άτομα με έλλειψη του G6PD θα πρέπει να αποφεύγουν την άσκηση υψηλής έντασης, είναι βάσιμη

Ερευνητικές υποθέσεις

- i) Η έκκεντρη άσκηση θα προκαλέσει μυϊκή βλάβη στην ομάδα ατόμων με έλλειψη του G6PD.
- ii) Η έκκεντρη άσκηση θα προκαλέσει οξειδωτικό στρες στο αίμα στην ομάδα ατόμων με έλλειψη του G6PD.
- iii) Η μυϊκή βλάβη θα είναι μεγαλύτερη στην ομάδα ατόμων με έλλειψη του G6PD.
- iv) Το οξειδωτικό στρες θα είναι μεγαλύτερο στην ομάδα ατόμων με έλλειψη του G6PD.

Στατιστικές υποθέσεις

Μηδενικές υποθέσεις

- i) Μηδενική υπόθεση ($\mu_1 = \mu_2$): Δεν θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά την έκκεντρη άσκηση), στους δείκτες προσδιορισμού της μυϊκής βλάβης στην ομάδα ατόμων με έλλειψη του G6PD.

- ii) Μηδενική υπόθεση ($\mu_1 = \mu_2$): Δεν θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά την έκκεντρη άσκηση), στους δείκτες προσδιορισμού του οξειδωτικού στρες στην ομάδα ατόμων με έλλειψη του G6PD.
- iii) Μηδενική υπόθεση ($\mu_1 = \mu_2$): Δεν θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ της ομάδας ατόμων με έλλειψη του G6PD και της ομάδας ελέγχου (πριν και μετά την έκκεντρη άσκηση), στους δείκτες προσδιορισμού της μυϊκής βλάβης.
- iv) Μηδενική υπόθεση ($\mu_1 = \mu_2$): Δεν θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ της ομάδας ατόμων με έλλειψη του G6PD και της ομάδας ελέγχου (πριν και μετά την έκκεντρη άσκηση), στους δείκτες προσδιορισμού του οξειδωτικού στρες.

Εναλλακτικές υποθέσεις

- i) Εναλλακτική υπόθεση ($\mu_1 \neq \mu_2$): Θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά την έκκεντρη άσκηση), στους δείκτες προσδιορισμού της μυϊκής βλάβης στην ομάδα ατόμων με έλλειψη του G6PD.
- v) Εναλλακτική υπόθεση ($\mu_1 \neq \mu_2$): Θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά την έκκεντρη άσκηση), στους δείκτες προσδιορισμού του οξειδωτικού στρες στην ομάδα ατόμων με έλλειψη του G6PD.
- vi) Εναλλακτική υπόθεση ($\mu_1 \neq \mu_2$): Θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ της ομάδας ατόμων με έλλειψη του G6PD και της ομάδας

ελέγχου (πριν και μετά την έκκεντρη άσκηση), στους δείκτες προσδιορισμού της μυϊκής βλάβης.

vii) Εναλλακτική υπόθεση ($\mu_1 \neq \mu_2$): Θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ της ομάδας ατόμων με έλλειψη του G6PD και της ομάδας ελέγχου (πριν και μετά την έκκεντρη άσκηση), στους δείκτες προσδιορισμού του οξειδωτικού στρες.

Περιορισμοί της έρευνας

Οι περιορισμοί της εργασίας έγκειται στο γεγονός ότι μετρήθηκαν μόνο άντρες με έλλειψη του G6PD. Παράλληλα περιοριστικό στοιχείο της έρευνας αποτελεί το γεγονός ότι όλες οι μετρήσεις προσδιορισμού του οξειδωτικού στρες έγιναν μόνο στο αίμα.

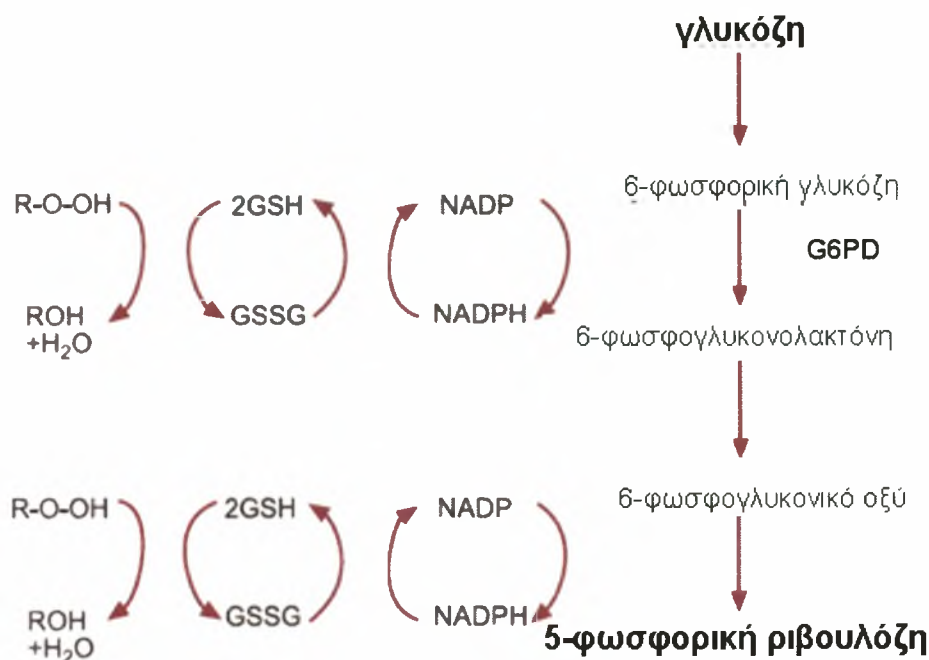
Ανασκόπηση βιβλιογραφίας

Ανεπάρκεια της αφυδρογονάσης της 6-φωσφορικής γλυκόζης

Η έλλειψη της αφυδρογονάσης της 6 φωσφορικής γλυκόζης (G6PD) αποτελεί μια από τις πιο ευρέως διαδεδομένες ενζυμοπάθειες, επηρεάζοντας περισσότερα από 400 εκατομμύρια άτομα σ'όλο τον κόσμο (Mehta et al., 2000). Διάφορες μελέτες υποδεικνύουν ότι είναι αποτέλεσμα εξελικτικού πλεονεκτήματος που προσέφερε η έλλειψη του G6PD κατά τη διάρκεια μόλυνσης από το πλασμώδιο της ελονοσίας (*Plasmodium falciparum*). Η έλλειψη του G6PD ανακαλύφθηκε αρχικά στα μέσα του 1950, για να προσδιοριστεί η αιτία της ευαισθησίας ορισμένων ατόμων στην αιμολυτική επίδραση του αντιελονοσιακού φαρμάκου πριμακίνη. Σύντομα έγινε φανερό ότι η συντριπτική πλειονότητα των πάσχοντων από έλλειψη του G6PD ήταν ασυμπτωματική, γεγονός που το καθιστούσε ιδιαίτερα επικίνδυνο. Ωστόσο, τα άτομα με έλλειψη του ενζύμου βρίσκονται σε κίνδυνο εμφάνισης νεογνικού ίκτερου και σοβαρής αιμολυτικής αναιμίας μετά από χορήγηση συγκεκριμένων φαρμάκων κατά τη διάρκεια κάποιων μολύνσεων, και κυρίως μετά την κατανάλωση κουκιών (Mehta et al., 2000).

Μεταβολικός ρόλος του G6PD

Το G6PD καταλύει την πρώτη αντίδραση του μεταβολικού μονοπατιού των φωσφορυλιωμένων πεντοζών. Το μονοπάτι αυτό περιλαμβάνει τη μετατροπή της γλυκόζης σε πεντόζες (σάκχαρα με πέντε άτομα άνθρακα), που είναι απαραίτητα για μια πληθώρα βιοσυνθετικών διαδικασιών, και παράλληλα παρέχει αναγωγική ισχύ στο ερυθροκύτταρο (σχ 1) (Mehta et al., 2000).



Σχήμα 1: Το μονοπάτι μετατροπής της γλυκόζης σε πεντόζες, του οποίου την πρώτη αντίδραση καταλύει το G6PD.

Ένας εναλλακτικός δρόμος για τη γλυκόζη, από το να ακολουθήσει τα εργογόνα μονοπάτια της γλυκόλυσης, του κύκλου του κιτρικού οξέος και της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης, είναι να μετατραπεί σε μια πεντόζη. Στο πρώτο στάδιο αυτής της μετατροπής, το G6PD χρησιμοποιεί ως υπόστρωμα την 6-φωσφορική γλυκόζη και την μετατρέπει σε 6-φωσφογλυκονολακτόνη, η οποία με τη σειρά της μετατρέπεται σε 5-φωσφορική ριβόζη μέσω του 6-φωσφογλυκονικού οξέος και της 5-φωσφορικής ριβουλόζης. Τα ριβοζικά σάκχαρα χρησιμοποιούνται ως πρόδρομοι στη βιοσύνθεση πολλών σημαντικών μορίων όπως του ATP, του συνενζύμου A, του NAD, του FAD, του RNA και του DNA (Mehta et al., 2000). Το NADPH που παράγεται στο μονοπάτι των φωσφορικών πεντοζών από τη δράση του G6PD και της αφυδρογονάσης του 6-φωσφογλυκονικού (το ένζυμο που καταλύει την τρίτη αντίδραση του μονοπατιού) χρησιμεύει ως δότης ηλεκτρονίων στη βιοσύνθεση

κυρίως της χοληστερόλης και των λιπαρών οξέων καθώς και στην σύνθεση του μονοξειδίου του αζώτου (νιτρικού οξέος) (Tsai et al., 1998). Εκτός από το μονοπάτι αυτό, το NADPH μπορεί να παραχθεί μόνο από το μαλικό ένζυμο στα μιτοχόνδρια. Με δεδομένο ότι τα ερυθροκύτταρα στερούνται μιτοχονδρίων, το μονοπάτι των φωσφορικών πεντοζών αποτελεί τη μοναδική τους πηγή NADPH. Όπως θα δούμε παρακάτω, αυτή η παραγωγή NADPH είναι αποφασιστικής σημασίας για την προστασία των ερυθροκυττάρων από το οξειδωτικό στρες (Mehta et al., 2000; Ronquist & Theodorsson, 2007).

Μηχανισμός αιμόλυσης στα άτομα με έλλειψη G6PD

Η αιμόλυση των ερυθροκυττάρων των ατόμων με έλλειψη G6PD είναι αποτέλεσμα αυξημένης ευαισθησίας στο οξειδωτικό στρες δεδομένου ότι είναι ανίκανα να ανάγουν το NADP^+ σε NADPH σε φυσιολογικό ρυθμό. Ο κύριος ρόλος αυτού του NADPH είναι να διατηρήσει την ανηγμένη μορφή της γλουταθειόνης σε ένα λόγο μεγαλύτερο του 500:1 έναντι της οξειδωμένης δισουλφιδικής μορφής. Η ανηγμένη γλουταθειόνη παίζει σημαντικό ρόλο στην αναγωγή οξειδωμένων μορίων, αντιδρώντας με το υπεροξειδίο του υδρογόνου και οργανικές υπεροξειδάσες, καθώς επίσης και διατηρώντας τις κυστεΐνες της αιμοσφαιρίνης και άλλων πρωτεϊνών στην ανηγμένη μορφή. Τα υπεροξειδία του υδρογόνου μπορούν επίσης να αναχθούν από την καταλάση, η οποία, όπως και στο μονοπάτι της γλουταθειόνης, εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα του NADPH. Με την παρουσία οξειδωτικών παραγόντων, το μονοπάτι των φωσφορικών πεντοζών ενός φυσιολογικού κυττάρου επιταχύνεται έντονα με αποτέλεσμα τα επίπεδα των NADPH και της ανηγμένης γλουταθειόνης να παραμένουν σχεδόν αμετάβλητα. Η επιτάχυνση του μονοπατιού καταδείχθηκε πρόσφατα ότι προκαλείται κυρίως μέσω αύξησης της έκφρασης του G6PD. Σε ένα

ερυθροκύτταρο, όμως, με έλλειψη του ενζύμου G6PD, όπου το μονοπάτι των φωσφορικών πεντοζών ήδη λειτουργεί σε ένα σχεδόν μέγιστο ρυθμό, η ροή της γλυκόζης μέσω του μονοπατιού δεν μπορεί να αυξηθεί, και ως αποτέλεσμα τα επίπεδα των NADPH και της ανηγμένης γλουταθειόνης μειώνονται. Ο ακριβής μηχανισμός μέσω του οποίου τα μειωμένα επίπεδα αναγωγικών μέσων κατά τη διάρκεια οξειδωτικού στρες οδηγούν σε αιμόλυση αναμένει να αναγνωριστεί. Συνεπώς, τουλάχιστον θεωρητικά, τα ερυθροκύτταρα των ατόμων με έλλειψη G6PD έχουν μειωμένη ικανότητα αντίστασης στο οξειδωτικό στρες εξαιτίας των χαμηλών επιπέδων του NADPH και της ανηγμένης γλουταθειόνης (Mehta et al., 2000; Ronquist & Theodorsson, 2007).

Ελεύθερες ρίζες και οξειδωτικό στρες

Οι ελεύθερες ρίζες, μια κατηγορία ατόμων ή μορίων που περιέχουν ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική τους στοιβάδα, παράγονται σε όλα τα κύτταρα. Οι περισσότερες ελεύθερες ρίζες που συναντώνται *in vivo* είτε είναι είτε προέρχονται από τα δραστικά στοιχεία οξυγόνου ή τα δραστικά στοιχεία αζώτου. Τα δραστικά στοιχεία οξυγόνου περιλαμβάνουν τις ελεύθερες ρίζες που έχουν ως βάση το οξυγόνο όπως το ανιόν υπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$), το υδροξύλιο (H_2^{\cdot}), το αλκοξύλιο (RO^{\cdot}), το υπεροξύλιο (ROO^{\cdot}), και το υδροπεροξύλιο ($ROOH^{\cdot}$). Άλλα δραστικά στοιχεία οξυγόνου (για παράδειγμα, το υπεροξείδιο του υδρογόνου και τα υπεροξείδια των λιπιδίων) μπορούν να μετατραπούν σε ελεύθερες ρίζες από μεταβατικά μέταλλα και να βρίσκονται ελεύθερα στο κύτταρο ή δεσμευμένα σε πρωτεΐνες. Τα δραστικά στοιχεία αζώτου περιλαμβάνουν τις ελεύθερες ρίζες μονοξειδίου του αζώτου (NO^{\cdot}) και διοξειδίου του αζώτου (NO_2^{\cdot}) (Cooper et al., 2002).

Ο όρος οξειδωτικό στρες αναφέρεται σε μια σοβαρή δυσαναλογία μεταξύ της παραγωγής δραστικών ειδών και του αντιοξειδωτικού μηχανισμού του οργανισμού. Έχει οριστεί ως μια διαταραχή στην προοξειδωτική και αντιοξειδωτική ισορροπία του οργανισμού, γεγονός το οποίο μπορεί να οδηγήσει σε καταστροφή βιομορίων (Halliwell & Whiteman, 2004). Το οξειδωτικό στρες μπορεί να προκαλέσει μείωση των αμυντικών συστημάτων του οργανισμού και οξείδωση μορίων του.

Οι ελεύθερες ρίζες έχουν την ικανότητα να αντιδρούν με μια ποικιλία χημικών ουσιών, καθιστώντας τις ιδανικές για ένα μεγάλο εύρος βιολογικών λειτουργιών όπως την κυτταρική σηματοδότηση και τη ρύθμιση της δραστηριότητας πολλών ενζύμων. Η πλειονότητα των ελευθέρων ριζών που παράγονται στο ζωντανό κύτταρο είναι οξειδωτικές ουσίες, οι οποίες είναι σε θέση να οξειδώσουν διάφορα είδη βιολογικών μορίων, όπως υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, λιπαρά οξέα και νουκλεοτίδια. Δεδομένου ότι είναι αδύνατο να αποφύγουμε ολόκληρη την παραγωγή ελευθέρων ριζών, δεν αποτελεί έκπληξη ότι ένα εύρος αντιοξειδωτικής άμυνας έχει αναπτυχθεί στους οργανισμούς. Υπάρχουν τόσο ενζυμικές όσο και μη ενζυμικές αντιοξειδωτικές ουσίες. Τα αντιοξειδωτικά ένζυμα περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων το υπεροξειδίο της δισμουτάσης, την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και την καταλάση. Οι κύριες μη ενζυματικές αντιοξειδωτικές ουσίες είναι η ανηγμένη γλουταθειόνη, η βιταμίνη C και η βιταμίνη E. Η αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού είναι συνήθως επαρκής, για να αποτρέψει καταστροφή ιστού σε σημαντικό βαθμό. Ωστόσο, η υπερπαραγωγή ελευθέρων ριζών ή/και η μείωση του επιπέδου της αντιοξειδωτικής άμυνας μπορεί να οδηγήσει σε μια ανισορροπία και να προκαλέσει βλαβερές συνέπειες, μια κατάσταση που είναι γνωστή ως οξειδωτικό στρες. Υπάρχουν ξεκάθαρες ενδείξεις ότι η άσκηση έχει την ικανότητα να αυξάνει την παραγωγή ελευθέρων ριζών και να οδηγεί σε οξειδωτικό στρες (Cooper et al., 2002).

Ασκησιογενές οξειδωτικό στρες

Το 1978 οι Dillard et al. ήταν οι πρώτοι που έδειξαν ότι η άσκηση μπορεί να οδηγήσει σε οξειδωτικό στρες. Παρατήρησαν αύξηση κατά 1,8 φορές στα εκπνεόμενα επίπεδα πεντανίου, ένα πιθανό υποπροϊόν της οξειδωτικής καταστροφής των λιπιδίων, μετά από μέτριας έντασης άσκηση. Από τότε, ένας διαρκώς αυξανόμενος όγκος δεδομένων έχει συσσωρευθεί, που υποστηρίζει ότι η άσκηση μπορεί να αυξήσει την παραγωγή ελευθέρων ριζών και να οδηγήσει σε οξειδωτικό στρες. Πρόσφατη έρευνα της επιστημονικής μας ομάδας (Michailidis et al., 2007) έχει δείξει ότι η έντονη αερόβια άσκηση μπορεί να αυξήσει σημαντικά την παραγωγή ελεύθερων ριζών μετά το τέλος της άσκησης με κορύφωση τρεις ώρες μετά το τέλος αυτής. Το οξειδωτικό στρες, στην προκειμένη περίπτωση, εκτιμήθηκε με βάση τις μεταβολές που επήλθαν σε δείκτες οξειδωτικής βλάβης διαφόρων βιολογικών ουσιών του οργανισμού και αλλαγών που επήλθαν σε αντιοξειδωτικές ουσίες και ένζυμα του οργανισμού. Η άμεση μέτρηση των ελευθέρων ριζών είναι πολύ δύσκολη κυρίως εξαιτίας της μικρής διάρκειας ζωής των ριζών. Γι' αυτό το λόγο, πολλές μελέτες που ερεύνησαν τις επιδράσεις της άσκησης στο οξειδωτικό στρες έχουν επικεντρώσει την προσοχή τους σε δείκτες καταστροφής βιολογικών ουσιών από ελεύθερες ρίζες. Η αυξημένη οξειδωτική καταστροφή λιπιδίων, πρωτεϊνών και DNA μετά από άσκηση είναι πλέον καλά τεκμηριωμένη (Cooper et al., 2002). Αρκετές μελέτες, επίσης, έχουν προσδιορίσει τις ανταποκρίσεις των αντιοξειδωτικών ουσιών που προκάλεσε η άσκηση δηλαδή την ανταπόκριση του αμυντικού μηχανισμού του οργανισμού απέναντι στο οξειδωτικό στρες. Τα αντιοξειδωτικά μέσα που διαθέτει ένας οργανισμός, όπως προαναφέραμε, χωρίζονται στα ενζυμικά και τα μη ενζυμικά. Άσκηση υψηλής έντασης έχει δείχθει ότι αυξάνει τη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων. Αυτό μπορεί να θεωρηθεί ως ένας αμυντικός μηχανισμός

του κυττάρου απέναντι στο οξειδωτικό στρες. Ωστόσο, ιδιαίτερα έντονη άσκηση μεγάλης διάρκειας έχει βρεθεί ότι μπορεί να προκαλέσει παροδική μείωση των επιπέδων της βιταμίνης E και της ανηγμένης γλουταθειόνης σε διάφορους ιστούς (Banerjee, Mandal, Chanda, & Chakraborti, 2003).

Αξίζει να σημειωθεί ότι μόνο υψηλής έντασης ή/και μεγάλης διάρκειας άσκηση φαίνεται να οδηγεί σε αρκετά μεγάλες αυξήσεις στην παραγωγή ελευθέρων ριζών, σε τέτοιο βαθμό που να υπερβαίνουν την αντιοξειδωτική άμυνα. Οι Lovlin et al. (1987), για παράδειγμα, έδειξαν ότι τρέξιμο στον τάπητα μέχρι εξάντλησης αύξησε τα επίπεδα της μαλονδιαλδεϋδης (δείκτης οξειδωτικής καταστροφής των λιπιδίων). Αντίθετα, τρέξιμο σε μέτρια ένταση (70 % της VO_2max) απέτυχε να προκαλέσει ένα τέτοιο αποτέλεσμα, ενώ τρέξιμο χαμηλής έντασης (40 % της VO_2max) προκάλεσε ακόμα και μείωση των επιπέδων της μαλονδιαλδεϋδης (Lovlin, Cottle, Pyke, Kavanagh, & Belcastro, 1987).

Έκκεντρη άσκηση και οξειδωτικό στρες

Η μυϊκή συστολή διακρίνεται σε ομόκεντρη – μειομετρική (μείωση του μήκους του μυός) και έκκεντρη – πλειομετρική (αύξηση του μήκους του μυός). Αν και η κατανάλωση οξυγόνου για την ίδια παραγωγή δύναμης είναι χαμηλότερη κατά την έκκεντρη απ' ό τι κατά την ομόκεντρη άσκηση (Dudley, Tesch, Harris, Golden, & Buchanan, 1991), η έκκεντρη άσκηση προκαλεί μεγαλύτερη μυϊκή βλάβη (Jamurtas et al., 2000; Kendall & Eston, 2002). Ο μυϊκός πόνος, η πτώση της μυϊκής δύναμης, η αποδιοργάνωση της δομής του μυός και η εκκροή μυϊκών πρωτεϊνών στο αίμα για μέρες μετά το τέλος της άσκησης είναι μερικά από τα συμπτώματα που επιφέρει η άσκηση που προκαλεί μυϊκή βλάβη (Nikolaidis et al., 2007; Paschalis, Nikolaidis, Fatouros et al., 2007).

Επιπλέον, συμφωνά με έρευνες της επιστημονικής μας ομάδας, η μυϊκή βλάβη που η έκκεντρη άσκηση επιφέρει για μέρες μετά έχει συνδεθεί με την εκδήλωση παρατεταμένου οξειδωτικού στρες (Nikolaidis et al., 2007; Paschalis, Nikolaidis, Fatouros et al., 2007). Παράλληλα με τις δικές μας έρευνες, οι περισσότερες από τις σχετικές έρευνες υποδεικνύουν αλλαγές σε αρκετούς δείκτες του οξειδωτικού στρες στο σκελετικό μυ έπειτα από ασκησιογενή μυϊκή καταστροφή (Cabral de Oliveira, Perez, Merino, Prieto, & Alvarez, 2001; Meydani et al., 1993; Perez et al., 2002; You et al., 2005). Υπάρχουν όμως και σχετικές έρευνες που δε βρίσκουν αλλαγές στους δείκτες οξειδωτικού στρες στο μυ (Saxton, Donnelly, & Roper, 1994; Umegaki, Daohua, Sugisawa, Kimura, & Higuchi, 2000).

Βέβαια τα μεγέθη δείγματος των ερευνών με αρνητικά αποτελέσματα δεν ήταν αρκετά μεγάλα με αποτέλεσμα να έχουν πιθανά χαμηλή στατιστική ισχύ (Saxton et al., 1994; Umegaki et al., 2000). Κατά την άποψη μας, η ασκησιογενής μυϊκή καταστροφή μπορεί να οδηγήσει σε εμφάνιση οξειδωτικού στρες έστω και αν αυτό δεν υποστηρίζεται από ορισμένες μελέτες. Παρά τις αντίθετες απόψεις και διαφορές που υπάρχουν σε αυτό το ερευνητικό πεδίο, φαίνεται ότι η άσκηση μπορεί να επιφέρει σημαντική μυϊκή καταστροφή και εκδήλωση οξειδωτικού στρες, η οποία μπορεί να ανιχνευτεί τόσο στο αίμα όσο και στο μυ. Σε έρευνα όπου πραγματοποιήθηκε παράλληλη σύγκριση των τιμών διαφόρων δεικτών οξειδωτικού στρες στο αίμα και στο μυ, έπειτα από ασκησιογενή μυϊκή καταστροφή, βρέθηκε παρόμοια αύξηση αυτών (You et al., 2005). Όσον αφορά τη διάρκεια των αλλαγών στους διάφορους δείκτες του οξειδωτικού στρες στο αίμα και στο σκελετικό μυ οι υπάρχουσες έρευνες παρουσιάζουν αντικρουόμενα αποτελέσματα. Υπάρχουν έρευνες που παρουσιάζουν βραχυπρόθεσμες μεταβολές στους δείκτες και γρήγορη επιστροφή στα πριν την άσκηση επίπεδα (Umegaki et al., 2000), ενώ υπάρχουν άλλες έρευνες

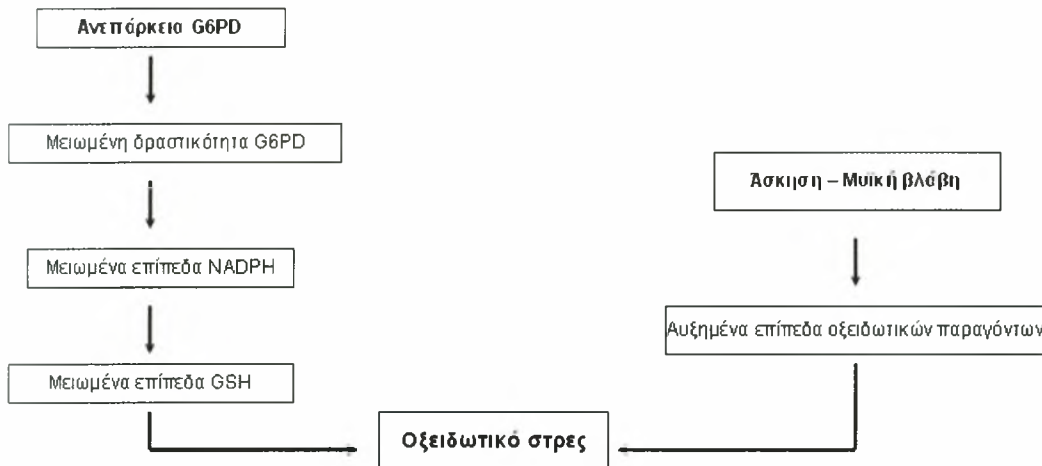
που παρουσιάζουν μακροπρόθεσμες μεταβολές στους οξειδωτικούς δείκτες που διαρκούν μέρες μετά το τέλος της άσκησης (Close et al., 2004).

Αιτία για την αύξηση του οξειδωτικού στρες έπειτα από μυϊκή βλάβη φαίνεται να αποτελούν οι διάφορες διαδικασίες που ενεργοποιεί ο οργανισμός για αντιμετώπιση της βλάβης και επαναφορά του μυός στα φυσιολογικά του επίπεδα. Η φλεγμονώδης λευκοκυτταρική αντίδραση και η είσοδος φαγοκυττάρων στο σκελετικό μυ προκαλούν αύξηση των δραστικών στοιχείων αμέσως μετά αλλά και ώρες μετά τη μυϊκή καταστροφή που προκλήθηκε από την άσκηση (Close, Kayani et al., 2005). Η έκκεντρη άσκηση μπορεί να προκαλέσει λευκοκυτταρική διήθηση και κατ' επέκταση σημαντική οξειδωτική καταστροφή (Close, Ashton et al., 2005) αφού τα ουδετερόφιλα που ενεργοποιούνται προκαλούν την παραγωγή αρκετών οξειδωτικών μέσων όπως το $O_2^{\cdot-}$, το H_2O_2 και το $HOCl^-$ με σκοπό να απομακρύνουν τον κατεστραμμένο μυϊκό ιστό και να γίνει η επιδιόρθωση στην κατεστραμμένη περιοχή του μυός (Close, Ashton et al., 2005). Τα δραστικά στοιχεία εάν δράσουν ανεξέλεγκτα μπορούν να καταστρέψουν και υγιή μυϊκό ιστό (Close, Ashton et al., 2005). Η παραγωγή δραστικών στοιχείων που συνδέονται με την αντιμετώπιση της φλεγμονής φαίνεται να διαρκεί για 3 μέρες μετά από έκκεντρη άσκηση (Close, Ashton et al., 2005). Επομένως, ένα σημαντικό μέρος της αύξησης του οξειδωτικού στρες έπειτα από έκκεντρη άσκηση μπορεί να οφείλεται στα ουδετερόφιλα που ενεργοποιούνται στο σημείο της φλεγμονής.

Οξειδωτικό στρες σε άτομα με έλλειψη ενζύμου G6PD

Θεωρητικά, τα άτομα με έλλειψη του G6PD υπόκεινται σε αυξημένο κίνδυνο οξειδωτικού στρες όπως έχουμε προαναφέρει. Το γεγονός αυτό υποθετικά καθιστά τα

άτομα με έλλειψη του G6PD ευάλωτα στην περίπτωση της άσκησης δεδομένου ότι η άσκηση μπορεί να προκαλέσει εκδήλωση οξειδωτικού στρες (σχ 2).



Σχήμα 2: Υποθετικός μηχανισμός μέσω του οποίου η άσκηση προκαλεί οξειδωτικό στρες σε άτομα με έλλειψη του G6PD.

Άρκετες αναφορές υποδεικνύουν πως, όταν η δραστηριότητα του G6PD είναι πολύ χαμηλή και το οξειδωτικό στρες αυξημένο, τότε μπορεί να προκληθεί αυξημένη καταστροφή ερυθρών αιμοσφαιρίων και κατά συνέπεια να εμφανιστεί αιμολυτική αναιμία (Cooper et al., 2002). Ένας από τους λόγους που τα άτομα με έλλειψη G6PD παρουσιάζουν μεγαλύτερη προδιάθεση για τη δημιουργία οξειδωτικού στρες μπορεί να είναι τα χαμηλά επίπεδα αντιοξειδωτικών ουσιών των ατόμων αυτών. Για παράδειγμα, έχει αναφερθεί ότι άτομα με έλλειψη G6PD έχουν χαμηλότερα επίπεδα βιταμίνης E, βιταμίνης C, καροτενοειδών και γλουταθειόνης (Cooper et al., 2002).

Οξειδωτικό στρες και άσκηση σε άτομα με έλλειψη ενζύμου G6PD

Ιδιαίτερα στην περίπτωση της έκκεντρης άσκησης όπου έχουμε αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες για μέρες, τα άτομα αυτά ίσως διατρέξουν κάποιο σημαντικό κίνδυνο για την υγεία τους. Τα ερυθροκύτταρα φαίνεται να βρίσκονται σε ακόμα πιο δύσκολη κατάσταση κατά τη διάρκεια της άσκησης και μετά, αφού στα ερυθροκύτταρα ο μόνος τρόπος για να αναχθεί η γλουταθειόνη είναι μέσω του NADPH, που με τη σειρά του παράγεται στο μονοπάτι των φωσφορικών πεντοζών, του οποίου η καθοριστική αντίδραση καταλύεται από την G6PD. Ωστόσο, παρόλη την ύπαρξη θεμελιωμένης θεωρητικής βάσης για μειωμένη αντοχή στο οξειδωτικό στρες της άσκησης στα άτομα που πάσχουν από έλλειψη G6PD, δεν υπάρχει καμία σχετική έρευνα που να έχει μελετήσει την ανταπόκριση του οργανισμού ατόμων που πάσχουν από έλλειψη του ενζύμου έπειτα από ασκησιογενές μυϊκή βλάβη.

Οι πρώτες αναφορές στην βιβλιογραφία σχετικά με άσκηση σε άτομα με έλλειψη του G6PD αφορούν τρεις μελέτες περίπτωσης (case studies) προερχόμενες από την ίδια ερευνητική ομάδα (Bresolin et al., 1989; Ninfali & Bresolin, 1995; Ninfali et al., 1991). Οι τρεις αυτές μελέτες αναφέρονται σε περιπτώσεις ατόμων (ένα άτομο σε κάθε μελέτη) με έλλειψη G6PD όπου εισήχθησαν σε νοσοκομείο μετά από έντονη άσκηση όπως δήλωσαν οι ίδιοι. Τα άτομα αυτά παρουσίασαν μετά την άσκηση την οποία είχαν κάνει διάφορα συμπτώματα τα οποία υποδήλωναν μυϊκή καταστροφή, όπως αυξημένα επίπεδα μυοσφαιρίνης και κρεατινικής κινάσης στο αίμα αλλά και σκουρόχρωμα ούρα. Το θέμα που προκύπτει από τις μελέτες αυτές είναι το κατά πόσο τα κλινικά αυτά ευρήματα οφείλονται στο ότι τα άτομα έπασχαν από έλλειψη G6PD ή ήταν απλά αποτέλεσμα της έντονης άσκησης που προηγήθηκε. Αξίζει να σημειωθεί ότι όλα τα κλινικά ευρήματα που αναφέρθηκαν από τις τρεις παραπάνω μελέτες μπορούν να ανιχνευθούν και σε φυσιολογικά άτομα μετά από

έντονη έκκεντρη άσκηση (Hamer, 1997; Milne, 1988). Είναι λοιπόν πιθανό, κατά τη γνώμη μας, τα συμπτώματα που αναφέρθηκαν από τις παραπάνω μελέτες να οφείλονται στην προηγούμενη άσκηση και όχι στην έλλειψη G6PD. Η επόμενη, σχετική με άσκηση σε άτομα με έλλειψη του G6PD, έρευνα αφορά πάλι μια μελέτη περίπτωσης. Η έρευνα προέρχεται από το εργαστήριό μας (Jamurtas et al., 2004) και αποτελεί την πρώτη παρεμβατική και ελεγχόμενη μελέτη της επίδρασης της άσκησης στο οξειδωτικό στρες σε ένα άτομο που έπασχε από έλλειψη G6PD. Τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής έδειξαν ότι 30 λεπτά άσκησης στο δαπεδοεργόμετρο στο 70-75% της VO_{2max} δεν τροποποίησαν τα επίπεδα διάφορων βιολογικών δεικτών του οξειδωτικού στρες σε άτομο με έλλειψη G6PD. Αξίζει όμως να σημειωθεί ότι σε αυτή την εργασία το άτομο με έλλειψη G6PD ήταν καλά προπονημένο (η VO_{2max} του ήταν 57.1 mL/kg/min) και είναι πιθανό αυτό να οδήγησε σε απουσία σημαντικών επιδράσεων της άσκησης, αφού είναι γνωστό ότι η τακτική άσκηση μειώνει το οξειδωτικό στρες που μπορεί να προκληθεί από μία συνεδρία άσκησης (Fatouros et al., 2004).

Απάντηση στα πιο πάνω ζητήματα ήρθαν να δώσουν οι δύο επόμενες έρευνες με άσκηση σε άτομα με έλλειψη του G6PD από τη δική μας ερευνητική ομάδα (Nikolaidis et al., 2006). Στις έρευνες αυτές είχαμε συμμετοχή αρκετών ατόμων με έλλειψη G6PD (n=9), συμμετοχή φυσιολογικών ατόμων ως ομάδας ελέγχου (n=9) και έλεγχο όλων των εξωτερικών μεταβλητών που αποδεδειγμένα επηρεάζουν το οξειδωτικό στρες και τη μυϊκή βλάβη (για παράδειγμα, η άσκηση και η διατροφή). Το πρωτόκολλο άσκησης και στις δυο αυτές εργασίες περιλάμβανε αερόβια άσκηση στο δαπεδοεργόμετρο. Στη πρώτη εργασία, (Jamurtas et al., 2006) τα άτομα έτρεξαν για 45 λεπτά στο 75% της μέγιστης καρδιακής τους συχνότητας. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι τα άτομα με την έλλειψη του G6PD, που θεωρητικά έχουν

μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα, δεν είχαν διαφορές στους δείκτες οξειδωτικού στρες που χρησιμοποιήθηκαν σε σχέση με τα αντίστοιχα φυσιολογικά άτομα ή οποιεσδήποτε επιπτώσεις για την υγεία τους. Η δεύτερη εργασία (Nikolaidis et al., 2006) περιλάμβανε πάλι αερόβια άσκηση στο δαπεδοεργόμετρο αλλά με μεγαλύτερη επιβαρυνση. Το πρωτόκολλο άσκησης περιλάμβανε δύο ξεχωριστές καταστάσεις. Στην μια κατάσταση είχαμε τρέξιμο για δώδεκα λεπτά μέχρι εξάντλησης, ενώ στο άλλο είχαμε τρέξιμο πενήντα λεπτών μέχρι την εξάντληση. Παρόλο που και στις δύο περιπτώσεις είχαμε σημαντική αύξηση του οξειδωτικού στρες, όπως αυτό προσδιορίζεται διαμέσου των δεικτών που χρησιμοποιήθηκαν, δεν υπήρχαν διαφορές μεταξύ της ομάδας με έλλειψη του G6PD και της ομάδας ελέγχου.

Από την παραπάνω βιβλιογραφική ανασκόπηση φαίνεται ότι δεν υπάρχουν επαρκή ερευνητικά δεδομένα στη γενικότερη κλινική εικόνα των ατόμων με έλλειψη G6PD έπειτα από άσκηση και συγκεκριμένα έπειτα από έκκεντρη άσκηση. Συνεπώς, σκοπός της παρούσας έρευνας είναι να εξετάσει την επίδραση ασκησιογενές μυϊκής βλάβης σε άτομα που πάσχουν από έλλειψη του ενζύμου G6PD:

- στη βασική κλινική τους εικόνα αμέσως μετά την άσκηση αλλά και κατά τη διάρκεια της αποκατάστασης, όπως αυτή προσδιορίζεται από διάφορες αιματολογικές βιοχημικές παραμέτρους.
- στην οξειδοαναγωγική τους κατάσταση αμέσως μετά την άσκηση, αλλά και κατά τη διάρκεια της αποκατάστασης, όπως αυτή προσδιορίζεται από διάφορους βιολογικούς δείκτες στο αίμα.

Συμπεραματικά, πιστεύουμε ότι η προτεινόμενη έρευνα θα μπορέσει να απαντήσει στο ερώτημα αν τα άτομα με έλλειψη G6PD μπορούν να ασκούνται με ασφάλεια χωρίς διαταραχές στην βασική κλινική αιματολογική και βιοχημική τους εικόνα, καθώς και αν τα άτομα αυτά εμφανίζουν υψηλότερο οξειδωτικό στρες μετά

από άσκηση. Με αυτόν τον τρόπο, θα διαπιστωθεί αν η προτροπή των Ninfali et al. (1995), ότι τα άτομα με έλλειψη G6PD θα πρέπει να αποφεύγουν την άσκηση υψηλής έντασης, είναι βάσιμη.

Μεθοδολογία

Συμμετέχοντες

Στην έρευνα έλαβαν μέρος εννέα άνδρες με έλλειψη του G6PD (ηλικία: 25 ± 3 ετών, ύψος: 179 ± 3 εκ, σωματικό βάρος: 83 ± 4 κιλά, και ποσοστό λίπους $19 \pm 5\%$) και εννέα άνδρες με φυσιολογική δραστηριότητα του ενζύμου (ηλικία: 23 ± 1 ετών, ύψος: 177 ± 6 εκ, σωματικό βάρος: 73 ± 2 κιλά, ποσοστό λίπους $11 \pm 1\%$). Το δείγμα δεν είχε καμία προηγούμενη εμπειρία με έκκεντρη άσκηση για τουλάχιστον έξι μήνες πριν από τη μελέτη, δεν κάπνιζαν, κανένας δεν έπασχε από οποιαδήποτε οξεία ή χρόνια ασθένεια ή πάθηση και κανένας δεν έπαιρνε οποιαδήποτε φάρμακα ή διαιτητικά συμπληρώματα. Οι μετρήσεις όλων των λειτουργικών δεικτών μυϊκής βλάβης και οι αιμοληψίες έγιναν πριν, την 1^η, τη 2^η, την 3^η, την 4^η και τη 5^η μέρα. Όλοι οι συμμετέχοντες στην μελέτη καθοδηγήθηκαν να απέχουν από έντονη άσκηση τρεις μέρες πριν τη μελέτη καθώς και μετά, κατά τη διάρκεια συλλογής των δεδομένων. Στους συμμετέχοντες δόθηκε ένα έγγραφο συναίνεσης για τη συμμετοχή τους στην έρευνα, αφού πρώτα ενημερώθηκαν για όλους τους κινδύνους, επιπτώσεις και οφέλη που μπορεί να προκύψουν από τη συμμετοχή τους στην έρευνα. Όλες οι πειραματικές διαδικασίες έγιναν σύμφωνα με τη διακήρυξη του Έλσινκι του 1975 και εγκρίθηκαν από την Επιτροπή Βιοηθικής και Δεοντολογίας του Τμήματος Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Ανθρωπομετρικές μετρήσεις

Το κάθε άτομο που συμμετείχε στο πείραμα παρουσιάστηκε στο εργαστήριο το πρωί έπειτα από μια ολονύκτια νηστεία και αποχή από το αλκοόλ και την καφεΐνη για 24 ώρες. Κατά τη διάρκεια της πρώτης επίσκεψης τους, μετρήθηκε η σωματική μάζα κατά προσέγγιση 0,5 kg (Beam Balance 710, Seca, UK), με τους συμμετέχοντες ελαφρά ντυμένους και ξυπόλητους, το σωματικό ύψος κατά προσέγγιση 0,5cm (Stadiometer 208, Seca, UK) και το ποσοστό σωματικού λίπους με δερματοπτυχόμετρο (Harpenden Skinfold Caliper HSK-BI).

Έκκεντρη άσκηση

Πριν αρχίσουν το πρωτόκολλο έκκεντρης άσκησης, οι συμμετέχοντες εκτέλεσαν μια προθέρμανση που περιείχε ποδηλάτηση για 8 λεπτά σε ποδηλατοεργόμετρο Monarkr (Vansbro, Sweden) στις 70 rpm και στα 50 W ακολουθούμενη από 5 λεπτά γνωστών διατακτικών ασκήσεων. Οι συμμετέχοντες πραγματοποίησαν ισοκινητική άσκηση. Το πρωτόκολλο άσκησης περιλάμβανε 5 σετ των 15 μέγιστων εκούσιων έκκεντρων συστολών σε καθιστή θέση (120° γωνία στο ισχίο). Κατά τη διάρκεια της άσκησης υπήρχε διάλειμμα δυο λεπτών μεταξύ των σετ. Για τους σκοπούς της μελέτης χρησιμοποιήθηκε ένα ισοκινητικό δυναμόμετρο (Cybex Norm Lumex, Ronkonkoma, NY, USA) που πρόσφατα είχε χρησιμοποιηθεί σε παρόμοιες μελέτες. Το δυναμόμετρο βαθμονομείτο κάθε εβδομάδα συμφωνά με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Οι συμμετέχοντες τοποθετήθηκαν στο δυναμόμετρο ευθυγραμμίζοντας το έξω υπερκονδύλιο κύρτωμα του μηρού με τον άξονα περιστροφής του δυναμομέτρου και σταθεροποιήθηκε το μέλος στην ράχη του ποδιού. Η λειτουργική έκταση της κίνησης για το κάθε δείγμα καθορίστηκε

ηλεκτρονικά μεταξύ 0° και 120° από την κάμψη του γονάτου, για να αποφευχθεί έτσι η υπερβολική έκταση ή κάμψη του γονάτου. Διορθώσεις σχετικά με τη βαρύτητα και την επίδραση που έχει το βάρος των άκρων στην μέτρηση της ροπής έγιναν για αποφυγή οποιασδήποτε πιθανότητας λάθους. Η ανατροφοδότηση όσον αφορά την εκκεντρή ένταση και διάρκεια της άσκησης παρεχόταν αυτόματα από το ισοκινητικό δυναμόμετρο. Το πρωτόκολλο αυτό έχει χρησιμοποιηθεί σε άλλη πρόσφατη έρευνα του εργαστηρίου μας (Paschalis, Nikolaidis, Fatouros et al., 2007).

Συλλογή και χειρισμός του αίματος

Το αίμα τοποθετήθηκε σε σωληνάρια EDTA, φυγοκεντρήθηκε αμέσως στα 1,370 g για 10 λεπτά και μαζεύτηκε το πλάσμα. Στην συνέχεια έγινε αιμόλυση των ερυθροκυττάρων με 1:1 (v/v) αποϊοντισμένο νερό στο σωλήνα, αναδεύτηκαν σθεναρά και φυγοκεντρήθηκαν στα 4,020 g για 15 λεπτά. Στην συνέχεια αποθηκεύτηκαν στους -80°C μέχρι να γίνουν οι βιοχημικές μετρήσεις.

Δείκτες μυϊκής βλάβης

Οι δείκτες μυϊκής βλάβης που χρησιμοποιήθηκαν στην έρευνα ήταν η μέγιστη ισομετρική ροπή, το εύρος κίνησης του μυός, η υποκειμενική αντίληψη του καθυστερημένου μυϊκού πόνου και η δραστικότητα της κρεατινικής κινάσης. Η εκτίμηση της μέγιστης ισομετρικής ροπής των εκτεινόντων του γονάτου μυών έγινε σε ισοκινητικό δυναμόμετρο σε 90° κάμψη του γονάτου. Η μεγαλύτερη από τις τρεις μέγιστες εκούσιες συστολές καταγραφόταν. Ο υπολογισμός του εύρους κίνησης του μυός έγινε χειροκίνητα στο ισοκινητικό δυναμόμετρο. Ο ερευνητής μετακινούσε την κνήμη με μια χαμηλή γωνιακή ταχύτητα από την έκταση του γονάτου μέχρι το σημείο που το δείγμα ένοιωθε κάποια ενόχληση. Τα άτομα εκτίμησαν τον καθυστερημένο

μυϊκό πόνο που ένοιωθαν ψηλαφώντας τη γαστέρα του μυός και την ακραία περιοχή των έσω πλατύ μηριαίου, έξω πλατύ και ορθού μηριαίου ενώ ήταν σε καθιστή θέση με τους μύες τους σε χαλάρωση. Η εκτίμηση έγινε σε μια κλίμακα που κυμαινόταν από το 1 (κανονικός) ως το 10 (πολύ έντονος πόνος). Η εκτίμηση της υποκειμενικής αντίληψης του καθυστερημένου μυϊκού πόνου έγινε και κατά τη διάρκεια της βάρδιας με τη χρήση της ίδιας κλίμακας. Η δραστηριότητα της κρεατινικής κινάσης καθορίστηκε φασματοφωτομετρικά χρησιμοποιώντας διαθέσιμα κιτ του εμπορίου (Spinreact, Sant Esteve, Spain)

Δείκτες οξειδωτικού στρες

Το ουρικό οξύ, η χολερυθρίνη και η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) μετρήθηκαν στο πλάσμα φασματοφωτομετρικά όπως περιγράφεται (Nikolaidis et al., 2007). Η ανηγμένη γλουταθειόνη (GSH) μετρήθηκε σε ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα επίσης φασματοφωτομετρικά (Nikolaidis et al., 2007).

Διαιτητική ανάλυση

Για τον έλεγχο των επιδράσεων της διατροφής του δείγματος στα αποτελέσματα των μετρήσεων της έρευνας, ζητήθηκε από το δείγμα να καταγράψει τη διαιτητική του κατανάλωση τρεις μέρες πριν από την έκκεντρη άσκηση αλλά και καθ'ολη την περίοδο της έρευνας. Σε κάθε συμμετέχοντα χορηγήθηκαν γραπτές οδηγίες για έλεγχο της διαιτητικής του κατανάλωσης και ένα φύλο καταγραφής των τροφικών τους προσλήψεων. Τα διατροφικά αυτά αρχεία αναλύθηκαν με την χρήση του διατροφικού συστήματος ανάλυσης Science Fit Diet 200A (Sciencefit, Greece).

Στατιστική ανάλυση

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέσοι όροι \pm SEM. Για την ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης 2 παραγόντων ANOVA (ομάδα \times χρόνος) με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις στο χρόνο. Η δραστικότητα της CK αναλύθηκε με το μη παραμετρικό Friedman's test. Αν είχαμε κάποια σημαντική αλληλεπίδραση ή κύρια επίδραση, συνδυασμένες συγκρίσεις γίνονταν μέσω της απλής ανάλυσης της κύριας επίδρασης. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας τέθηκε $\alpha = 0.05$. Το στατιστικό πακέτο SPSS έκδοση 15.0 χρησιμοποιήθηκε για όλες τις αναλύσεις (SPSS Inc., USA).

Αποτελέσματα

Δραστικότητα του G6PD

Τα αποτελέσματα των δειγμάτων έδειξαν πως η ομάδα με έλλειψη του ενζύμου G6PD είχε μικρότερα επίπεδα G6PD συγκριτικά με την ομάδα με την φυσιολογική δραστικότητα του ενζύμου. Η ενεργητικότητα ήταν 20 φορές μεγαλύτερη στα φυσιολογικά άτομα ($P < 0.0001$) (9.94 ± 1.1 U/g Hb) σε σχέση με τα άτομα που παρουσίαζαν έλλειψη G6PD (0.62 ± 0.16 U/g Hb).

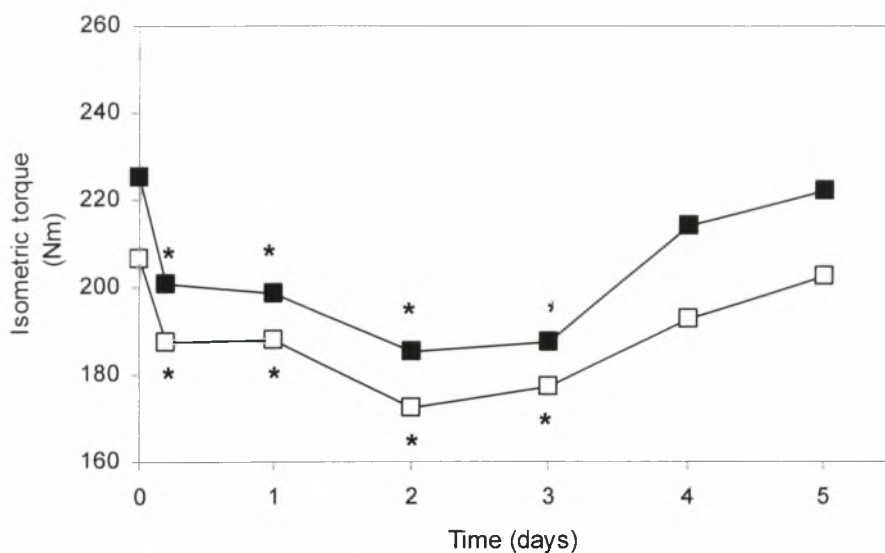
Διατροφικά στοιχεία συμμετεχόντων

Μη στατιστικά σημαντικές διαφορές παρουσιάστηκαν στην πρόσληψη της ενέργειας, των μακρομοριακών θρεπτικών συστατικών και των αντιοξειδωτικών στοιχείων μεταξύ των δύο ομάδων ($P > 0.05$).

Δείκτες μυϊκής βλάβης

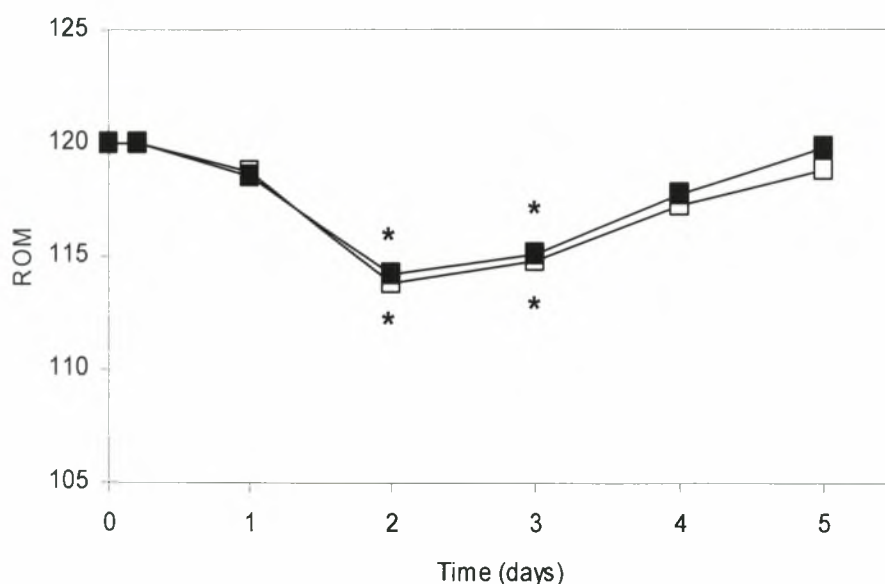
Η συνεδρία έκκεντρης άσκησης επέφερε σημαντική πτώση της μέγιστης ισομετρικής ροπής ($P < 0.05$) κυρίως λόγω της επίδρασης του χρόνου. Η πτώση αυτή ήταν σημαντική και για τις δυο ομάδες ($P < 0.05$) αμέσως μετά, την 1, 2, και 3 μέρα μετά την άσκηση σε σχέση με τις τιμές ηρεμίας της κάθε ομάδας (Γράφ 1). Το ROM μειώθηκε επίσης ($P < 0.05$) κυρίως λόγω της επίδρασης του χρόνου (Γράφ 2). Η πτώση του ROM διέφερε σημαντικά σε σχέση με τις τιμές ηρεμίας της κάθε ομάδας την 2 και 3 μέρα μετά την άσκηση ($P < 0.05$). Τα επίπεδα του DOMS αυξήθηκαν σημαντικά κατά την κίνηση ($P < 0.05$) και κατά την ψηλάφηση ($P < 0.05$) κυρίως λόγω της επίδρασης του χρόνου. Ο DOMS κατά την κίνηση αυξήθηκε σημαντικά και στις δυο ομάδες σε σχέση με την τιμή ηρεμίας αμέσως μετά, την 1, 2, και 3 μέρα μετά την άσκηση ($P < 0.05$) (Γράφ 3) ενώ ο DOMS κατά την ψηλάφηση διέφερε την 1, 2, και 3 μέρα για την κάθε ομάδα σε σχέση με τα επίπεδα ηρεμίας (Γράφ 4). Η

δραστικότητα της CK αυξήθηκε ($P < 0.05$) κυρίως λόγω της επίδρασης του χρόνου και της ομάδας και διέφερε σημαντικά σε σχέση με τις τιμές ηρεμίας, για την ομάδα με έλλειψη του G6PD την 1, 2, 3, και 4 μέρα μετά την άσκηση ($P < 0.05$) και για την ομάδα ελέγχου την 1, 2 και 3 μέρα μετά ($P < 0.05$) (Γράφ 5).



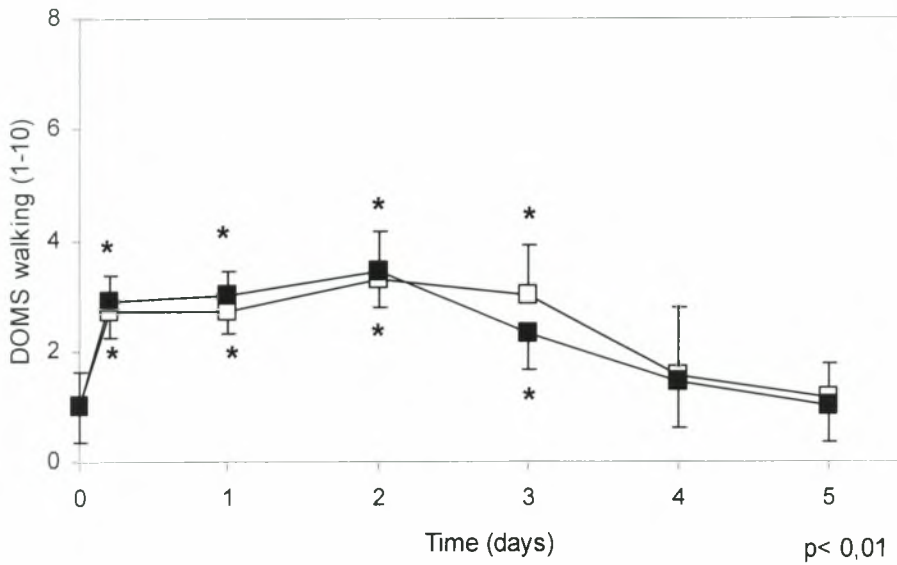
Γράφημα 1: Μεταβολές της μέγιστης ισομετρικής ροπής για την ομάδα με έλλειψη του G6PD (μύρο) και την ομάδα ελέγχου (λευκό) έπειτα από την έκκεντρη άσκηση.

* Στατιστικά σημαντική διαφορά από τις προ της άσκησης τιμές ($P < 0.05$).



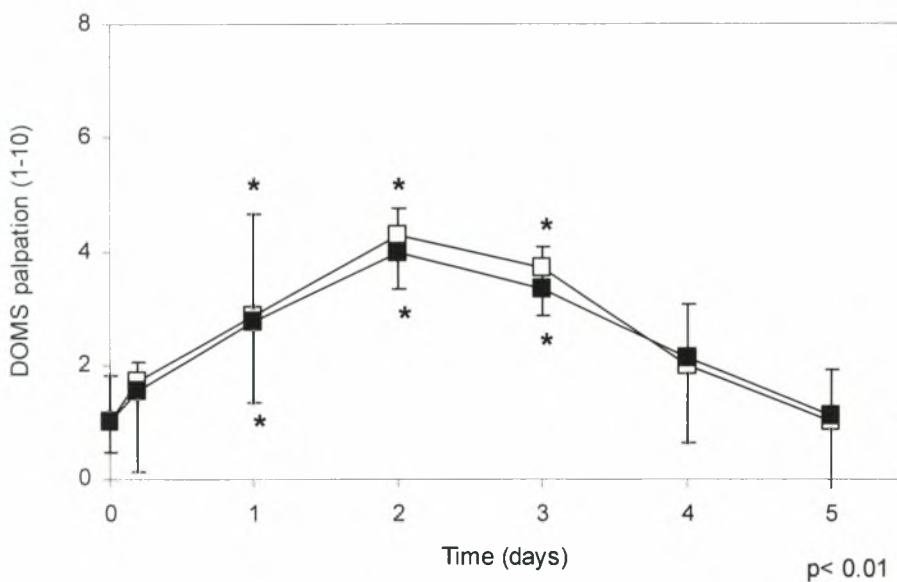
Γράφημα 2: Μεταβολές στο εύρος κίνησης ROM για την ομάδα με έλλειψη του G6PD (μύρο) και την ομάδα ελέγχου (λευκό) έπειτα από την έκκεντρη άσκηση.

* Στατιστικά σημαντική διαφορά από τις προ της άσκησης τιμές ($P < 0.05$).



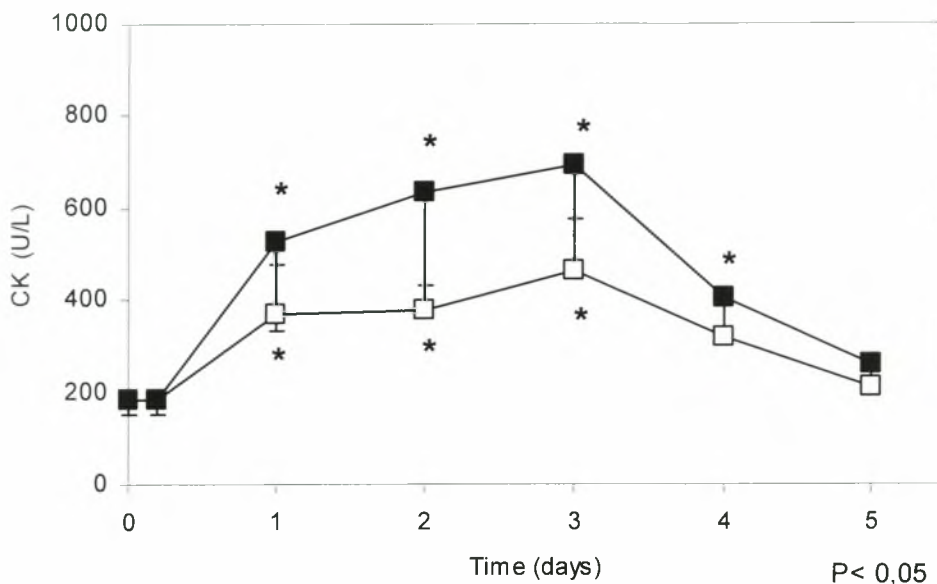
Γράφημα 3: Μεταβολές στην υποκειμενική αντίληψη του καθυστερημένου μυϊκού πόνου (DOMS) κατά την βόδιση για την ομάδα με έλλειψη του G6PD (μάυρο) και την ομάδα ελέγχου (λευκό) έπειτα από την έκκεντρη άσκηση.

* Στατιστικά σημαντική διαφορά από τις προ της άσκησης τιμές ($P < 0.05$).



Γράφημα 4: Μεταβολές στην υποκειμενική αντίληψη του καθυστερημένου μυϊκού πόνου (DOMS) κατά την βόδιση για την ομάδα με έλλειψη του G6PD (μάυρο) και την ομάδα ελέγχου (λευκό) έπειτα από την έκκεντρη άσκηση.

* Στατιστικά σημαντική διαφορά από τις προ της άσκησης τιμές ($P < 0.05$).

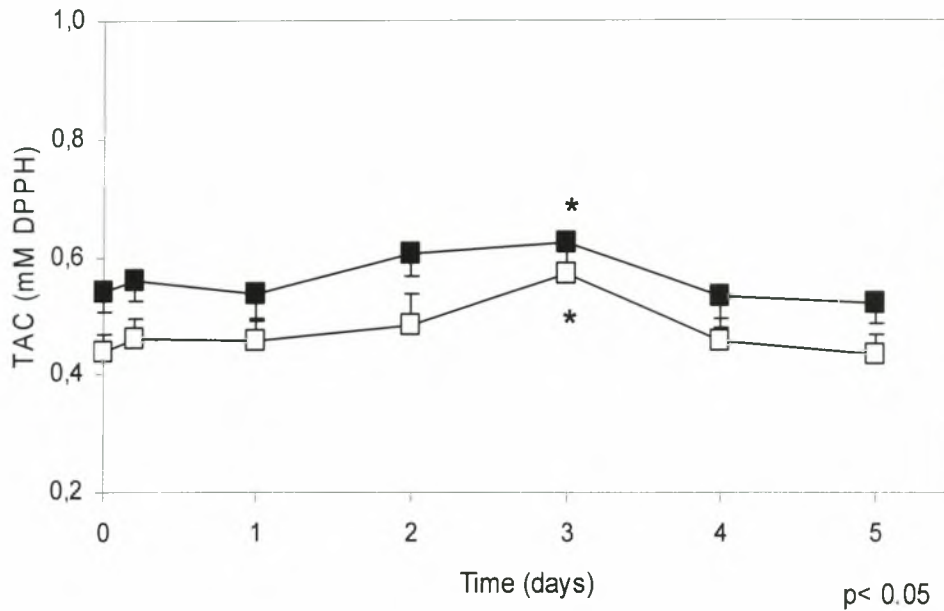


Γράφημα 5: Μεταβολές στην υποκειμενική αντίληψη του καθυστερημένου μυϊκού πόνου (DOMS) κατά την βόδιση για την ομάδα με έλλειψη του G6PD (μύαρο) και την ομάδα ελέγχου (λευκο) έπειτα από την έκκεντρη άσκηση.

* Στατιστικά σημαντική διαφορά από τις προ της άσκησης τιμές ($P < 0.05$)

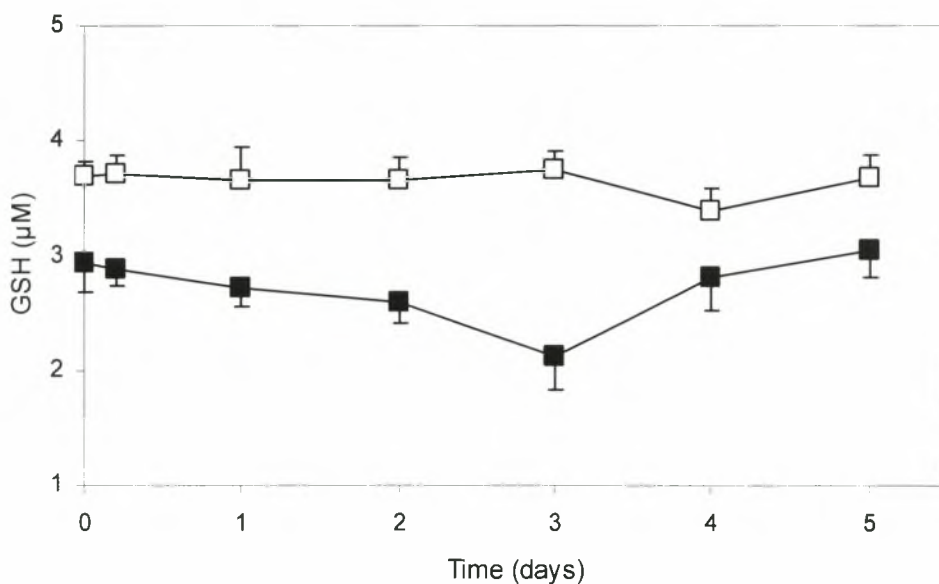
Δείκτες οξειδωτικού στρες

Η συνεδρία έκκεντρης άσκησης επέφερε μεταβολή της TAC ($P < 0.05$) κυρίως λόγω της επίδρασης του χρόνου. Η μεταβολή αυτή ήταν σημαντική και για τις δυο ομάδες ($P < 0.05$) την 3 μέρα μετά την άσκηση σε σχέση με την τιμή ηρεμίας της κάθε ομάδας (Γράφ 6). Επιπλέον, είχαμε μεταβολή της GSH ($P < 0.05$) την περίοδο αυτή κυρίως λόγω της επίδρασης της ομάδας (Γράφ 7). Καμία μεταβολή δεν παρατηρήθηκε στην συγκέντρωση της χολερυθρίνης ($P > 0.05$) (Γράφ 8). Η συγκέντρωση του ουρικού οξέος μεταβλήθηκε σημαντικά ($P < 0.05$) κυρίως λόγω της επίδρασης του χρόνου και της ομάδας και υπήρχε αλληλεπίδραση των δυο ομάδων ($P < 0.05$) (Γράφ 9). Το χρονικό σημείο στο οποίο παρατηρήθηκαν οι στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο ομάδων ήταν την 4 μέρα μετά την άσκηση (Γράφ 9).

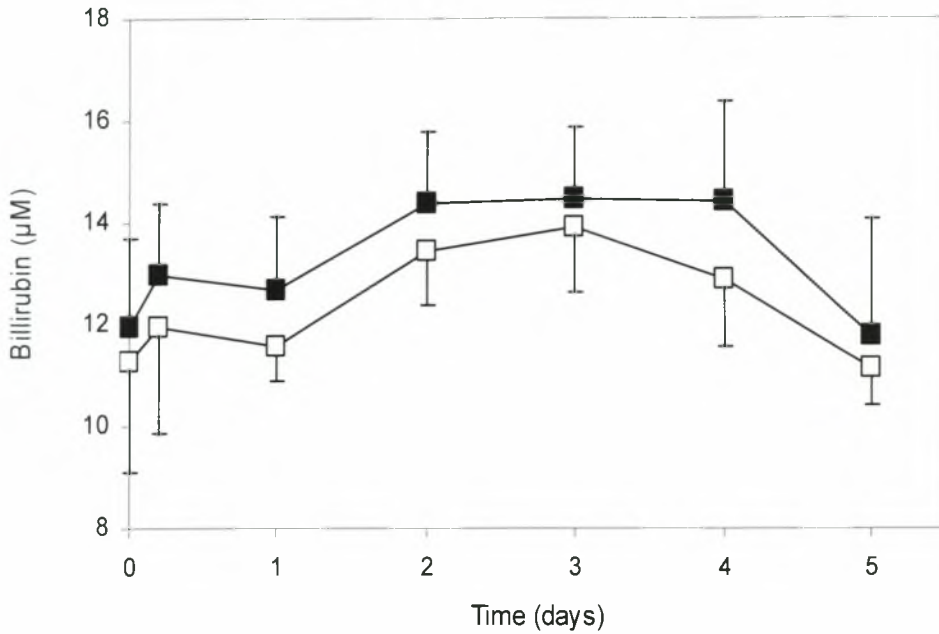


Γράφημα 6: Μεταβολές στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) για την ομάδα με έλλειψη του G6PD (μάρνο) και την ομάδα ελέγχου (λευκο) έπειτα από την έκκεντρη άσκηση.

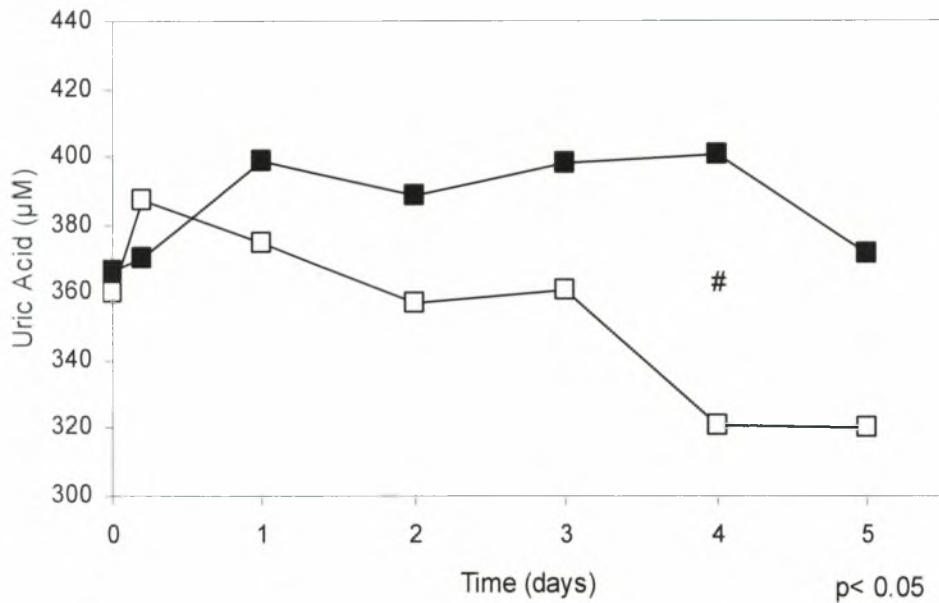
* Στατιστικά σημαντική διαφορά από τις προ της άσκησης τιμές ($P < 0.05$)



Γράφημα 7: Μεταβολές στην συγκέντρωση της ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH) για την ομάδα με έλλειψη του G6PD (μάρνο) και την ομάδα ελέγχου (λευκο) έπειτα από την έκκεντρη άσκηση.



Γράφημα 8: Μεταβολές στην συγκέντρωση της χολερυθρίνης για την ομάδα με έλλειψη του G6PD (μάντρο) και την ομάδα ελέγχου (λευκο) έπειτα από την έκκεντρη άσκηση.



Γράφημα 9: Μεταβολές στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) για την ομάδα με έλλειψη του G6PD (μάντρο) και την ομάδα ελέγχου (λευκο) έπειτα από την έκκεντρη άσκηση.

Στατιστικά σημαντική διαφορά από τις αντίστοιχη ομάδα ελέγχου συγκεκριμένη χρονική περίοδο ($P < 0.05$).

Συζήτηση

Στην εργασία αυτή έγινε προσπάθεια να εξεταστούν ένας σημαντικός αριθμός από λειτουργικούς και βιοχημικούς δείκτες που παρουσιάζονται κατά την διάρκεια της αποκατάστασης έπειτα από ασκησιογενές μυϊκή βλάβη. Σκοπός ήταν να διερευνηθούν πιθανές διαφορετικές απαντήσεις του οργανισμού ατόμων με έλλειψη του G6PD σε σχέση με άτομα με φυσιολογική δραστικότητα του ένζυμου όσον αφορά την μυϊκή βλάβη που επέρχεται έπειτα από έντονη έκκεντρη άσκηση καθώς και πιθανές διαφορές μεταξύ των ατόμων αυτών όσον αφορά το οξειδωτικό στρες που επέρχεται μετά από μυϊκή βλάβη. Εκτελέστηκαν πολλαπλές αιμοληψίες και μετρήσεις των λειτουργικών δεικτών της μυϊκής βλάβης καθόλη τη διάρκεια της αποκατάστασης από την έκκεντρη άσκηση, δεν έγινε οποιαδήποτε επιπλέον άσκηση από τους συμμετέχοντες στο πείραμα σε αυτές τις 120 ώρες έτσι ώστε να δοθεί μια πλήρη και σωστή εικόνα όλων αυτών των παραμέτρων που εξετάστηκαν ενώ παράλληλα είχαμε και έλεγχο της διατροφής τους. Η υπόθεσή μας ήταν ότι τα άτομα με έλλειψη του G6PD θα υπόκειντο σε μεγαλύτερη μυϊκή βλάβη και μεγαλύτερη εκδήλωση οξειδωτικού στρες σε σχέση με τα αντίστοιχα άτομα που είχαν φυσιολογική δραστικότητα του ένζυμου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι άτομα με έλλειψη του G6PD φαίνεται να υπόκεινται σε μεγαλύτερη μυϊκή βλάβη και εκδήλωση οξειδωτικού στρες. Το γεγονός αυτό όμως, δεν φαίνεται να επιφέρει οποιεσδήποτε αρνητικές συνέπειες στην υγεία και φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού των ατόμων αυτών. Αντιθέτως τα άτομα με έλλειψη του G6PD έχουν αντισταθμίσει την θεωρητικά μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα λόγω της μειωμένης ανηγμένης γλουταθειόνης με την αύξηση άλλων αντιοξειδωτικών μορίων όπως το ουρικό οξύ.

Στην βιβλιογραφία δεν υπάρχει καμία αναφορά που να μελετά τις επιπτώσεις μέγιστης έκκεντρης άσκησης σε άτομα με έλλειψη του ένζυμου G6PD. Οι μοναδικές παρεμβατικές και ελεγχόμενες έρευνες στην βιβλιογραφία για τις επιπτώσεις της άσκησης σε άτομα με έλλειψη του G6PD αφορούσαν τις περιπτώσεις αερόβιας άσκησης η οποία όμως δεν ήταν ικανή να προκαλέσει σημαντική μυϊκή βλάβη αλλά δεν είχαμε ούτε μέτρησης δεικτών μυϊκής βλάβης στις έρευνες αυτές για να προσδιοριστεί. Για πρώτη φορά στη βιβλιογραφία αναφέρουμε ότι άτομα με έλλειψη του G6PD υπόκεινται σε σημαντική μυϊκή βλάβη έπειτα από έκκεντρη άσκηση όπως αυτό εκφράζεται διαμέσου των λειτουργικών και βιοχημικών δεικτών που χρησιμοποιήσαμε στην έρευνα. Παράλληλα, τα άτομα με έλλειψη του G6PD είχαν μεγαλύτερη μυϊκή βλάβη σε σχέση με την αντίστοιχη ομάδα ελέγχου όπως παρατηρείται από την μεγαλύτερη αύξηση της CK το διάστημα αυτό, του μοναδικού βιοχημικού δείκτη προσδιορισμού της μυϊκής βλάβης που χρησιμοποιήθηκε στην έρευνα. Το εύρημα αυτό δεν επαληθεύτηκε από τους λειτουργικούς δείκτες προσδιορισμού της μυϊκής βλάβης που χρησιμοποιήθηκαν αφού δεν υπήρξαν διαφορές σε αυτούς τους δείκτες μεταξύ των δυο ομάδων.

Τα άτομα με έλλειψη του G6PD στην έρευνα μας είχαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις ανηγμένης γλουταθειόνης γεγονός που επαληθεύεται από τις προηγούμενες έρευνες μας (Jamurtas et al., 2006; Nikolaidis et al., 2006). Η παρατήρηση αυτή εξηγεί τον λόγο για τον οποίο τα άτομα με έλλειψη του G6PD θεωρητικά έχουν μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα και διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο για την υγεία τους σε περιπτώσεις αυξημένου οξειδωτικού στρες όπως συμβαίνει και κατά την άσκηση. Η ομάδα ατόμων όμως με την έλλειψη του G6PD είχε μεγαλύτερη συγκέντρωση ουρικού οξέος σε σχέση με την ομάδα ελέγχου η οποία ήταν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη την 4 μέρα σε σχέση με την τιμή της

αντίστοιχης ομάδας ελέγχου. Το γεγονός αυτό ίσως μας υποδηλώνει μια αντισταθμιστική ρύθμιση του οργανισμού των ατόμων με έλλειψη του G6PD εξαιτίας της μειωμένης αντιοξειδωτικής άμυνας τους που προκύπτει από τα χαμηλότερα επίπεδα ανηγμένης γλουταθειόνης σε σχέση με τα άτομα με κανονική δραστηριότητα του ενζύμου. Επιπλέον, η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα των ατόμων με έλλειψη του G6PD ήταν ελαφρώς μεγαλύτερη σε σχέση με την ομάδα ατόμων με κανονική δραστηριότητα του G6PD γεγονός που ενισχύει την παραπάνω παρατήρηση.

Συμπεράσματα – Προτάσεις για μελλοντική εργασία

Το κύριο εύρημα της παρούσας εργασίας είναι ότι τα άτομα με έλλειψη του ένζυμου G6PD δεν φαίνεται να έχουν οποιεσδήποτε σοβαρές επιπτώσεις στην υγεία τους έπειτα από έντονη άσκηση. Η παρατήρηση αυτή αναιρεί την προτροπή Ninfali et al. (1995), ότι τα άτομα με έλλειψη G6PD θα πρέπει να αποφεύγουν την άσκηση υψηλής έντασης. Η έρευνα μας όχι απλώς χρησιμοποίησε ένα πρωτόκολλο άσκησης υψηλής έντασης αλλά ένα τύπο άσκησης που επιφέρει μυϊκή βλάβη και οξειδωτικό στρες για μέρες έπειτα από το τέλος της άσκησης και δεν βρήκαμε σημαντικές επιπτώσεις στην υγεία των ατόμων αυτών πέραν από τα αυξημένα επίπεδα κρεατινικής κινάσης σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Η θεωρητικά μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα τους εξαιτίας των χαμηλών επιπέδων ανηγμένης γλουταθειόνης φαίνεται να έχει αντισταθμιστικά ρυθμιστεί από τον οργανισμό με την αύξηση άλλων αντιοξειδωτικών μηχανισμών (π.χ ουρικό οξύ).

Η έκκεντρη άσκηση επιφέρει σημαντική μυϊκή βλάβη, μείωση των λειτουργικών ικανοτήτων του μυός και οξειδωτικό στρες για μέρες μετά το τέλος της άσκησης. Το εύρημα αυτό επαληθεύει προηγούμενες έρευνες της ερευνητικής μας ομάδας που αναφέρουν τα ίδια ευρήματα.

Μελλοντικές εργασίες θα πρέπει να μετρήσουν περισσότερους δείκτες οξειδωτικού στρες και μυϊκής βλάβης για να έχουμε μια πιο σφαιρική εικόνα όσον αφορά τις επιπτώσεις της άσκησης σε άτομα με έλλειψη του G6PD. Οι μετρήσεις αυτές θα πρέπει να γίνουν τόσο στο αίμα αλλά και στο μυϊκό ιστό με βιοψίες. Με τον τρόπο αυτό θα γίνει και έλεγχος αν οι τιμές ορισμένων ουσιών στο αίμα αντικατοπτρίζουν τις τιμές των ουσιών αυτών και στο μυϊκό ιστό.

Βιβλιογραφία

- Alving, A. S., Carson, P. E., Flanagan, C. L., & Ickes, C. E. (1956). Enzymatic deficiency in primaquine-sensitive erythrocytes. *Science*, *124*(3220), 484-485.
- Banerjee, A. K., Mandal, A., Chanda, D., & Chakraborti, S. (2003). Oxidant, antioxidant and physical exercise. *Mol Cell Biochem*, *253*(1-2), 307-312.
- Bresolin, N., Bet, L., Moggio, M., Meola, G., Fortunato, F., Comi, G., et al. (1989). Muscle glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *J Neurol*, *236*(4), 193-198.
- Cabral de Oliveira, A. C., Perez, A. C., Merino, G., Prieto, J. G., & Alvarez, A. I. (2001). Protective effects of Panax ginseng on muscle injury and inflammation after eccentric exercise. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, *130*(3), 369-377.
- Close, G. L., Ashton, T., Cable, T., Doran, D., & MacLaren, D. P. (2004). Eccentric exercise, isokinetic muscle torque and delayed onset muscle soreness: the role of reactive oxygen species. *Eur J Appl Physiol*, *91*(5-6), 615-621.
- Close, G. L., Ashton, T., McArdle, A., & Maclaren, D. P. (2005). The emerging role of free radicals in delayed onset muscle soreness and contraction-induced muscle injury. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, *142*(3), 257-266.
- Close, G. L., Kayani, A., Vasilaki, A., & McArdle, A. (2005). Skeletal muscle damage with exercise and aging. *Sports Med*, *35*(5), 413-427.
- Cooper, C. E., Vollaard, N. B., Choueiri, T., & Wilson, M. T. (2002). Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem Soc Trans*, *30*(2), 280-285.
- Dudley, G. A., Tesch, P. A., Harris, R. T., Golden, C. L., & Buchanan, P. (1991). Influence of eccentric actions on the metabolic cost of resistance exercise. *Aviat Space Environ Med*, *62*(7), 678-682.

- Fatouros, I. G., Jamurtas, A. Z., Villiotou, V., Pouliopoulou, S., Fotinakis, P., Taxildaris, K., et al. (2004). Oxidative stress responses in older men during endurance training and detraining. *Med Sci Sports Exerc*, 36(12), 2065-2072.
- Halliwell, B., & Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol*, 142(2), 231-255.
- Hamer, R. (1997). When exercise goes awry: exertional rhabdomyolysis. *South Med J*, 90(5), 548-551.
- Jamurtas, A. Z., Fatouros, I. G., Alexiou, V. S., Chung, S. C., & Goldfarb, A. H. (2004). Exercise-induced oxidative damage in a person with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Journal of Human Movement Studies*, 47(5), 393-403.
- Jamurtas, A. Z., Fatouros, I. G., Buckenmeyer, P., Kokkinidis, E., Taxildaris, K., Kambas, A., et al. (2000). Effects of Plyometric Exercise on Muscle Soreness and Plasma Creatine Kinase Levels and Its Comparison with Eccentric and Concentric Exercise. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 14(1), 68-74.
- Jamurtas, A. Z., Fatouros, I. G., Koukostas, N., Manthou, E., Tofas, T., Yfanti, C., et al. (2006). Effect of exercise on oxidative stress in individuals with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *In Vivo*, 20(6 B), 875-880.
- Kendall, B., & Eston, R. (2002). Exercise-induced muscle damage and the potential protective role of estrogen. *Sports Med*, 32(2), 103-123.
- Kohen, R., & Nyska, A. (2002). Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol*, 30(6), 620-650.

- Lovlin, R., Cottle, W., Pyke, I., Kavanagh, M., & Belcastro, A. N. (1987). Are indices of free radical damage related to exercise intensity. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 56(3), 313-316.
- Mehta, A., Mason, P. J., & Vulliamy, T. J. (2000). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol*, 13(1), 21-38.
- Meydani, M., Evans, W. J., Handelman, G., Biddle, L., Fielding, R. A., Meydani, S. N., et al. (1993). Protective effect of vitamin E on exercise-induced oxidative damage in young and older adults. *Am J Physiol*, 264(5 Pt 2), R992-998.
- Michailidis, Y., Jamurtas, A. Z., Nikolaidis, M. G., Fatouros, I. G., Koutedakis, Y., Papassotiriou, I., et al. (2007). Sampling time is crucial for measurement of aerobic exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc*, 39(7), 1107-1113.
- Milne, C. J. (1988). Rhabdomyolysis, myoglobinuria and exercise. *Sports Med*, 6(2), 93-106.
- Missiou-Tsagaraki, S. (1991). Screening for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency as a preventive measure: prevalence among 1,286,000 Greek newborn infants. *J Pediatr*, 119(2), 293-299.
- Nikolaidis, M. G., Jamurtas, A. Z., Paschalis, V., Kostaropoulos, I. A., Kladi-Skandali, A., Balamitsi, V., et al. (2006). Exercise-induced oxidative stress in G6PD-deficient individuals. *Med Sci Sports Exerc*, 38(8), 1443-1450.
- Nikolaidis, M. G., Paschalis, V., Giakas, G., Fatouros, I. G., Koutedakis, Y., Kouretas, D., et al. (2007). Decreased blood oxidative stress after repeated muscle-damaging exercise. *Med Sci Sports Exerc*, 39(7), 1080-1089.

- Ninfali, P., & Bresolin, N. (1995). Muscle glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency and oxidant stress during physical exercise. *Cell Biochem Funct*, 13(4), 297-298.
- Ninfali, P., Bresolin, N., Baronciani, L., Fortunato, F., Comi, G., Magnani, M., et al. (1991). Glucose-6-phosphate dehydrogenase Lodi844C: a study on its expression in blood cells and muscle. *Enzyme*, 45(4), 180-187.
- Paschalis, V., Nikolaidis, M. G., Fatouros, I. G., Giakas, G., Koutedakis, Y., Karatzaferi, C., et al. (2007). Uniform and prolonged changes in blood oxidative stress after muscle-damaging exercise. *In Vivo*, 21(5), 877-883.
- Paschalis, V., Nikolaidis, M. G., Giakas, G., Jamurtas, A. Z., Pappas, A., & Koutedakis, Y. (2007). The effect of eccentric exercise on position sense and joint reaction angle of the lower limbs. *Muscle Nerve*, 35(4), 496-503.
- Perez, A. C., de Oliveira, C. C., Prieto, J. G., Ferrando, A., Vila, L., & Alvarez, A. I. (2002). Quantitative assessment of nitric oxide in rat skeletal muscle and plasma after exercise. *Eur J Appl Physiol*, 88(1-2), 189-191.
- Ronquist, G., & Theodorsson, E. (2007). Inherited, non-spherocytic haemolysis due to deficiency of glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 67(1), 105-111.
- Sacheck, J. M., Milbury, P. E., Cannon, J. G., Roubenoff, R., & Blumberg, J. B. (2003). Effect of vitamin E and eccentric exercise on selected biomarkers of oxidative stress in young and elderly men. *Free Radic Biol Med*, 34(12), 1575-1588.
- Saxton, J. M., Donnelly, A. E., & Roper, H. P. (1994). Indices of free-radical-mediated damage following maximum voluntary eccentric and concentric muscular work. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 68(3), 189-193.

- Tsai, K. J., Hung, I. J., Chow, C. K., Stern, A., Chao, S. S., & Chiu, D. T. (1998). Impaired production of nitric oxide, superoxide, and hydrogen peroxide in glucose 6-phosphate-dehydrogenase-deficient granulocytes. *FEBS Lett*, *436*(3), 411-414.
- Umegaki, K., Daohua, P., Sugisawa, A., Kimura, M., & Higuchi, M. (2000). Influence of one bout of vigorous exercise on ascorbic acid in plasma and oxidative damage to DNA in blood cells and muscle in untrained rats. *J Nutr Biochem*, *11*(7-8), 401-407.
- You, T., Goldfarb, A. H., Bloomer, R. J., Nguyen, L., Sha, X., & McKenzie, M. J. (2005). Oxidative stress response in normal and antioxidant supplemented rats to a downhill run: changes in blood and skeletal muscles. *Can J Appl Physiol*, *30*(6), 677-689.

Παράρτηματα

Πίνακας 1. Ανάλυση των καθημερινών ενεργειακών προσλήψεων του δείγματος (*mean ± SD*).

	G6PD	Ομάδα Ελέγχου
Ενεργεία (kcal)	2734 ± 450	2618 ± 319
Υδατάνθρακες (%)	51.3 ± 7.9	53 ± 8.2
Λίπη(%)	31.3± 9.1	30.8 ± 8.2
Πρωτεΐνες (%)	16.1 ± 3.4	15.4 ± 2.3
Βιταμίνη A (mg, RE) [#]	1.08 ± 0.27	1.08 ± 0.32
Βιταμίνη C (mg)	125 ± 43	128 ± 39
Βιταμίνη E (mg, α-TE [†])	8.4 ± 1.8	8.2 ± 2.2
Σελήνιο (μg)	47.2 ± 8.4	44.8 ± 9.1

[#]RE, retinol equivalents.

[†]α-TE, alpha-tocopherol equivalents

53.6 T 8.2 50.1 T 5.3

Φύλλο αξιολόγησης του καθυστερημένου μυϊκού πόνου.

Όνοματεπώνυμο:
Ημερομηνία:
Ερευνητική κατάσταση:
I.D.:

Σκοπός αυτού του ερωτηματολογίου είναι να εξετάσει τα επίπεδα του μυϊκού πόνου μετά την άσκηση με έκκεντρες συσπάσεις.

ΚΛΙΜΑΚΑ ΚΑΘΥΣΤΕΡΗΜΕΝΟΥ ΜΥΪΚΟΥ ΠΟΝΟΥ

PALPATION

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Φυσιολογικός		Ενοχλητικός				Επίπονος			Πολύ Επίπονος

MOVEMENT

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Φυσιολογικός		Ενοχλητικός				Επίπονος			Πολύ Επίπονος

Συναίνεση Δοκιμαζόμενου

Τίτλος Έρευνας: Η επίδραση της έκκεντρης άσκησης σε δείκτες οξειδωτικού στρες και μυϊκής βλάβης σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD.

Ερευνητής: Θεοδώρου Αναστάσιος Μεταπτυχιακός Φοιτητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Υπεύθυνος έρευνας: Δρ Τζιαμούρτας Αθανάσιος, Επίκουρος Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Παρακαλώ να τσεκάρετε τα κουτάκια και να τυπώσετε το ονοματεπώνυμό σας στην παρακάτω γραμμή στην ένδειξη «ονοματεπώνυμο Συμμετέχοντα»:

1. Βεβαιώνω ότι διάβασα και κατανόησα το ενημερωτικό φυλλάδιο για την παρούσα έρευνα και είχα την ευκαιρία να κάνω ερωτήσεις
2. Κατανοώ ότι η συμμετοχή μου είναι εθελοντική και μπορώ ανά πάσα στιγμή να αποσυρθώ από τις μετρήσεις
3. Δέχομαι να συμμετάσχω στην παρούσα έρευνα και να ακολουθώ τις οδηγίες που αφορούν στη διεξαγωγή της.

Ονοματεπώνυμο Συμμετέχοντα

Ημερ/νια

Υπογραφή

Ονοματεπώνυμο Μάρτυρα

Ημερ/νια

Υπογραφή

Ονοματεπώνυμο Ερευνητή

Ημερ/νια

Υπογραφή

ΕΝΗΜΕΡΩΤΙΚΟ ΦΥΛΛΑΔΙΟ ΔΟΚΙΜΑΖΟΜΕΝΟΥ

Τίτλος Έρευνας: Η επίδραση της έκκεντρης άσκησης σε δείκτες οξειδωτικού στρες και μυϊκής βλάβης σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD.

Σκοπός της Έρευνας

Η έλλειψη του ενζύμου αφυδρογονάση της 6-Φωσφορικής Γλυκόζης (G6PD) αποτελεί μια ενζυμική κληρονομική ανωμαλία η οποία μπορεί να προκαλέσει σοβαρή αιμολυτική διαταραχή. Η έλλειψη του ενζύμου G6PD αποτελεί την πιο συνηθισμένη εζυμοπάθεια και περίπου το 7% του παγκόσμιου πλυθυσμού πάσχει απ' αυτή την ανωμαλία. Τα άτομα αυτά ίσως υπόκεινται σε υψηλό κίνδυνο για εκδήλωση οξειδωτικού στρες εξαιτίας των μειωμένων επιπέδων ανηγμένης γλουταθειόνης η οποία αποτελεί ένα πολύ σημαντικό ενδογενή αντιοξειδωτικό ένζυμο.

Μεθοδολογία

Στην παρούσα έρευνα θα λάβουν μέρος 20-30 άντρες οι οποίες θα χωριστούν σε δύο ομάδες. Η μια ομάδα θα αποτελείται από άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD και η άλλη ομάδα από άτομα με φυσιολογικές τιμές του ενζύμου. Όλοι οι συμμετέχοντες θα χρειαστεί να επισκεφτούν το εργαστήριο 7 φορές με αθλητική ενδυμασία. Η κάθε επίσκεψη θα διαρκέσει 15 λεπτά και θα περιλαμβάνει μια άπλη μέτρηση σε ισοκινητικό δυναμόμετρο και μια αιμοληψία. Στην πρώτη μόνο επίσκεψη σας στο εργαστήριο θα χρειαστεί να εκτελέσετε μια σειρά από ασκήσεις στο δυναμόμετρο οι οποίες θα επιφέρουν μυϊκή βλάβη και περιορισμένο μυϊκό πόνο για μερικές μέρες. Επίσης κατά την διάρκεια των μετρήσεων καθώς και 3 μέρες πριν την πρώτη σας επίσκεψη θα σας ζητηθεί να καταγράψετε την διαιτητική σας κατανάλωση σε ένα φύλο καταγραφής που θα σας χορηγηθεί.

Στατιστική Ανάλυση

Η επεξεργασία των πληροφοριών που θα μας δώσετε θα γίνει από την ομάδα ερευνητών η οποία διεξάγει τα τεστ και η ανάλυση των δεδομένων θα γίνει με τη βοήθεια στατιστικών προγραμμάτων σε ηλεκτρονικό υπολογιστή όπου η ανωνυμία σας θα διατηρηθεί αυστηρά. Όταν η έρευνα ολοκληρωθεί μια συνολική αναφορά στα ευρήματα της έρευνας θα είναι διαθέσιμη σε εσάς. Επιπλέον, ο κύριος ερευνητής έχει σκοπό να δημοσιεύσει τα ευρήματα από αυτή την έρευνα σε επιστημονικό περιοδικό, όπου πιθανά δεν θα δίνονται συγκεκριμένες πληροφορίες σχετικά με τους συμμετέχοντες στην έρευνα.

Πρέπει να πάρω μέρος;

Η συμμετοχή σας στην έρευνα είναι απόλυτα εθελοντική. Ακόμη και αν αποφασίσετε να πάρετε μέρος στην έρευνα, μπορείτε ανά πάσα στιγμή να αποσυρθείτε από αυτή. Εάν, όμως, επιλέξετε να συμμετέχετε δεσμεύεστε να ακολουθήσετε τις διαδικασίες τις έρευνας. Παράλληλα θα πάρετε μια συνολική αναφορά στα ευρήματα της έρευνας, όταν αυτή ολοκληρωθεί.

Επικοινωνία

Εάν έχετε οποιαδήποτε ερώτηση σχετικά με την έρευνα παρακαλώ να επικοινωνήσετε με τον **Δρ Τζιαμούρτα Αθανάσιο**, Επίκουρο Καθηγητή Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στο τηλέφωνο: 24310 47054 ή στην ηλεκτρονική διεύθυνση ajamurt@pe.uth.gr

ΗΜΕΡΟΛΟΓΙΟ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΟΥ 24ΩΡΟΥ:

- Ονοματεπώνυμο :
- Ημερομηνία :

ΓΕΥΜΑΤΑ	ΕΙΔΟΣ ΤΡΟΦΗΣ	<u>ΠΟΣΟΤΗΤΑ (gr)</u>
ΠΡΩΪΝΟ		
ΔΕΚΑΤΙΑΝΟ		
ΜΕΣΗΜΕΡΙΑΝΟ		
ΑΠΟΓΕΥΜΑΤΙΝΟ		
ΒΡΑΔΙΝΟ		
ΠΡΟ ΤΟΥ ΥΠΝΟΥ		

