

# ΑΣΚΗΣΙΟΓΕΝΗΣ ΜΥΙΚΟΣ ΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

του  
Ιωάννη Μιχαηλίδη

Διδακτορική διατριβή που υποβάλλεται στο καθηγητικό σώμα για τη μερική εκπλήρωση των υποχρεώσεων απόκτησης του διδακτορικού τίτλου του Διατμηματικού Μεταπτυχιακού Προγράμματος «Άσκηση και Ποιότητα Ζωής» των Τμημάτων Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού του Δημοκρίτειου Παν/μίου Θράκης και του Παν/μίου Θεσσαλίας.

Κομοτηνή

2012

Εγκεκριμένο από το Καθηγητικό σώμα:

---

1<sup>ος</sup> Επιβλέπων: Ιωάννης Φατούρος, Επικ. Καθηγητής

---

2<sup>ος</sup> Επιβλέπων: Αθανάσιος Τζιαμούρτας, Αναπ. Καθηγητής

---

3<sup>ος</sup> Επιβλέπων: Αθανάσιος Χατζηνικολάου, Λέκτορας

13339/1

## ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Φατούρος Ιωάννης, *Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Φυσικής Αγωγής & Αθλητισμού, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης*

Τζιαμούρτας Αθανάσιος, *Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Φυσικής Αγωγής & Αθλητισμού, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*

Χατζηνικολάου Αθανάσιος, *Λέκτορας, Τμήμα Επιστήμης Φυσικής Αγωγής & Αθλητισμού, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης*

Νικολαΐδης Μιχάλης, *Λέκτορας, Τμήμα Επιστήμης Φυσικής Αγωγής & Αθλητισμού Σερρών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης*

Τοκμακίδης Σάββας, *Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Φυσικής Αγωγής & Αθλητισμού, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης*

Τερζής Γεράσιμος, *Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Φυσικής Αγωγής & Αθλητισμού, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών*

Γούργουλης Βασίλειος, *Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης Φυσικής Αγωγής & Αθλητισμού, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης*

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ιωάννης Μιχαηλίδης: Ασκησιογενής μυϊκός τραυματισμός και οξειδωτικό στρες.

(Με την επίβλεψη του κ. Ιωάννη Φατούρου, Επίκ. Καθηγητή)

**Σκοπός:** Σκοπός της μελέτης ήταν η μεταβολή της οξειδοαναγωγικής κατάστασης στο μυϊκό ιστό μέσω της χορήγησης NAC, μετά από ασκησιογενή μυϊκό τραυματισμό και η εξέταση των επιπτώσεων αυτής της μεταβολής στη λειτουργική κατάσταση του μυ, στην εκδήλωση της φλεγμονής και στην πρωτεϊνική έκφραση των βασικότερων πρωτεϊνών που χαρακτηρίζουν τον κύκλο της ασκησιογενούς φλεγμονής του μυϊκού κυττάρου. **Μέθοδος:** Δέκα απροπόνητοι άντρες εκτέλεσαν δυο πειραματικές συνθήκες όπου στη μια λάμβαναν NAC και στην άλλη Placebo. Η κάθε συνθήκη έγινε σε διαφορετικό πόδι και πραγματοποιήθηκαν 300 έκκεντρες μυϊκές συστολές σε ισοκινητικό δυναμόμετρο. Δείγματα αίματος λήφθηκαν πριν και αμέσως μετά την άσκηση καθώς και στις 2h, 1d, 2d, 3d, 4d, 5d, 6d, 7d και 8d μετά την άσκηση. Στα ίδια χρονικά σημεία έγινε εκτίμηση της απόδοσης και του μυϊκού τραυματισμού. Μυϊκές βιοψίες λήφθηκαν πριν την άσκηση, στις 2h, στις 2d και στις 8d μετά την άσκηση. Δείκτες που μετρήθηκαν: Για την οξειδοαναγωγική κατάσταση στον μυ η GSH, η GSSG και ο λόγος τους GSH/GSSG. Για το οξειδωτικό στρες στο μυ τα TBARS και τα PC. Για τη μυϊκή απόδοση στις 60°/sec η μέγιστη ροπή, η σχετική μέγιστη ροπή, η μέση ροπή και η σχετική μέση ροπή. Για τον μυϊκό τραυματισμό τα DOMS, το KJRM και η CK. Για τη φλεγμονή τα WBC, η CRP, η IL-1β, η IL-6, η IL-10, ο ICAM-1, ο VCAM-1, η Σελεκτίνη P, η Σελεκτίνη E και η διείσδυση των μακροφάγων στο μυϊκό ιστό. Για τα μεταγωγικά μονοπάτια η φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών p-PKB, p-mTOR, p-p70S6k, MyoD, p38, p-NF-kB, p-tpS6, TNF-a. **Αποτελέσματα:** Η NAC μετέβαλε την οξειδοαναγωγική κατάσταση στο μυ και τον προστάτεψε από το οξειδωτικό στρες. Στη συνθήκη NAC εμφανίστηκε μικρότερη πτώση της απόδοσης αλλά και καθυστερημένη επαναφορά της. Στους δείκτες μυϊκού τραυματισμού μόνο η CK περιορίστηκε μετά τη λήψη της NAC. Οι περισσότεροι δείκτες φλεγμονής φάνηκε να περιορίζονται με τη λήψη του αντιοξειδωτικού. Τέλος η NAC φάνηκε να επιδρά αρνητικά στα μεταγωγικά μονοπάτια που σχετίζονται με την επούλωση του μυ. **Συμπέρασμα:** Η NAC μπορεί να περιορίσει την



εμφάνιση της φλεγμονής ωστόσο θα καθυστερήσει την επαναφορά της απόδοσης και ενδεχομένως την επούλωση του μυϊκού ιστού.

**Λέξεις-Κλειδιά:** Αντιοξειδωτικά, μυϊκός τραυματισμός, φλεγμονή, μεταγωγικά μονοπάτια

## ABSTRACT

Yiannis Michailidis: Exercise muscle damage and oxidative stress.  
(Under the supervision of Ioannis Fatouros, Assistant professor)

**Purpose:** The purpose of the study was to change redox status of skeletal muscle by oral administration of NAC after muscle damaging exercise and to investigate the changes to muscle performance, to inflammation and to transport pathways.

**Methods:** Ten untrained men performed two trials (administration NAC or Placebo). They performed 300 eccentric muscle contraction using isokinetic dynamometer with one leg for each trial. Blood samples were drawn before and following exercise (immediately post-exercise as well as 2h, 1d, 2d, 3d, 4d, 5d, 6d, 7d and 8d). At the same time points muscle damage and muscle performance were estimated. Muscle biopsies were drawn before and after exercise (2h, 2d and 8d). For muscle redox status GSH, GSSG and GSH/GSSG were measured. For muscle oxidative stress TBARS and PC were determined. For muscle performance maximum force, relative maximum force, mean force and relative mean force at 60°/sec were measured. For muscle damage DOMS, KJRM and CK were determined. For inflammation WBC, CRP, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL10, ICAM-1, VCAM-1, Selectin P, Selectin E and macrophage infiltration were measured. For transport pathways p-PKB, p-mTOR, p-p70S6k, MyoD, p38, p-NF-kB, p-rpS6, TNF-a were measured. **Results:** NAC changed muscle redox status protecting oxidative stress. Also NAC delayed the return of muscle performance after eccentric exercise. A positive effect of NAC was the reduction of the concentration of CK and of the most indices of inflammation. NAC had negative effects at transport pathways. **Conclusion:** NAC can reduce inflammation but also delay muscle performance recall and attenuates some skeletal muscle cell signaling pathways involved in adaptation to exercise.

**Key -words:** Antioxidants, muscle-damage, inflammation, transport pathways

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	iii
ABSTRACT .....	v
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	vi
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ .....	x
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ .....	xvii
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ.....	xxi
I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	1
Ο μυϊκός τραυματισμός οδηγεί στη δημιουργία της ασκησιογενούς φλεγμονής.....	2
Οξειδωτικό στρες και ασκησιογενής φλεγμονή.....	2
Σημασία της μελέτης.....	6
Σκοπός της μελέτης .....	6
Ερευνητικές υποθέσεις .....	6
Μηδενικές υποθέσεις.....	7
Περιορισμοί της έρευνας .....	8
Λειτουργικοί ορισμοί .....	9
II. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ .....	12
Ασκησιογενής μυϊκός τραυματισμός.....	12
Πειραματικός προσδιορισμός του μυϊκού τραυματισμού .....	16
Μοντέλα πειραματικής πρόκλησης μυϊκού τραυματισμού.....	20
Καθυστερημένος μυϊκός πόνος.....	24
Μηχανισμός του καθυστερημένου μυϊκού πόνου.....	25
Εκτίμηση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου.....	29
Επαναλαμβανόμενες συνεδρίες έκκεντρης άσκησης.....	30
Τεχνικές ανάληψης.....	32
Φάσεις ανασύνθεσης του μυ μετά τον τραυματισμό του.....	33
Φλεγμονή.....	34
Διαστολή αγγείων: 1 <sup>η</sup> Αντίδραση του οργανισμού στην ασκησιογενή φλεγμονή.....	35
Κυτοκίνες.....	36

Μόρια συγκόλλησης.....	39
Πρωτεΐνες άμεσης δράσης.....	43
Δευτερογενής βλάβη.....	45
Τερματισμός φλεγμονής.....	46
Συνοπτικά τα βήματα εμφάνισης της φλεγμονής.....	50
Δείκτες που χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της φλεγμονής.....	51
Επούλωση του μυ – Ο ρόλος των λευκοκυττάρων.....	51
Πολλαπλασιασμός, διαφοροποίηση και αυτοαντικατάσταση δορυφόρων κυττάρων..	56
Άλλοι ρυθμιστικοί παράγοντες τη επούλωσης.....	57
Ακολουθία επούλωσης.....	59
Βασικά μεταγωγικά μονοπάτια.....	62
Το οξυγόνο στη γη.....	63
Ελεύθερες ρίζες.....	64
Αντιοξειδωτικός μηχανισμός.....	65
Οξειδοαναγωγική κατάσταση.....	69
Οξειδωτικό στρες.....	72
Θετικές βιολογικές επιδράσεις των ελεύθερων ριζών.....	72
Αρνητικές βιολογικές επιδράσεις των ελεύθερων ριζών.....	73
Οξείδωση λιπιδίων.....	73
Οξείδωση πρωτεϊνών.....	74
Οξείδωση των νουκλεϊκών οξέων (DNA).....	75
Ελεύθερες ρίζες και μυϊκή κόπωση.....	75
Ανίχνευση και μέτρηση του οξειδωτικού στρες.....	77
Μηχανισμοί παραγωγής ελεύθερων ριζών.....	80
Ο ρόλος των ελεύθερων ριζών στον ασκησιογενή μυϊκό τραυματισμό.....	83
Οξειδοαναγωγική κατάσταση και μεταγωγικά μονοπάτια.....	84
Το NO και τα ROS ως ρυθμιστές της μυϊκής σύσπασης.....	88
Κινάσες.....	97
Αντιοξειδωτικά και μυϊκός τραυματισμός/φλεγμονή.....	100
Συμπερασματικά για τη χρήση αντιοξειδωτικών.....	113
Ανακεφαλαίωση.....	116

III.	ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ .....	117
	Δείγμα .....	117
	Κριτήρια συμμετοχής δοκιμαζομένων.....	117
	Ερευνητικός σχεδιασμός.....	118
	Πρωτόκολλο έκκεντρης άσκησης.....	119
	Χορήγηση N-ακετυλοκυστεΐνης και Placebo.....	120
	Διαιτολόγιο και διατροφική αξιολόγηση.....	121
	Σωματομετρικές μετρήσεις.....	122
	Μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου.....	123
	Αξιολόγηση μη βιοχημικών δεικτών μυϊκού τραυματισμού.....	124
	Βιοψίες και διαχείρισή τους.....	125
	Αιμοληψία και διαχείριση των δειγμάτων.....	132
	Μέτρηση οξειδοαναγωγικής κατάστασης του μυ και δεικτών οξειδωτικού στρες .....	134
	Στατιστική ανάλυση .....	139
IV.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....	140
	Ανθρωπομετρικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά.....	140
	Ανάλυση διατροφής.....	141
	Χαρακτηριστικά πρωτοκόλλου άσκησης.....	142
	Χαρακτηριστικά δειγμάτων μυϊκών βιοψιών.....	147
	Μεταβολή του όγκου πλάσματος.....	154
	Οξειδοαναγωγική κατάσταση στο μυ.....	154
	Δείκτες οξειδωτικού στρες στο μυ.....	159
	Δείκτες απόδοσης.....	162
	Δείκτες μυϊκού τραυματισμού.....	170
	Δείκτης μυϊκού τραυματισμού στο αίμα.....	174
	Δείκτες φλεγμονής.....	175
	Μεταγωγικά μονοπάτια.....	195
V.	ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....	211
	Συνθήκες πραγματοποίησης της μελέτης.....	211
	Οξειδοαναγωγική κατάσταση του μυ.....	213

Απόδοση.....	216
Μυϊκός τραυματισμός.....	218
Φλεγμονή.....	219
Μεταγωγικά μονοπάτια.....	223
Συνοπτικά η επίδραση της NAC κατά τη φάση ανάπτυξης της φλεγμονής και κατά τη φάση επούλωσης του μυϊκού ιστού.....	225
VI. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ.....	229
VII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	231

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

<b>Πίνακας 1.</b> Ταξινόμηση ελεύθερων ριζών.....	65
<b>Πίνακας 2.</b> Αντιοξειδωτικός μηχανισμός.....	66
<b>Πίνακας 3.</b> Κλινικά σύνδρομα και νοσήματα στα οποία οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου διαδραματίζουν πιθανό παθογενετικό ρόλο.....	73
<b>Πίνακας 4.</b> Ανθρωπομετρικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση).....	141
<b>Πίνακας 5.</b> Ανάλυση της καθημερινής διατροφικής πρόσληψης (μέσος όρος ± SEM) των συμμετεχόντων κατά τη διάρκεια των οκτώ ημερών μετά την εκτέλεση της άσκησης στις δύο συνθήκες (Placebo και NAC).....	141
<b>Πίνακας 6.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη μέση ροπή που αναπτύχθηκε από τους εθελοντές κατά τη διάρκεια της άσκησης.....	142
<b>Πίνακας 7.</b> Μέση ροπή σε κάθε σετ της άσκησης για κάθε συνθήκη (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση) a: στατιστικά σημαντικές Διαφορές με τη μέτρηση Pre, (p<.05).....	142
<b>Πίνακας 8.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη σχετική ροπή που αναπτύχθηκε από τους εθελοντές κατά τη διάρκεια της άσκησης.....	144
<b>Πίνακας 9.</b> Σχετική ροπή σε κάθε σετ της άσκησης για κάθε συνθήκη (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση) a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, (p<.05).....	144
<b>Πίνακας 10.</b> Μεταβολή της ροπής μεταξύ 1 <sup>ου</sup> και 20 <sup>ου</sup> σετ άσκησης στην κάθε συνθήκη (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση).....	145
<b>Πίνακας 11.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για το γαλακτικό οξύ...	146
<b>Πίνακας 12.</b> Γαλακτικό οξύ (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση) a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).....	146
<b>Πίνακας 13.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τα ποσοστά των τριών τύπων μυϊκών ινών.....	148



<b>Πίνακας 14.</b> Ποσοστά των μυϊκών ινών τύπου I, IIa και IIx (%).....	148
<b>Πίνακας 15.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για την εγκάρσια επιφάνεια των τριών τύπων μυϊκών ινών.....	149
<b>Πίνακας 16.</b> Εγκάρσια επιφάνεια μυϊκών ινών τύπου I, IIa και IIx.....	149
<b>Πίνακας 17.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη μέση εγκάρσια επιφάνεια των μυϊκών ινών του μυ.....	150
<b>Πίνακας 18.</b> Μέση εγκάρσια επιφάνεια του μυ.....	150
<b>Πίνακας 19.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για το ποσοστό συμμετοχής της εγκάρσιας επιφάνειας κάθε τύπου μυϊκών ινών στη συνολική εγκάρσια επιφάνεια του μυ.....	151
<b>Πίνακας 20.</b> Ποσοστό συμμετοχής της εγκάρσιας επιφάνειας κάθε τύπου μυϊκών ινών στη συνολική εγκάρσια επιφάνεια του μυ (%)..	152
<b>Πίνακας 21.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τον αριθμό των μυϊκών ινών και τον αριθμό τριχοειδών αγγείων.....	153
<b>Πίνακας 22.</b> Αριθμός μυϊκών ινών και αριθμός τριχοειδών αγγείων.....	153
<b>Πίνακας 23.</b> Η μεταβολή του όγκου πλάσματος αμέσως μετά την άσκηση (σε σχέση με τις τιμές ηρεμίας) στις δύο συνθήκες (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση).....	154
<b>Πίνακας 24.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τα GSH στο μυ.....	155
<b>Πίνακας 25.</b> GSH στο μυ (umol/mg πρωτεΐνης). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).....	155
<b>Πίνακας 26.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για την GSSG στο μυ..	157
<b>Πίνακας 27.</b> GSSG στο μυ (nmol/mg πρωτεΐνης). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).....	157
<b>Πίνακας 28.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για	



εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τα GSH/GSSG στο μυ.....	158
<b>Πίνακας 29.</b> Αναλογία GSH/GSSG στο μυ. a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p<.05$ ).....	158
<b>Πίνακας 30.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τα TBARS στο μυ..	160
<b>Πίνακας 31.</b> TBARS στο μυ (nmol/mg πρωτεΐνης). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p<.05$ ).....	160
<b>Πίνακας 32.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τα PC στο μυ.....	161
<b>Πίνακας 33.</b> PC στο μυ (nmol/mg πρωτεΐνης). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p<.05$ ).....	161
<b>Πίνακας 34.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη μέγιστη ροπή έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec (Nm).....	163
<b>Πίνακας 35.</b> Μέγιστη ροπή έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec (Nm). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p<.05$ ).....	163
<b>Πίνακας 36.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη σχετική μέγιστη ροπή έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec...	165
<b>Πίνακας 37.</b> Σχετική μέγιστη ροπή έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec (Nm/Kg). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p<.05$ ).....	165
<b>Πίνακας 38.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη μέση ροπή έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec.....	167
<b>Πίνακας 39.</b> Μέση ροπή έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε	

ταχύτητα 60°/sec (Nm). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).....	167
<b>Πίνακας 40.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη σχετική μέση ροπή έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec.....	169
<b>Πίνακας 41.</b> Σχετική μέση ροπή έκκεντρης μυϊκής σύσπασης ταχύτητα 60°/sec (Nm/Kg). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).....	169
<b>Πίνακας 42.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τον καθυστερημένο μυϊκό πόνο.....	171
<b>Πίνακας 43.</b> Καθυστερημένος μυϊκός πόνος (DOMS). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, (p<.05).....	171
<b>Πίνακας 44.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για το εύρος κίνησης στην άρθρωση του γόνατος.....	172
<b>Πίνακας 45.</b> Εύρος κίνησης στην άρθρωση του γόνατος (KJRM). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, (p<.05).....	173
<b>Πίνακας 46.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για την κρεατινική κινάση (CK).....	174
<b>Πίνακας 47.</b> Κρεατινική κινάση (CK). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).....	174
<b>Πίνακας 48.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τα λευκά αιμοσφαίρια (WBC).....	176
<b>Πίνακας 49.</b> Λευκά αιμοσφαίρια (WBC). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).....	176
<b>Πίνακας 50.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για	

τη C αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP).....	178
<b>Πίνακας 51.</b> C αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) (mg/L). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).....	178
<b>Πίνακας 52.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για την Ιντερλευκίνη-1β (IL-1β).....	180
<b>Πίνακας 53.</b> Ιντερλευκίνη-1β (IL-1β) (pg/mL). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).....	180
<b>Πίνακας 54.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για την Ιντερλευκίνη-6 (IL-6).....	182
<b>Πίνακας 55.</b> Ιντερλευκίνη-6 (IL-6) (pg/mL). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).....	182
<b>Πίνακας 56.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για την Ιντερλευκίνη-10 (IL-10).....	184
<b>Πίνακας 57.</b> Ιντερλευκίνη-10 (IL-10) (pg/mL). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).....	184
<b>Πίνακας 58.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για το ICAM-1.....	186
<b>Πίνακας 59.</b> ICAM-1 (ng/mL). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).....	186
<b>Πίνακας 60.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για το VCAM-1.....	188
<b>Πίνακας 61.</b> VCAM-1 (ng/mL). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, (p<.05).....	188
<b>Πίνακας 62.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για	

εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη Σελεκτίνη P.....	190
<b>Πίνακας 63.</b> Σελεκτίνη P (ng/mL). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, ( $p < .05$ ).....	190
<b>Πίνακας 64.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη Σελεκτίνη E.....	192
<b>Πίνακας 65.</b> Σελεκτίνη E (ng/mL). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, ( $p < .05$ ).....	192
<b>Πίνακας 66.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη διείσδυση των μακροφάγων στο μυϊκό ιστό.....	194
<b>Πίνακας 67.</b> Διείσδυση των μακροφάγων στο μυϊκό ιστό (μακροφάγα/αριθμό μυϊκών ινών). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, ( $p < .05$ ).....	194
<b>Πίνακας 68.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη φωσφορυλίωση της p-PKB (pAkt).....	195
<b>Πίνακας 69.</b> Φωσφορυλίωση της p-PKB (pAkt) (PKB/aTubulin relative to 1) a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p < .05$ ).....	195
<b>Πίνακας 70.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη φωσφορυλίωση της p-mTOR .....	197
<b>Πίνακας 71.</b> Φωσφορυλίωση της p-mTOR (mTOR/aTubulin relative to 1). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p < .05$ ).....	197
<b>Πίνακας 72.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη φωσφορυλίωση της p-p70S6K.....	199
<b>Πίνακας 73.</b> Φωσφορυλίωση της p-p70S6K (p70S6K/aTubulin relative to 1). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, ( $p < .05$ ).....	199
<b>Πίνακας 74.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες	

για τη φωσφορυλίωση της MyoD.....	201
<b>Πίνακας 75.</b> Φωσφορυλίωση της MyoD (MyoD Normalized to GADPH). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).....	201
<b>Πίνακας 76.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη φωσφορυλίωση της p38.....	203
<b>Πίνακας 77.</b> Φωσφορυλίωση της p38 (p38/aTubulin relative to 1). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).....	203
<b>Πίνακας 78.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης p-NF-kB.....	205
<b>Πίνακας 79.</b> Φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης p-NF-kB (NFkB/aTubulin relative to 1). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).....	205
<b>Πίνακας 80.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη φωσφορυλίωση της p-γpS6.....	207
<b>Πίνακας 81.</b> Φωσφορυλίωση της p-γpS6 (γpS6/aTubulin relative to 1). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).....	207
<b>Πίνακας 82.</b> Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη φωσφορυλίωση του TNF-a.....	209
<b>Πίνακας 83.</b> Φωσφορυλίωση του TNF-a (TNFa/aTubulin relative to 1). b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).....	209



## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

<b>Σχήμα 1.</b> Επούλωση μυϊκού ιστού (Από Smith et al.,2008).....	33
<b>Σχήμα 2.</b> Μεταβολή του αριθμού και του είδους των λευκοκυττάρων στο σημείο τραυματισμού (Από Smith et al., 2008).....	49
<b>Σχήμα 3.</b> Αύξηση του οξυγόνου στη γήινη ατμόσφαιρα. Προσαρμογή στα ελληνικά από το Κέντρο Περιβαλλοντικής Εκπαίδευσης Καστοριάς....	64
<b>Σχήμα 4.</b> Ο οξειδοαναγωγικός κύκλος της GSH στο κύτταρο (Από Aw, 2003).....	71
<b>Σχήμα 5.</b> Οι πιθανές επιδράσεις των δραστικών ειδών οξυγόνου και αζώτου στη μυϊκή κόπωση (Από Finaud et al., 2006).....	76
<b>Σχήμα 6.</b> Επίδραση της μυϊκής σύσπασης στο μονοπάτι της MAP κινάσης στο σκελετικό μυ (Από Sakamoto et al., 2002).....	86
<b>Σχήμα 7.</b> Κυτταρικά μονοπάτια στο σκελετικό μυ στα οποία μπορεί να επιδράσει η άσκηση (Από Sakamoto et al., 2002).....	88
<b>Σχήμα 8.</b> Η οξειδάση της NADPH ρυθμίζει ενδοκυτταρικά μονοπάτια.....	91
<b>Σχήμα 9.</b> Μοριακοί τύποι N-ακετυλοκυστεΐνης και κυστεΐνης.....	108
<b>Σχήμα 10.</b> Σχηματική περιγραφή οξειδοαναγωγικών μονοπατιών του NFκΒ και της MAPK (Από Ji,2007).....	114
<b>Σχήμα 11.</b> Ερευνητικός σχεδιασμός.....	119
<b>Σχήμα 12.</b> Πρωτόκολλο άσκησης.....	120
<b>Σχήμα 13.</b> Λήψη NAC ή Placebo.....	121
<b>Σχήμα 14.</b> Κλίμακα για την εκτίμηση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου .....	124
<b>Σχήμα 15.</b> Σχεδιασμός πιλοτικής έρευνας για την αξιολόγηση της αξιοπιστίας των μετρήσεων του δυναμόμετρου.....	125
<b>Σχήμα 16.</b> Σημεία λήψης μυϊκών βιοψιών.....	126
<b>Σχήμα 17.</b> Διάκριση μυϊκών ινών.....	128
<b>Σχήμα 18.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της μέσης ροπής κατά τη διάρκεια της άσκησης ....	143
<b>Σχήμα 19.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της σχετικής ροπής κατά τη διάρκεια της άσκησης..	145
<b>Σχήμα 20.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέος στο αίμα..	147

<b>Σχήμα 21.</b> Ποσοστό κάθε τύπου μυϊκών ινών ανά συνθήκη (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση).....	148
<b>Σχήμα 22.</b> Εγκάρσια επιφάνεια των τριών τύπων των μυϊκών ινών (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση).....	150
<b>Σχήμα 23.</b> Μέση εγκάρσια επιφάνεια των μυϊκών ινών του μυ (μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα).....	151
<b>Σχήμα 24.</b> Ποσοστό συμμετοχής της εγκάρσιας επιφάνειας κάθε τύπου μυϊκών ινών στη συνολική εγκάρσια επιφάνεια του μυ (μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα).....	152
<b>Σχήμα 25.</b> Αριθμός μυϊκών ινών (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση).....	153
<b>Σχήμα 26.</b> Αριθμός τριχοειδών αγγείων (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση).....	154
<b>Σχήμα 27.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της GSH στο μυ.....	156
<b>Σχήμα 28.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της GSSG στο μυ.....	157
<b>Σχήμα 29.</b> Ποσοστιαία μεταβολή του λόγου GSH/GSSG στο μυ.....	159
<b>Σχήμα 30.</b> Ποσοστιαία μεταβολή των TBARS στο μυ.....	160
<b>Σχήμα 31.</b> Ποσοστιαία μεταβολή των PC στο μυ.....	162
<b>Σχήμα 32.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της μέγιστης ροπής έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec.....	164
<b>Σχήμα 33.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της σχετικής μέγιστης ροπής έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec.....	166
<b>Σχήμα 34.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της μέσης ροπής έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec.....	168
<b>Σχήμα 35.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της σχετικής μέσης ροπής έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec.....	170
<b>Σχήμα 36.</b> Ποσοστιαία μεταβολή του καθυστερημένου μυϊκού πόνου.....	172
<b>Σχήμα 37.</b> Ποσοστιαία μεταβολή του εύρους κίνησης στην άρθρωση του γόνατος.....	173
<b>Σχήμα 38.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της κρεατινικής κινάσης (CK).....	175
<b>Σχήμα 39.</b> Ποσοστιαία μεταβολή των λευκών αιμοσφαιρίων (WBC).....	177
<b>Σχήμα 40.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της C αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP).....	179

<b>Σχήμα 41.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της Ιντερλευκίνης-1β (IL-1β).....	181
<b>Σχήμα 42.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της Ιντερλευκίνης-6 (IL-6).....	183
<b>Σχήμα 43.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της Ιντερλευκίνης-10 (IL-10).....	185
<b>Σχήμα 44.</b> Ποσοστιαία μεταβολή του ICAM-1.....	187
<b>Σχήμα 45.</b> Ποσοστιαία μεταβολή του VCAM-1.....	189
<b>Σχήμα 46.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της Σελεκτίνης P .....	191
<b>Σχήμα 47.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της Σελεκτίνης E .....	193
<b>Σχήμα 48.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της διείσδυσης των μακροφάγων στο μυϊκό ιστό...	194
<b>Σχήμα 49.</b> Απεικόνιση της φωσφορυλίωσης της p-PKB (pAkt).....	196
<b>Σχήμα 50.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της φωσφορυλίωσης της p-PKB (pAkt).....	196
<b>Σχήμα 51.</b> Απεικόνιση της φωσφορυλίωσης της p-mTOR.....	198
<b>Σχήμα 52.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της φωσφορυλίωσης της p-mTOR.....	198
<b>Σχήμα 53.</b> Απεικόνιση της φωσφορυλίωσης της p-p70S6K.....	200
<b>Σχήμα 54.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της φωσφορυλίωσης της p-p70S6K.....	200
<b>Σχήμα 55.</b> Απεικόνιση της φωσφορυλίωσης της p-MyoD.....	202
<b>Σχήμα 56.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της φωσφορυλίωσης της MyoD.....	202
<b>Σχήμα 57.</b> Απεικόνιση της φωσφορυλίωσης της p38.....	204
<b>Σχήμα 58.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της φωσφορυλίωσης της p38.....	204
<b>Σχήμα 59.</b> Απεικόνιση της φωσφορυλίωσης της p-NF-kB.....	206
<b>Σχήμα 60.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της φωσφορυλίωσης της πρωτεΐνης p-NF-kB.....	206
<b>Σχήμα 61.</b> Απεικόνιση της φωσφορυλίωσης της p-tpS6.....	208
<b>Σχήμα 62.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της φωσφορυλίωσης της p-tpS6.....	208
<b>Σχήμα 63.</b> Απεικόνιση της φωσφορυλίωσης του TNF-a.....	210
<b>Σχήμα 64.</b> Ποσοστιαία μεταβολή της φωσφορυλίωσης του TNF-a .....	210



<b>Σχήμα 65.</b> Θεωρητικό μοντέλο της λειτουργίας των ROS στην παραγόμενη δύναμη από τους σκελετικούς μύες (Από Reid et al., 2001).....	217
<b>Σχήμα 66.</b> Θεωρητικό μοντέλο της επίδρασης της NAC κατά τη διάρκεια της φάσης ανάπτυξης της φλεγμονής στο μυϊκό ιστό.....	226
<b>Σχήμα 67.</b> Θεωρητικό μοντέλο της επίδρασης της NAC κατά τη διάρκεια της φάσης επούλωσης του μυϊκού ιστού.....	228

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

Akt	Protein kinase B – Πρωτεϊνική κινάση B
AMPK	Adenosine monophosphate activated protein kinase – Ενεργοποιημένη πρωτεϊνική κινάση της μονοφωσφορικής αδενοσίνης
AP-1	Activator protein 1 – Ενεργοποιητής πρωτεΐνη 1
CK	Creatine kinase – Κρεατινική κινάση
CRP	C reactive protein – C αντιδρώσα πρωτεΐνη
DOMS	Delayed onset muscle soreness – Καθυστερημένος μυϊκός πόνος
DXA	Dual energy X-ray absorptiometry – Απορροφησιμετρία διπλής ενέργειας ακτίνων X
GSH	Glutathione – Ανηγμένη γλουταθειόνη
GSSG	Glutathione disulfide – Οξειδωμένη γλουταθειόνη
ICAM1	Intercellular adhesion molecule – Ενδοκυττάριο μόριο συγκόλλησης
IL	Interleukin – Ιντερλευκίνη
KJRM	Knee joint range of motion – Εύρος κίνησης γόνατος
MAPK	Mitogen activated protein kinase- Μιτογόνος ενεργοποιημένη πρωτεϊνική κινάση
MDA	Malondialdehyde - Μαλονδιαλδεύδη
mTOR	Mammalian target of rapamycin – Στόχος της Ραπαμυκίνης στα θηλαστικά
MyoD	Myoblast differentiation- Διαφοροποίηση μυοβλαστών
NAC	N-acetylcysteine – N-ακετυλοκυστεΐνη
NF-kB	Nuclear factor kappa light chain enhancer of activated B cells – Πυρηνικός παράγοντας κΒ
PC	Protein carbonyls – Πρωτεϊνικά καρβονύλια
Pla	Placebo – Εικονικό φάρμακο
RONS	Reactive oxygen & nitrogen species – Δραστικά είδη οξυγόνου και

αζώτου

ROS	Reactive oxygen species – Ελεύθερε ρίζες οξυγόνου
TBARS	Thobarbituric acid reactive substances- Ουσίες που αντιδρούν με θειοβαρβιτουρικό οξύ
TNF-α	Tumor necrosis factor –α – Ιστικός παράγοντας νέκρωσης-α
VCAM1	Vascular cell adhesion protein 1- Αγγειακό μόριο συγκόλλησης 1
VO <sub>2max</sub>	Maximal oxygen uptake - Μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου
WBC	White blood cells – Λευκοκύτταρα
ΔΜΣ	Δείκτης μάζας σώματος

## ΑΣΚΗΣΙΟΓΕΝΗΣ ΜΥΙΚΟΣ ΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

Ο σκελετικός μυς αποτελεί έναν ιδιαίτερο και αξιοθαύμαστο ιστό καθώς λόγω της βασικής του ιδιότητας να αυξομειώνει το μήκος του μπορεί να παράγει δυνάμεις. Το γεγονός αυτό μας δίνει τη δυνατότητα να αναπνέουμε, να κινούμαστε και γενικά να εκτελούμε τις συνηθισμένες καθημερινές μας δραστηριότητες. Ωστόσο όταν ο μυς τραυματιστεί περιορίζεται η ικανότητά του να παράγει δύναμη και ταυτόχρονα ο άνθρωπος χάνει τη λειτουργικότητά του.

Στην παρούσα μελέτη με τον όρο μυϊκό τραυματισμό θα εννοείται η απώλεια της λειτουργικής ικανότητας του μυ εξαιτίας της διατάραξης της δομικής του ακεραιότητας και ιδιαίτερα εκείνων των τμημάτων του που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή και μετάδοση της δύναμης (Koh, 2008). Από την υπάρχουσα βιβλιογραφία φαίνεται ότι οι μυϊκοί τραυματισμοί προκαλούνται κυρίως από μηχανικούς παράγοντες και ότι ο αρχικός τραυματισμός μπορεί να επιδεινωθεί από τη φλεγμονή και/ή τη διαταραχή της ομοιόστασης του ασβεστίου που τον συνοδεύουν. Το ερέθισμα που προκαλεί μυϊκό τραυματισμό θα το ονομάσουμε τραυματιογόνο παράγοντα. Καταστάσεις, οι οποίες οδηγούν σε μυϊκό τραυματισμό (ή αλλιώς τραυματιογόνοι παράγοντες), μπορεί να είναι η απλή μηχανική καταπόνηση του μυ κατά τη διάρκεια έντονης και/ή μη συνηθισμένης φυσικής δραστηριότητας (ασκησιογενής μυϊκός τραυματισμός), η πλήξη του μυ με σκληρό αντικείμενο, οι παθολογικές καταστάσεις που προκαλούν ενεργοποίηση των πρωτεολυτικών ενζύμων του μυϊκού ιστού προκαλώντας τον καταβολισμό του (π.χ. μυϊκές δυστροφίες, ατροφία, φλεγμονώδεις μυοπάθειες, καρκίνος, σήψη, διαβήτης, αλκοολισμός, πνευμονοπάθειες κ.α.) αλλά και τα φάρμακα που προκαλούν απώλεια μυϊκού ιστού (π.χ. κορτικοστεροειδή) (Mantle & Preedy, 2002; Smith C, Kruger, Smith RM & Myburgh, 2008).

Η ασκησιογενής μυϊκή σύσπαση χρησιμοποιείται συχνά ως μοντέλο μυϊκού τραυματισμού τόσο για τη μελέτη των μηχανισμών πρόκλησής του όσο και για τη μελέτη διαφόρων θεραπευτικών μέσων (Smith et al., 2008). Κατά την άσκηση, ο μυς μπορεί να ενεργοποιηθεί με τρεις διαφορετικούς τρόπους: α) με βράχυνση του μήκους του, β) με αύξηση του μήκους του (διάταση) και γ) χωρίς μεταβολή του μήκους του. Στην πρώτη περίπτωση η σύσπαση ονομάζεται σύγκεντρη ή μειωμετρική, στη δεύτερη έκκεντρη και

στην τρίτη ισομετρική. Από αυτά τα τρία είδη μυϊκής σύσπασης, η έκκεντρη σύσπαση προκαλεί το μεγαλύτερο μυϊκό τραυματισμό (Newham, Mills, Quigley & Edwards, 1983).

### ***Ο μυϊκός τραυματισμός οδηγεί στη δημιουργία της ασκησιογενούς φλεγμονής***

Η αντίδραση στον τραυματισμό του σκελετικού μυ που αναφέρθηκε στην παραπάνω ενότητα, περιλαμβάνει τρεις βασικές φάσεις: α) Αποδόμησης (φάση οξείας φλεγμονής) του μυ, β) επιδιόρθωσης και ανασύνθεσης του μυ και γ) αναδιαμόρφωσης - αύξησης του μυ. Ο τραυματισμός του σκελετικού μυ προκαλεί μία γρήγορη εισβολή διαφόρων φλεγμονωδών κυττάρων σε αυτόν που κρατά από μερικές ημέρες έως και εβδομάδες ανάλογα με την έκταση του τραυματισμού (Smith et al., 2008).

Η πρώτη φάση αμέσως μετά τον τραυματισμό χαρακτηρίζεται από την ανάπτυξη οξείας φλεγμονής με συσσώρευση λευκοκυττάρων στον προσβληθέντα ιστό και έκκριση κυτοκινών (Fehrenbach & Schneider, 2006). Έχει προταθεί η άποψη ότι η αρχική φάση της φλεγμονής συνδέεται λειτουργικά με τις επόμενες φάσεις της επιδιόρθωσης και ανασύνθεσης του μυϊκού ιστού και μάλλον αποτελεί προϋπόθεση για τη μετέπειτα ανάπτυξη του μυ (Tidball & James, 2005). Ωστόσο, προς το παρόν, αυτή η θεωρία βασίζεται περισσότερο σε ενδείξεις και όχι αποδείξεις.

Την αρχική φάση της αποδόμησης και φλεγμονής διαδέχεται ο τερματισμός της φλεγμονής και έναρξη της φάσης επιδιόρθωσης όπου εξέχοντα ρόλο έχουν τα μακροφάγα κύτταρα. Αμέσως μετά τον τραυματισμό, τα κύτταρα αυτά παίζουν, μαζί με τα ουδετερόφιλα, σημαντικό ρόλο στην απομάκρυνση των κατεστραμμένων κομματιών του τραυματισμένου μυϊκού ιστού με φαγοκυττάρωση, ενώ ταυτόχρονα εμποδίζουν την έναρξη της σύνθεσης νέου μυϊκού ιστού σε τόσο πρόωρο στάδιο (Serhan & Savill, 2005; Smith et al., 2008).

Η τελευταία φάση περιλαμβάνει την αναδιοργάνωση του μυϊκού ιστού ολοκληρώνοντας έτσι την ανασύνθεσή των τραυματισμένων μυϊκών ινών και την αποκατάσταση της λειτουργικότητάς τους.

### ***Οξειδωτικό στρες και ασκησιογενής φλεγμονή***

Οι ελεύθερες ρίζες είναι άτομα ή μόρια με ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική στοιβάδα. Ωστόσο υπάρχουν και κάποια παράγωγα οξυγόνου που δεν έχουν μονήρη ηλεκτρόνια αλλά είναι ιδιαίτερα δραστικά, όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ), το ατομικό οξυγόνο και το υποχλωριώδες οξύ ( $HOCl$ ) και

προσδιορίζονται από το γενικότερο όρο «δραστικές ενώσεις οξυγόνου ή ROS (reactive oxygen species) (Halliwell & Gutteridge, 1998.).

Οι ανώτεροι οργανισμοί ωστόσο, για την αντιμετώπιση των ελεύθερων ριζών, έχουν αναπτύξει τον αντιοξειδωτικό μηχανισμό. Το σύστημα αυτό άμυνας αποτελείται από δυο τμήματα το ενζυμικό και το μη ενζυμικό. Στο πρώτο ανήκουν αντιοξειδωτικές ουσίες όπως η δισμουτάση του υπεροξειδίου, η καταλάση και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης. Τα ένζυμα αυτά παράγονται ενδογενώς και μπορούν να επηρεαστούν από διάφορους παράγοντες όπως για παράδειγμα η συστηματική άσκηση (Ji, 1995; Leeuwenburgh, Hansen, Holloszy & Heinecke, 1999; Powers & Lennon, 1999). Το δεύτερο τμήμα περιλαμβάνει ουσίες όπως οι βιταμίνες E, C, η βιταμίνη A ή το β-καροτένιο, τα φλαβονοειδή, οι θειόλες, το συνένζυμο Q10, το ουρικό οξύ, οι θερμοεπαγόμενες πρωτεΐνες, η φεριτίνη, η αλβουμίνη, η χολερυθρίνη και η σερουλοπλασμίνη (Finaud, Lac, & Filaire, 2006). Από τις ουσίες αυτές κάποιες παράγονται από τον οργανισμό, ενώ κάποιες άλλες λαμβάνονται μέσω της τροφής και επηρεάζονται από αυτήν.

Η κατάσταση κατά την οποία διαταράσσεται η ισορροπία μεταξύ της παραγωγής ελεύθερων ριζών και της εξουδετέρωσής τους από τον αντιοξειδωτικό μηχανισμό ονομάζεται οξειδωτικό στρες (Leeuwenburgh et al., 1999; Nikolaidis et al., 2006; Servais et al., 2003). Αυτό είναι δυνατόν να συμβεί είτε λόγω αυξημένου σχηματισμού ριζών (π.χ. μετά από έντονη άσκηση (Finaud et al., 2006) και/είτε μειωμένων επιπέδων αντιοξειδωτικών (Nikolaidis et al., 2006). Έτσι οι ελεύθερες ρίζες που δεν αδρανοποιούνται προσβάλλουν μόρια λιπιδίων, πρωτεϊνών, ενζύμων και νουκλεϊκών οξέων αλλοιώνοντας τη χημική δομή τους και κατ' επέκταση τις φυσικές τους ιδιότητες. Πιο συγκεκριμένα, τα λιπίδια σχηματίζουν υπεροξειδία, οι πρωτεΐνες μετουσιώνονται, τα ένζυμα αδρανοποιούνται και τα νουκλεϊκά οξέα διαφοροποιούνται προκαλώντας διάφορες ασθένειες (αθηροσκλήρωση, καρκίνο), δηλητηριάσεις και γήρανση (Barja, 2004; Beckman & Ames, 1998; Kaur & Halliwell, 1994; Radak, 2000).

Βέβαια υπάρχουν και οι θετικές επιδράσεις των ελεύθερων ριζών όπως η χρήσιμη παραγωγή των ROS κατά την ενεργοποίηση των φαγοκυττάρων καθώς και τη λειτουργία άλλων τύπων κυττάρων όπως τα λεμφοκύτταρα, οι ινοβλάστες και τα αγγειακά επιθηλιακά κύτταρα ενεργοποιώντας ενδοκυτταρικά σηματοδοτικά μονοπάτια, τη χρήση τους ( $H_2O_2$ ) για το σχηματισμό των θυροειδικών ορμονών (Halliwell & Cross, 1994), αλλά και στη ρύθμιση σημαντικών βιολογικών λειτουργιών (Halliwell & Gutteridge, 1998).



Η παραγωγή ελεύθερων ριζών μέσα στο κύτταρο προέρχεται κυρίως από τη διαρροή ηλεκτρονίων κατά το μηχανισμό της αναπνευστικής αλυσίδας που λαμβάνει χώρα στα μιτοχόνδρια, τη λειτουργία του συστήματος του κυτοχρώματος P450 και τις αντιδράσεις αυτοοξειδωσης ενώσεων όπως οι κατεχολαμίνες, το ασκορβικό οξύ, και οι ανηγμένες φλαβίνες, οι οποίες αφού αντιδράσουν με το οξυγόνο, οδηγούν σε άμεση παραγωγή  $O_2^{\bullet-}$  (Halliwell & Cross, 1994).

Κατά τον ασκησιογενή μυϊκό τραυματισμό, η συσσώρευση των ουδετερόφιλων στην περιοχή του τραυματισμένου ιστού συνοδεύεται από αυξημένη παραγωγή ελεύθερων ριζών και οξειδωτικά αλλοιωμένες πρωτεΐνες και λιπίδια (Peake, Nosaka & Suzuki, 2005). Η απελευθέρωση ελεύθερων ριζών μπορεί να επιδεινώσει τον ασκησιογενή μυϊκό τραυματισμό προσβάλλοντας τόσο τον τραυματισμένο μυϊκό ιστό όσο και τους παρακείμενους υγιείς ιστούς μέσω της οξειδωτικής τροποποίησης λιπιδίων, πρωτεϊνών και νουκλεϊκών οξέων αυτών των ιστών (Pierce, De Waal, McManus, Shireman & Chaudhuri, 2007; Tidball & James, 2005).

Από τη βιβλιογραφία φαίνεται ότι κάποια σηματοδοτικά μονοπάτια και ορισμένοι μηχανισμοί ρυθμίζονται από την οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου ή επιμέρους τμημάτων του (Jackson, 2009). Έχει δε προταθεί ένα σημαντικός ρόλος για την αναστρέψιμη οξείδωση των κυστεϊνών στη ρύθμιση της οξειδοαναγωγικής κατάστασης και μέσω αυτής στη ρύθμιση μεταβολικών, σηματοδοτικών και γονιδιακών μηχανισμών (Jackson, 2009). Φαίνεται λοιπόν ότι η οξειδοαναγωγική ρύθμιση των σηματοδοτικών μονοπατιών των κυττάρων αποτελεί το βασικό μηχανισμό προσαρμογής των κυττάρων στους οξειδωτικούς παράγοντες όπως οι ROS.

Πιο συγκεκριμένα στη βιβλιογραφία υπάρχουν αναφορές ότι ο σκελετικός μυς διαθέτει αρκετούς μηχανισμούς οι οποίοι υπόκεινται σε οξειδοαναγωγικό έλεγχο τόσο κατά την άσκηση όσο και σε συνθήκες ηρεμίας όπως αυτοί των NF-κB, AP-1, MAPK, και του θερμοεπαγόμενου παράγοντα HSF (Jackson, 2009). Η ενεργοποίηση αυτών των μηχανισμών στον ασκούμενο μυ οδηγεί στη γονιδιακή έκφραση αντιοξειδωτικών πρωτεϊνικών μορίων. Κατά τον ασκησιογενή μυϊκό τραυματισμό διάφορες μυϊκές πρωτεΐνες διαθέτουν κυστεΐνες οι οποίες υπόκεινται σε μη-αναστρέψιμη οξείδωση παράλληλα με την αύξηση της δραστηριότητας της μυελοπεροξειδάσης υποδεικνύοντας ότι μπορεί να υπάρχει μία σχέση μεταξύ της αλλαγής της οξειδοαναγωγικής κατάστασης εξαιτίας της παραγωγής των ROS από τα ουδετερόφιλα και της εξέλιξης του δευτερογενούς τραυματισμού (Harris, 2003). Επίσης ο μηχανισμός της απόπτωσης που

είναι ιδιαίτερα σημαντικός για την απομάκρυνση κυτταρικών υπολειμμάτων του μυϊκού ιστού αλλά και την απομάκρυνση των ουδετερόφιλων κατά τον τερματισμό της οξείας φλεγμονής από τα μακροφάγα (Circo & Aw, 2010), φαίνεται να σηματοδοτείται, χωρίς ωστόσο να έχει εξακριβωθεί, από την οξειδοαναγωγική κατάσταση των κυττάρων.

Η έκφραση των αντιοξειδωτικών ενζύμων και των ενζύμων που ελέγχουν την οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου όπως το σύστημα της γλουταθειόνης, στο σωστό βαθμό και στο σωστό τμήμα του κυττάρου, είναι το κλειδί για τη διατήρηση της ομοιότητας της αναλογίας οξειδωτικών-αντιοξειδωτικών. Η μεταβολή της συγκέντρωσης των γλουταθειονών και γενικότερα των πρωτεϊνικών δισουλφιδίων μπορεί να επηρεάσει σε σημαντικό βαθμό την ενζυμική δραστηριότητα, τους μεταγραφικούς παράγοντες και τους μεταφορείς δίνοντας έτσι τη δυνατότητα στα κύτταρα να αντιμετωπίσουν τις μεταβολές των θειολών όπως της αναλογίας ανηγμένης/οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSH/GSSG) ή της αναλογίας ανηγμένης/οξειδωμένης θειορεδοξίνης (TRx-(SH)<sub>2</sub>/TRx-SS) (Jackson, 2009).

Για την GSH έχει αναφερθεί μεταξύ άλλων ότι ρυθμίζει τη συνολική αναγωγική κατάσταση του κυττάρου (Ji, 2007). Η αναλογία ανηγμένης προς οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSH/GSSG) αποτελεί πιθανότατα τον καθοριστικότερο παράγοντα μεταβολής της οξειδοαναγωγικής κατάστασης του μυ κατά τη διάρκεια της φλεγμονής, καθώς στη διάρκεια του οξειδωτικού τραυματισμού από τις ROS που απελευθερώνονται από τα ουδετερόφιλα, η συγκέντρωση της GSH μειώνεται σε σημαντικό βαθμό. Έχει αναφερθεί επίσης ότι η αύξηση της ενδοκυττάριας GSH προλαμβάνει τη φλεγμονή και αναστέλλει την έκφραση των μορίων συγκόλλησης (Kevil et al., 2004).

Η NAC (N-ακετυλοκυστεΐνη), η οποία προτείνεται στην παρούσα μελέτη για την αλλοίωση της οξειδοαναγωγικής κατάστασης των μυϊκών κυττάρων, αυξάνει την ενδοκυττάρια συγκέντρωση της GSH αλλάζοντας έτσι το οξειδοαναγωγικό δυναμικό, την αποτελεσματικότητα των βασικών σηματοδοτικών μονοπατιών και φυσικά την τελική γονιδιακή έκφραση αντιοξειδωτικών πρωτεϊνών (Flohe, Brigelius-Flohe, Saliou, Traber & Packer, 1997).

Όπως αναφέρθηκε οι ROS είναι ιδιαίτερα αυξημένες σε συνθήκες φλεγμονής αλλά και άσκησης (τόσο κατά τη διάρκεια αλλά και μετά από αυτή κατά τη φάση ανάληψης) και συμμετέχουν επίσης στη ρύθμιση σηματοδοτικών μηχανισμών μέσω της επίδρασής τους στην οξειδοαναγωγική κατάσταση του μυ. Ωστόσο, ο ρόλος της οξειδοαναγωγικής κατάστασης στην εξέλιξη του κύκλου της ασκησιογενούς φλεγμονής μετά τη διακοπή της



άσκησης δεν έχει εξεταστεί επαρκώς και ιδιαίτερα στον ανθρώπινο οργανισμό. Οι περισσότερες μελέτες εξέτασαν το ρόλο των ROS και της οξειδοαναγωγικής κατάστασης μέσω χορήγησης αντιοξειδωτικών παραγόντων κατά τη διάρκεια της άσκησης. Επίσης οι διάφοροι δείκτες μετρήθηκαν στις περισσότερες μελέτες μέχρι 24ώρες μετά την άσκηση που αποτελεί αρκετά περιορισμένο χρονικό διάστημα για την ασκησιογενή φλεγμονή.

Αυτή τη στιγμή είναι αδιευκρίνιστο αν αυτή η μεταβολή της οξειδοαναγωγικής κατάστασης αποτελεί αναγκαία προϋπόθεση για την επούλωση του μυϊκού ιστού. Ακόμη, δεν είναι γνωστό ποια φάση του κύκλου της ασκησιογενούς φλεγμονής επηρεάζεται περισσότερο από τη μεταβολή της οξειδοαναγωγικής κατάστασης του μυ.

### ***Σημασία της μελέτης***

Η σημασία της παρούσας μελέτης έγκειται στο γεγονός ότι προσπαθεί να διαλευκάνει το ρόλο της οξειδοαναγωγικής κατάστασης του μυϊκού κυττάρου στις διάφορες φάσεις που ακολουθούν τον ασκησιογενή μυϊκό τραυματισμό. Η γνώση αυτή θα βοηθήσει στην ανάπτυξη διατροφικών, φαρμακευτικών και άλλων μεθόδων για την ταχύτερη επούλωση του μυϊκού ιστού.

### ***Σκοπός της μελέτης***

Πιο συγκεκριμένα ο σκοπός της παρούσας έρευνας ήταν να επιχειρήσει να μεταβάλει την οξειδοαναγωγική κατάσταση στο μυϊκό κύτταρο μέσω της χορήγησης NAC (Leff et al., 1993), μετά από ασκησιογενή μυϊκό τραυματισμό και να εξετάσει τις επιπτώσεις αυτής της μεταβολής στη λειτουργική κατάσταση του μυ (παραγωγή δύναμης) καθώς και την πρωτεϊνική έκφραση των βασικότερων πρωτεϊνών που χαρακτηρίζουν τον κύκλο της ασκησιογενούς φλεγμονής του μυϊκού κυττάρου.

### ***Ερευνητικές υποθέσεις***

Οι ερευνητικές υποθέσεις της παρούσας μελέτης διατυπώνονται με βάση τις ενδεχόμενες διαφορές στις εξαρτημένες μεταβλητές μεταξύ της συνθήκης όπου οι συμμετέχοντες λάμβαναν N-ακετυλοκυστεΐνη και της συνθήκης όπου λάμβαναν το Placebo. Έτσι τα ερευνητικά ερωτήματα που απαντώνται με την παρούσα μελέτη είναι τα ακόλουθα:

- Θα υπάρξει διαφοροποίηση στην εκδήλωση μυϊκού τραυματισμού στη συνθήκη όπου χορηγήθηκε η N-ακετυλοκυστεΐνη σε σύγκριση με τη συνθήκη όπου χορηγήθηκε το Placebo;
- Θα υπάρξει διαφοροποίηση στην εκδήλωση φλεγμονής στη συνθήκη όπου χορηγήθηκε η N-ακετυλοκυστεΐνη σε σύγκριση με τη συνθήκη όπου χορηγήθηκε το Placebo;
- Θα υπάρξει διαφοροποίηση στην απόδοση στη συνθήκη όπου χορηγήθηκε η N-ακετυλοκυστεΐνη σε σύγκριση με τη συνθήκη όπου χορηγήθηκε το Placebo;
- Θα υπάρξει διαφοροποίηση στην ενεργοποίηση του μεταγωγικού μονοπατιού της Akt/mTOR στη συνθήκη όπου χορηγήθηκε η N-ακετυλοκυστεΐνη σε σύγκριση με τη συνθήκη όπου χορηγήθηκε το Placebo;
- Θα υπάρξει διαφοροποίηση στην ενεργοποίηση του μεταγωγικού μονοπατιού της MAPK στη συνθήκη όπου χορηγήθηκε η N-ακετυλοκυστεΐνη σε σύγκριση με τη συνθήκη όπου χορηγήθηκε το Placebo;
- Θα υπάρξει διαφοροποίηση στην ενεργοποίηση του μεταγωγικού μονοπατιού του NF-kB στη συνθήκη όπου χορηγήθηκε η N-ακετυλοκυστεΐνη σε σύγκριση με τη συνθήκη όπου χορηγήθηκε το Placebo;

#### ***Μηδενικές υποθέσεις***

- Δε θα υπάρξει διαφοροποίηση στην εκδήλωση μυϊκού τραυματισμού στη συνθήκη όπου χορηγήθηκε η N-ακετυλοκυστεΐνη σε σύγκριση με τη συνθήκη όπου χορηγήθηκε το Placebo.
- Δε θα υπάρξει διαφοροποίηση στην εκδήλωση φλεγμονής στη συνθήκη όπου χορηγήθηκε η N-ακετυλοκυστεΐνη σε σύγκριση με τη συνθήκη όπου χορηγήθηκε το Placebo.
- Δε θα υπάρξει διαφοροποίηση στην απόδοση στη συνθήκη όπου χορηγήθηκε η N-ακετυλοκυστεΐνη σε σύγκριση με τη συνθήκη όπου χορηγήθηκε το Placebo.
- Δε θα υπάρξει διαφοροποίηση στην ενεργοποίηση του μεταγωγικού μονοπατιού της Akt/mTOR στη συνθήκη όπου χορηγήθηκε η N-ακετυλοκυστεΐνη σε σύγκριση με τη συνθήκη όπου χορηγήθηκε το Placebo.
- Δε θα υπάρξει διαφοροποίηση στην ενεργοποίηση του μεταγωγικού μονοπατιού της MAPK στη συνθήκη όπου χορηγήθηκε η N-ακετυλοκυστεΐνη σε σύγκριση με τη συνθήκη όπου χορηγήθηκε το Placebo.

▪ Δε θα υπάρξει διαφοροποίηση στην ενεργοποίηση του μεταγωγικού μονοπατιού του NF-kB στη συνθήκη όπου χορηγήθηκε η N-ακετυλοκυστεΐνη σε σύγκριση με τη συνθήκη όπου χορηγήθηκε το Placebo.

### ***Περιορισμοί της έρευνας***

Παρακάτω αναφέρονται οι περιορισμοί της παρούσας έρευνας σε σχέση με την επιλογή του δείγματος και τον πειραματικό σχεδιασμό:

- Περιορισμός ως προς το προπονητικό επίπεδο του δείγματος: Οι εθελοντές δεν ήταν αθλητές.

- Περιορισμός ως προς τη χρονολογική ηλικία του δείγματος: Η ηλικία των συμμετεχόντων ήταν μεταξύ 19 και 25 ετών.

- Περιορισμός ως προς το φύλο του δείγματος: Στη μελέτη συμμετείχαν μόνο άντρες.

- Περιορισμός ως προς το είδος της άσκησης: Πραγματοποιήθηκε ένα έκκεντρο πρωτόκολλο άσκησης σε ισοκινητικό δυναμόμετρο.

- Περιορισμός ως προς τους δείκτες μυϊκής καταστροφής που μετρήθηκαν: Μετρήθηκε η κρεατινική κινάση, ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος και η κινητικότητα στην άρθρωση του γόνατος..

- Περιορισμός ως προς τους δείκτες απόδοσης που μετρήθηκαν: Μετρήθηκε σε ισοκινητικό δυναμόμετρο η μέγιστη ροπή μυϊκής σύσπασης στις 60°/sec, η σχετική μέγιστη ροπή μυϊκής σύσπασης στις 60°/sec, η μέση ροπή μυϊκής σύσπασης στις 60°/sec και η σχετική μέση ροπή μυϊκής σύσπασης στις 60°/sec.

- Περιορισμός ως προς τους δείκτες φλεγμονής στο αίμα και στο μυ: Μετρήθηκαν η C αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP), τα μόρια συγκόλλησης (ICAM-1, VCAM-1, Σελεκτίνη P, Σελεκτίνη E), οι κυτοκίνες (IL-1β, IL-6, IL-10), τα λευκά αιμοσφαίρια (WBC) και η διείσδυση των μακροφάγων στο μυ.

- Περιορισμός ως προς τους δείκτες που μετρήθηκαν στον μυϊκό ιστό: Μετρήθηκαν τα πρωτεϊνικά καρβονύλια (PC), οι ουσίες που αντιδρούν με θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS), η ανηγμένη γλουταθειόνη (GSH), η οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG), ο λόγος ανηγμένης προς οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSH/GSSG). Τέλος μετρήθηκαν η πυκνότητα των τριχοειδών, ο αριθμός και το είδος των μυϊκών ινών και η εγκάρσια διατομή των μυϊκών ινών.

### *Λειτουργικοί ορισμοί*

- **N-ακετυλοκυστεΐνη (NAC):** Είναι πρόδρομο συστατικό του αμινοξέος L-κυστεΐνη και της ανηγμένης γλουταθειόνης. Χρησιμοποιείται ως αντιοξειδωτικό ενισχύοντας το μονοπάτι της γλουταθειόνης.
- **Ελεύθερη ρίζα:** Όταν σε κάποιο ή κάποια από τα άτομα που αποτελούν ένα μόριο υπάρχει τουλάχιστον ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο στην εξωτερική στιβάδα του, τότε το μόριο χαρακτηρίζεται ως ελεύθερη ρίζα.
- **Αντιοξειδωτικός μηχανισμός:** Είναι ένα σύνολο μηχανισμών του οργανισμού για την ουδετεροποίηση των ελεύθερων ριζών.
- **Οξειδοαναγωγικό δυναμικό (redox status):** Η αναλογία της αμφίδρομης μετατροπής της οξειδωμένης και ανηγμένης μορφής ορισμένου οξειδοαναγωγικού ζευγαριού.
- **Οξειδωτικό στρες:** Είναι η κατάσταση του οργανισμού κατά την οποία ο μηχανισμός παραγωγής ελεύθερων ριζών υπερτερεί έναντι του αντιοξειδωτικού μηχανισμού και εμφανίζονται αλλοιώσεις σε διάφορα μόρια που προσβάλλονται από τις ρίζες όπως είναι τα λιπίδια, οι πρωτεΐνες, τα ένζυμα και τα νουκλεϊκά οξέα.
- **Ουσίες που αντιδρούν με θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS):** Είναι αλδεϋδες που ανιχνεύονται στους ιστούς και σχηματίζονται από την υπεροξείδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Αποτελούν δείκτη της υπεροξείδωσης των λιπιδίων.
- **Μαλονδιαλδεϋδη (MDA):** Αποτελεί μια μορφή των TBARS και είναι δείκτης της υπεροξείδωσης των λιπιδίων.
- **Πρωτεϊνικά καρβονύλια (PC):** Είναι ενώσεις που σχηματίζονται από την υπεροξείδωση των λιπιδίων (δραστικές αλδεϋδες), από την οξείδωση σακχάρων ή την οξείδωση των προϊόντων τους με υπολείμματα λυσίνης. Μια άλλη πηγή είναι η οξείδωση μορίων που στην πλαϊνή αλυσίδα τους έχουν αμινομάδα. Αποτελούν δείκτη της οξείδωσης των πρωτεϊνών.
- **Ανηγμένη γλουταθειόνη (GSH):** Είναι ένα τριπεπίδιο το οποίο βρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις σε όλα τα ζώα και τα φυτά. Η πιο σημαντική αντιοξειδωτική λειτουργία της είναι η μεταφορά υδρογόνων και οργανικών υπεροξειδίων.
- **Οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG):** Είναι η οξειδωμένη μορφή της ανηγμένης γλουταθειόνης που σχηματίζεται παίρνοντας ένα ζεύγος υδρογονοϊόντων από την τελευταία κατά την αντίδραση αναγωγής του υπεροξειδίου του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ).

- Λόγος ανηγμένης /οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSH/GSSG): Είναι ένα κλινικό εργαλείο για τη μελέτη του οξειδωτικού στρες.

- Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPX): Αντιοξειδωτικό ένζυμο.

- Καταλάση (CAT): Αντιοξειδωτικό ένζυμο που συμμετέχει σε αντιδράσεις της παρακάτω μορφής:



- Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC): Βιοχημικός δείκτης αξιολόγησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας του ορού.

- Απόπτωση: Προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος.

- Φλεγμονή: Είναι η απάντηση των ιστών του σώματος σε μόλυνση από ιούς, τοξίνες ή χημικές ουσίες. Τα συμπτώματα της φλεγμονής είναι: Πόνος, ερυθρότητα, πυρετός και οίδημα.

- Έκκεντρη άσκηση: Άσκηση κατά την οποία ο μυς συσπάται και ταυτόχρονα επιμηκώνεται.

- Ισοκινητικό δυναμόμετρο: Μηχάνημα στο οποίο το ασκούμενο μέλος κινείται με σταθερή ταχύτητα η οποία έχει επιλεγεί.

- Αρχιτεκτονική του μυ: Χαρακτηριστικά του σκελετικού μυ όπως η γωνία πρόσφυσης των μυϊκών ινών στις απονευρώσεις και η απόσταση μεταξύ των απονευρώσεων.

- Μεταγωγικά μονοπάτια: Βιοχημικά μονοπάτια που μεταφέρουν σήματα για την ενεργοποίηση ή αδρανοποίηση μηχανισμών.

- Μυϊκός τραυματισμός: Η απώλεια της λειτουργικότητας του μυ που προκαλείται από την καταστροφή της δομής των σαρκομερίων.

- Κρεατινική κινάση (CK): Ένζυμο που καταλύει την αμφίδρομη μετατροπή φωσφοκρεατίνης και ATP. Επίσης αποτελεί δείκτη τραυματισμού του μυϊκού ιστού.

- Καθυστερημένος μυϊκός πόνος (DOMS): Μυϊκός πόνος ο οποίος εμφανίζεται μετά από ώρες ή μέρες και συνήθως προκαλείται μετά από έκκεντρες συστολές.

- Εύρος κίνησης γόνατος (KJRM): Δείκτης που δείχνει τη λειτουργικότητα της άρθρωσης του γόνατος και μετράται με τη χρήση γωνιομέτρου.

- Μυϊκή βιοψία: Διαδικασία μέσω της οποίας λαμβάνεται δείγμα μυϊκού ιστού.

- **Κορτιζόλη:** Ορμόνη που εκκρίνεται από τον φλοιό των επινεφριδίων και είναι η σημαντικότερη γλυκοκορτικοειδής στεροειδής ορμόνη. Η μεταβολή της συγκέντρωσής της στο πλάσμα μας πληροφορεί για το πώς δέχεται ο οργανισμός μια συγκεκριμένη επιβάρυνση.

- **Τεστοστερόνη:** Αποτελεί τη σπουδαιότερη ανδρογόνο στεροειδή ορμόνη. Η αυξημένη συγκέντρωσή της στον ορό προάγει την πρωτεϊνοσύνθεση. Επιπλέον η αναλογία της τεστοστερόνης με την κορτιζόλη αποτελεί δείκτη του συνδρόμου υπερπροπόνησης.

- **Κυτοκίνες:** Είναι ένας πρωτεϊνικός διαμεσολαβητής, που απελευθερώνεται από διάφορα κύτταρα και ο οποίος δεσμεύει τους υποδοχείς της επιφάνειας των κυττάρων προκειμένου να προκαλέσει μια κυτταρική απάντηση.

- **C αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP):** Είναι μια πρωτεΐνη οξείας φάσης που παράγεται αποκλειστικά στο ήπαρ όταν ο οργανισμός μας όταν βρίσκεται αντιμέτωπος με μια μόλυνση ή ένα τραύμα γι' αυτό και αποτελεί δείκτη φλεγμονής.

- **Μόρια συγκόλλησης:** Μόρια που βοηθούν στην αλληλεπίδραση ανάμεσα στα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα λευκοκύτταρα. Είναι κριτικής σημασίας για την φλεγμονώδη απάντηση και αποτελούν δείκτη φλεγμονής.

- **Δορυφόρα κύτταρα:** Κύτταρα που βρίσκονται δίπλα σε μια μυϊκή ίνα, περιέχουν σχεδόν μόνο πυρήνα και προσφέρουν το γενετικό τους υλικό με συγχώνευση στη μυϊκή ίνα για ανάπτυξη ή επισκευή.

- **Ουδετερόφιλα:** Τύπος λευκών αιμοσφαιρίων με μικροσκοπικούς σάκους ενζύμων που βοηθούν τα κύτταρα να 'σκοτώνουν' και να χωνέψουν μικροοργανισμούς που έχουν καταπιεί με φαγοκυττάρωση .

- **Μακροφάγα:** Τύπος λευκών αιμοσφαιρίων που αποτελεί τη βασική ανοσολογική απάντηση του οργανισμού στους ξένους εισβολείς, όπως βακτήρια, πρωτόζωα κ.ά.



## II. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

### *Ασκησιογενής μυϊκός τραυματισμός*

Ο τραυματισμός του σκελετικού μυ οδηγεί σε απώλεια της λειτουργικής ικανότητας του ανθρώπου. Μυϊκός τραυματισμός μπορεί να παρατηρηθεί μετά από έντονη άσκηση (ασκησιογενής), μετά από ατύχημα, σε παθολογικές καταστάσεις (π.χ. μυϊκές δυστροφίες, φλεγμονώδεις μυοπάθειες, καρκίνος κ.λπ.) ή ακόμη και μετά από τη λήψη φαρμάκων (π.χ. κορτικοστεροειδή). Ο μυϊκός τραυματισμός προκαλεί φλεγμονή η οποία περιλαμβάνει μετακίνηση κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος (ουδετερόφιλων/μακροφάγων) προς τον τραυματισμένο μυϊκό ιστό παράγοντας μεγάλη ποσότητα ελεύθερων ριζών οι οποίες προκαλούν δευτερογενή τραυματισμό και αλλοίωση της οξειδοαναγωγικής κατάστασης στο μυϊκό κύτταρο και σε άλλους ιστούς. Υπάρχουν σημαντικές ενδείξεις (από μελέτες *in vitro* και σε πειραματόζωα) ότι η αλλοίωση της οξειδοαναγωγικής κατάστασης επηρεάζει σηματοδοτικά μονοπάτια και μηχανισμούς που ρυθμίζουν όχι μόνο την εκδήλωση της φλεγμονής αλλά και τη μετέπειτα επούλωση και αύξηση του μυ. Ωστόσο, κάτι τέτοιο δεν έχει διερευνηθεί επαρκώς στον άνθρωπο.

Για τον χαρακτηρισμό του μυϊκού τραυματισμού έχουν χρησιμοποιηθεί αρκετοί δείκτες όπως η απώλεια της λειτουργικότητας του μυ, η αλλαγή της μορφολογίας του, η μεταβολή στις ενδοκυττάρειες πρωτεΐνες και η εκροή τους στο εξωκυττάριο υγρό. Οι αλλαγές που παρατηρούνται στους δείκτες αυτούς υποδηλώνουν ότι ο μυς έχει υποστεί κάποιο τραυματισμό.

Στην παρούσα μελέτη με τον όρο μυϊκό τραυματισμό θα εννοείται η απώλεια της λειτουργικής ικανότητας του μυ εξαιτίας της διατάραξης της δομικής του ακεραιότητας και ιδιαίτερα εκείνων των τμημάτων του που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή και μετάδοση της δύναμης (Koh, 2008).

Είναι γνωστό ότι υπάρχουν τρεις βασικοί τύποι μυϊκής συστολής: α) Ο ομόκεντρος κατά τον οποίο το μήκος του μυός μικραίνει, β) ο έκκεντρος κατά τον οποίο το μήκος του μυός αυξάνεται και γ) ο ισομετρικός όπου το μήκος του μυός παραμένει αμετάβλητο. Όταν ένα άτομο εκτελέσει μια ασυνήθιστη άσκηση ή όταν ο ρυθμός εκτέλεσης είναι πολύ έντονος τότε θα προκληθεί μυϊκή καταστροφή. Από τα είδη της μυϊκής συστολής εκείνο

που μπορεί να προκαλέσει τη μεγαλύτερη μυϊκή καταστροφή είναι αυτό της έκκεντρης συστολής (Newham, Mills, Quigley & Edwards, 1983).

Αν και έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές μελέτες με αντικείμενο τη μυϊκή καταστροφή δεν είναι γνωστή με ακρίβεια η χρονική αλληλουχία των δομικών αλλοιώσεων του μυ μετά την πρόκληση μυϊκού τραυματισμού. Στις μέρες μας είναι σαφές ότι αμέσως μετά από μία συνεδρία έκκεντρης άσκησης παρατηρούνται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο τοπικές εστίες τραυματισμού των μυοϊνιδίων, μερικώς τραυματισμένα σαρκομέρια, αλλοίωση της αρχιτεκτονικής των γραμμών Z των σαρκομερίων και οίδημα (Friden, Sjostrom & Ekblom, 1983; Lieber, Woodburn & Friden, 1991). Ας εξετάσουμε τι συμβαίνει μέσα στη μυϊκή ίνα. Όταν οι μυϊκές ίνες ενός μυός επιμηκύνονται κατά τη σύσπαση, μερικά σαρκομέρια αντέχουν στην επιμήκυνση περισσότερο από άλλα πιθανότατα γιατί η αλληλοεπικάλυψη των μυϊκών ινιδίων είναι πιο κοντά στην ιδανικότερη τιμή για παραγωγή δύναμης ή γιατί η κάθετη διατομή της μυϊκής ίνας είναι ελαφρώς μεγαλύτερη σε αυτό το σημείο. Ως συνέπεια τα αδύνατα σαρκομέρια επιμηκύνονται ακόμα περισσότερο μέχρι που να μην υπάρχει κάλυψη μεταξύ των μυοϊνιδίων τους (ακτίνη και μυοσίνη). Τα ελαστικά στοιχεία ισορροπούν πρόσκαιρα τη δύναμη των σαρκομερίων που έχασαν τη λειτουργικότητά τους λόγω της επιμήκυνσης (Proske & Morgan, 2001). Μετά από μια σειρά έκκεντρων συσπάσεων όλο και περισσότερα σαρκομέρια, ξεκινώντας με τα πιο αδύναμα και πηγαίνοντας στα πιο δυνατά, υπερεπιμηκύνονται. Το γεγονός αυτό έχει ως αποτέλεσμα κάθε φορά που ο μυς χαλαρώνει τα μυοϊνίδια να μην μπορούν να συνδεθούν μεταξύ τους και έτσι το σαρκομέριο να μην μπορεί να επανέλθει στο φυσιολογικό του μήκος και να διασπάται. Ο τραυματισμός των μυοϊνιδίων αυξάνεται προοδευτικά 1-3 ημέρες μετά την εκτέλεση έκκεντρης άσκησης (Friden et al., 1983).

Ταυτόχρονα παρατηρείται φθορά των πρωτεϊνών του κυτταροσκελετού (δεσμίνη, δυστροφίνη, β-σπεκτρίνη, α-σαρκογλυκάνη), ο οποίος βοηθά στη μετάδοση της μυϊκής τάσης από το σαρκομέριο στην κυτταρική μεμβράνη. Ο κυτταροσκελετός βοηθά επιπλέον στη διατήρηση της δομής των γραμμών Z των σαρκομερίων και της δομικής ακεραιότητας της κυτταρικής μεμβράνης (Feasson et al., 2002; Lieber, Thornell & Friden, 1996; Lovering & DeDeyne, 2004). Πιο συγκεκριμένα η δεσμίνη που αποτελεί μια δομική πρωτεΐνη του μυϊκού κυττάρου, που βοηθά στη διατήρηση της δομής των γραμμών Z, χάνει τη συνοχή της μετά από έκκεντρη άσκηση (Lieber et al., 1996). Πιστεύεται ότι η ζημιά που προκαλείται άμεσα στην πρωτεΐνη της δεσμίνης οδηγεί αρκετές μυϊκές ίνες στο



να χάσουν τη συνοχή της μεμβράνης τους. Μια άλλη πρωτεΐνη η δυστροφίνη αποτελεί μια μεγάλη πρωτεΐνη του κυτταροσκελετού που σχετίζεται με την κυτταρική μεμβράνη και πιστεύεται ότι παίζει ρόλο στη συνοχή της μεμβράνης κατά τη διάρκεια των επαναλαμβανόμενων μυϊκών συστολών που πραγματοποιούνται για την παραγωγή δυνάμεων. Αμέσως μετά από έκκεντρες συστολές χάνεται η συνέχεια της πρωτεΐνης (Koh & Escobedo, 2004; Komulainen, Takala, Kuipers & Hasselink, 1998) σε ορισμένες μυϊκές ίνες γεγονός που φαίνεται να οδηγεί στη διάσπαση της κυτταρικής μεμβράνης των μυϊκών κυττάρων (Lovering & De Deyne, 2004). Οι μυϊκές ίνες που έχουν υποστεί βλάβη αυξάνονται με το πέρασμα του χρόνου μέχρι και δυο μέρες μετά την άσκηση. Επίσης σε αρκετές μελέτες έχει παρατηρηθεί να καταστρέφεται η δομή της α-σαρκογλυκάνης μετά από έκκεντρη άσκηση (Feasson et al., 2002). Η απώλεια της πρωτεΐνης αυτής όπως και των παραπάνω σχετίζεται με τη σταθερότητα της κυτταρικής μεμβράνης.

Οι παραπάνω μεταβολές στη δομική ακεραιότητα των μυοϊνιδίων συνοδεύονται και από ρήξη της κυτταρικής μεμβράνης. Η διάσπαση της μεμβράνης μπορεί να ανιχνευθεί με δυο βασικές διαδικασίες. Στην πρώτη ανιχνεύεται το περιεχόμενο των μυϊκών κυττάρων (π.χ. κρεατινική κινάση ) που διαχέεται στον εξωκυττάριο χώρο, ενώ στη δεύτερη ανιχνεύονται μεγαλομόρια εντός των μυϊκών κυττάρων. Τα μόρια που συνήθως ανιχνεύονται για τη διαπίστωση της ρήξης της κυτταρικής μεμβράνης είναι διάφορες ισομορφές μυϊκών πρωτεϊνών όπως της κρεατινικής κινάσης (CK) και της τροπονίνης (Peake, Suzukib & Coombes, 2007), καθώς και πρωτεϊνών όπως η αλβουμίνη εντός του μυϊκού κυττάρου αφού κατά κανόνα βρίσκονται στο εξωκυττάριο διάστημα (Hamer, McGeachie, Davies & Grounds, 2002; McNeil & Khakee, 1992).

Δομικές αλλοιώσεις επίσης παρατηρούνται στο σαρκοπλασματικό δίκτυο και στα εγκάρσια σωληνάρια (Takemura, Fujinami, Nishizawa, Ogasawara & Kasuga, 2001; Yeung, Balnave, Ballard, Bourreau & Allen, 2002). Το σύνολο αυτό των αλλοιώσεων οδηγούν στη διαταραχή της σύζευξης του μηχανισμού διέγερσης-σύσπασης του μυ προκαλώντας μείωση της παραγόμενης δύναμης και διαρροή κατιόντων ασβεστίου ( $Ca^{2+}$ ) σχεδόν αμέσως μετά τη λήξη της τραυματιογόνου έκκεντρης άσκησης (Ingalls, Warren, Williams, Ward & Armstrong, 1998). Από έρευνες που πραγματοποιήθηκαν φάνηκε ότι η άμεση μείωση της δύναμης δεν έχει να κάνει τόσο με τη διάσπαση των μυοϊνιδίων όσο με τη διακοπή του μηχανισμού διέγερσης – συστολής (Waren et al., 1993).

Είναι γνωστό ότι για τη σωστή λειτουργία του μυϊκού κυττάρου το εξωκυττάριο ασβέστιο εμφανίζει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις από ότι το ενδοκυττάριο. Στο γεγονός

αυτό συμβάλλουν τόσο το σαρκοπλασματικό δίκτυο όσο και η κυτταρική μεμβράνη. Όταν ένα από τα δυο παραπάνω όργανα του κυττάρου υποστεί βλάβη τότε στο εσωτερικό του κυττάρου εμφανίζονται υψηλές συγκεντρώσεις ασβεστίου (Duan, Delp, Hayes, Delp & Armstrong, 1990). Επιπλέον από κάποιους άλλους ερευνητές διαπιστώθηκε ότι μετά από έκκεντρη άσκηση το ενδοκυτταρικό ασβέστιο σε κατάσταση ηρεμίας αυξήθηκε, ενώ η ποσότητα ασβεστίου που απελευθερωνόταν κατά τη διάρκεια τετανικών συστολών μειώθηκε (Ingalls, Warren, Williams, Ward & Armstrong, 1998).

Οι υψηλές συγκεντρώσεις του ασβεστίου εντός του κυττάρου εκτός από αποτέλεσμα μια βλάβης μπορούν να αποτελέσουν και την αιτία για την πρόκληση επιπλέον βλαβών στο μυϊκό κύτταρο. Σε πειράματα που έγιναν διαπιστώθηκε ότι σε μη ασκούμενους μύες η αύξηση του ενδοκυτταρικού ασβεστίου οδήγησε σε διάσπαση των γραμμών Z, αποδιοργάνωση των σαρκομερίων και των μυοϊνιδίων. Οι βλάβες αυτές είναι όμοιες με τη ζημιά που παθαίνουν τα μυϊκά κύτταρα μετά από έκκεντρες συστολές.

Συνοπτικά για το μηχανισμό πρόκλησης μυϊκού τραυματισμού θα μπορούσαμε να πούμε ότι όταν τα μυοϊνίδια μίας μυϊκής ίνας επιμηκύνονται κατά τη διάρκεια της μυϊκής σύσπασης, κάποια σαρκομέρια διαθέτουν μικρότερες δυνατότητες διάτασης από τα υπόλοιπα με αποτέλεσμα να μην μπορούν να ανταπεξέλθουν στην επιβάρυνση. Έτσι, κατά τη διάρκεια μίας έντονης έκκεντρης σύσπασης, δημιουργείται μία προοδευτική υπερδιάταση πρώτα των ασθενέστερων σαρκομερίων και στη συνέχεια των πιο ανθεκτικών. Κατά τη φάση της μυϊκής χαλάρωσης που ακολουθεί τη μυϊκή σύσπαση, τα μυοϊνίδια που φέρουν τα σαρκομέρια που υπεβλήθησαν σε αυτή την υπερδιάταση αποτυγχάνουν να επανακάμψουν δημιουργώντας έτσι μία δομική παραμόρφωση στα σαρκομέριά τους. Αυτή η δομική παραμόρφωση μπορεί να εξαπλωθεί σε γειτονικές περιοχές της μυϊκής ίνας προκαλώντας σε τελικό στάδιο τον τραυματισμό των μεμβρανών του σαρκοπλασματικού δικτύου, των εγκάρσιων σωληνάρων, του κυτταροσκελετού και του σαρκειλήματος με αποτέλεσμα τη διαταραχή της σύζευξης του μηχανισμού διέγερσης-συστολής του μυ και τη μείωση της παραγόμενης δύναμης (Peake, Nosaka & Suzuki, 2005). Η αλλοίωση του σαρκοπλασματικού δικτύου προκαλεί διαρροή ιόντων ασβεστίου ( $Ca^{2+}$ ) στο σαρκόπλασμα όπου και ενεργοποιεί πρωτεολυτικά μονοπάτια που με τη σειρά τους συμβάλλουν στον μυϊκό καταβολισμό με διάσπαση μυϊκών πρωτεϊνικών μορίων (Proske & Allen, 2005), οδηγώντας σε περαιτέρω μείωση της λειτουργικότητας του μυ (Faulkner & Jones, 1989). Η παραπάνω διαδικασία μυϊκού τραυματισμού φαίνεται ότι δημιουργεί μία σειρά συμπτωμάτων όπως απώλεια της μυϊκής λειτουργίας,

καθυστερημένο μυϊκό πόνο (DOMS) και διαρροή μυϊκών πρωτεϊνικών μορίων στο εξωκυττάριο διάστημα και στην κυκλοφορία του αίματος (ενδεικτικό του τραυματισμού της κυτταρικής μεμβράνης) (Close, Kayani, Vasilaki & McArdle, 2005).

Εδώ μπορεί να αναφερθεί ότι οι οξειδωτικές μυϊκές ίνες βραδείας σύσπασης φαίνεται ότι είναι πιο ανθεκτικές στον ασκησιογενή μυϊκό τραυματισμός πιθανά εξαιτίας της αυξημένης συγκέντρωσης συγκεκριμένων πρωτεϊνών του κυτταροσκελετού αλλά και των θερμοεπαγόμενων πρωτεϊνών που βοηθούν στην άμυνα του κυττάρου σε καταστάσεις στρες (heat shock proteins, HSP) (Koh, 2002).

### ***Πειραματικός προσδιορισμός του μυϊκού τραυματισμού***

Όπως έχει ήδη αναφερθεί ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος αποτελεί σύμπτωμα της μυϊκής καταστροφής που προκαλείται από την έκκεντρη άσκηση. Άλλα συμπτώματα είναι η μυϊκή αδυναμία, η σκληρότητα του μυ και το οίδημα. Επίσης η μυϊκή βλάβη μπορεί να ανιχνευθεί μέσω ιστολογικών μεταβολών, αύξησης των κυτταρικών πρωτεϊνών στο αίμα και υπερήχων. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος δε σχετίζεται απαραίτητα με τις αλλαγές που παρατηρούνται στο μυ.

Ορίζοντας αυστηρά τη μυϊκή βλάβη θα πρέπει να γίνεται αναφορά σε μορφολογικές μεταβολές τους. Ωστόσο η καταστροφή ορισμένων μόνο σαρκομερίων που βρίσκονται σε περιορισμένο αριθμό μυϊκών ινών έχει ως αποτέλεσμα να είναι δύσκολη ή ακριβής εκτίμηση της μυϊκής καταστροφής (Faulkner, Brooks & Opiteck, 1993). Αυτός είναι ο λόγος που τα συμπτώματα αναφέρονται συχνότερα ως δείκτες της μυϊκής καταστροφής.

Ο πρώτος δείκτης που θα γίνει αναφορά είναι η ροπή που μπορεί να αναπτύξει το άτομο και αποτελεί τον τρίτο πιο συχνά χρησιμοποιούμενο δείκτη στις έρευνες. Οι μετρήσεις της ροπής θα πρέπει να γίνονται στην ίδια γωνία άρθρωσης καθώς δυο ίσες τιμές ροπής που αναπτύσσονται σε δυο διαφορετικές γωνίες της άρθρωσης δεν απαιτούν απαραίτητα την ίδια τιμή δύναμης από τις μυϊκές ομάδες. Επίσης όταν η μέτρηση της ροπής γίνεται στην ίδια γωνία της άρθρωσης θα πρέπει να διατηρείται η ίδια αναλογία μήκος μυός/ιδανικό μήκος μυός.

Η ροπή επίσης εξαρτάται από την ταχύτητα κίνησης του μέλους. Πιο συγκεκριμένα όλες οι μετρήσεις της ροπής θα πρέπει να γίνονται με την ίδια ταχύτητα σύσπασης του μυ. Ωστόσο αυτό μπορεί να πραγματοποιηθεί μόνο κατά την ισομετρική σύσπαση καθώς στις ισονοτικές συσπάσεις δεν μπορεί να καθοριστεί η ταχύτητα κίνησης του μέλους. Επίσης η

ροπή που παράγει κάποιο άτομο εξαρτάται από την κόπωση, το κίνητρο και τον πόνο που νιώθει το άτομο. Κατ' αρχήν είναι δύσκολο να διαχωριστεί η επίδραση της κόπωσης και της μυϊκής καταστροφής στη μείωση της ροπής (Fitts, 1994). Ακόμη και άτομα που έχουν έντονη εσωτερική παρακίνηση είναι αμφισβητήσιμο αν κατά τη μέγιστη προσπάθεια ενεργοποιούνται μέγιστα όλες οι κινητικές μονάδες (Gibala, MacDougall, Tarnopolsky et al., 1995; Sale, 1987; Tesch, Dudley, Duvoisin et al., 1990). Κάποιοι ερευνητές στην προσπάθειά τους να αντιμετωπίσουν το πρόβλημα αυτό χρησιμοποίησαν ηλεκτρική διέγερση στο μυ ωστόσο η μέθοδος αυτή εμφανίζει προβλήματα εγκυρότητας καθώς διεγείρεται ένα μέρος του μυ ή της μυϊκής ομάδας.

Όσο αφορά την αξιοπιστία του δείκτη αυτού είναι σχετικά υψηλή ( $\geq 0.85$ ) (Abernethy, Wilson & Logan, 1995; Kellis & Baltzopoulos, 1995). Σύμφωνα με τους Warren και συν. (1999) η μέτρηση της μέγιστης ροπής αποτελεί τον καλύτερο δείκτη για την καταστροφή που έχει υποστεί ο μυς. Επιπλέον η μείωση της παραγόμενης ροπής από τη μυϊκή ομάδα διατηρείται καθ' όλη τη διάρκεια της αποδόμησης και αναγέννησης του μυ μέχρι να επανέλθει στα επίπεδα πριν τον τραυματισμό του.

Ένας άλλος δείκτης είναι το εύρος κίνησης μιας άρθρωσης που περιορίζεται από το μήκος του μυός (για απλές αρθρώσεις). Το εύρος κίνησης καθορίζεται από πολλούς παράγοντες όπως οι τένοντες, τα οστά, οι μύες κ.ά. Ο δείκτης αυτός χρησιμοποιείτε περίπου στο 1/5 των ερευνών που πραγματοποιούνται σε ανθρώπους (Warren, Lowe & Armstrong, 1999). Από τη βιβλιογραφία φαίνεται ότι στις περισσότερες από αυτές τις μελέτες μετρείται η γωνία μεταξύ της μέγιστης κάμψης και της χαλάρωσης (Rodenburg, Bar & Deboer, 1993; Rodenburg, Steenbeek, Schiereck et al., 1994; Saxton, Clarkson, James et al., 1995)).

Η αξιοπιστία της μέτρησης του εύρους κίνησης έχει μελετηθεί ιδιαίτερα σε έρευνες που σχετίζονται με την αποκατάσταση (Gajdosik & Bohannon, 1987; Rothstein, Miller & Roettger, 1983) και ανάλογα με τον τρόπο που εκτελείται παρουσιάζει μικρή έως μέτρια αξιοπιστία.

Οι ιστολογικές αναλύσεις που πραγματοποιούνται με τη χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου πραγματοποιούνται περίπου στο 25% των ερευνών. Η ιστοπαθολογία των μυϊκών ινών μετά από έκκεντρη άσκηση φάνηκε να έχει μικρή συσχέτιση με λειτουργικές μετρήσεις (π.χ. μέγιστη ροπή) όσο αφορά την έκταση της βλάβης και τη χρονική στιγμή εμφάνισης της. Ορισμένα από τα βασικά προβλήματα του δείκτη αυτού είναι τα παρακάτω:



- Συνήθως η μυϊκή βιοψία προέρχεται από ένα μυ και αποτελεί ένα πολύ μικρό μέρος του (10-50 mg) και έτσι γεννιέται το ερώτημα αν το κομμάτι αυτό της βιοψίας αντικατοπτρίζει όλο το μυ που εμπλέκεται στη δραστηριότητα.

- Έχει αναφερθεί ότι ο τραυματισμός του έξω πλατύ μυ από τη μυϊκή βιοψία δεν έχει επουλωθεί πλήρως μετά από 2 εβδομάδες (Staron, Hikida, Murray et al., 1992). Το γεγονός αυτό θέτει σε κίνδυνο την εγκυρότητα και αξιοπιστία της διαδικασίας.

- Ακόμη η διαδικασία της μυϊκής βιοψίας έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης ενός άλλου δείκτη μυϊκής καταστροφής της κρεατινικής κινάσης στο αίμα (Hikida, Staron, Hagerman et al., 1991).

- Η μείωση της μέγιστης ροπής δε φαίνεται να σχετίζεται άμεσα με τον αριθμό των μυϊκών ινών που έχουν υποστεί βλάβη (Friden, Sjostrom & Ekblom, 1983).

Τα επίπεδα της κρεατινικής κινάσης, της γαλακτικής αφυδρογονάσης, της γλουταμικής-οξαλοακετικής τρανσαμινάσης, της μυοσίνης και/ή της μυοσφαιρίνης στο αίμα χρησιμοποιούνται ως δείκτες μυϊκής καταστροφής μετά από έκκεντρη άσκηση. Οι αλλαγές των συγκεντρώσεων στα επίπεδα του αίματος των κυτταρικών πρωτεϊνών εμφανίζουν περιορισμένη συσχέτιση με τη μείωση της λειτουργικότητας του μυ (Clarkson & Dedrick, 1988; Clarkson & Ebbeling, 1988; Newham, Jones & Clarkson, 1987) αν και υπάρχει και περιορισμένος αριθμός ερευνών που υποστηρίζουν το αντίθετο, δηλαδή την υψηλή συσχέτιση μεταξύ τους (Rodenburg, Bar & Deboer, 1993). Ακόμη κάποιοι άλλοι βιοχημικοί δείκτες που χρησιμοποιούνται είναι τα ένζυμα αλδολάση, ασπαρτική αμινοτρανφεράση, οι πρωτείνες μυοσφαιρίνη, τροπονίνη και οι δεσμευτικές πρωτείνες λιπαρών οξέων (FABP) (Brancaccio, Lippi & Maffulli, 2010)

Επιπλέον μαρτυρίες για την περιορισμένη συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων των κυτταρικών πρωτεϊνών στο αίμα και την ικανότητα σύσπασης του μυ προέρχονται από την επίδραση ενός επαναλαμβανόμενου πρωτοκόλλου έκκεντρης άσκησης. Πιο συγκεκριμένα αυτή η μορφή άσκησης έχει ως αποτέλεσμα να περιορίζεται η εκροή της κρεατινικής κινάσης καθώς και της ικανότητας σύσπασης του μυ (Newham et al., 1987).

Ο μυϊκός πόνος αποτελεί τον πιο συχνά χρησιμοποιούμενο δείκτη μυϊκής βλάβης. Ο συνηθέστερος τρόπος εκτίμησής του είναι με τη χρήση οπτικής αναλογικής κλίμακας. Ωστόσο υπάρχουν πολλές μελέτες από τις οποίες φαίνεται μικρή συσχέτιση με τη λειτουργικότητα του μυ (Howell, Chleboun & Conatser, 1993; Saxton, Clarkson, James et al., 1995) τόσο όσο αφορά την έκταση όσο και τη χρονική στιγμή εμφάνισης.

Επίσης από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας φαίνεται ότι χρησιμοποιούνται και κάποιοι άλλοι δείκτες για την εκτίμηση της μυϊκής βλάβης όπως είναι η μαγνητική τομογραφία και οι υπέρηχοι. Ωστόσο και στη χρήση αυτών των εργαλείων φαίνεται να μην υπάρχει συσχέτιση όσο αφορά το χρονικό σημείο εμφάνισης της μέγιστης αλλοίωσης στο μυ με τη μέγιστη μείωση στη λειτουργικότητά του.

Οι δείκτες που προαναφέρθηκαν χρησιμοποιούνται σε μελέτες που γίνονται σε ανθρώπους. Στη συνέχεια θα γίνει μια σύντομη αναφορά και σε δείκτες που χρησιμοποιούνται στα ζώα. Πρώτο δείκτη αποτελεί η μέγιστη ισομετρική τετανική ροπή που μετριέται *in situ* (το νεύρο του μυ ή ο απομακρυσμένος τένοντας κόβεται και προσαρμόζεται σε ειδική κατασκευή) ή *in vitro* (έχει απομακρυνθεί ο μυς από το ζώο). Στη μέτρηση της ροπής *in vivo* (όπως είναι το ζώο) προσμετρείται και η δραστηριότητα συνεργιστικών μυών. Ένας άλλος δείκτης είναι οι καμπύλες παραγόμενης δύναμης σε συνάρτηση με τη συχνότητα διέγερσης (Balnave & Allen, 1995; Brooks, Zerba & Faulkner, 1995). Η ιστολογική ανάλυση αποτελεί έναν ακόμη δείκτη για την εκτίμηση της μυϊκής καταστροφής όπως και οι πρωτεΐνες των μυϊκών ινών (κρεατινική κινάση και γαλακτική αφυδρογονάση) που ανιχνεύονται στο αίμα. Τέλος σε ορισμένες μελέτες μετριέται η δραστηριότητα ενζύμων όπως η β-γλυκουρονιδάση ή της γλυκόζη-6-φωσφορικό άλας-διυδρογενάση που πιστεύεται ότι αντανακλούν διαδικασίες αποδόμησης στον ιστό (Abernethy, Wilson & Logan, 1995).

Όσο αφορά τις μελέτες που πραγματοποιούνται σε ανθρώπους φαίνεται η μέγιστη ροπή και το εύρος κίνησης να αποτελούν τους πιο αξιόπιστους δείκτες για την εκτίμηση της μυϊκής καταστροφής. Όσο αφορά τη ροπή θα πρέπει να μετριέται ισομετρικά ή σε ισοκινητικό δυναμόμετρο έτσι ώστε να μπορεί να οριστεί η σχέση ροπής και γωνιακής ταχύτητας.

Η μέτρηση του μυϊκού πόνου και των κυτταρικών πρωτεϊνών στο αίμα έχουν ορισμένους περιορισμούς καθώς δε συμπίπτουν χρονικά με τη μείωση της λειτουργικότητας του μυ.

Όσο αφορά την ιστοπαθολογία το γεγονός ότι η μυϊκή βλάβη δε συμβαδίζει με τη μείωση της λειτουργικότητας του μυ περιορίζει την αξιοπιστία του δείκτη στην εκτίμηση της μυϊκής καταστροφής. Ωστόσο η ιστολογία και οι άλλες μέθοδοι όπου λαμβάνονται εικόνες όπως η μαγνητική τομογραφία είναι χρήσιμα εργαλεία για τη διερεύνηση των μηχανισμών της μείωσης της ροπής και του εύρους κίνησης.



Από όλα όσα προαναφέρθηκαν γίνεται κατανοητό ότι για την όσο το δυνατόν καλύτερη εκτίμηση της μυϊκής καταστροφής θα πρέπει να χρησιμοποιούνται αρκετοί δείκτες από αυτούς που προαναφέρθηκαν. Στην παρούσα μελέτη γίνεται χρήση πολλών δεικτών για την «ποσοτικοποίηση» της μυϊκής καταστροφής (ροπή, εύρος κίνησης, CK, ιστολογική ανάλυση).

### ***Μοντέλα πειραματικής πρόκλησης μυϊκού τραυματισμού***

Για την καλύτερη κατανόηση του μυϊκού τραυματισμού τις τελευταίες τρεις δεκαετίες χρησιμοποιήθηκαν διάφορα μοντέλα πρόκλησης τραυματισμού τόσο σε ζώα όσο και σε ανθρώπους. Ξεκινώντας με τις διαδικασίες που εφαρμόστηκαν σε ανθρώπους όπως γίνεται αντιληπτό η επιλογή τους είχε και έχει ηθικούς περιορισμούς. Για το λόγο αυτό τα περισσότερα ανθρώπινα μοντέλα προκαλούν μυϊκή καταστροφή μέσω κάποιου είδους άσκησης, που αποτελεί μια φυσιολογική δραστηριότητα. Το είδος της άσκησης που χρησιμοποιείται είναι οι έκκεντρες συστολές (Komi & Viitasalo, 1977; Nosaka, Sakamoto, Newton & Sacco, 2001).

Τα έκκεντρα μοντέλα μπορούν να χωριστούν σε δυο ομάδες: α) σε αυτά που πραγματοποιούνται έκκεντρες συσπάσεις σε συγκεκριμένες μυϊκές ομάδες και β) σε αυτά που ο εθελοντής συμμετέχει με όλο του το σώμα σε μια δραστηριότητα που περιλαμβάνει έκκεντρα στοιχεία (π.χ. τρέξιμο σε κατωφέρεια).

Στην πρώτη κατηγορία περιλαμβάνονται μοντέλα που εφαρμόζονται στις μυϊκές ομάδες μια άρθρωσης όπου απομονώνεται μια συγκεκριμένη κίνηση. Η κατηγορία αυτή μπορεί επιπλέον να χωριστεί α) σε πρωτόκολλα στα οποία εφαρμόζεται ισοκινητική κίνηση και β) σε αυτά που εφαρμόζεται ισοτονική κίνηση. Οι πιο συνηθισμένες μυϊκές ομάδες στις οποίες προκαλείται μυϊκός τραυματισμός είναι οι καμπτήρες του αγκώνα. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται είτε ισοκινητικά μηχανήματα είτε ελεύθερα βάρη. Γίνεται αντιληπτό ότι με τη χρήση βαρών η έκκεντρη συστολή είναι υπομέγιστη και ενδεχομένως όχι πολύ καλά ελεγχόμενη. Ωστόσο έχουν χρησιμοποιηθεί και αυτοσχέδιες κατασκευές για την έκκεντρη σύσπαση των μυών (Clarkson, Byrnes, McCormick, Turcotte & White, 1986). Στην πλειονότητα των ερευνών το ένα χέρι χρησιμοποιήθηκε για το πρωτόκολλο και το άλλο για έλεγχο έτσι ώστε να γίνει η σύγκριση. Από τις υπάρχουσες μελέτες φαίνεται ότι το εύρος κίνησης της άρθρωσης μπορεί να είναι πλήρες ή πιο περιορισμένο (50° κάμψη 130° έκταση ή 100° κάμψη 180° έκταση) (Nosaka & Sakamoto

2001; Nosaka et al., 2001). Τέλος ο αριθμός των έκκεντρων συσπάσεων ποικίλει και αυτός από 6 έως 125 (Lambert, Marcus, Burgess & Noakes, 2002).

Η δεύτερη μυϊκή ομάδα που χρησιμοποιείται πιο συχνά είναι οι εκτεινόντες της κνήμης. Όπως και στους καμπτήρες της άρθρωσης του αγκώνα ο εθελοντής μπορεί να κάνει ένα σύνολο έκκεντρων συσπάσεων σε ισοκινητικό δυναμόμετρο ή ισοτονικές συσπάσεις σε μηχανήμα γυμναστικής. Η θέση του και στις δυο περιπτώσεις είναι πανομοιότυπη, δηλαδή καθιστός με σταθεροποιημένο τον κορμό και το μηρό με μάντες, ενώ το κάτω μέρος του ποδιού στερεώνεται στον περιστρεφόμενο βραχίονα του μηχανήματος. Ο εθελοντής όσο αφορά το ισοκινητικό μηχανήμα προσπαθεί να διατηρήσει την άρθρωση του γόνατος σε έκταση ενώ το μηχανήμα εφαρμόζει δύναμη στην κνήμη και τον οδηγεί σε έκκεντρη σύσπαση του τετρακέφαλου. Από τις υπάρχουσες μελέτες διαπιστώνεται ποικιλία τόσο στις επαναλήψεις όσο στην ταχύτητα κίνησης και στο εύρος κίνησης. Πιο συγκεκριμένα το εύρος κίνησης ποικίλει από 110° και 165° στην έκταση έως 35° και 90° στην κάμψη (Babul, Rhodes, Taunton & Lepawsky, 2003; Stupka, Tarnopolsky, Yardley & Phillips, 2001). Ακόμη οι μελέτες διαφέρουν και στον αριθμό των επαναλήψεων που χρησιμοποιούν και που φτάνουν από τις 40 (Komi & Viitasalo, 1977) έως τις 300 (Babul et al., 2003; Chen, Hubal, Hoffman, Thompson & Clarkson, 2003).

Στη συνέχεια θα παρουσιάσουμε τα μοντέλα της δεύτερης κατηγορίας, εκείνα δηλαδή που ο εθελοντής συμμετέχει σε μια δραστηριότητα που περιλαμβάνει έκκεντρα στοιχεία. Σε αντίθεση με τα μοντέλα που περιγράφηκαν προηγουμένως εδώ συμμετέχουν πολλές μυϊκές ομάδες και πολλές αρθρώσεις. Έτσι ο τραυματισμός δεν εστιάζεται σε μια συγκεκριμένη μυϊκή ομάδα και είναι πιο δύσκολο να ταυτοποιηθεί. Επιπλέον το έκκεντρο στοιχείο της δραστηριότητας έχει μικρότερη ένταση σε σχέση με αυτά που εφαρμόζονται στις απομονωμένες μυϊκές ομάδες και για να ξεπεραστεί αυτό το μειονέκτημα συνήθως τα πρωτόκολλα αυτά έχουν πολύ μεγαλύτερη διάρκεια.

Ένα μοντέλο που χρησιμοποιείται είναι το ανεβοκατέβασμα σκάλας. Ο εθελοντής ξεκινά πάνω σε ένα σκαλί και κατεβαίνει από αυτό (Duarte et al., 1999). Το πόδι που χρησιμοποίησε για να κατέβει στη συνέχεια το χρησιμοποιεί για να ανέβει στο σκαλί. Η διαδικασία αυτή συνεχίζεται είτε για συγκεκριμένο αριθμό επαναλήψεων (300-900) είτε μέχρι την εξάντληση. Το ύψος του σκαλιού ορίζεται συνήθως στο 110% του μήκους της κνήμης του ατόμου, ενώ η ταχύτητα είναι περίπου στους 15 κύκλους το λεπτό (Newham, McPhail, Mills & Edwards, 1983).

Παρόμοια μοντέλα με το παραπάνω είναι το τρέξιμο και το περπάτημα σε κατωφέρεια. Στη δραστηριότητα αυτή έκκεντρες συστολές πραγματοποιούν από τους εκτεινόντες μύες της κνήμης. Το πρωτόκολλο αυτό συνήθως εφαρμόζεται σε εργοδιάδρομο με κλίση από -5% (Akimoto et al, 2002) έως -25% (Balnave & Thompson, 1993). Η ταχύτητα του διαδρόμου στις περισσότερες μελέτες οριζόταν στο 70-77% της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου ή της μέγιστης καρδιακής συχνότητας.

Ακόμη ένα άλλο μοντέλο που χρησιμοποιείται στον άνθρωπο είναι το παρατεταμένο τρέξιμο όπως είναι ο μαραθώνιος ή ο υπερμαραθώνιος. Ωστόσο επειδή τις αποστάσεις αυτές μπορούν να τις διανύσουν μόνο καλά γυμνασμένοι αθλητές πολλές φορές τα ευρήματα για το μυϊκό τραυματισμό δεν είναι σημαντικά (Koller et al., 1998; Noakes, Kotzenberg, McArthur & Dykman, 1983).

Οι Warren και Palubinskas (2008) σύγκριναν τα παραπάνω μοντέλα όσο αφορά την πρόκληση του μυϊκού τραυματισμού. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποίησαν δυο δείκτες, τη μέγιστη συγκέντρωση της κρεατινικής κινάσης στο αίμα και τη μείωση της μέγιστης ισομετρικής δύναμης. Με βάση τον πρώτο δείκτη δε βρέθηκαν διαφορές μεταξύ των πρωτοκόλλων. Όσο αφορά όμως τη μέγιστη ισομετρική δύναμη αυτό που βρέθηκε ήταν ότι οι καμπτήρες του αγκώνα εμφάνισαν μεγαλύτερη μείωση της δύναμης από ότι οι μύες των ποδιών (Jamurtas et al., 2005). Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι οι εκτεινόντες μύες του γονάτου επιφορτίζονται με περισσότερες έκκεντρες συστολές στην καθημερινότητα (π.χ. κατέβασμα σκάλας) και έτσι είναι περισσότερο προετοιμασμένοι στα πρωτόκολλα που εφαρμόζονται (Warren & Palubinskas, 2008). Ωστόσο υπάρχουν μελέτες που δείχνουν να μη διαφοροποιούνται σημαντικά στη διάρκεια της ημέρας οι συσπάσεις του δικέφαλου βραχιονίου με αυτές του μέσου και έξω πλατύ (Kem, Semmler & Enoka, 2001).

Η μελέτη του μυϊκού τραυματισμού σε ζώα πρωτάρχησε τη δεκαετία του 1980. Τα μοντέλα που χρησιμοποιήθηκαν στα ζώα εμφάνιζαν μεγαλύτερη ποικιλία και μπορούν να διακριθούν σε δυο κατηγορίες α) σε αυτά που περιλαμβάνουν έντονη ή έκκεντρη μυϊκή σύσπαση και σε αυτά β) που περιλαμβάνουν άμεση πρόκληση τραύματος στο μυ.

Τα πρωτόκολλα που περιλαμβάνουν μυϊκή σύσπαση διακρίνονται σε αυτά όπου η μελετώμενη μυϊκή ομάδα είναι στο ζώο (in vivo) σε αυτά όπου ο απομακρυσμένος τένοντας της μυϊκής ομάδας έχει χειρουργικά αποκοπεί από το οστό και έχει συνδεθεί σε κάποια εξωτερική συσκευή (in situ) και σε αυτά όπου έχει αφαιρεθεί από το ζώο η μυϊκή ομάδα και στη συνέχεια έχει προκληθεί ο τραυματισμός της (in vitro).

Το πιο κοινό μοντέλο *in vivo* είναι το περπάτημα ή το τρέξιμο σε κατωφέρεια που εφαρμόζεται σε αρουραίους (Armstrong, Ogilvie & Schwane 1983). Η εφαρμογή του έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση μυϊκού τραυματισμού σε αρκετές μυϊκές ομάδες (Armstrong et al., 1983; Komulainen & Vihco, 1994; Oligvie, Armstrong, Baird & Bottoms, 1988; Smith, Plyley, Rodgers & McKee, 1997). Ωστόσο η εφαρμογή του μοντέλου σε ποντίκια προκαλεί πιο περιορισμένη μυϊκή καταστροφή παρόλο το μεγαλύτερο χρονικό διάστημα άσκησης (Carter et al., 1994).

Ένα δεύτερο μοντέλο *in vivo* είναι η πρόκληση έκκεντρων συσπάσεων με τη βοήθεια ηλεκτροδίων σε μυϊκές ομάδες κουνελιών που έχουν αναισθητοποιηθεί. Η συσκευή που χρησιμοποιείται οδηγεί το σκέλος στην κίνηση που θέλουμε να κάνει ενώ ταυτόχρονα με ηλεκτρική διέγερση στις κατάλληλες μυϊκές ομάδες (είναι αυτές που θέλουμε να συσπαστούν έκκεντρα) το κουνέλι ανθίσταται στην κίνηση αυτή. Τα χαρακτηριστικά των πρωτοκόλλων που χρησιμοποιούνται τόσο σε αυτή την κατηγορία όσο και στην παραπάνω ποικίλουν (επαναλήψεις, διάρκεια, ταχύτητα κίνησης, διαλείμματα κ.ά.).

Τα μοντέλα *in situ* έγιναν ιδιαίτερα γνωστά με δυο μελέτες των McCully και Faulkner (1985, 1986). Όπως έχει αναφερθεί ο μυς διεγείρεται ηλεκτρικά για να συσπαστεί έκκεντρα με το ένα άκρο του να προσαρμόζεται σε κάποια συσκευή για το σκοπό αυτό. Στα πρωτόκολλα αυτά η έκταση της έκκεντρης συστολής ποικίλλει και συνήθως εκφράζεται ως ποσοστό του συνολικού μήκους του μυός. Η διάταση που εφαρμόζεται στο μυ πολλές φορές δεν είναι ανατομικά δυνατή στο ζώο (Burkholder & Lieber, 2001) και το γεγονός αυτό αποτελεί και το βασικότερο μειονέκτημα του μοντέλου.

Στα πρωτόκολλα *in vitro* ο τραυματισμός στις μυϊκές ίνες ή στο μυ προκαλείται μετά την αφαίρεση του μυός από το ζώο. Αν και τη δεκαετία του 1980 ο μυϊκός τραυματισμός προκαλούνταν με την έκθεση του μυ σε κάποιον επιβλαβή παράγοντα στις μέρες μας προκαλείται από τις έκκεντρες συσπάσεις που πραγματοποιεί κάτω από την επίδραση της ηλεκτρικής διέγερσης. Για να πραγματοποιηθεί αυτό και τα δυο άκρα του μυ προσαρμόζονται στην ειδική συσκευή. Η σημαντικότερη διαφορά των μοντέλων αυτών με αυτά *in vivo* και *in situ* είναι ο αριθμός των έκκεντρων συσπάσεων και το διάλειμμα μεταξύ τους (Warren et al., 1996). Πιο συγκεκριμένα στο μοντέλο αυτό γίνονται 5 με 20 έκκεντρες συσπάσεις όταν στις άλλες δυο κατηγορίες χρειάζεται δεκαπλάσιος αριθμός συστολών για την πρόκληση παρόμοιας μυϊκής καταστροφής.



Στις περιπτώσεις που οι επιστήμονες θέλουν να δουν τον τρόπο ανάπτυξης (δορυφορικά κύτταρα) του μυϊκού ιστού μετά από τραυματισμό συνήθως χρησιμοποιούν μοντέλα όπου προκαλούν άμεσο τραύμα στο μυ. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται διάφορα μυοτοξικά και καρδιοτοξικά δηλητήρια φιδιών, άμεσο πλήγμα του μυ με αντικείμενο, κάποιο τοπικό αναισθητικό κ.ά. Ωστόσο σε κάποιες από τις μεθόδους αυτές μπορεί να προκληθεί πολύ μεγάλη μυϊκή καταστροφή που είναι μη αναστρέψιμη.

### ***Καθυστερημένος μυϊκός πόνος***

Όπως προαναφέρθηκε ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος αποτελεί τον πιο συχνά μετρούμενο δείκτη μυϊκού τραυματισμού. Η ασυνήθιστη άσκηση και ιδιαίτερα αυτή που περιλαμβάνει έκκεντρες συσπάσεις προκαλεί μυϊκή καταστροφή. Ένα από τα πιο έντονα συμπτώματα είναι ο πόνος που εμφανίζεται στις μυϊκές ομάδες που ασκήθηκαν. Με τον όρο πόνος η διεθνής ομοσπονδία μελέτης του πόνου εννοεί μια “μη ευχάριστη αίσθηση και συναισθηματική εμπειρία που σχετίζεται με βλάβη σε κάποιον ιστό” (Merskey & Bogduk, 1994). Ο πόνος αποτελεί βασική αίσθηση που μας πληροφορεί για κάποια ανωμαλία στο σώμα, όμως είναι δύσκολο να εκτιμηθεί όταν υποφέρουμε από αυτόν. Το πώς γίνεται αντιληπτός ο πόνος από κάποιο άτομο εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως η ηλικία, το φύλο αλλά και κοινωνικοπολιτισμικές συνθήκες (Unruh, Strong & Wright, 2002).

Σύμφωνα με τον ορισμό που δόθηκε παραπάνω για τον πόνο α) ο πόνος μπορεί να γίνει αισθητός πριν πραγματοποιηθεί σοβαρή ζημιά στον ιστό, β) η ένταση του πόνου πρέπει να αντανακλά τη σοβαρότητα της βλάβης και γ) η διάρκεια του πόνου πρέπει να συμβαδίζει με τη διαδικασία επούλωσης του ιστού. Ωστόσο ο πόνος πολλές φορές εμφανίζεται χωρίς να είναι εμφανής η βλάβη στον ιστό και γενικότερα χωρίς να αντιστοιχεί απαραίτητα με το μέγεθος της ζημιάς του ιστού (Melzack, 1982).

Υπάρχουν δυο κλινικές συνθήκες του πόνου φυσιολογικός και νευρικής φύσεως (Kingsley, 2002). Ο τραυματισμός του ιστού και η φλεγμονή που αναπτύσσεται ερεθίζει άμεσα τους υποδοχείς του πόνου. Ο χρόνιος πόνος μπορεί να σχετίζεται με αλλαγές στο νευρικό σύστημα (Unruh et al., 2002). Ο πόνος νευρικής φύσεως φαίνεται να μην έχει κάποια φυσιολογική λειτουργία (Millan, 1999) και πιθανότατα δεν αποτελεί προειδοποιητικό σήμα για τον οργανισμό.

Ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος που εμφανίζεται μετά από έντονη ή ασυνήθιστη άσκηση συνδυάζεται με ευαισθησία και σκληρότητα του μυ για αρκετές μέρες. Τις περισσότερες φορές εμφανίζεται εντός του πρώτου 24ώρου μετά την άσκηση και φτάνει

τη μέγιστη τιμή του μέχρι 48 με 72 ώρες μετά. Ο πόνος είναι ιδιαίτερα αισθητός όταν οι μύες που ασκήθηκαν συσπαστούν, πιεστούν ή διαταθούν.

Ο μυϊκός πόνος μπορεί να αναπτυχθεί στη διάρκεια άσκησης όπως το παρατεταμένο τρέξιμο και να επιδεινωθεί κατά τη διάρκεια των ημερών αποκατάστασης. Ο πόνος που εμφανίζεται μετά τη λήξη της άσκησης φαίνεται να οφείλεται στο μυϊκό τραυματισμό από τις έκκεντρες συσπάσεις (Armstrong, 1984).

Ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος ταξινομείται ως μυϊκός τραυματισμός πρώτου βαθμού (Gulick & Kimura, 1996; Safran, Seaber & Garrett, 1989) και εμφανίζεται με ευαισθησία και σκληρότητα κατά τη ψηλάφηση ή την κίνηση της μυϊκής ομάδας που ασκήθηκε (Gulick & Kimura, 1996). Αν και η σχετική παθοφυσιολογία που σχετίζεται με τον πόνο αυτό είναι υποκλινική (Armstrong & Warren, 1993) η αίσθηση μπορεί να ποικίλλει από μια ελαφριά δυσκαμψία του μυ που χάνεται στη διάρκεια των δραστηριοτήτων της ημέρας έως έναν πολύ έντονο πόνο που περιορίζει την κινητικότητα.

Η ευαισθησία εμφανίζεται στα περιφερικά τμήματα του μυ (Armstrong, 1984; Armstrong & Warren, 1993; Garrett, 1996; MacIntyre, Reid & McKenzie, 1995) και γίνεται εντονότερος προοδευτικά στις 24 με 48 ώρες μετά την άσκηση (MacIntyre et al., 1995). Αυτή η τοπική αίσθηση του πόνου μπορεί να εξηγηθεί από υψηλή συγκέντρωση των μυϊκών υποδοχέων του πόνου στο μυοτενόντιο συνδετικό ιστό (Newhamn, Mills, Qquigley & Edward, 1982).

Ο πόνος αυτός συνήθως συνδέεται με μη συνηθισμένη έντονη φυσική δραστηριότητα και εντείνεται όταν η άσκηση περιλαμβάνει έκκεντρες συσπάσεις (Armstrong & Warren, 1993). Η έκκεντρη δραστηριότητα χαρακτηρίζεται από επιμήκυνση του μυ κατά τη σύσπασή του. Έτσι αν η εξωτερική αντίσταση υπερβαίνει την ικανότητα του μυ να την υπερνικήσει ή να τη σταθεροποιήσει ο μυς επιμηκύνεται δημιουργώντας μια τάση στα σαρκομέρια (Stauber, 1989). Οι εγκάρσιες γέφυρες που σχηματίζονται στη διάρκεια των έκκεντρων συσπάσεων παράγουν υψηλότερες δυνάμεις. Το γεγονός αυτό έχει ως αποτέλεσμα να αναπτύσσεται υψηλότερη τάση σε κάθε ενεργή κινητική μονάδα και έτσι αυξάνεται και η πιθανότητα για τραυματισμό των μυοτενόντιων στοιχείων.

### ***Μηχανισμός του καθυστερημένου μυϊκού πόνου***

Μέχρι σήμερα έχουν προταθεί αρκετές θεωρίες για την εξήγηση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου όπως αυτή του γαλακτικού οξέος, του μυϊκού σπασμού, της βλάβης του συνδετικού ιστού, της μυϊκής καταστροφής, της φλεγμονής και θεωριών



εκροής ενζύμων (Cleak & Eston, 1992; Gulick & kimura, 1996). Στη συνέχεια θα αναφερθούν συνοπτικά οι παραπάνω θεωρίες. Σύμφωνα με τη θεωρία του γαλακτικού οξέος η συγκέντρωσή του συνεχίζει να αυξάνεται μετά την άσκηση. Παλαιότερα που δεν είχε αναγνωριστεί η σημασία του γαλακτικού οξέος πίστευαν ότι ο πόνος είναι αποτέλεσμα αυτής της συγκέντρωσης (Armstrong, 1984; Francis & Hoobler, 1987; Gulick & Kimura, 1996.). Ωστόσο η θεωρία αυτή σύντομα απορρίφθηκε καθώς η μεγαλύτερη μεταβολική ενεργοποίηση κατά τη σύγκεντρη μυϊκή εργασία είχε ως αποτέλεσμα την εμφάνιση λιγότερου πόνου (Asmussen, 1956). Επιπλέον η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος επανέρχεται στα πριν την άσκηση επίπεδα μέσα σε δυο ώρες από το τέλος της άσκησης και έτσι δεν μπορούσε να υπάρξει συσχέτιση του πόνου που ένιωθε κάποιος 48 ώρες μετά την άσκηση (Schwane, Hatrous, Johnson et al., 1983). Το γαλακτικό οξύ ίσως σχετίζεται με τον πόνο που νιώθει κάποιος κατά τη διάρκεια και αμέσως μετά από πολύ έντονη προσπάθεια όχι όμως με τον πόνο έπειτα από 24-48 ώρες (Cazola, Petiboy, Bosquet & Leger, 2001).

Η θεωρία του μυϊκού σπασμού προτάθηκε (de Vries, 1961) όταν παρατηρήθηκε αυξημένη μυϊκή ενεργοποίηση κατά τη διάρκεια της αποκατάστασης μετά από έκκεντρη άσκηση (Gulick & Kimura, 1996). Προτάθηκε ότι η ενεργοποίηση αυτή προκαλείται από σπασμό των κινητικών μονάδων. Το γεγονός αυτό οδηγεί με τη σειρά του σε συμπίεση των τοπικών μικρών αρτηριών προκαλώντας ισχαιμία και τη συγκέντρωση ουσιών που προκαλούν πόνο. Στη συνέχεια ο πόνος δημιουργούσε αντανακλαστικό μυϊκό σπασμό επιτείνοντας τις συνθήκες ισχαιμίας με το φαύλο κύκλο να συνεχίζεται (de Vries & Quantitative, 1966). Ωστόσο από μελέτες που χρησιμοποίησαν ηλεκτρομυογραφία (EMG) φάνηκε ότι μύες με έντονο πόνο δεν εμφάνιζαν ηλεκτρομυογραφική δραστηριότητα (Abraham, 1977; Newham, Mills & Edwards, 1983) σε αντίθεση με άλλους που είχαν σπασμούς αλλά χωρίς να υπάρχει συσχέτιση του μεγέθους των σπασμών με την ένταση του πόνου (Bobbert, Hollander & Huijing, 1986).

Η θεωρία της βλάβης του συνδετικού ιστού εξετάζει το ρόλο του στη δημιουργία ελύτρων γύρω από δεμάτια μυϊκών ινών. Το περιεχόμενο και η σύσταση του συνδετικού ιστού διαφέρει μεταξύ των μυϊκών ινών. Για παράδειγμα οι τύπου I (αργές μυϊκές ίνες) έχουν πιο συμπαγή συνδετικό ιστό από ότι οι τύπου II (γρήγορες μυϊκές ίνες). Πιθανόν για αυτόν το λόγο οι τύπου II μυϊκές ίνες είναι πιο επιρρεπείς στο μυϊκό τραυματισμό (Stauber, 1989) και η υπερβολική τάση του συνδετικού ιστού οδηγεί στο μυϊκό πόνο (Hough, 1902). Για την υποστήριξη της θεωρίας αυτής μετρήθηκε η εκροή ορισμένων

αμινοξέων που αποτελούν συστατικό του κολλαγόνου στα ούρα. Το γεγονός αυτό θα σήμαινε τη διάσπαση του κολλαγόνου είτε από υπερχρησία είτε από άμεση βλάβη (Stauber, 1989). Ωστόσο ο μηχανισμός που οδηγεί σε αύξηση των παραπάνω αμινοξέων στα ούρα δεν είναι επιβεβαιωμένος.

Η θεωρία της μυϊκής καταστροφής προτάθηκε από τον Hough (1902) και επικεντρώνεται στη διάσπαση των συστατικών στοιχείων του μυϊκού ιστού και πιο συγκεκριμένα στις γραμμές Z μετά από έκκεντρη άσκηση (Armstrong, 1984; Newham et al., 1983; Friden, Seger & Ekblom, 1988). Η χαρακτηριστική μικροσκοπική βλάβη προκαλεί στη συνέχεια τη διάσπαση των γραμμών Z και σε πιο εκτεταμένες καταστάσεις τη διάσπαση της δομής του σαρκομερίου (Newham, Jones & Edwards, 1986). Αυτή η βλάβη είναι αποτέλεσμα της αυξημένης τάσης που εφαρμόζεται στα μυοϊνίδια κυρίως στη διάρκεια έκκεντρων συσπάσεων (Armstrong, 1984). Η μηχανική διάσπαση των δομικών στοιχείων του μυϊκού κυττάρου αυξάνεται, ιδιαίτερα στις γρήγορες μυϊκές ίνες που έχουν πιο αδύναμες και περιορισμένες γραμμές Z. Οι μυϊκοί υποδοχείς του πόνου βρίσκονται στο συνδετικό ιστό και στη μυοτενόντια σύνδεση. Για την υποστήριξη της θεωρίας αυτής μετρήθηκαν κάποια ένζυμα στο αίμα. Η κρεατινική κινάση (CK) αποτελεί αξιόπιστο δείκτη της διάσπασης των κυτταρικών μεμβρανών καθώς το ένζυμο αυτό σε φυσιολογικές συνθήκες βρίσκεται εντός των μυϊκών και καρδιακών κυττάρων (Cleak & Eston, 1992). Έτσι η διάσπαση των γραμμών Z και του σαρκειλήματος οδηγεί στην εκροή ενζύμων όπως η CK στο πλάσμα. Παρόλα αυτά υπάρχει ασυμφωνία μεταξύ της χρονικής στιγμής εμφάνισης της μέγιστης ποσότητας της CK στο πλάσμα με την εμφάνιση του μέγιστου μυϊκού πόνου (Clarkson & Ebbeling, 1988; Newham et al., 1983; Walsh, Tongonogi, Malm et al., 2001). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η συγκεκριμένη θεωρία να εξηγεί ένα μέρος του καθυστερημένου μυϊκού πόνου.

Η θεωρία της φλεγμονής βασίζεται στην εμφάνιση του οιδήματος με τη συγκέντρωση λευκών αιμοσφαιρίων στο σημείο πρόκλησης της βλάβης μετά από έκκεντρες συσπάσεις (Francis & Hoobler, 1987; Smith, 1991). Οι μυϊκές ίνες περιέχουν πρωτεολυτικά ένζυμα τα οποία προκαλούν την αποδόμηση πρωτεϊνικών δομών των κυττάρων μετά την πρόκληση βλάβης στα κύτταρα. Αυτή η γρήγορη διάσπαση των κατεστραμμένων μυϊκών ινών και του συνδετικού ιστού σε συνάρτηση με την προσθήκη της βραδυκινίνης, της ισταμίνης και της προσταγλανδίνης έλκουν τα μονοκύτταρα και τα ουδετερόφιλα στην περιοχή της μυϊκής βλάβης (Hasson, Daniels, Divine et al., 1993). Το γεγονός αυτό ακολουθείται από έκχυση υγρών στην περιοχή πλούσιων σε πρωτεΐνες μέσα

από τα αρτηρίδια (Smith, 1991). Η τελική συμβολή γίνεται μέσω της οσμωτικής πίεσης και μπορεί να παραχθεί πόνος αν οι αισθητηριακοί νευρώνες 4 ενεργοποιηθούν (Friden, Sfikianos & Hargens, 1986). Ωστόσο μόνο όταν το οίδημα αυξηθεί μέγιστα συνδυάζεται και με το μέγιστο μυϊκό πόνο (Gulick & Kimura, 1996; Lightfoot, Char, McDermott et al., 1997), ενώ η φλεγμονή έχει μικρότερη χρονική συσχέτιση (Jones, Newham, Round et al., 1986). Πιθανόν αυτός είναι και ο λόγος που ορισμένοι ερευνητές αναφέρουν τη θεωρία αυτή και με το όνομα “θεωρία του οιδήματος – Tissue Fluid Theory” (Gulick & Kimura, 1996). Παρόλα αυτά ο σχηματισμός του οιδήματος καθώς και η συγκέντρωση των λευκών αιμοσφαιρίων στην περιοχή τραυματισμού δεν είναι σίγουρο αν είναι υπεύθυνοι για την πρόκληση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου.

Η θεωρία της εκροής ενζύμων που προτάθηκε από του Gulick και Kimura (1996) βασίζεται στην παραδοχή ότι το ασβέστιο που σε φυσιολογικές συνθήκες βρίσκεται αποθηκευμένο στο σαρκοπλασματικό δίκτυο, αυξάνεται στους τραυματισμένους μύες μετά από τη βλάβη στο σαρκείλημα (Armstrong, 1984). Το γεγονός αυτό πιστεύεται ότι οδηγεί στην αναστολή της κυτταρικής αναπνοής σε μιτοχονδριακό επίπεδο και στην αναστολή της παραγωγής τριφωσφορικής αδενοσίνης, που απαιτείται για την ενεργή μεταφορά του ασβεστίου εντός του σαρκοπλασματικού δικτύου μετά τη σύσπαση. Επί προσθέτως η συγκέντρωση ασβεστίου ενδεχομένως ενεργοποιεί πρωτεάσες και φωσφολιπάσες οι οποίες προκαλούν περαιτέρω καταστροφή στο σαρκείλημα (Armstrong, 1984; Armstrong, 1991). Ως αποτέλεσμα ο εκφυλισμός των μυϊκών πρωτεϊνών στις γραμμές Z αυξάνεται και πραγματοποιείται η χημική διέγερση του πόνου στις απολήξεις των νευρών.

Η γενική άποψη που επικρατεί μεταξύ των ερευνητών είναι ότι μια θεωρία από μόνης της δεν μπορεί να εξηγήσει τον καθυστερημένο μυϊκό πόνο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα ορισμένοι από τους ερευνητές να προτείνουν μια σειρά από στοιχεία των παραπάνω θεωριών με στόχο να εξηγήσουν το μυϊκό πόνο. Ένα μοντέλο που προτάθηκε από τους Armstrong και Smith (Armstrong, 1991; Smith, 1991) είναι το εξής:

- Αρχικά κατά τη διάρκεια έκκεντρων συσπάσεων αναπτύσσονται υψηλές δυνάμεις που οδηγούν στην καταστροφή της δομής δομικών πρωτεϊνών των μυϊκών ινών και ιδιαίτερα στις γραμμές Z. το γεγονός αυτό συνδυάζεται και με διάταση του συνδετικού ιστού στη μυοτενόντια σύνδεση καθώς και μεταξύ των μυϊκών ινών (θεωρία καταστροφής του συνδετικού ιστού και θεωρία μυϊκής καταστροφής).

- Η ζημιά στο σαρκείλημα έχει ως αποτέλεσμα τη συγκέντρωση του ασβεστίου που με τη σειρά του αναστέλλει τη κυτταρική αναπνοή. Η παραγωγή του ATP περιορίζεται και καταστρέφεται η ομοιόσταση του ασβεστίου. Επιπλέον η υψηλή συγκέντρωση του ασβεστίου ενεργοποιούν πρωτεολυτικά ένζυμα που αποδομούν τις γραμμές Z των σαρκομερίων, την τροπονίνη και την τροπομυοσίνη (θεωρία εκροής ενζύμων).

- Μέσα σε λίγες ώρες υπάρχει μια σημαντική αύξηση των ουδετερόφιλων στην κυκλοφορία του αίματος (θεωρία της φλεγμονής).

- Ενδοκυτταρικά στοιχεία (HP, CK) διαχέονται στο πλάσμα με αποτέλεσμα να έλκουν τα μονοκύτταρα στο σημείο τραυματισμού και να παράγεται ισταμίνη (θεωρία φλεγμονής).

- Η συγκέντρωση των μονοκύτταρων κορυφώνεται στις 48 ώρες περίπου μετά την άσκηση. Τα μονοκύτταρα στο περιβάλλον αυτό παράγουν προσταγλανδίνη που ευαισθητοποιεί, τα νεύρα τύπου III και IV, σε μηχανικά, χημικά ή θερμικά ερεθίσματα (θεωρία φλεγμονής).

- Η συγκέντρωση της ισταμίνης, του ποτάσιου και των κινινών κατά τη φαγοκύτωση και την κυτταρική νέκρωση αυξάνει την πίεση μέσω του οιδήματος και την αύξηση της τοπικής θερμοκρασίας. Οι παράγοντες αυτοί μπορούν με τη σειρά τους να ενεργοποιήσουν υποδοχείς εντός των μυϊκών ινών και της μυοτενόντιας σύνδεσης (θεωρία φλεγμονής).

- Τα γεγονότα αυτά οδηγούν στην αίσθηση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου που αυξάνεται κατά την κίνηση καθώς ερεθίζονται μηχανικά οι αντίστοιχοι υποδοχείς.

Προς το παρόν η παραπάνω σειρά των γεγονότων είναι υποθετική και απαιτείται επιπλέον έρευνα για να αποσαφηνιστεί η πρόκληση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου.

### ***Εκτίμηση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου***

Υπάρχουν αρκετές μέθοδοι για την εκτίμηση του πόνου όπως το κατάφλι του πόνου που ορίζεται με την πίεση, τα ερωτηματολόγια (MacIntyre, Reid & McKenzie, 1995; O'Connor & Cook, 1999), οι οπτικές αναλογικές κλίμακες και οι αριθμητικές κλίμακες. Οι Ohnhaus και Adler (1975) σχημάτισαν μια γραμμική κλίμακα όπου στο αριστερό άκρο της είχε την ένδειξη «όχι πόνος» και στο δεξί άκρος της την ένδειξη «ανυπόφορο πόνος». Παρόλο που κλίμακες αυτής της μορφής χρησιμοποιούνται σε πολλές μελέτες υπάρχουν αρκετές δυσκολίες στη χρήση τους όπως είναι η ευαισθησία της κλίμακας. Αν κάποιος για παράδειγμα δηλώσει «ανυπόφορος πόνος» για μια μέρα και την



επόμενη αισθάνεται μεγαλύτερο πόνο θα πρέπει να δώσει πάλι την ίδια ένδειξη. Για το λόγο αυτό προτείνονται οι ανοιχτές κλίμακες.

Ακόμη εδώ θα πρέπει να αναφέρουμε την υποκειμενικότητα στην εκτίμηση του πόνου. Πιο συγκεκριμένα κάποιο άτομο μπορεί να αναφέρει την ένδειξη «40» ενώ αισθάνεται ένα μέτριο πόνο ενώ κάποιο άλλο άτομο μπορεί να αναφέρει την ένδειξη «10» ενώ αισθάνεται έναν έντονο πόνο. Έτσι γεννιέται το ερώτημα αν είναι δυνατό να συγκριθούν τα επίπεδα του πόνου μεταξύ ατόμων ή να καταγραφεί η αλλαγή του καθυστερημένου μυϊκού πόνου ενός ατόμου σε ένα διάστημα ημερών. Ο Melzack (1982) είχε αναφέρει ότι ο πόνος μεταξύ άλλων σχετίζεται με την προσοχή του ατόμου, το άγχος και άλλους ψυχολογικούς παράγοντες. Για τους λόγους αυτούς υπάρχουν περιορισμοί στην ακριβή εκτίμηση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου στις μελέτες με τους γνωστούς τρόπους που προαναφέρθηκαν.

### ***Επαναλαμβανόμενες συνεδρίες έκκεντρης άσκησης***

Εδώ θα πρέπει να αναφερθεί ότι ο μυϊκός τραυματισμός που προκαλείται μετά από έκκεντρη άσκηση διαφοροποιείται ανάλογα με την εμπειρία του ατόμου στις έκκεντρες ασκήσεις. Είναι γνωστό ότι ένα άτομο μετά από ασυνήθιστη άσκηση θα αναφέρει ένα σημαντικό βαθμό καθυστερημένου μυϊκού πόνου. Αν το ίδιο άτομο μετά από 2 εβδομάδες κάνει την ίδια άσκηση ο πόνος που θα αναφέρει θα είναι πολύ μικρότερος. Το φαινόμενο αυτό της προσαρμογής του μυϊκού ιστού έτσι ώστε να προστατευθούν οι μύες από τη βλάβη ονομάζεται “repeated boot effect” (McHugh, 2003).

Έτσι αν συγκριθούν δυο πρωτόκολλα έκκεντρης άσκησης όπου στο πρώτο εκτελείται μια ημέρα άσκησης ενώ στο δεύτερο επαναλαμβάνεται η άσκηση μετά από 2 εβδομάδες, τότε στη δεύτερη περίπτωση θα παρατηρηθεί γρηγορότερη επαναφορά της μυϊκής δύναμης και του εύρους κίνησης, μειωμένο οίδημα και μυϊκό πόνο και μικρότερη εκροή μυϊκών πρωτεϊνών στο αίμα.

Το φαινόμενο αυτό εμφανίζεται όταν η ασυνήθιστη άσκηση επαναληφθεί εντός ενός περιορισμένου χρονικού διαστήματος και επηρεάζεται από αρκετούς παράγοντες όπως το χρονικό διάστημα μεταξύ των ασκήσεων, τον αριθμό των έκκεντρων συσπάσεων, το μήκος του μυός και το είδος της άσκησης.

Όσο αφορά το χρονικό διάστημα μεταξύ των συνεδριών άσκησης έχει βρεθεί ότι αν είναι ιδιαίτερα μεγάλο πάνω από μερικές εβδομάδες (Nosaka et al., 2005) οι θετικές προσαρμογές περιορίζονται ή παύουν να υφίστανται. Από μελέτες βρέθηκε επίσης ότι δεν

απαιτείται ο ίδιος αριθμός επαναλήψεων για την εμφάνιση της προστατευτικής δράσης του φαινομένου. Πιο συγκεκριμένα 10, 30 ή 50 έκκεντρες συστολές παρέχουν την ίδια προστασία από ένα σετ 50 έκκεντρων συσπάσεων 3 εβδομάδες μετά (Brown et al., 1997). Σε σχέση με το μήκος του μυός φάνηκε ότι η μυϊκή καταστροφή είναι μικρότερη όταν η άρθρωση δεν κινείται σε πλήρες εύρος κίνησης κατά τη διάρκεια των έκκεντρων συσπάσεων (Nosaka & Sakamoto, 2001) όσο αφορά τους καμπήρες του αγκώνα καθώς κάτι τέτοιο δεν επαληθεύθηκε και για τους εκτεινόντες του γόνατος (McHugh & Pasiakos, 2004).

Οι μηχανισμοί μέσω των οποίων δρουν οι επαναλαμβανόμενες συνεδρίες δεν είναι πλήρως κατανοητοί. Ωστόσο ο McHugh (2003) σε μια μελέτη ανασκόπησης κατηγοριοποίησε τους βασικούς μηχανισμούς σε νευρικές, μηχανικές και κυτταρικές προσαρμογές. Πιο συγκεκριμένα στις νευρικές προσαρμογές περιλαμβάνονται η αυξημένη ενεργοποίηση των αργών κινητικών μονάδων, η ενεργοποίηση και ο συγχρονισμός περισσότερων κινητικών μονάδων και η επίδραση της μάθησης. Οι μηχανικές προσαρμογές με τη σειρά τους περιλαμβάνουν την αύξηση της ανθεκτικότητας του μυ σε παθητικές ή δυναμικές συνθήκες, την ανακατασκευή των μυοϊνιδίων με στόχο την αύξηση της ανθεκτικότητάς τους και την αύξηση του ενδομυϊκού συνδετικού ιστού. Τέλος οι κυτταρικές προσαρμογές περιλαμβάνουν την κατά μήκος προσθήκη σαρκομεριών στις μυϊκές ίνες, προσαρμογή στη φλεγμονή και στο μηχανισμό σύζευξης διέγερσης-συστολής, αύξηση της δύναμης των κυτταρικών μεμβρανών, αύξηση της πρωτεϊνοσύνθεσης και αντικατάσταση αδύνατων μυϊκών κυττάρων με ισχυρότερα.

Μια πρόταση που υπάρχει για τη θετική επίδραση των επαναλαμβανόμενων συνεδριών έκκεντρης άσκησης είναι τα παρακάτω 6 στάδια:

- Στάδιο 1: Πριν την 1<sup>η</sup> συνεδρία έκκεντρης άσκησης ορισμένες μυϊκές ίνες είναι αρκετά ευαίσθητες.

- Στάδιο 2: Αυτές οι μυϊκές ίνες πιθανότατα θα υποστούν βλάβη κατά την 1<sup>η</sup> συνεδρία έκκεντρης άσκησης ωστόσο θα υπάρχουν και μυϊκές ίνες που δε θα υποστούν βλάβη.

- Στάδιο 3: Οι μυϊκές ίνες που καταστράφηκαν επουλώνονται και ανακατασκευάζονται έτσι ώστε να είναι ισχυρότερες.

- Στάδιο 4: Κατά τη διάρκεια της 2<sup>ης</sup> συνεδρίας έκκεντρης άσκησης ο αριθμός των αδύνατων μυϊκών ινών είναι περιορισμένος και έτσι είναι περιορισμένη και η μυϊκή καταστροφή που προκαλείται.



- Στάδιο 5: Στο στάδιο αυτό η μυϊκή καταστροφή μετά από έκκεντρη άσκηση είναι αρκετά περιορισμένη. Όταν η έκκεντρες ασκήσεις γίνονται τακτικά πιθανότατα οι μύες βρίσκονται στην κατάσταση που αντιστοιχεί στο στάδιο 5.

- Στάδιο 6: Εξαιτίας των πρωτεϊνικών αλλαγών ορισμένες μυϊκές ίνες αδυνατίζουν εκ νέου και έτσι είναι επιρρεπείς στο να υποστούν κάποια βλάβη.

Η κατανόηση των μηχανισμών που σχετίζονται με τις ευεργετικές επιδράσεις των επαναλαμβανόμενων συνεδριών έκκεντρης άσκησης μπορεί να είναι το κλειδί για την κατανόηση της πρόκλησης μυϊκής καταστροφής.

### *Τεχνικές ανάληψης*

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω τα συμπτώματα του μυϊκού τραυματισμού είναι αρκετά και έχουν ως αποτέλεσμα τον περιορισμό της κινητικότητας των αρθρώσεων και γενικότερα τη μείωση της λειτουργικότητας των προσβεβλημένων μυών.

Για τον περιορισμό των συμπτωμάτων και τη γρηγορότερη επούλωση έχουν αναπτυχθεί ορισμένες τεχνικές με τη χρήση ή χωρίς κάποιων συσκευών. Παρακάτω θα γίνει αναφορά συνοπτικά στην αποτελεσματικότητά τους. Όσο αφορά τις μαλάξεις από την υπάρχουσα βιβλιογραφία φαίνεται είτε να έχουν θετικές επιδράσεις είτε να μην επιδρούν ουσιαστικά τόσο στην επούλωση του μυϊκού τραυματισμού όσο και στην επαναφορά της λειτουργικότητας του μυ (Ramey & Tiidus, 2002; Hopper et al., 2005; Tiidus, 1997). Είναι φανερό ότι απαιτείται περαιτέρω έρευνα για την εκτίμηση της επίδρασης των μαλάξεων.

Η επίδραση των υπερήχων διαχωρίζεται σε θερμική και μη θερμική. Οι δυο αυτές δράσεις πραγματοποιούνται ταυτόχρονα αλλά σε διαφορετικό βαθμό ανάλογα με το τι θέλει να επιτευχθεί με τη χρήση τους (Baker et al., 2001). Από την υπάρχουσα βιβλιογραφία δεν είναι σίγουρο ότι η χρήση τους προωθεί τη θεραπεία και την επούλωση του μυϊκού ιστού. Στον τομέα αυτό απαιτείται περισσότερη έρευνα έτσι ώστε να καθοριστεί αν υπάρχει θετική ή όχι επίδραση και ποια χαρακτηριστικά πρέπει να έχει η χρήση τους. Ωστόσο οι υπέρηχοι μπορούν να αυξήσουν τη θερμοκρασία του μυός και να βοηθήσουν στη μεταφορά των αναλγητικών και αντιφλεγμονωδών φαρμάκων στο σημείο τραυματισμού.

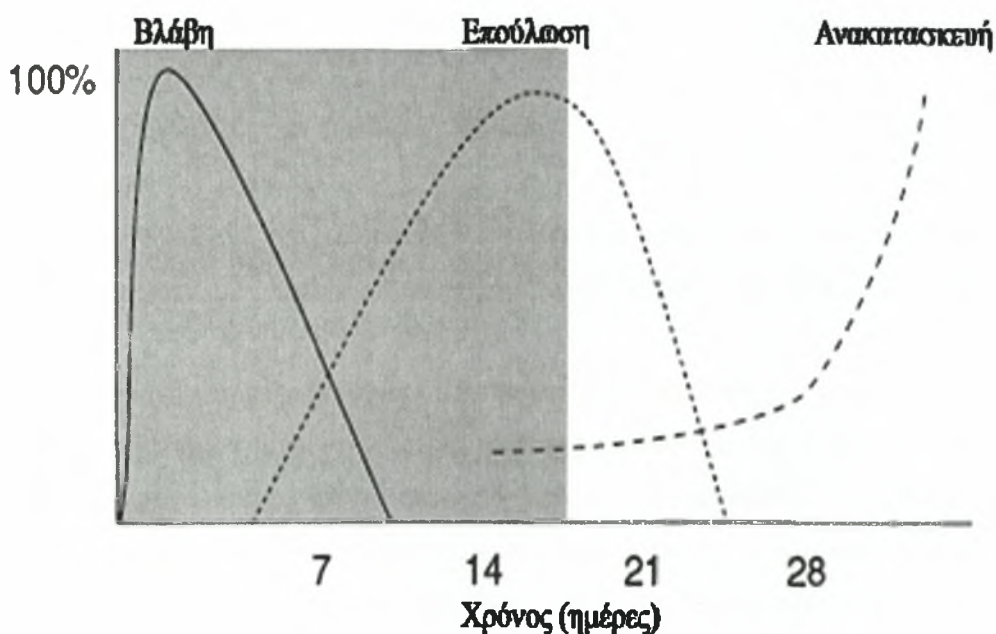
Η εφαρμογή της κατάλληλης αποκατάστασης μετά από ένα μυϊκό τραυματισμό μπορεί να επισπεύσει την επούλωση. Από τους διάφορους χειρισμούς που μπορούν να εφαρμοστούν η περίδεση του μέλους, η ακινητοποίησή του, η ανύψωσή του και η

εφαρμογή πάγου (Dolan et al., 2003) σε αυτό αποτελούν τις ορθότερες επιλογές κατά την παροχή των πρώτων βοηθειών αμέσως μετά το μυϊκό τραυματισμό.

Η χρήση μεμονωμένων αντιοξειδωτικών με στόχο να μειωθεί η μυϊκή καταστροφή και το οξειδωτικό στρες έχει αμφιλεγόμενα αποτελέσματα (Thompson et al., 2004; Vasankari et al., 1998). Επιπλέον δεν είναι γνωστά τα ακριβή ποσά των αντιοξειδωτικών για την προστασία από τη ζημιά που προκαλεί το οξειδωτικό στρες και η χρονική στιγμή της λήψης τους. Ωστόσο ο συνδυασμός διαφορετικών τύπων αντιοξειδωτικών για τον περιορισμό της μυϊκής καταστροφής φαίνεται να έχει ορισμένα οφέλη (Childs et al., 2001; Phillips et al., 2003) αν και απαιτούνται επιπλέον μελέτες για την επιβεβαίωση της ένδειξης αυτής.

#### **Φάσεις ανασύνθεσης του μυ μετά τον τραυματισμό του**

Η αντίδραση του σκελετικού μυ στον τραυματισμό ακολουθεί μια συγκεκριμένη διαδικασία που περιλαμβάνει τις τρεις παρακάτω φάσεις (Jarvinen, Jarvinen, Kaariainen, & Jarvinen, 2005): α) Τη φάση αποδόμησης (φάση οξείας φλεγμονής) του μυ, β) τη φάση επιδιόρθωσης και ανασύνθεσης του μυ και γ) τη φάση αναδιαμόρφωσης - αύξησης (remodeling) του μυ.



**Σχήμα 1.** Επούλωση μυϊκού ιστού (Από Smith et al., 2008)

Από ανοσοιστοχημικές μελέτες έχει διαπιστωθεί ότι κατά τη φάση της αποδόμησης η βασική ζημιά έχει ως αποτέλεσμα να νεκρώνονται ορισμένα τμήματα της εξωτερικής μεμβράνης των μυϊκών κυττάρων. Ο τραυματισμός του σκελετικού μυ προκαλεί μία γρήγορη και προοδευτική εισβολή διαφόρων φλεγμονωδών κυττάρων σε αυτόν που κρατά από μερικές ημέρες έως και εβδομάδες ανάλογα με την έκταση του τραυματισμού (Smith, Kruger, Smith & Myburgh, 2008). Η πρώτη φάση αμέσως μετά τον τραυματισμό χαρακτηρίζεται από την ανάπτυξη οξείας φλεγμονής με συσσώρευση λευκοκυττάρων στον προσβληθέντα ιστό και έκκριση κυτοκινών (Fehrenbach & Schneider, 2006). Έχει προταθεί η άποψη ότι η αρχική φάση της φλεγμονής συνδέεται μηχανιστικά με τις επόμενες φάσεις της επιδιόρθωσης και ανασύνθεσης του μυϊκού ιστού και μάλλον αποτελεί προϋπόθεση για τη μετέπειτα ανάπτυξη του μυ (Tidball, 2005). Ωστόσο, προς το παρόν, αυτή η θεωρία βασίζεται περισσότερο σε ενδείξεις και όχι αποδείξεις.

Μετά τη φάση της αποδόμησης ακολουθεί η επιδιόρθωση και ανασύνθεση που περιλαμβάνει ένα μεγάλο αριθμό διαδικασιών όπως η φαγοκύτωση, η ανασύνθεση των γραμμωτών μυών, η παραγωγή συνδετικού ιστού και η ανακατασκευή των αιμοφόρων αγγείων. Τέλος κατά τη διάρκεια της τρίτης φάσης που περιλαμβάνει την αναδιαμόρφωση του μυ ο σχηματισμός νέων αναγεννημένων μυϊκών ινών οδηγεί σε πλήρη λειτουργική επαναφορά του. Οι τρεις αυτές φάσεις είναι αλληλένδετες μεταξύ τους και υπερκαλύπτονται (Li, Cummins & Huard, 2001) κάνοντας τον ακριβή διαχωρισμό τους ιδιαίτερα δύσκολο.

### **Φλεγμονή**

Ο όρος φλεγμονή χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον ρωμαίο φιλόσοφο Κέλσο τον 1<sup>ο</sup> αιώνα μ.Χ. και από τότε έχει καθιερωθεί τόσο στην ιατρική όσο και στον αθλητισμό.

Η φλεγμονή αποτελεί έναν προστατευτικό μηχανισμό με στόχο να απομακρύνει τους τραυματιογόνους παράγοντες και να αρχίσει η διαδικασία της επούλωσης. Μερικά από τα πιο έντονα συμπτώματα είναι το πρήξιμο, η ερυθρότητα, η αύξηση της θερμοκρασίας, ο πόνος και ο περιορισμός της λειτουργικότητας του μέλους που έχει υποστεί τη βλάβη. Ωστόσο σε κάθε περίπτωση δεν είναι όλα τα συμπτώματα εμφανή. Αναμφίβολα υπάρχουν διαφορές κατά την εκδήλωση της φλεγμονής που πιθανότατα εξαρτώνται από τη φύση του ιστού που έχει υποστεί τη βλάβη και την έκταση της τελευταίας.

Στην παρούσα ενότητα θα γίνει αναφορά στην άσηπτη φλεγμονή που αναπτύσσεται μετά τον τραυματισμό του σκελετικού μυ από την άσκηση. Με τον όρο άσηπτη εννοούμε την έλλειψη παθογόνων μικροβίων στο σημείο της φλεγμονής καθώς πρόκειται για μια “κλειστή” φλεγμονή (χωρίς ανοιχτό τραύμα). Αυτός είναι και ο λόγος που ενεργοποιείται σε μικρότερο βαθμό το ανοσοποιητικό σύστημα (Armstrong, 1990).

### *Διαστολή αγγείων I<sup>η</sup> αντίδραση του οργανισμού στην ασκησιογενή φλεγμονή*

Όπως προαναφέρθηκε η ασκησιογενής φλεγμονή αποτελεί μια άσηπτη μορφή φλεγμονής που έχει ως αιτία τον τραυματισμό των μυϊκών κυττάρων από την άσκηση. Αμέσως μετά τον τραυματισμό και την πιθανή λύση της συνέχειας των αγγείων ξεκινούν μηχανισμοί ελέγχου της βλάβης στον ιστό. Τα αιμοπετάλια συγκεντρώνονται στο εκτεθειμένο κολαγόνο, ενεργοποιούνται και απελευθερώνουν προ-φλεγμονώδεις παράγοντες όπως η σεροτονίνη (5-HT), η ισταμίνη και η θρομβοξάνη A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>). Μετά τον περιορισμό της αιμορραγίας από τα αιμοπετάλια, κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος όπως θα περιγραφεί παρακάτω “μεταναστεύουν” στο σημείο του τραυματισμού (Jarvinen et al., 2005) όπου και συμβάλλουν στην ανάπτυξη τοπικής φλεγμονής.

Σε έναν τραυματισμένο μυ τα τριχοειδή αγγεία στην τραυματισμένη περιοχή μπορεί να διασταλθούν με αποτέλεσμα να αυξάνεται η εκροή αίματος και να δημιουργείται αιμάτωμα. Αυτή η τοπική αγγειοδιαστολή προκαλείται μέσω δυο μηχανισμών: α) Της απελευθέρωσης ισταμίνης και β) της απελευθέρωσης του αυξητικού παράγοντα του ενδοθηλίου. Η ισταμίνη παράγεται από τα μαστοκύτταρα που βρίσκονται στην τραυματισμένη περιοχή (Tidball, 1995) και εκτός από την αγγειοδιαστολή προκαλεί και αύξηση της διαπερατότητας των αγγείων στο σημείο του τραυματισμού διαστέλλοντας τους πόρους του ενδοθηλίου. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού των λευκοκυττάρων και των επιπέδων ορισμένων πρωτεϊνών του πλάσματος στο σημείο της βλάβης του ιστού (Sherwood, 2007). Τα γεγονότα αυτά αποτελούν σημεία κλειδιά για την πρόκληση της φλεγμονής (Tidball, 1995).

Ο αυξητικός παράγοντας του ενδοθηλίου (VEGF-NO) (Frantz, Vincent, Feron & Kelly, 2005; Wang, Fang, Stepheson, Khiabani & Zamboni, 2005) εκκρίνεται από τους ινοβλάστες (Monaco, Andreakos, Kiriakidis, Feldmann & Paleolog, 2004), τα ενδοθηλιακά κύτταρα (Christov et al., 2007) αλλά και από τα μονοκύτταρα/μακροφάγα (Monaco et al., 2004). Η έκκρισή του είναι αποτέλεσμα της επίδρασης της υποξίας, του

οξειδωτικού στρες, των αυξητικών παραγόντων και των κυτοκινών (Ouchi, Shibata & Walsh, 2005) στα προαναφερθέντα κύτταρα και οδηγεί στην ενεργοποίηση του μονοπατιού του νιτρικού οξέος και της συνθάσης του νιτρικού οξέος που ενισχύουν την αγγειοδιαστολή (Wang et al., 2005).

### **Κυτοκίνες**

Κατά τη διάρκεια του τραυματισμού τα μακροφάγα κύτταρα που βρίσκονται στο σημείο αυτό ενεργοποιούνται και παράγουν ενώσεις που ονομάζονται κυτοκίνες (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) (Baumann & Gauldie, 1994). Οι κυτοκίνες αποτελούν τα μόρια που συγχρονίζουν τις τοπικές και συστημικές διαδικασίες ανάπτυξης της φλεγμονής. Ελέγχουν την ενεργοποίηση διαφόρων ειδών κυττάρων όπως είναι τα λευκοκύτταρα, τα κύτταρα του ενδοθηλίου και τα ηπατοκύτταρα (Rhind, Shek & Shephard, 1995). Οι κυτοκίνες δεν είναι αποθηκευμένες σε μια πρόδρομη μορφή αλλά συνθέτονται μετά το φλεγμονώδες ερέθισμα. Τα κύτταρα αυτά δρουν τοπικά αλλά μπορούν να ανιχνευθούν και σε ικανοποιητικές ποσότητες στην κυκλοφορία του αίματος. Γενικά οι κυτοκίνες ομαδοποιούνται σε αρκετές ομάδες όπως είναι οι ιντερλευκίνες (IL), ο ιστικός παράγοντας νέκρωσης (TNF), οι ιντερφερόνες, ο διεγερτικός παράγοντας αποικιών (CSF) και ο αυξητικός παράγοντας.

Η επίδραση συγκεκριμένων κυτοκινών σε κύτταρα στόχους καθορίζεται από εξειδικευμένους υποδοχείς για κάθε κυτοκίνη. Ωστόσο περισσότερες από μια κυτοκίνες μπορούν να έχουν παρόμοια επίδραση σε συγκεκριμένα κύτταρα στόχους. Επιπλέον η δράση μιας κυτοκίνης εξαρτάται από τον τύπο του κυττάρου στόχου και από τα επίπεδα των συγκεντρώσεων άλλων κυτοκινών που μπορεί να έχουν συνεργιστικές ή ανταγωνιστικές επιδράσεις στα ίδια κύτταρα στόχους. Το σύστημα σηματοδότησης των κυτοκινών δεν είναι πλήρως αποσαφηνισμένο ακόμα (Mastorakos, Chrousos & Weber, 1993).

Από τις ποικίλες κυτοκίνες ο TNF- $\alpha$ , η IL-6 και η IL-1 είναι οι τρεις πιο σημαντικές για την έναρξη της φλεγμονής. Η δράση τους έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση προφλεγμονωδών παραγόντων τόσο τοπικά όσο και συστημικά. Το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό αυτών των κυτοκινών είναι η αμεσότητα. Για παράδειγμα η αύξηση του mRNA της IL-1 $\beta$  μπορεί να μετρηθεί στα μονοκύτταρα μέσα σε 15 λεπτά μετά την έκθεσή τους στην ενδοτοξίνη. Αυτές οι κυτοκίνες επηρεάζουν την παραγωγή επιπλέον ποσοτήτων του TNF- $\alpha$ , της IL-1 αλλά και της IL-6 από τα τοπικά ενδοθηλιακά



κύτταρα, τους ινοβλάστες και τα μονοκύτταρα. Η IL-6 εμφανίζει τόσο προφλεγμονώδεις όσο και αντιφλεγμονώδεις δράσεις (Mastorakos et al., 1993).

Τοπικά και οι τρεις κυτοκίνες μπορούν να προκαλέσουν τη σύνθεση χημοκινών, να αυξήσουν τη διαπερατότητα των αγγείων, να αυξήσουν την έκφραση μορίων συγκόλλησης από τα κύτταρα του ενδοθηλίου και να ελκύνουν ποικίλα λευκοκύτταρα στο σημείο της φλεγμονής. Στο σύστημα ο TNF, η IL-1 και η IL-6 μπορούν να προκαλέσουν πυρετό και τη σύνθεση των πρωτεϊνών άμεσης δράσης (Dinarello, 1991).

Στη συνέχεια θα αναφερθούν ορισμένες πληροφορίες για τις τρεις αυτές κυτοκίνες. Η IL-1 εμφανίζεται στα κύτταρα με τη μορφή της IL-1α και έχει και μια διαλυτή μορφή την IL-1β (Dinarello, 1991). Αυτές οι μορφές είναι ξεχωριστά γενετικά προϊόντα καθώς εμφανίζουν ξεχωριστό μεταγραφικό έλεγχο αν και μοιράζονται ένα κοινό υποδοχέα. Η IL-1 εμπλέκεται σε αρκετές διαδικασίες κλειδιά για τη φλεγμονή όπως είναι η αύξηση της θερμοκρασίας του σώματος, η ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων, η τροποποίηση της IL-8 στο να έλκει ουδετερόφιλα, η αύξηση της έκφρασης μορίων συγκόλλησης, η αύξηση της παραγωγής IL-6 από τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα και η αύξηση της πρωτεόλυσης στους σκελετικούς μύες (Dinarello, 1991; Rhind, Shek & Shephard, 1995; Shephard, Rhind & Shek, 1994). Αναστολείς της δραστηριότητας της IL-1β αποτελούν η προσταγλανδίνη E2 (PGE2) και ο ανταγωνιστής του υποδοχέα της IL-1 (Shephard et al., 1994). Η ιντερλευκίνη IL-10 αποτελεί μια αντιφλεγμονώδη κυτοκίνη που παράγεται κυρίως από τα μονοκύτταρα και αναστέλλει τη σύνθεση προ-φλεγμονωδών κυτοκινών.

Ο TNF-α παράγεται από τα μονοκύτταρα, τα μακροφάγα (DeRijk et al., 1997) και από τα ενδοθηλιακά κύτταρα Kupffer (Liao, Keiser, Scales, Kunkel & Kluger, 1995). Σε συνεργασία με την IL-1 προκαλούν τη σύνθεση της IL-6. Οι λειτουργίες του TNF είναι η ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων και των T-κυτοτοξικών κυττάρων.

Κατά τη διάρκεια της φλεγμονής η IL-6 μπορεί να παραχθεί σε σημαντικές ποσότητες από τα μονοκύτταρα, τα μακροφάγα, τα κύτταρα του ενδοθηλίου, τους ινοβλάστες (DeRijk et al., 1997) καθώς και τα ηπατικά κύτταρα του Kupffer (Liao et al., 1995). Σε περίπτωση τραυματισμού του μυϊκού ιστού η IL-6 παράγεται από τοπικά κύτταρα περισσότερο και όχι από τα ηπατικά (Billiard, Curran, Williams & Kispert, 1992). Η παραγωγή της κυτοκίνης αυτής ενεργοποιείται από την προσταγλανδίνη PGE2, ενώ οι αναστολείς της κυκλοοξυγενάσης μπορούν να μειώσουν την παραγωγή της (Portanova et al., 1996). Η επινεφρίνη επίσης μπορεί να ενεργοποιήσει την παραγωγή της IL-6 μέσω των β2-αδρενεργών υποδοχέων. Τέλος η IL-6 διεγείρει τον υποθάλαμο και



οδηγεί στην απελευθέρωση της αδρενοκορτικοτρόπου ορμόνης (ACTH) και έπειτα της κορτιζόλης (Mastorakos et al. 1993).

Η IL-1, η IL-6 και ο TNF- $\alpha$  αποτελούν τις κυτοκίνες που μελετήθηκαν σε μεγαλύτερο βαθμό σε σχέση με την πρόκληση μυϊκού τραυματισμού και την εμφάνιση φλεγμονής. Σε δεδομένα από μυϊκές βιοψίες φαίνεται ότι οι ιντερλευκίνες (IL-1, IL-6) παράγονται εντός του σκελετικού μυ κατά τη διάρκεια και μετά την άσκηση που προκαλεί μυϊκή καταστροφή (Cannon, Fielding, Fiatarone, Orencole, Dinarello & Evans, 1989; Rohde, MacLean, Richter, Kiens & Pedersen, 1997). Η φλεγμονώδης δραστηριότητα εντός του σκελετικού μυ μπορεί να καθοδηγείται από τα τοπικά ενδοθηλιακά κύτταρα. Η IL-1 $\beta$  εμφανίζεται συχνότερα δίπλα στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων σε σχέση με τα κατεστραμμένα μυοϊνίδια (Cannon et al., 1989). Η καταστροφή πολλών κυτταρικών δομών μετά από τρέξιμο σε κατωφέρεια σχετίζεται με μια μικρή αύξηση στη χρώση της IL-1 $\beta$  εντός 45 λεπτών και με μια μεγάλη αύξηση στις 5 ημέρες μετά την άσκηση (Cannon et al., 1989). Παρομοίως η έκταση της βλάβης, μετά την άσκηση που προκαλεί μυϊκή καταστροφή, αυξάνεται στις πρώτες μέρες (Cannon et al., 1989; Friden, Sjostrom & Ekblom, 1983).

Μελέτες που μέτρησαν τις κυτοκίνες στο πλάσμα στη διάρκεια και μετά την άσκηση δείχνουν αύξηση των συγκεντρώσεών τους ως αποτέλεσμα της έντονης δραστηριότητας. Η ήπια άσκηση όπως η ποδηλασία στο 60% της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου (VO<sub>2</sub> max) για 60 λεπτά (Smith, Telford, Baker, Hapel & Weidemann, 1992) δεν αυξάνει τις συγκεντρώσεις των κυτοκινών (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6) σε αντίθεση με πιο έντονη φυσική δραστηριότητα όπως ο μαραθώνιος, το διαλειμματικό τρέξιμο υψηλής έντασης (Nehlsen-Cannarella et al., 1997; Papanikolaou et al., 1996) και δραστηριότητες με έκκεντρα στοιχεία (Bruunsgaard et al., 1997; Rohde, MacLean, Richter, Kiens & Pedersen, 1997) που αυξάνουν την IL-6 όχι όμως ιδιαίτερα και τον TNF- $\alpha$  και την IL-1 $\beta$ . Το γεγονός αυτό πιθανόν οφείλεται στο ότι οι δυο αυτές κυτοκίνες παράγονται μόνο τοπικά ή συμπλέκονται πολύ γρήγορα σε κυτταρικές διεργασίες με αποτέλεσμα να μην μπορούν να ανιχνευθούν.

Η παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών ξεκινά άμεσα μετά την έντονη άσκηση, ενώ το χρονικό διάστημα της αποδόμησής τους ποικίλει. Αυξημένη συγκέντρωση της IL-6 έχει μετρηθεί αμέσως μετά από 2.5 ώρες τρέξιμο στο διάδρομο (Nehlsen-Cannarella et al., 1997), στα 90 λεπτά μετά από σει έκκεντρης άσκησης, όχι όμως στα 15 και 45 λεπτά μετά την ίδια έκκεντρη άσκηση (Hellsten, Frandsen, Orthenblad, Sjodin & Richter, 1997). Η

επαναφορά των επιπέδων τους στο πλάσμα στα πριν την άσκηση επίπεδα μπορεί να γίνει εντός κάποιων ωρών μετά την άσκηση (Bruunsgaard et al., 1997; Papanikolaou et al., 1996) αλλά και σε μεγαλύτερο διάστημα ( 4 ημέρες μετά (Hellsten et al., 1997).

Χρονικά η μεταβολή της συγκέντρωσης της IL-6 φαίνεται να συμβαδίζει με την επέκταση της μυϊκής καταστροφής μετά το αρχικό τραυματιογόνο ερέθισμα. Για παράδειγμα η κορύφωση της συγκέντρωσης της κρεατινικής κινάσης (CK), που αποτελεί έναν έμμεσο δείκτη της μυϊκής καταστροφής, εμφανίζεται εντός 48 ωρών μετά από έντονες αερόβιες ασκήσεις (Rogers, Stull & Apple, 1985) και 3 με 7 ημέρες μετά από έκκεντρες δραστηριότητες (Nosaka, Clarkson & Apple, 1992). Παρομοίως η συγκέντρωση της IL-6 επανέρχεται πιο γρήγορα στα πριν την άσκηση επίπεδα μετά από αερόβια άσκηση και πιο αργά μετά από ασκήσεις που απαιτείται υψηλή εφαρμογή δύναμης.

### *Μόρια συγκόλλησης*

Το ενδοθήλιο των αγγείων αποτελεί φράγμα μεταξύ της κυκλοφορίας του αίματος και των διπλανών ιστών. Δυο από τις πολλές ρυθμιστικές λειτουργίες του περιλαμβάνουν τη συγκράτηση κυττάρων και μορίων εντός της κυκλοφορίας του αίματος, ενώ κατά τη διάρκεια της φλεγμονής βοηθά δραστικά στη συγκέντρωση των λευκοκυττάρων και την καθοδήγησή τους από το αίμα στον τραυματισμένο ιστό. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της δραστηριοποίησης μορίων που εκφράζονται στα λευκοκύτταρα και στα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα των τριχοειδών αγγείων. Αυτά τα μόρια αναφέρονται με την ονομασία μόρια συγκόλλησης (CAMs) (Elangbam, Qualls & Dahlgren, 1997).

Τα ουδετερόφιλα από την κυκλοφορία του αίματος μέσω της κύλισης, της προσκόλλησης και της διαπήδησης διαπερνούν το ενδοθήλιο των τριχοειδών αγγείων (Menger & Vollmar, 1996). Η διαδικασία αυτή ενισχύεται από ορισμένες πρωτεογλυκάνες (HSPGs) (Djanani et al., 2006; Dunzendorfer et al., 2001; der Voort, Keehnen, Beuling, Spaargaren & Pals, 2000), από κυτοκίνες και από μόρια συγκόλλησης (Gotte, 2003; Luo, Carman & Springer, 2007; Saadi, Wrenshall & Platt, 2002).

Πιο συγκεκριμένα για να πραγματοποιηθεί η “μετανάστευση” των λευκοκυττάρων προηγούνται τρία βασικά βήματα. Στο πρώτο βήμα η συγκόλληση περιλαμβάνει χαλαρή δέσμευση των μορίων συγκόλλησης των λευκοκυττάρων με τους αντίστοιχους υποδοχείς των ενδοθηλιακών κυττάρων. Αυτή η χαλαρή δέσμευση επιτρέπει το κύλισμα των λευκοκυττάρων στην εσωτερική επιφάνεια των αγγείων δίνοντάς τους τη δυνατότητα να ελέγξουν το τοπικό περιβάλλον και να συγκεντρωθούν στην περιοχή που

είναι ενεργοποιημένα τα κύτταρα του ενδοθηλίου (Butcher, 1990). Στο γεγονός αυτό βοηθάνε ειδικές πρωτεογλυκάνες (HSPGs, οι οποίες εκφράζονται τόσο στα ουδετερόφιλα όσο και στο ενδοθήλιο των τριχοειδών) (Menger & Vollmar, 1996) που επιβραδύνουν τα ουδετερόφιλα εντός των αγγείων. Εάν υπάρχουν τα κατάλληλα μόρια στην περιοχή όπως είναι οι χημοκίνες ή οι χημειοελκτικοί παράγοντες (που προέρχονται από μακροφάγα, κύτταρα του ενδοθηλίου, μυϊκά κύτταρα και κύτταρα του ανοσοποιητικού στην κυκλοφορία, ιντεγκρίνες, VCAM-1, ICAM, που με τη σειρά τους ενεργοποιούνται από κυτοκίνες και άλλες πρωτεΐνες) (Gotte, 2003; Petridou et al., 2007; Roberts, Won, Pruthi, Lin & Barnard, 2006) τα κύτταρα δεσμεύονται. Στο δεύτερο βήμα ακολουθεί η ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων από τους χημειοτακτικούς παράγοντες και τις ιντεγκρίνες. Στο τρίτο βήμα πραγματοποιείται μια ισχυρή σύνδεση των κυττάρων με το τοίχωμα του ενδοθηλίου και έτσι ολοκληρώνεται η διαδικασία της αναγνώρισης των κυττάρων (Butcher, 1990). Στη συνέχεια πραγματοποιείται η μεταφορά των ουδετερόφιλων μέσω του ενδοθηλίου (Butcher, 1990).

Η επιλογή των συγκεκριμένων λευκοκυττάρων από την κυκλοφορία του αίματος πραγματοποιείται με μεγάλη εξειδίκευση (Butcher, 1990). Αυτό συμβαίνει λόγω των διαφορετικών συνδυασμών των κυτοκινών που παράγονται και που έχουν ως αποτέλεσμα την έκφραση διαφορετικών μορίων συγκόλλησης στα κύτταρα του ενδοθηλίου και στα λευκοκύτταρα. Αυτή η διαφοροποίηση επιτρέπει την ετερογένεια και την επιλεκτικότητα στον εντοπισμό των λευκοκυττάρων. Στην άμεση φλεγμονή πρώτα έλκονται τα ουδετερόφιλα και στη συνέχεια τα μονοκύτταρα (Pober, 1990). Τα μονοκύτταρα πιθανότατα στρατολογούνται με παρόμοιο τρόπο με τα ουδετερόφιλα. Η ιδιαιτερότητα καθορίζεται από διαφοροποιημένες αντιδράσεις σε καθορισμένους χημειοελκτικούς παράγοντες.

Υπάρχουν αρκετές κατηγορίες μορίων συγκόλλησης που σχετίζονται με τα λευκοκύτταρα και την ανάπτυξη φλεγμονής (Butcher, 1990). Η ανοσοσφαιρίνη περιλαμβάνει μόρια συγκόλλησης (ICAM-1) που εκφράζονται στα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα (Elangbam, Qualls & Dahlgren, 1997). Οι ιντεγκρίνες αποτελούν μια άλλη κατηγορία μορίων συγκόλλησης που σε γενικές γραμμές σχετίζονται με τα λευκοκύτταρα (Elangbam et al., 1997). Τα μόρια συγκόλλησης (VCAM-1, ICAM-1), οι συμπληρωματικές πρωτεΐνες (C5a), κάποιες κυτοκίνες που ονομάζονται και χημοκίνες (IL-8, MCP-1, MIP-1), μία ομάδα λιπιδικών μορίων (λευκοτριαινες) και ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF-1) ανήκουν σε μία μεγάλη κατηγορία μορίων που

ονομάζονται χημειοτακτικά μόρια, συνθέτονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στο χώρο του τραυματισμού από τα λευκοκύτταρα και τα κύτταρα του ενδοθηλίου (μετά από δράση των κυτοκινών) και βοηθούν στη μετακίνηση των λευκοκυττάρων προς τον τραυματισμένο ιστό.

Από τα λευκοκύτταρα της κυκλοφορίας του αίματος τα ουδετερόφιλα είναι αυτά που ανταποκρίνονται άμεσα στο ερέθισμα της άσκησης. Πιστεύεται ότι η άσκηση αυξάνει τα ουδετερόφιλα της κυκλοφορίας και η αύξηση αυτή είναι σχετική με τη διάρκεια και την ένταση της δραστηριότητας (Pyne, 1994). Αυτή η ουδετεροφιλία είναι πιθανόν μια αντίδραση στα αυξημένα επίπεδα της επινεφρίνης ή στις αυξημένες δυνάμεις συνάφειας που σχετίζονται με το αυξημένο κλάσμα εξώθησης της καρδιάς κατά τη διάρκεια της άσκησης (Pyne, 1994). Άλλοι στρεσογόνοι παράγοντες όπως η μυϊκή καταστροφή και η αύξηση της θερμοκρασίας έχει δείχτει ότι αυξάνουν την αντίδραση των ουδετερόφιλων στο ερέθισμα της άσκησης αυξάνοντας σημαντικά τον αριθμό των κυττάρων στις 2 με 3 ώρες μετά τη μυϊκή καταστροφή. Αυτό πιθανότατα συμβαίνει λόγω του ότι αυξάνεται η παραγωγή τους και η απελευθέρωσή τους από το μυελό των οστών στη διάρκεια της φλεγμονής (Fielding et al., 1993; Severs, Brenner, Shek & Shephard, 1996; Smith et al., 1989; Ryan, 1977) μετά την ενεργοποίηση του διεγερτικού παράγοντα αποικιών.

Κατά τη διάρκεια της φλεγμονής η επιλεγμένη στρατολόγηση των ουδετερόφιλων τις πρώτες 6 ώρες ακολουθείται από τα μονοκύτταρα (Ryan, 1977). Η διαδικασία αυτή αποτελεί μια πολύ βασική και σύνθετη εκδήλωση της φλεγμονής η οποία ελέγχεται σε μεγάλο βαθμό από τους αντίστοιχούς χημειοτακτικούς παράγοντες. Τα μόρια αυτά συνθέτονται σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις στα σημεία τραυματισμού του μυϊκού ιστού. Η παραγωγή τους γίνεται τοπικά από διάφορα κύτταρα όπως τα λευκοκύτταρα, τα κύτταρα του ενδοθηλίου κ.ά. που ενεργοποιούνται από τις κυτοκίνες και άλλους φλεγμονώδεις παράγοντες (Berlin et al., 1995; Elices et al., 1990).

Τα χημειοελκτικά μόρια έχουν μια διπλή λειτουργία στη στρατολόγηση των λευκοκυττάρων. Βοηθάνε στην έλξη των κυττάρων από την κυκλοφορία στο μέλος που έχει τραυματιστεί και στη συνέχεια καθοδηγούν τα κύτταρα αυτά στο ακριβές σημείο τραυματισμού. Υπάρχουν τρεις βασικοί τύποι χημειοελκτικών παραγόντων για τα λευκοκύτταρα, με τα κλασσικά χημειοελκτικά να εμφανίζονται σε μεγαλύτερο βαθμό. Τα μόρια αυτά δρουν σε αρκετά είδη κυττάρων όπως τα μονοκύτταρα και τα ουδετερόφιλα. Σε αυτά περιλαμβάνεται και η λευκοτριάνη B4 (ένας μεταβολίτης του αραχιδονικού



οξέος) όπως και ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (ένα παράγωγο του μεταβολισμού της φωσφατιδυλοχολίνης).

Αρκετές κυτοκίνες επίσης ταξινομούνται ως χημειοελκτικοί παράγοντες και για το λόγω αυτό ονομάζονται χημοκίνες. Οι α-χημοκίνες, όπως είναι η IL-8, δρουν στα ουδετερόφιλα και τους ινοβλάστες και εμπλέκονται στην επούλωση τραυμάτων. Οι β-χημοκίνες που περιλαμβάνουν και τη χημειοελκτική πρωτεΐνη των μονοκυττάρων (MCP-1) δρουν στα μονοκύτταρα και στα λεμφοκύτταρα (Berlin et al., 1995; Elices et al., 1990).

Τα περισσότερα κύτταρα του ανοσοποιητικού (λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα, εοσινόφιλα, βασεόφιλα, φυσικοί φονιάδες) παράγουν το μόριο συγκόλλησης α4β1 ιντεγκρίνη, το οποίο διευκολύνει τη συγκόλληση των κυττάρων στο ενεργοποιημένο ενδοθήλιο μέσω της επίδρασης στα αγγειακά κύτταρα του αγγειακού μορίου συγκόλλησης-1 (VCAM-1) (Berlin et al., 1995; Elices et al., 1990). Ωστόσο τα ουδετερόφιλα δεν παράγουν αυτήν την ιντεγκρίνη (Hemler, 1990) και για να αλληλεπιδράσουν με το ενδοθήλιο παράγουν τις ιντεγκρίνες β2 (CD18) οι οποίες επιδρούν σε ανοσοσφαιρίνες που βρίσκονται στην επιφάνεια του ενδοθηλίου (Amaout, 1990). Το μονοπάτι αυτό απαιτεί προηγουμένως την ενεργοποίηση των ενδοκυττάρων μορίων συγκόλλησης-1 (ICAMs) μέσω της διέγερσης των κυτοκινών και διαλυτών πρωτεϊνών (Kinashi, 2007; Luo, Carman & Springer, 2007). Στο πρόωρο αυτό στάδιο η προέλευση των κυτοκινών δεν είναι γνωστή αν και τα μακροφάγα, τα κύτταρα του ενδοθηλίου, τα ίδια τα μυϊκά κύτταρα και τα ανοσοποιητικά κύτταρα της κυκλοφορίας πιθανότατα να είναι υπεύθυνα.

Ο μηχανισμός της μετανάστευσης των ουδετερόφιλων που έχουν βγει από την κυκλοφορία του αίματος δεν είναι γνωστός με ακρίβεια. Η επούλωση των δερματικών πληγών έχει μελετηθεί εκτενώς και η πρωτεΐνη που διευκολύνει τη μετανάστευση των ουδετερόφιλων στην περίπτωση αυτή είναι η Mac-1 (CD11b/CD18) που είναι ταυτόχρονα και μια β2 ιντεγκρίνη. Η ιντεγκρίνη αυτή πρόσφατα αποδείχθηκε ότι διευκολύνει τη μετανάστευση των ουδετερόφιλων σε ανθρώπινα κύτταρα σε πειραματικές συνθήκες (in vitro) (Kinashi, 2007). Από μελέτες φαίνεται ότι τα μυϊκά κύτταρα μπορούν να παράγουν τον παράγοντα ICAM-1 (Sonnet et al., 2006). Έτσι πιθανότατα τα ουδετερόφιλα είναι ικανά να μεταναστεύουν διαμέσου ποικίλων ιστών, συμπεριλαμβανομένου και του μυϊκού, χρησιμοποιώντας ένα μηχανισμό παρόμοιο με αυτό της μετακίνησης δια μέσου του ενδοθηλίου. Εκτός από την έκφρασή τους στην επιφάνεια των κυττάρων, οι παράγοντες ICAM-1 και VCAM-1 βρίσκονται σε διαλυτή μορφή και στο πλάσμα.



Αυξημένες συγκεντρώσεις διαλυτών μορίων συγκόλλησης πιστεύεται ότι διευκολύνουν την αρτηριοσκληρωτική φλεγμονή (Petridou et al., 2007). Σε άτομα με χρόνιες ασθένειες η άσκηση φάνηκε να μειώνει τα επίπεδα του διαλυτού ICAM-1 (Roberts, Won, Pruthi, Lin & Barnard, 2006). Ωστόσο από τη βιβλιογραφία που είναι σχετική με την άθληση φαίνεται ότι δε βρέθηκαν σημαντικές αλλαγές στις συγκεντρώσεις των διαλυτών μορίων συγκόλλησης στο πλάσμα μετά από πρωτόκολλα άσκησης (Petridou et al., 2007; Smith et al., 2000). Από τις μελέτες αυτές φαίνεται ότι τα διαλυτά μόρια συγκόλλησης αποτελούν ευαίσθητους δείκτες της ευεργετικής επίδρασης της άσκησης στη συστηματική φλεγμονή, όχι όμως και για την επίδραση της άσκησης στη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος σε κατά τα άλλα υγιή άτομα.

Η αύξηση του αριθμού των ουδετερόφιλων κορυφώνεται 24-48 ώρες μετά τον τραυματισμό. Τα κύτταρα αυτά προέρχονται είτε από προσχηματισμένα ουδετερόφιλα στο μυελό των οστών ή από παραγωγή νέων ουδετερόφιλων από το μυελό των οστών μέσω της δράσης μορίων που εκκρίνονται κυρίως από την τραυματισμένη περιοχή (διεγερτικός παράγοντας αποικιών, προσταγλανδίνες, λευκοτρίαινες, συμπληρωματικές πρωτεΐνες) (Sherwood, 2007).

### ***Πρωτεΐνες άμεσης δράσης***

Μετά τις πρώτες 6 ώρες από την έναρξη του μυϊκού τραυματισμού ακολουθεί ένα σύνολο επικαλυπτόμενων γεγονότων που οδηγούν στην επούλωση. Αρκετά από αυτά τα γεγονότα ομαδοποιούνται και αναφέρονται ως φάσεις άμεσης αντίδρασης. Μερικά από αυτά είναι η τοπική ενεργοποίηση μορίων, η σύνθεση και απελευθέρωση ποικίλων κυτοκινών και χημειοελκτικών παραγόντων, η αύξηση των λευκοκυττάρων στην κυκλοφορία κ.ά. Δυο συστηματικές αντιδράσεις μετά την άμεση φλεγμονή μπορεί να είναι η εμφάνιση πυρετού και η αλλαγή της ρύθμισης των γονιδίων στο ήπαρ που έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή των πρωτεϊνών άμεσης δράσης από αυτό (Baumann et al., 1994; Fleck, Colley, Goode, Muller & Myers, 1983; Koj & Guzdek, 1995).

Μια βασική λειτουργία των πρωτεϊνών αυτών είναι η προστασία από την εκτεταμένη βλάβη που μπορεί να προκληθεί από τη φλεγμονή. Καταβολικά ένζυμα και δραστικά είδη οξυγόνου απελευθερώνονται από κύτταρα που πραγματοποιούν φαγοκύτωση με στόχο να απομακρυνθούν τα νεκρά στοιχεία και να προαχθεί η διαδικασία της επούλωσης. Επειδή η παραπάνω διαδικασία δε διακρίνει τα υγιή από τα νεκρά κύτταρα σε περίπτωση που δεν ελεγχθεί μπορεί να προκαλέσει περαιτέρω βλάβη στον

ιστό. Οι πρωτεΐνες άμεσης δράσης αποτελούν βασικό μηχανισμό ελέγχου της εξέλιξης της φλεγμονής (Baumann et al., 1994; Fleck et al., 1983; Koj et al., 1995).

Οι περισσότερες από αυτές τις πρωτεΐνες είναι σφαιρίνες της κυκλοφορίας του αίματος που παράγονται από το ήπαρ ως αντίδραση στις κυτοκίνες και κυρίως στην IL-6 και στην IL-1β. Συγκεντρώσεις αρκετών πρωτεϊνών του πλάσματος όπως η δραστική πρωτεΐνη C (CRP) και το αμυλοειδές A του ορού (SAA), αποτελούν τις δυο βασικότερες ανθρώπινες πρωτεΐνες άμεσης δράσης και μπορούν να αυξηθούν τα επίπεδά τους περισσότερο από 1000 φορές σε περιπτώσεις φλεγμονών. Σε αντίθεση ορισμένες άλλες πρωτεΐνες όπως η αλβουμίνη και η τρανσφερίνη μειώνονται.

Σε όλες τις περιπτώσεις υπάρχει μια περίοδος 6 ωρών πριν οι συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών αρχίσουν να αυξάνονται. Ο χρόνος που απαιτείται για την έκφραση των διαφόρων πρωτεϊνών άμεσης δράσης ποικίλει με ορισμένες πρωτεΐνες να διαφοροποιείται η έκφρασή τους έντονα εντός 24 ωρών, ενώ κάποιες άλλες να εμφανίζουν σημαντικές αλλαγές στην έκφρασή τους σε διάστημα έως και 5 ημερών (Fleck et al., 1983). Ο αριθμός των πρωτεϊνών άμεσης δράσης που θα ενεργοποιηθούν και οι παραγόμενες ποσότητές τους εξαρτώνται από την έκταση του τραυματισμού. Σε μια πειραματική συνθήκη έχειδειχθεί ότι αν αυξηθεί η δόση της ενδοτοξίνης αυξάνεται τόσο η έκταση όσο και η εκδήλωση της φλεγμονής (Fleck et al., 1983).

Όσο αφορά την άσκηση η συγκέντρωση των πρωτεϊνών άμεσης δράσης αυξάνεται μετά από διάφορα είδη δραστηριότητας (Dufaux, Hoffken & Hollman, 1983) ακόμη και αρκετές μέρες μετά. Το γεγονός αυτό παρουσιάζει την ανάπτυξη φλεγμονής μετά από την άσκηση πιθανόν ως αποτέλεσμα μιας σειράς μη εξειδικευμένων μηχανικών μυϊκών βλαβών. Επιπλέον φαίνεται να υπάρχει σχέση της αύξησης της CRP με τον όγκο της άσκησης (Strachan, Noakes, Kotzenberg, Nel & deBeer, 1984). Στις 24 ώρες μετά από μια κούρσα 21 Km είχε παρατηρηθεί μόνο μικρή αύξηση της CRP, ενώ η αύξηση που μετρήθηκε μετά από δρόμο 88 Km ήταν ανάλογη με αυτή που εμφάνιζαν ασθενείς με εμφράγματα. Ακόμη οι μη αθλούμενοι εμφάνισαν υψηλότερες συγκεντρώσεις σε σύγκριση με αυτούς που αθλούνταν (Strachan et al., 1984). Σε μια μελέτη που περιλάμβανε ανεβοκατέβασμα σε "σκαλί" αναφέρθηκαν αυξήσεις στην CRP όχι όμως στην α1-οξυ γλυκοπρωτεΐνη και στην α1-αντιτριψίνη.

Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι για να αυξηθούν οι πρωτεΐνες άμεσης δράσης θα πρέπει η διάρκεια της άσκησης να είναι μεγάλη (>2 ώρες) (Strachan et al., 1984; Taylor et al., 1987) και η αύξηση θα είναι ιδιαίτερα αισθητή μετά τις πρώτες 24 ώρες. Η πιο συχνά

μετρήσιμη πρωτεΐνη άμεσης δράσης είναι η CRP που εμφανίζει αυξήσεις ακόμη και στο 300% (Gleeson et al., 1995; Strachan et al., 1984; Taylor et al., 1987).

### ***Δευτερογενής βλάβη***

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω τα ουδετερόφιλα συμβάλλουν στα μετατραυματικά γεγονότα με δυο τρόπους: α) Τα εισερχόμενα ουδετερόφιλα πραγματοποιούν τη φαγοκύτωση για να καθαρίσουν τα τμήματα που έχουν νεκρωθεί (Tiidus, 1998) και β) επαυξάνουν τη διαδικασία της φλεγμονής μέσω της απελευθέρωσης προ-φλεγμονωδών κυτοκινών όπως η IL-6 και ο TNF-a (Cannon & Pierre, 1998; Rosenberg & Gallin 1993; Tidball, 2005). Αν και η φαγοκύτωση όπως και η αναπνευστική αλυσίδα των ουδετερόφιλων αποτελούν σημαντικούς μηχανισμούς στην αρχική φάση της φλεγμονής μετά τον τραυματισμό, μπορούν ταυτόχρονα να επεκτείνουν τον τελευταίο ακόμη και σε γειτονικούς υγιείς ιστούς.

Η δευτερεύουσα βλάβη στον τραυματισμένο ιστό μπορεί να είναι αποτέλεσμα ποικίλων κυτταρικών και βιοχημικών διαδικασιών που ενεργοποιούνται λόγω του αρχικού τραυματισμού. Η έκταση αυτής της βλάβης φαίνεται να σχετίζεται με τη σοβαρότητα του αρχικού τραυματισμού.

Τα ουδετερόφιλα είναι τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος που κυριαρχούν στον τραυματισμένο ιστό κατά την πρόκληση και της δευτερεύουσας βλάβης (Hurme & Kalimo, 1992; Hurme, Kalimo, Lehto & Järvinen, 1991; Tidball, 1995). Τα ουδετερόφιλα έχει αποδειχθεί ότι παράγουν ελεύθερες ρίζες κατά τη διάρκεια της φαγοκύτωσης (Evans & Cannon, 1991). Επίσης έχει βρεθεί ότι η μείωση των ουδετερόφιλων πριν από τον τραυματισμό που προκαλείται κατά το φαινόμενο της ισχαιμίας-υπεραιμάτωσης μειώνει την έκταση της καταστροφής κατά 40% τόσο του καρδιακού όσο και του σκελετικού μυ (Jolly et al., 1986; Kyriakides et al., 1999). Οι παρατηρήσεις αυτές ενισχύουν την άποψη της εμπλοκής των ουδετερόφιλων στη δευτερεύουσα βλάβη. Παρομοίως με αναστολή της αναπνευστικής αλυσίδας των κυττάρων αυτών μειώνεται η βλάβη στα μυοϊνίδια (Toumi, F'Guyer & Best, 2006).

Από την άλλη πλευρά άλλοι μηχανισμοί φαγοκύτωσης μπορεί να έχουν κάποια εμπλοκή. Σε φυσιολογικές συνθήκες τα λυσοσωματικά ένζυμα και οι πρωτεάσες που είναι υπεύθυνες για φαγοκυτταρικές διαδικασίες συνήθως βρίσκονται μέσα σε κάψουλες. Όταν απελευθερωθούν λόγω κάποιου ατυχήματος από κύτταρα που πέθαναν ή πεθαίνουν στον εξωκυττάριο χώρο μπορούν να προκαλέσουν δευτερεύουσα βλάβη. Επίσης τα

λυσοσώματα μπορούν να ελευθερώσουν το περιεχόμενό τους στα κύτταρα που βρίσκονται με αποτέλεσμα να προκαλέσουν τη νέκρωσή τους (Mettick, 2002).

Τα πρωτεολυτικά μονοπάτια των λυσοσωματίων αναφέρεται ότι είναι υπεύθυνα για το 40% της μυϊκής ατροφίας που εμφανίζεται στο μυ μετά από πειραματική πρόκληση μυϊκού τραυματισμού. Ωστόσο από μελέτες έχει φανεί ότι τα ενεργοποιημένα λυσοσώματα σχετίζονται με τα μακροφάγα και τη λειτουργία τους στις κατεστραμμένες μυϊκές ίνες (McLennan, 1993; Honda, Kimura & Rostami, 1990). Από μια πρόσφατη μελέτη φαίνεται ότι τα μακροφάγα δε συνεισφέρουν στην πρόκληση της δευτερεύουσας βλάβης αλλά αντιθέτως διευκολύνουν την επούλωση (Farges et al., 2002) του ιστού.

Απαιτείται περαιτέρω έρευνα για την εξακρίβωση του μηχανισμού πρόκλησης της δευτερεύουσας βλάβης.

### *Τερματισμός φλεγμονής*

Η ενεργοποίηση και δράση των παραπάνω παραγόντων στόχο έχει τη συγκέντρωση των ανάλογων κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος στο σημείο τραυματισμού. Όταν αυτή η διαδικασία ολοκληρωθεί ακολουθεί η λήξη της οξείας φλεγμονής όπου τα τραυματισμένα μυϊκά κύτταρα αδρανοποιούνται συνήθως με δύο μηχανισμούς, τη νέκρωση και την απόπτωση (προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος) (Kostin et al., 2003). Αν και η νέκρωση των τραυματισμένων μυϊκών ινών έχει τεκμηριωθεί, για την απόπτωση υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα κι αυτό πιθανά να οφείλεται στη δράση των μακροφάγων να την περιορίσουν ή να την αναστείλουν (Smith, Kruger, Smith, Myburgh, 2008; Sonnet et al., 2006).

Μετά τη νέκρωση το ενδοκυτταρικό περιεχόμενο ελευθερώνεται στο τοπικό περιβάλλον προκαλώντας την εμφάνιση φλεγμονής στο σημείο (Cohen, 1993). Η απόπτωση αποτελεί μια σειρά από διαδοχικές διαδικασίες όπως τη μείωση του όγκου του κυττάρου, την αποσύνθεση του πυρήνα και τελικά το θρυμματισμό του κυττάρου. Σε αυτή τη διαδικασία η ακεραιότητα της μεμβράνης δε χάνεται ποτέ και το τοπικό περιβάλλον προστατεύεται από βλαβερά ενδοκυτταρικά περιεχόμενα όπως κάποια αποδομητικά ένζυμα των ουδετερόφιλων (Desmouliere, Badid, Bochaton-Piallat & Gabbiani, 1997; Ren & Savill, 1995; Squier, Sehnert & Cohen, 1995).

Τα αποπτωτικά κύτταρα απομακρύνονται μέσω της φαγοκύτωσης χωρίς να αφήνουν ίχνη. Τα ουδετερόφιλα μετά τη συγκέντρωσή τους στο σημείο τραυματισμού δεν επιστρέφουν στην κυκλοφορία του αίματος όπως κάνουν τα λεμφοκύτταρα. Έτσι πρέπει

να απορριφθούν και ο μηχανισμός της απόπτωσης είναι ο καταλληλότερος για αυτή τη διαδικασία (Cohen, 1993). Υπάρχουν ενδείξεις ότι η IL-6 προάγει την απόπτωση σε ώριμα ανθρώπινα ουδετερόφιλα σε πειραματικές συνθήκες (in vitro) (Afford, Pongracy, Stockley, Crocker & Burnett, 1992). Δυο επιπρόσθετες συνθήκες είναι γνωστές ότι αυξάνουν την απόπτωση στα ουδετερόφιλα και αυτές είναι η γήρανση και η ανάκληση των αυξητικών παραγόντων που παράγονται κατά τη φλεγμονή (Brach, de Vos, Gruss. & Hermann, 1992).

Πιστεύεται ότι η φαγοκύτωση των ουδετερόφιλων από τα μακροφάγα έχει ως αποτέλεσμα την ουδετεροποίηση των τελευταίων. Αρχικά όταν τα μακροφάγα διεγείρονται από προφλεγμονώδεις κυτοκίνες υπάρχει μια αύξηση στη φαγοκύτωση των αποπτωτικών ουδετερόφιλων (Haslett, 1992). Τα μακροφάγα μετά την πρώτη φαγοκύτωση αποπτωτικών κυττάρων δεν απελευθερώνουν πλέον εικοσανοειδή και κυτοκίνες (Weiss, 1989). Από τη βιβλιογραφία φαίνεται ότι υπάρχει περιορισμένος αριθμός μελετών που να σχετίζουν την απόπτωση με τη μυϊκή καταστροφή που προκαλείται από την άσκηση και τη φλεγμονή.

Υπάρχουν ενδείξεις ότι ο τερματισμός της οξείας φλεγμονής σηματοδοτείται από τη δράση της κορτιζόλης (Turnbull et al., 1994). Η κορτιζόλη και οι φλεγμονώδεις κυτοκίνες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους με στόχο τον έλεγχο της φλεγμονής. Η κορτιζόλη ένα από τα βασικότερα κορτικοστεροειδή αποτελεί ταυτόχρονα και μια αντιφλεγμονώδη, ανοσοκατασταλτική ορμόνη (Weicker & Werle, 1991). Οι βασικότερες φλεγμονώδεις κυτοκίνες TNF- $\alpha$  και IL-1 $\beta$  είναι αυτές που επηρεάζονται στο μεγαλύτερο βαθμό από τη δράση των ορμονών αυτών με την IL-6 να επηρεάζεται λιγότερο (DeRijk, R. Michelson, D. Karp, B. et al. (1997). Οι ιντερλευκίνες 1 και 6 είναι ικανές να διεγείρουν τον υποθάλαμο με αποτέλεσμα την έκκριση ACTH και κορτικοστεροειδών (Baumann et al., 1994; Turnbull et al., 1994). Επίσης η IL-6 πιθανόν να μπορεί να διεγείρει απευθείας το φλοιό των επινεφριδίων για την παραγωγή των κορτικοστεροειδών (Turnbull et al., 1994). Αυτή η επίδραση της IL-6 συμβαδίζει με τον ρόλο της στον έλεγχο της φλεγμονής καθώς όπως προαναφέρθηκε η κυτοκίνη αυτή διαδραματίζει προ αλλά και αντί φλεγμονώδη ρόλο.

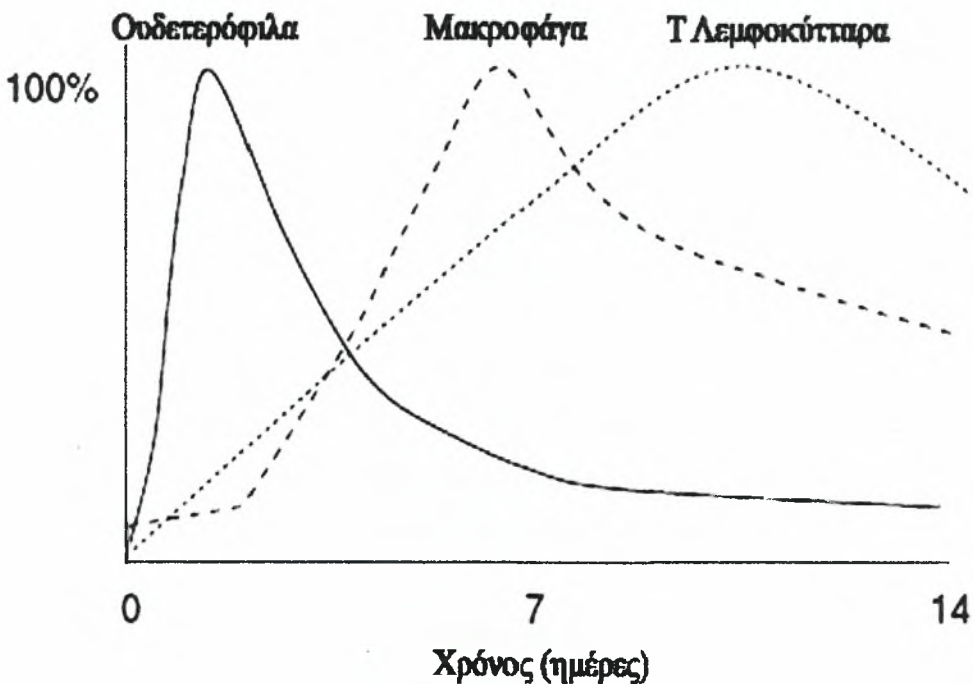
Μια σχηματική παράσταση της μεταβολής του αριθμού και του είδους των λευκοκυττάρων μετά την πρόκληση μυϊκού τραυματισμού φαίνεται στο σχήμα 2. Η συγκέντρωση των ουδετερόφιλων στο σημείο τραυματισμού αρχίζει από την 1<sup>η</sup> ώρα μετά τη βλάβη και κορυφώνεται στις 12 ώρες περίπου μετά από αυτόν (Fielding, Manfredi,



Ding, Fiatarone, Evans & Cannon 1993; Tidball, 2005). Η κυριαρχία των ουδετερόφιλων τις πρώτες ώρες –σχετικά με τα άλλα κύτταρα του ανοσοποιητικού- οφείλεται στο γεγονός ότι στην κυκλοφορία του αίματος υπάρχει μεγάλος αριθμός πρόδρομων μορφών τους και επιπλέον παράγονται νέα ουδετερόφιλα από το μυελό των οστών που διεγείρεται από την απελευθέρωση χημικών παραγόντων (προσταγλανδίνες, ισταμίνη,  $TxA_2$ , 5-HT) στο σημείο τραυματισμού (Marder, Chenoweth, Goldstein & Perez, 1985; Sherwood, 2007; Tidball, 2005). Το γεγονός αυτό λειτουργεί ως πηγή προ-φλεγμονωδών κυτοκινών (IL-8, IL-1, TNF-a) (Barbero et al., 2001; Cannon & Pierre, 1998; Fielding et al., 1993; Tidball, 1995). Οι κυτοκίνες αυτές με τη σειρά τους αποτελούν ρυθμιστικούς παράγοντες της φλεγμονής καθώς έλκουν τα μονοκύτταρα στην περιοχή του τραυματισμού (Cannon & Pierre, 1998; Tidball, 1995). Επιπλέον ο TNF-a μειώνει την έκφραση του παράγοντα MyoD και των βαριών αλυσίδων της μυοσίνης (MyHC) στα μυοσωληνάρια (Guttridge, Mayo, Madrid, Wang & Baldwin, 2000). Πρόσφατες έρευνες αναφέρουν ότι τα ουδετερόφιλα παράγουν δραστικά είδη οξυγόνου στον τραυματισμένο μυ (Best, Fiebig, Corr, Brickson & Ji, 1999). Αν και δεν έχει πιστοποιηθεί ακόμη όπως θα δούμε παρακάτω πιστεύεται ότι οι ελεύθερες ρίζες ενεργοποιούν το μονοπάτι του NF-kB (Lille et al., 2001).

Τα μακροφάγα συγκεντρώνονται στο σημείο τραυματισμού μετά τα ουδετερόφιλα και παραμένουν εκεί ακόμη και για εβδομάδες (εξαρτάται από τη βλάβη). Στο σημείο εκείνο αυτό-αντιγράφονται και πολλαπλασιάζονται (Cantini & Carraro, 1995; St Pierre & Tidball, 1994). Από τους υποπληθυσμούς των μακροφάγων δυο είναι αυτοί που εμφανίζονται στο σημείο τραυματισμού τα ED1+ (μακροφάγα της κυκλοφορίας) και τα ED2+ (μακροφάγα των ιστών) σε διαφορετικά χρονικά σημεία (Fielding et al., 1993; Warren, Hayes, Lowe & Armstrong, 1993). Οι διαφορετικές κατηγορίες μακροφάγων έχουν διαφορετικές επιδράσεις κατά τη διαδικασία της επούλωσης (Jarvinen, Kaariainen, Jarvinen & Kalimo, 2000). Πιο συγκεκριμένα τα ED1+ είναι αυτά που φτάνουν πρώτα στο σημείο τραυματισμού. Η βασική λειτουργία τους είναι η διάσπαση των κατεστραμμένων ιστών μέσω της φαγοκύτωσης (Honda, Kimura & Rosrami, 1990, Honda, Kimura & Rosrami, 1992). Εμφανίζονται σχεδόν άμεσα και κορυφώνεται η συγκέντρωσή τους στις 2 ημέρες μετά τον τραυματισμό (Honda et al., 1990). Τα ED2+ φτάνουν στο σημείο τραυματισμού μετά τα ED1+ (St Pierre & Tidball, 1994). Αν και ο ακριβής ρόλος τους στη διαδικασία της επούλωσης δεν είναι ξεκαθαρισμένος είναι παρόντα σε όλη τη φάση αναγέννησης του μύος (Honda et al., 1990).

Άλλα λευκοκύτταρα που εμφανίζονται στον τραυματισμένο μυ είναι τα CD11b1,2 και τα ER-BMDM1 θετικά κύτταρα (Leenen, Melis, Kraal, Hoogeveen & Van Ewijk, 1992; Pimorady-Esfahani, Grounds & McMenamain, 1997). Όλα τα λευκοκύτταρα συμπεριλαμβανομένων και των μακροφάγων και των ουδετερόφιλων εκτελούν ένα ευρύ φάσμα λειτουργιών στη διάρκεια της φλεγμονής (Cantini & Carraro, 1995; St Pierre & Tidball, 1994). Ορισμένες εκκρίσεις τους όπως τα μόρια συγκόλλησης (P-Σελεκτίνη, L-Σελεκτίνη, E-Σελεκτίνη), οι κυτοκίνες (IL-8, IL-6, IL-1) και ο TNF- $\alpha$  επηρεάζουν την τοπική παροχή αίματος και την διαπερατότητα των αγγείων ενώ επιταχύνουν την ανάπτυξη της φλεγμονής (Alstaedt, Kirchner & Rink, 1996; Cannon & St Pierre, 1998; Dubravec, Spriggs, Mannick & Rodrick, 1990; Fielding et al., 1993). Ακόμη απελευθερώνουν αυξητικούς παράγοντες (IGF, HGF, LIF, EGF, TGF- $\beta$ , PDGF) που μπορούν να ρυθμίσουν τον πολλαπλασιασμό των μυοβλαστών και τη διαφοροποίησή τους οδηγώντας στην επούλωση του μυ.



**Σχήμα 2.** Μεταβολή του αριθμού και του είδους των λευκοκυττάρων στο σημείο τραυματισμού (Από Smith et al., 2008).

### **Συνοπτικά τα βήματα εμφάνισης της φλεγμονής**

Παρακάτω παρατίθενται τα βήματα εμφάνισης της φλεγμονής μέχρι τη λήξη της. Ωστόσο κάποιες από αυτές τις διαδικασίες δεν είναι απόλυτα αποσαφηνισμένες και απαιτείται περαιτέρω έρευνα.

α) Πρόκληση μυϊκού τραυματισμού μέσω της άσκησης.

β) Προσέλκυση των αιμοπεταλίων για περιορισμό της αιμορραγίας. Ταυτόχρονη έκλυση παραγόντων που οδηγούν στην αγγειοδιαστολή.

γ) Ενεργοποίηση των μακροφάγων που βρίσκονται στο σημείο του τραυματισμού πιθανόν και από μηχανικούς παράγοντες.

δ) Τοπική απελευθέρωση κυτοκινών και κυρίως της IL-1β και του TNF-a.

ε) Τοπική σύνθεση ποικίλων χημειοελκτικών παραγόντων που διαχέονται στα τοπικά τριχοειδή αγγεία και ενεργοποιούν μόρια συγκόλλησης. Αυτά με τη σειρά τους οδηγούν στην προσκόλληση των λευκοκυττάρων στα τοιχώματα των αγγείων. Στη συνέχεια τα μόρια αυτά δρουν και οδηγούν τα λευκοκύτταρα στον τραυματισμένο μυϊκό ιστό.

στ) Οι κυτοκίνες διεγείρουν τα τοπικά ενδοθηλιακά κύτταρα και αυτά με τη σειρά τους απελευθερώνουν IL-6, επιπλέον μόρια συγκόλλησης και διεγερτικούς παράγοντες αποικιών.

ζ) Ο διεγερτικός παράγοντας αποικιών διεγείρει την απελευθέρωση ώριμων λευκοκυττάρων από το μυελό των οστών, γεγονός που αποτελεί μια συστημική επίδραση όπως και τα επόμενα δυο στάδια.

η) Οι κυτοκίνες διεγείρουν την παραγωγή και απελευθέρωση από το ήπαρ των πρωτεϊνών άμεσης δράσης.

θ) Οι κυτοκίνες διεγείρουν την έκκριση κορτικοστεροειδών.

ι) Τα λευκοκύτταρα μεταναστεύουν από την κυκλοφορία του αίματος στον σημείο τραυματισμού.

κ) Η λήξη της φλεγμονής είναι αποτέλεσμα του συνδυασμού πολλών παραγόντων όπως τα αυξημένα επίπεδα στην κυκλοφορία του αίματος κορτικοστεροειδών, η δραστηριότητα των πρωτεϊνών άμεσης δράσης, η διαδικασία της απόπτωσης και η αναστολή προφλεγμονωδών παραγόντων από μόρια όπως η IL-4, η IL-10 και η IL-1ra. Οι διαδικασίες αυτές αναφέρονται τόσο σε τοπικό όσο και σε συστημικό επίπεδο.

### *Δείκτες που χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της φλεγμονής*

Για την εκτίμηση της φλεγμονής σε τοπικό επίπεδο θα πρέπει να πραγματοποιηθεί βιοψία και να ληφθεί ιστός από το σημείο που εμφανίστηκε η φλεγμονή. Αν και αυτή η διαδικασία δέχεται επικρίσεις για την ακρίβειά της, στον ιστό που λαμβάνεται ανιχνεύονται διάφοροι δείκτες. Πιο συγκεκριμένα εκτιμάται η ποσότητα του mRNA των παρακάτω μορίων στα διάφορα κύτταρα του ιστού που λήφθηκαν. Η έκφραση των μορίων που συνήθως ελέγχονται είναι ο παράγοντας NF-kB, η κυκλοοξυγενάση-2 (COX-2), οι κυτοκίνες IL-1β, IL-6, IL-8, ο ιστικός παράγοντας νέκρωσης-α (TNF-α) και τα αντιγόνα CD3, CD11b, CD56, CD163, IGF-1, LIF, LIF-R και HIF-1β (Crul et al., 2007; Malm et al., 2004, Nieman et al., 2007,).

Για την συστημακή εκτίμηση της φλεγμονής μετριοούνται δείκτες όπως οι κυτοκίνες IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IFNγ, TNF-α στον ορό του αίματος, το ελεύθερο DNA στο πλάσμα, το αμυλοειδές A του ορού, οι συμπληρωματικές πρωτείνες, οι πρωτείνες άμεσης δράσης και τα μόρια συγκόλλησης (Hodkinson et al., 2006; Nieman et al., 2006). Επιπλέον μετριέται η έκφραση αρκετών κυτοκινών και αντιγόνων στα μονοκύτταρα και στα λεμφοκύτταρα της κυκλοφορίας (IL-6, IL-8, IL-10, IL-1ra, TNF-α, CD3, CD4, CD8, CD11b, CD45, CD95, Ki67, DR, CD14) (Crul et al., 2007; Malm et al., 2004, Nieman et al., 2007,).

### *Επούλωση του μυ - Ο ρόλος των λευκοκυττάρων*

Όπως αναφέρθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο η πρώτη ομάδα λευκοκυττάρων που συγκεντρώνονται στο σημείο τραυματισμού είναι τα ουδετερόφιλα, ωστόσο πολύ σύντομα ακολουθούν και τα μακροφάγα (Smith, 1991). Ο μηχανισμός που είναι υπεύθυνος για την έλξη των μακροφάγων δεν είναι γνωστός με ακρίβεια, παρόλα αυτά πιθανότατα ο τραυματισμένος ιστός απελευθερώνει προσωρινά μόρια που είναι υπεύθυνα για την έλξη των κυττάρων αυτών (Tidball, Berchenko & Frenette, 1999).

Η συνεισφορά και η αλληλεπίδραση των ουδετερόφιλων και των μακροφάγων στην επούλωση του ιστού είναι ανεπαρκώς κατανοητή. Παρόλα αυτά οι δυο αυτές κατηγορίες κυττάρων συνυπάρχουν στο σημείο τραυματισμού για κάποιο διάστημα αλληλεπιδρούν και εκτελούν διαφορετικές λειτουργίες. Για παράδειγμα κάποιες λειτουργίες των μακροφάγων φαίνεται να αναστέλλονται από την απουσία των ουδετερόφιλων, έτσι η μειωμένη φαγοκύτωση των κυτταρικών υπολειμμάτων από τα ουδετερόφιλα έχει ως αποτέλεσμα την πιο αργή κυτταρική αναγέννηση και επούλωση από

τα μακροφάγα (Grounds, 1987). Ο ρόλος της επικοινωνίας των λευκοκυττάρων και της αλληλεπίδρασής τους φαίνεται να είναι πιο πολύπλοκος από την παρατήρηση ότι η αυξημένη συγκέντρωση των ουδετερόφιλων βλάπτει την επούλωση μέσω μιας αυξημένης δευτερογενούς βλάβης στον ιστό (Pizza, Peterson, Baas & Koh, 2005). Πιστεύεται ότι κάποιες λειτουργίες των ουδετερόφιλων βοηθάνε στην αναγέννηση του ιστού. Για παράδειγμα οι Teixeira και συν. (Teixeira et al., 2003) έδειξαν ότι ο μυϊκός ιστός αναγεννήθηκε πιο αργά όταν δεν υπήρχαν ουδετερόφιλα μετά από ένεση με δηλητήριο φιδιού.

Τα μακροφάγα σε αντίθεση με τα ουδετερόφιλα, διακρίνονται σε διάφορες υποκατηγορίες με βάση την έκφραση κάποιων δεικτών επιφανείας και τον ιστό στον οποίο ενεργοποιούνται. Αυτές οι υποκατηγορίες εμφανίζονται στον τραυματισμένο ιστό με διαφορετικό χρονοδιάγραμμα η κάθε μία, υποδεικνύοντας έτσι τη διαφορετικότητα του ρόλου κάθε υποκατηγορίας μακροφάγων (De Palo et al., 2008). Τα μακροφάγα εμφανίζονται 24 ώρες έως και 14 ημέρες μετά το μυϊκό τραυματισμό (Peake, Nosaka & Suzuki, 2005). Η παρατήρηση ότι τα μακροφάγα μπορούν να αλλάζουν υποκατηγορίες ανάλογα με το περιβάλλον που δραστηριοποιούνται περιπλέκει ακόμη περισσότερο τα πράγματα σχετικά με το ρόλο τους στην ασκησιογενή φλεγμονή που ακολουθεί το μυϊκό τραυματισμό (Smith, Kruger, Smith & Myburgh, 2008). Φαίνεται λοιπόν ότι τα μακροφάγα παίζουν σημαντικό ρόλο σε όλες τις φάσεις της ασκησιογενούς φλεγμονής.

Αυτές οι πολλαπλές λειτουργίες των μακροφάγων θα πρέπει να αποσαφηνιστούν αν και είναι φανερό ότι οι θεραπείες που στόχο έχουν όλα τα μακροφάγα μπορούν να αναστείλουν τις κατηγορίες εκείνες των μακροφάγων που έχουν θετικές επιδράσεις στην επούλωση του ιστού.

Από τη βιβλιογραφία φαίνεται ότι στον τραυματισμένο μυ τα ED2<sup>+</sup> και ED3<sup>+</sup> εμφανίζονται μετά από τα ED1<sup>+</sup> (Cannon & St Pierre, 1998; McLennan, 1993). Οι δυο αυτές κατηγορίες κυττάρων σπάνια παρατηρούνται σε μυϊκές ίνες κατά την αναγέννηση με αποτέλεσμα να θεωρούνται μη σημαντικές στη διαδικασία της φαγοκύτωσης (McLennan, 1993). Τα μακροφάγα ED1<sup>+</sup> εμφανίζονται σε μεγαλύτερο βαθμό από τις άλλες υποκατηγορίες μακροφάγων στις νεκρές μυϊκές ίνες την 1<sup>η</sup> ημέρα μετά την συγκέντρωση των ουδετερόφιλων στο σημείο τραυματισμού και ενεργοποιούνται από προφλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως ο TNF-α και η IL-1β (Kyriakides et al., 1999). Επίσης τα ED1<sup>+</sup> μετά την ενεργοποίησή τους μπορούν να αυξήσουν την φλεγμονή καθώς παράγουν και απελευθερώνουν περισσότερα από 100 διαφορετικά μόρια μεταξύ των οποίων



προφλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως είναι η προσταγλανδίνη PGE<sub>2</sub> και η ιντερλευκίνη IL-1 $\beta$  (Toumi, F'Guyer & Best, 2006). Τα ED2<sup>+</sup> μακροφάγα εμφανίζονται στα τελευταία στάδια της φλεγμονής (Thorsson, Lilja, Nilsson & Westlin, 1997). Αυτή η κυτταρική σηματοδότηση δεν εξυπηρετεί μόνο την αύξηση της αντίδρασης των μακροφάγων στον τραυματισμένο ιστό, αλλά και στην επιπλέον αύξηση των ουδετερόφιλων (Toumi et al., 2006). Επίσης τα λευκοκύτταρα αυτά παράγουν μια σειρά από αυξητικούς παράγοντες που είναι απαραίτητοι για την επούλωση και αναγέννηση του ιστού.

Τα μακροφάγα και ιδιαίτερα ο υποπληθυσμός των ED2<sup>+</sup> μπορούν να συνεισφέρουν στην επισκευή και ανάπτυξη του ιστού μέσω της απελευθέρωσης αυξητικών παραγόντων και κυτοκινών. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει ο αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών (FGF), ο αυξητικός ινσουλινομιμητικός παράγοντας (IGF-I) και ο μεταμορφωτικός αυξητικός παράγοντας (TGF- $\beta$ 1). Αυτοί οι τρεις παράγοντες έλκουν και ενεργοποιούν ινοβλάστες οι οποίοι τελικά εκκρίνουν επιθηλιακά μόρια όπως το κολλαγόνο ξεκινώντας έτσι τη διαδικασία της αναγέννησης (Honda, Kimura & Rostami, 1990). Στη διάρκεια της επούλωσης οι ινοβλάστες συνεχίζουν να εκκρίνουν προφλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως η IL-6 και η IL-1, καθώς και να έλκουν επιπλέον ουδετερόφιλα μέσω της παραγωγής της IL-8 (Pedersen, Ostrowski, Rohde & Bruunsgaard, 1998). Οι ινοβλάστες τελικά διαιωνίζουν τη φλεγμονή με την απελευθέρωση της προσταγλανδίνης (PGE<sub>2</sub>) ως αντίδραση στην στρεσογόνο κατάσταση στην οποία βρίσκονται. Αν και ο πολλαπλασιασμός των δορυφόρων κυττάρων φαίνεται να ενθαρρύνεται από την ύπαρξη των μακροφάγων (McLennan, 1993) η απελευθέρωση μεγάλων ποσοτήτων του TGF- $\beta$ 1 αναστέλλει τη διαφοροποίηση των δορυφόρων κυττάρων άρα και την αναγέννηση των μυϊκών ινών (Farges et al., 2002).

Οι κυτοκίνες που εκκρίνονται μετά τον τραυματισμό έλκουν μεταξύ άλλων και τα δορυφόρα κύτταρα. Τα μακροφάγα επίσης εκτός από την απομάκρυνση του κατεστραμμένου μυϊκού ιστού έλκουν τα δορυφόρα κύτταρα στο σημείο του τραυματισμού. Επίσης ενορχηστρώνουν τη διαδικασία επούλωσης καθώς εκκρίνουν πολλές κυτοκίνες που ελέγχουν τα δορυφόρα κύτταρα (Nathan, 1987). Η σημασία αυτής της φάσης στην ανασύνθεση του μυϊκού ιστού παρουσιάστηκε από τους Lescaudron και συν. (1999) οι οποίοι παρατήρησαν ότι η αναγέννηση του μυ ήταν σημαντικά εξασθενημένη όταν δεν υπήρχαν τα μακροφάγα. Επιπλέον η χρόνια χρήση μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών φαρμάκων (Cox-2 αναστολείς) μπορούν να μειώσουν την ικανότητα του μυ για ανασύνθεση αναστέλλοντας τη σύνθεση των προσταγλανδινών, οι οποίες έχει

δειχθεί ότι απαιτούνται κατά τα πρώτα στάδια της αναγέννησης (Bondesen, Mills, Kegley & Pavlath, 2004).

Στη συνέχεια θα πραγματοποιηθεί μια αναφορά στα δορυφόρα κύτταρα και το ρόλο τους. Τα μυϊκά δορυφόρα κύτταρα ονομάστηκαν έτσι λόγω του ιστού στον οποίο βρίσκονται και αν και είναι γνωστά εδώ και πολλά χρόνια (Mauro, 1961) ιδιαίτερη προσοχή τους δόθηκε τις τελευταίες δεκαετίες. Στους υγιείς μύες τα αδρανή δορυφόρα κύτταρα βρίσκονται έξω από τη μυϊκή κυτταροπλασματική μεμβράνη αλλά σε επαφή με την έξω πλευρά της. Σε αυτή την κατάσταση οι πυρήνες των κυττάρων αυτών αποτελούν περίπου το 2% με 5% όλων των πυρήνων του μυ, έχουν περιορισμένο αριθμό οργανιδίων στο κυτταρόπλασμά τους, σταθερά χαμηλή μεταγραφική δραστηριότητα και μεγάλη αναλογία όγκου μεταξύ του πυρήνα και του κυτταροπλάσματος, υπέρ του πρώτου.

Μετά από ένα μυϊκό τραυματισμό τα δορυφόρα κύτταρα ενεργοποιούνται, πολλαπλασιάζονται και μεταναστεύουν στο σημείο τραυματισμού με στόχο την επούλωση ή την αντικατάσταση των κατεστραμμένων μυϊκών ινών όπου και συγχωνεύονται στις μυϊκές ίνες. Από μελέτες σε σκελετικούς μύες κουνελιών φάνηκε η σχέση μεταξύ των μυϊκών δορυφόρων κυττάρων και του τύπου των μυϊκών ινών (Hawke & Garry, 2001), όπου οι οξειδωτικές μυϊκές ίνες είχαν 5 με 6 φορές μεγαλύτερο αριθμό δορυφόρων κυττάρων σε σύγκριση με τις γλυκολυτικές ίνες. Ωστόσο επειδή ο άνθρωπος εμφανίζει μεγαλύτερη ετερογένεια στους τύπους των μυϊκών ινών το φαινόμενο αυτό δεν παρατηρείται ιδιαίτερα έντονα στους ανθρώπους.

Ο σκελετικός μυς στην έντονη άσκηση ενισχύει τη συγχώνευση των μυϊκών δορυφόρων κυττάρων στις υπάρχουσες μυϊκές ίνες σύμφωνα με τη θεωρία των μυϊκών πυρήνων. Επί της ουσίας η θεωρία αυτή προτείνει ότι οι πυρήνες εντός των σκελετικών μυϊκών ινών ελέγχουν την παραγωγή του mRNA και των πρωτεϊνών για να αναγεννηθεί και να δημιουργηθεί ο κατάλληλος όγκος του κυτταροπλάσματος έτσι ώστε να αυξηθεί το μέγεθος του μύος. Η αύξηση αυτή ωστόσο πρέπει να συνδέεται με ανάλογη αύξηση των πυρήνων των μυϊκών κυττάρων. Αυτοί οι νέοι πυρήνες προέρχονται από τα μυϊκά δορυφόρα κύτταρα. Η επούλωση μετά από πιο εκτεταμένη μυϊκή βλάβη πραγματοποιείται με συγχώνευση των δορυφόρων κυττάρων στις νέες μυϊκές ίνες που δημιουργούνται. Οι αναγεννημένες και οι νέες μυϊκές ίνες που παράγονται μπορούν να ταυτοποιηθούν από τους πυρήνες τους που είναι τοποθετημένοι στο κέντρο του κυττάρου.

Όπως έχει προαναφερθεί μετά το μυϊκό τραυματισμό ακολουθεί το στάδιο της φλεγμονής και η νέκρωση του κατεστραμμένου ιστού. Κατά τη διάρκεια αυτής της

εκφυλιστικής φάσης τα δορυφόρα κύτταρα ενεργοποιούνται και αρχίζουν να πολλαπλασιάζονται. Καθώς η φλεγμονή περιορίζεται η εξάπλωση και η διαφοροποίηση των κυττάρων αυτών προχωρά ανασυσταίνοντας τον αριθμό των υγιών μυϊκών ινών. Στις 5 ημέρες της αναγέννησης η φλεγμονή μειώνεται, το οίδημα περιορίζεται, τα μακροφάγα έχουν εισβάλλει στις κατεστραμμένες μυϊκές ίνες και τα δορυφόρα κύτταρα βρίσκονται σε φάση πολλαπλασιασμού. Αρκετά νέα αναγεννημένα μυοϊνίδια είναι ορατά ως βασεοφιλικά μυοϊνίδια με τους πυρήνες τους στο κέντρο του κυττάρου. Στις 10 ημέρες μετά τον τραυματισμό η αναγέννηση έχει πραγματοποιηθεί σε μεγάλο βαθμό με αρκετά νέα μυοϊνίδια να είναι ορατά. Στις 14 ημέρες η επούλωση έχει σχεδόν ολοκληρωθεί και μέχρι τις 21 ημέρες αυξάνεται και το μέγεθος των μυοϊνιδίων.

Η φάση ενεργοποίησης χαρακτηρίζεται από αλλαγή στη μορφολογία των δορυφόρων κυττάρων, αύξηση της αναλογίας του όγκου του κυτταροπλάσματος σε σχέση με τον πυρήνα, αύξηση των κυτταροπλασματικών οργανιδίων και αλλαγές στα χαρακτηριστικά συγκόλλησης των ώριμων μυϊκών ινών. Σε μια άλλη μελέτη οι ερευνητές (Tatsumi, Hattori, Ikeuchi, Anderson & Allen, 2002) ταυτοποίησαν έναν σύνδεσμο μεταξύ του μηχανικού στρες του μυός και της ενεργοποίησης των μυϊκών δορυφόρων κυττάρων. Στο μοντέλο που χρησιμοποίησαν η μυϊκή βλάβη οδήγησε στην απελευθέρωση του νιτρικού οξειδίου το οποίο ελέγχει την απελευθέρωση του ηπατικού αυξητικού παράγοντα (HGF) από εξωκυτταρικές δομές και τις γειτονικές μυϊκές ίνες. Η απελευθέρωση του παράγοντα αυτού πραγματοποιείται ιδιαίτερα γρήγορα μετά τον τραυματισμό και εξαρτάται από την έκταση του τελευταίου. Στη συνέχεια ο ενεργοποιημένος HGF συνδέεται με τον υποδοχέα του (c-met) που βρίσκεται στη μεμβράνη των μυϊκών δορυφόρων κυττάρων και ξεκινά μια αλληλουχία γεγονότων που παρακινούν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων.

Πρόσφατα μια εναλλακτική ισομορφή του IGF ο μηχανικός αυξητικός παράγοντας (MGF) βρέθηκε ότι απελευθερώνεται άμεσα μετά τη μυϊκή βλάβη (McKoy et al., 1999; Yang, Alnaqeeb, Simpson & Goldspink, 1996). Ο ρόλος του MGF φαίνεται να διαφοροποιείται από αυτό του IGF και πιθανότατα σχετίζεται με την προώθηση μεταγραφικών αλλαγών που αφορούν την προετοιμασία των κυττάρων για τον πολλαπλασιασμό τους.

### *Πολλαπλασιασμός, διαφοροποίηση και αυτοαντικατάσταση των δορυφόρων κυττάρων*

Ο πολλαπλασιασμός των δορυφόρων κυττάρων όπως και με τα άλλα ευκαρυωτικά κύτταρα είναι μια πολύ οργανωμένη διαδικασία που περιλαμβάνει τη σύνθεση του DNA και το διαχωρισμό του μητρικού κυττάρου σε δυο θυγατρικά μέσω της μίτωσης. Ο μέσος χρόνος για να πραγματοποιηθεί αυτή η διαδικασία στα δορυφόρα κύτταρα είναι περίπου 16 ώρες (Hawke et al., 2003). Ο απόγονος των κυττάρων αυτών συνεχίζει να πολλαπλασιάζεται ή υφίσταται διαφοροποίηση έτσι ώστε να δημιουργηθούν ξανά οι υγιείς μυϊκές ίνες. Αρκετοί παράγοντες εμπλέκονται στη ρύθμιση των δορυφόρων κυττάρων κατά τη διάρκεια των φάσεων του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης που ακολουθούν μετά τον μυϊκό τραυματισμό.

Η διαφοροποίηση των δορυφόρων κυττάρων φαίνεται να είναι στενά συνδεδεμένη με τη μυϊκή οικογένεια μεταγραφικών παραγόντων (MyoD, myf5, μυογενίνης, MRF4). Αρκετές μελέτες έχουν δείξει τον ρόλο των myf5 και MyoD στον καθορισμό της προέλευσης των δορυφόρων κυττάρων, ενώ η μυογενίνη και ο MRF4 σχετίζονται με την προώθηση της μυϊκής διαφοροποίησης (Cornelison, Olwin, Rudnicki & Wold, 2000; Hasty et al., 1993; Patapoutian et al., 1995; Rawls et al., 1995; Rudnicki et al., 1993; Valdez, Richardson, Klein & Olson, 2000). Αυτοί οι μεταγραφικοί παράγοντες προωθούν την έκφραση αρκετών γονιδίων σημαντικών για τη διαφοροποίηση των μυϊκών δορυφόρων κυττάρων μέσα ή μαζί με τις μυϊκές ίνες.

Καθώς τα δορυφόρα κύτταρα είναι ικανά να αυτό-αντικατασταθούν, τουλάχιστον ένας υποπληθυσμός των ενεργοποιημένων κυττάρων πρέπει να βγει από τον κυτταρικό κύκλο για να ανακαταλάβει τα αδρανή δορυφόρα κύτταρα. Στη διαδικασία της αυτό-αντικατάστασης έχουν δείξει δυο παράγοντες κλειδιά. Ο μεταφορικός αυξητικός παράγοντας (TGF- $\beta$ ) (μυοστατίνη) και ο μεταγραφικός παράγοντας Pax-7. Η μυοστατίνη είναι βασική για την διαχείριση των δορυφόρων κυττάρων στην αδρανή κατάσταση καθώς από γονιδιακές μελέτες φάνηκε ότι η απουσία της μυοστατίνης οδηγεί σε υπερτροφία και αύξηση των μυϊκών δορυφόρων κυττάρων (McCroskery, Thomas, Maxwell, Sharma & Kambadur, 2003). Για παράδειγμα η έλλειψή της σε ποντίκια προκάλεσε αύξηση στη μυϊκή μάζα τους 200% με 300%. Έχει αναφερθεί ότι η αυξημένη έκφραση του Pax-7 αποτελεί μια βασική διαδικασία για τα ενεργοποιημένα δορυφόρα κύτταρα να επανέλθουν σε αδρανή κατάσταση (Olguin & Olwin, 2004).



### *Άλλοι ρυθμιστικοί παράγοντες της επούλωσης*

Τα T-λεμφοκύτταρα διεγείρονται από τις κυτοκίνες που παράγονται κατά τη φλεγμονή και οδηγούνται στο σημείο τραυματισμού όπου συνδέονται με μόρια συγκόλλησης στη μυϊκή ίνα που αναγεννιέται και απελευθερώνουν δικές τους κυτοκίνες (Beauchamp, Abraham, Bou-Gharios, Partridge & Olsen, 1992). Επιπλέον οι διαδικασίες επούλωσης ενεργοποιούνται και από άλλους παράγοντες που απελευθερώνονται από τα τραυματισμένα μυοϊνίδια και τους γειτονικούς ιστούς όπως ο ηπατικός αυξητικός παράγοντας (HGF) που ενεργοποιείται σε μυς που έχουν υποστεί βλάβη από συμπίεση (Allen, Sheehan, Taylor, Kendall & Rice, 1995).

Ακόμη ο ανασταλτικός παράγοντας της λευχαιμίας (LIF), η IL-6 και η IL-15 εμφανίζονται να αποτελούν σημαντικό μέρος της διαδικασίας επούλωσης (Austin & Burgess, 1991; Barnard, Bower, Brown, Murphy & Austin, 1994; Bischoff, 1997; Cantini et al., 1995; Jiang & Hiscox, 1997). Ο ανασταλτικός παράγοντας της λευχαιμίας (LIF) είναι μια κυτοκίνη που παράγεται από έναν μεγάλο αριθμό διαφορετικών κυττάρων συμπεριλαμβανομένων των μακροφάγων και των μυοβλαστών (Barnard et al., 1994; Grounds & Davies, 1996). Τα μυϊκά κύτταρα έχουν μεγάλη συνάφεια με τους υποδοχείς του LIF (Bower, Vakakis, Nicola & Austin, 1995) και ανταποκρίνονται στον παράγοντα αυτόν με αύξηση του αριθμού τους σε πειραματικές συνθήκες (in vitro) (Barnard et al., 1994). Αυτή η επίδραση του LIF διαρκεί για 10 ημέρες μετά από τριήμερη έκθεση των μυϊκών κυττάρων στον παράγοντα (Austin, Bower, Kurek & Vakakis, 1992). Επιπλέον ο LIF προκαλεί την αύξηση του μεγέθους των νέων μυοσωληναρίων σε ζωντανό οργανισμό (in vivo) (Barnard et al., 1994).

Ο παράγοντας HGF που είχε αναφερθεί ως το “μιτογόνο του τραυματισμένου μυ” αρχικά ταυτοποιήθηκε ως μιτογόνο για ώριμα ηπατοκύτταρα (Michalopoulos, 1992). Ο HGF επίσης έχει μια άμεση επίδραση στην ενεργοποίηση, εξάπλωση και διαφοροποίηση των δορυφόρων κυττάρων (Allen et al., 1995; Bischoff, 1997; Cantini & Carraro, 1996; Tatsumi, Hattori, Ikeuchi, Anderson & Allen, 2002). Ακόμη ο HGF φαίνεται να λειτουργεί ως χημοελκτικός παράγοντας για τα δορυφόρα κύτταρα (Bischoff, 1997) και εκκρίνεται από τον τραυματισμένο ιστό σε ποσότητες ανάλογες της βλάβης (Kimura, Miyazaki & Suwa, 1996). Έχει παρατηρηθεί ότι οι μυοβλάστες ποντικών εκκρίνουν τον HGF και καταλαμβάνουν τους υποδοχείς του (Anastasi et al., 1997). Ο μυς εκκρίνει τον HGF για 3 ημέρες μετά τον τραυματισμό (Jennische, Ekberg & Matejka, 1993).



Η IL-6 είναι μια κυτοκίνη που συχνά σχετίζεται με τον LIF (Kurek, Kannourakis, Murphy & Austin, 1996b). Τα μακροφάγα που βρίσκονται στο σημείο τραυματισμού εκκρίνουν έναν άγνωστο παράγοντα, πιθανόν τον HGF, ο οποίος έλκει δορυφόρα κύτταρα και ταυτόχρονα τα διεγείρει για να απελευθερώσουν την IL-6 (Cantini et al., 1995). Το γεγονός αυτό έχει παρατηρηθεί πειραματικά και στους μυοβλάστες και στα μονοκύτταρα (Bartoccioni, Michaelis & Hohlfeld., 1994). Η IL-6 που απελευθερώνεται από τα δορυφόρα κύτταρα συγχρονίζει άλλα δορυφόρα κύτταρα και προκαλεί την απόπτωση των ουδετερόφιλων και των μακροφάγων που βρίσκονται στο σημείο τραυματισμού (Cantini & Carraro, 1996). Αυτή η φάση της μυϊκής αναγέννησης μπορεί να αποτελεί οδηγό για τη λήξη της φλεγμονής (Grounds & Davies, 1996; Haugk, Roeder, Garber & Quinn, 1996). Η IL-6 φαίνεται να λειτουργεί ως σηματοδότης για την εξάπλωση των δορυφόρων κυττάρων και ως ρυθμιστικός παράγοντας για τη λήξη της φλεγμονής αυξάνοντας την απόπτωση των μακροφάγων και των ουδετερόφιλων που βρίσκονται στον μυ που αναγεννιέται (Cantini et al., 1995).

Η IL-15 εκκρίνεται από έναν αριθμό κυττάρων συμπεριλαμβανομένων των Τ-λεμφοκυττάρων, των μακροφάγων και των μυοϊνιδίων (Grabstein et al., 1994). Η IL-15 βασικά αυξάνει την εξάπλωση των Τ-κυττάρων, την ωρίμανση των Β-κυττάρων, την κυτταροτοξικότητα των φυσικών φονιάδων και την έλξη των Τ-κυττάρων στο σημείο τραυματισμού (Kivisakk, Matusевич, Soderstrom, Fredrikson & Link, 1998). Πρόσφατα έχειδειχτεί ότι η IL-15 διεγείρει τη διαφοροποίηση των μυοβλαστών στα μυοσωληνάρια και την επακόλουθη συγκέντρωση των βαριών αλυσίδων της μυοσίνης (Quinn, Steinmetz, Maas, Ong & Kaleko, 1994; Quinn, Haugk & Grabstein., 1995), προτείνοντας ότι η IL-15 βοηθά στη διαχείριση των δορυφόρων κυττάρων κατά την αναγέννηση των μυϊκών ινών.

Κατά τη μυϊκή υπερτροφία ο αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών (FGF) αυξάνει την εξάπλωση των δορυφόρων κυττάρων (Allen, Dodson & Luiten, 1984; Sheehan & Allen, 1999). Υπάρχουν τουλάχιστον 10 ισομορφές του παράγοντα αυτού που εκφράζονται σε ποικίλους ιστούς του σώματος και εμφανίζουν μεγάλη έλξη με ηπατικές πρωτεογλυκάνες σουλφιδίων (εξωκυτταρικές πρωτεΐνες) (Allen, Dodson, Boxhorn, Davis & Hossner, 1986; Bischoff, 1989; Hannon, Kudla, McAvoy, Clase & Olwin, 1996). Μια από αυτές τις ισομορφές (FGF-2) απελευθερώνεται από τις κατεστραμμένες μυϊκές ίνες σε ποσότητες ανάλογες με τη σοβαρότητα της βλάβης. Οι Yamada και συν. (1988) πρότειναν ότι ο FGF πιθανόν να προκαλεί την έναρξη της μυϊκής επούλωσης μετά την άσκηση.

### *Ακολουθία επούλωσης*

Μεγάλη προσοχή έχει δοθεί στις επιδράσεις του ινσουλινομιμητικού αυξητικού παράγοντα (IGFs) στον σχηματισμό αυξημένης μυϊκής πρωτεΐνης μετά την άσκηση (Brameld, Buttery, Dawson & Harper., 1998; Grounds, 1998; Grounds et al., 1998; Hossner, McCusker & Dodson, 1997). Οι ινσουλινομιμητικοί αυξητικοί παράγοντες (IGF-1, IGF-2) αποτελούν ορμόνες που παράγονται σε ποικίλους ιστούς στο σώμα (π.χ. ήπαρ, σκελετικοί μύες) και είναι σημαντικοί ρυθμιστές του μεταβολισμού της ινσουλίνης (Allen & Boxhorn, 1989; LeRoith et al., 1992; Vierck et al., 2000). Ο IGF-I αυξάνεται στους μύες μετά από άσκηση που εφαρμόζονται υψηλές δυνάμεις (Yan, Biggs & Booth, 1993). Σε πειραματικές συνθήκες (in vitro) ο IGF-I διεγείρει τα δορυφόρα κύτταρα στο να πολλαπλασιαστούν, να διαφοροποιηθούν και να συγχωνευθούν με τα αναπτυσσόμενα μυοσωληνάρια (Dodson, Allen & Hossner 1985; Florini, Ewton & Roof, 1991; Delany, Pash & Canalis, 1994; Flyburg, Jahn, Hill, Oliveras & Barrett, 1995; Goldspink et al., 1995).

Η ινσουλίνη προκαλεί την αύξηση των σκελετικών μυών αυξάνοντας την πρωτεϊνοσύνθεση (Jefferson, 1980) και υποβοηθώντας την είσοδο της γλυκόζης στα κύτταρα (Kahn & Goldfine, 1993; Koyama, Chen, Lee & Unger, 1997; Shearer, Coulter, Engeland, Roth & Caldwell, 1997). Επίσης η ορμόνη αυτή αυξάνει τη μίτωση και τη διαφοροποίηση των δορυφόρων κυττάρων. Σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις η ινσουλίνη διεγείρει την πρωτεϊνοσύνθεση και την πρόσληψη γλυκόζης στα δορυφόρα κύτταρα (McFarland et al., 1995) και μειώνει την αποδόμηση των πρωτεϊνών στα μυϊκά κύτταρα (Harper, Soar & Buttery, 1987; McFarland et al., 1995; Svanberg et al., 1996). Επιπλέον η ορμόνη εμφανίζει υψηλή έλξη για τον υποδοχέα της και μικρότερη έλξη για τον υποδοχέα του IGF-I (Zaph, Schoenle & Froesch, 1978; Foley et al., 1982; Kahn & Goldfine, 1993). Σε υψηλότερες συγκεντρώσεις από τις φυσιολογικές προκαλεί τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των δορυφόρων κυττάρων πιθανότατα μέσω της επίδρασης της με τους υποδοχείς του IGF-I (Dodson et al., 1985; Dodson et al., 1988; Doumit & Merkel, 1991).

Επίσης μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει η μελέτη των επιπέδων της αυξητικής ορμόνης στην αύξηση του μυ μετά από άσκηση (Chandler, Byrne, Patterson & Ivy, 1994; Hartman, Veldhuis & Thorne, 1993). Η ορμόνη αυτή έχει σύντομο χρόνο ημίσειας ζωής (20-25 λεπτά) (Martin, 1978), μεγάλο μοριακό μέγεθος (21.5kDa) και παράγεται από την υπόφυση (Martin, 1978). Η άσκηση με αντιστάσεις προκαλεί την απελευθέρωση της ορμόνης σε επίπεδα που είναι ανάλογα της έντασης της άσκησης (Fry & Kraemer, 1997).

Η αυξητική ορμόνη δρα ως παράγοντας αύξησης του μεταβολισμού του λιπώδους ιστού και της κινητοποιήσής του για να χρησιμοποιηθεί στην αύξηση του μυϊκού ιστού και γενικότερα προκαλεί αύξηση στην άλιπη σωματική μάζα. Επιπροσθέτως προκαλεί την κυτταρική πρόσληψη και ενσωμάτωση των αμινοξέων σε πρωτεΐνες σε ποικίλους ιστούς συμπεριλαμβανομένου και του μυϊκού (Hartman et al., 1993).

Η Λεπτίνη αποτελεί μια πολυπεπτιδική ορμόνη που είναι παράγωγο του γονιδίου της παχυσαρκίας και έχει βρεθεί ότι απουσιάζει στα γενετικά παχύσαρκα ποντίκια. Η απουσία της προκαλεί υπεραξία, αυξάνει την υποθερμία και την ανικανότητα (Zhang et al., 1994). Στα γενετικά παχύσαρκα ποντίκια η θεραπεία με τη Λεπτίνη επανέφερε την γονιμότητα, μείωσε την όρεξη και μείωσε επιλεκτικά το σωματικό λίπος (Campfield, Smith, Guisez, Devos & Burn, 1995; Pelleymounter et al., 1995). Τα επίπεδα της ορμόνης στο πλάσμα βρίσκονται σε άμεση αναλογία με τη λιπώδη μάζα. Από μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε ανθρώπους φάνηκε ότι τα επίπεδά της δεν επηρεάζονται από την μεμονωμένη ή τακτική άσκηση αλλά από το σωματικό λίπος (Hickey et al., 1996; P'erusse et al., 1997; Racette, Coppack, Landt & Klein, 1997). Ωστόσο μετά από 12 εβδομάδες αερόβιας άσκησης η συγκέντρωση της Λεπτίνης στο αίμα μειώθηκε κατά 17.5% στις γυναίκες αλλά έμεινε ανεπηρέαστη στους άνδρες (Hickey et al., 1997). Από τη μελέτη αυτή εμφανίζονται ενδείξεις ότι η ορμόνη διαφοροποιεί τις επιδράσεις της ανάλογα με το φύλο.

Πολλές από τις επιδράσεις της Λεπτίνης στην όρεξη και το μεταβολισμό θεωρείται ότι ελέγχονται από τον υποθάλαμο, δια μέσου μιας μείωσης του νευροπεπτιδίου Υ που προκαλεί η ορμόνη (Stephans et al., 1995; Schwartz et al., 1996). Πρόσφατα άμεσες επιδράσεις της σε περιφερικούς ιστούς έχουν παρατηρηθεί σε πειράματα (in vitro). Για παράδειγμα η ορμόνη μειώνει την έκφραση της καρβοξυλάσης του ακετυλοσυνενζύμου Α (acetyl-CoA carboxylase), που είναι ο ρυθμιστής της σύνθεσης λιπιδίων στα λιποκύτταρα (Bai, Zhang, Kim, Lee & Kim, 1996). Πρόσθετα η Λεπτίνη έχει άμεση επίδραση στο σκελετικό μυ αυξάνοντας την οξειδωση των λιπιδίων, ενώ ταυτόχρονα μειώνει τη σύνθεση των τριακυλογλυκερολών. Αυτή η παρατήρηση έχει γίνει σε πειραματικές συνθήκες (in vitro) (Muio, Dohm, Fiedorek, Tapscott & Coleman, 1997). Με μια επίδραση παρόμοια με αυτή της ινσουλίνης, η Λεπτίνη βοηθά στη μεταφορά γλυκόζης και την σύνθεση του γλυκογόνου στους C2C12 μυοβλάστες (Berti, Kellerer, Capp & Harin, 1997). Αυτές οι επιλεκτικές δράσεις της Λεπτίνης φανερώνουν το γενικό μεταβολικό ρόλο της ορμόνης στο σκελετικό μυ. Ακόμη η ορμόνη αυτή διεγείρει την εξάπλωση των εμβρυικών

πολυδυναμικών κυττάρων των ποντικών (Takahashi et al., 1997) τα οποία έχουν τη δυνατότητα να διαφοροποιηθούν σε σκελετικό μυ, σε λιπώδη ιστό αλλά και σε αγγεία. Το γεγονός αυτό δείχνει ότι μια αύξηση της συγκέντρωσης της Λεπτίνης στο κατάλληλο χρονικό σημείο της εμβρυικής ανάπτυξης μπορεί να ευνοήσει τη σκελετική ανάπτυξη του εμβρύου. Επίσης η παραπάνω ορμόνη μπορεί να διεγείρει τα δορυφόρα κύτταρα ώστε να διαφοροποιηθούν και να συνεισφέρουν στην αύξηση της μάζας των μυϊκών ινών. Για αυτόν το λόγο η Λεπτίνη εμφανίζεται να έχει συγκεκριμένες επιδράσεις στο μεταβολισμό ορισμένων ιστών που σχετίζονται άμεσα με τη σύσταση του σώματος, προωθώντας την αύξηση της μυϊκής μάζας και μειώνοντας το σωματικό λίπος.

Ο ρόλος των αναβολικών στεροειδών όπως η τεστοστερόνη στην αύξηση της μυϊκής μάζας είναι γνωστή εδώ και χρόνια (Florini, 1987; Celotti & Cesi, 1992). Είναι γενικά γνωστό ότι τα αναβολικά στεροειδή αποτελούν άμεσους ρυθμιστές των δευτερογενών χαρακτηριστικών του φύλου και αυξάνουν τη μυϊκή μάζα διεγείροντας ταυτόχρονα και τον καταβολισμό του λίπους (Kibble & Ross, 1987). Πρόσφατα προτάθηκε ότι οι ορμόνες αυτές έχουν ρυθμιστικές επιδράσεις στα δορυφόρα κύτταρα σε πειραματικές συνθήκες (Joubert & Tobin, 1995; Doumit et al., 1996).

Η αξιολόγηση του μηχανισμού επιδιόρθωσης, αύξησης και ανασύστασης του μυϊκού ιστού γίνεται εκτιμώντας ποικίλους παράγοντες. Με τη χρήση ανοσοιστοχημικών διαδικασιών προσδιορίζεται ο αριθμός των δορυφόρων κυττάρων (Petrella, Kim, Mayhew, Cross & Bamman, 2008) καθώς επίσης και η διαδικασία πολλαπλασιασμού τους και διαφοροποίησής τους (Kadi, Johansson, Johansson, Sjostrom & Henriksson, 2004). Επίσης υπάρχει δυνατότητα να παρατηρηθούν οι επουλωμένες μυϊκές ίνες και να διαχωριστούν από τις παλαιότερες καθώς οι πρώτες έχουν τους πυρήνες τους στο κέντρο του κυττάρου. Άλλοι παράγοντες που μπορούν να μετρηθούν είναι οι αυξητικοί παράγοντες IGF-I με τη χρήση ELISA (De Palo et al., 2008), και οι IGFBP-I, IGFBP-III με τη χρήση ανοσοραδιοιστοτοπικής ανάλυσης (Petrella et al., 2008). Ακόμη η μέτρηση ορμονών όπως η τεστοστερόνη, η αυξητική ορμόνη, η ινσουλίνη και η κορτιζόλη είτε με τη χρήση της ELISA είτε με τη χρήση ραδιοιστοτοπικών μεθόδων (Fatouros, et al., 2009; Hellsten, Hansson, Johnson, Frandsen & Sjodin, 1996; Ispiridis et al., 2008; Kraemer et al., 1999). Ένας άλλος δείκτης που μπορεί να χρησιμοποιηθεί είναι η μέτρηση των πρωτεϊνικών επιπέδων της μυοστατίνης στο μυ με την τεχνική Western blotting (Willoughby, 2004). Επίσης με την ίδια τεχνική μπορεί να μετρηθεί η φωσφορυλιωμένη και η συνολική ποσότητα αρκετών πρωτεϊνών του σηματοδοτικού μονοπατιού του αυξητικού παράγοντα



IGF-I όπως είναι η Akt, η mTOR, η p70S6k, η MAPK, η 4E-BP1 η eIF4G, η eIF2a, η eEF2, η eIF2Bε, η PKB, η ERK, η MEF-2 (Hellsten et al., 1996).

Τέλος υπάρχει δυνατότητα να εκτιμηθεί η επούλωση και ανάπτυξη του μυϊκού ιστού με τη μελέτη της έκφρασης των γονιδίων αυξητικών παραγόντων και υποδοχέων τους που σχετίζονται με την αγγειογένεση (ANGPT1, ANGPT2, ANPEP, ECGF1, EREG, FGF1, FGF2, FIGF, FLT1, JAG1, KDR, LAMA5, NRP1, NRP2, PGF, PLXDC1, STAB1, VEGFA, VEGFC) (Cannon & Pierre, 1998). Άλλα γονίδια που χρησιμοποιούνται είναι αυτά για παράγοντες του μυϊκού αναβολισμού και καταβολισμού (FGF2, GDF8, HBEGF, IGF1, IGFBP4, IGF-1Ra, MGF, TNNT1, Myogenin, Myoferlin, Cyclin D1, Cyclin B, Activin receptor IIB, myosin heavy chains, REDD1 MRF1/4, VEGF, MyoD, μυσστατίνη) (Cannon & Pierre, 1998).

### ***Βασικά μεταγωγικά μονοπάτια***

Ο μεταγραφικός παράγοντας NF-kB αποτελείται από δυο κύριες υπομονάδες (p50 και p65) και ανήκει σε μια οικογένεια μεταγραφικών παραγόντων που συμμετέχουν στη ρύθμιση της αντίδρασης του ανοσοποιητικού συστήματος, την επιβίωση του κυττάρου, τη φλεγμονή, τον καρκίνο και τη γήρανση. Η φωσφορυλίωση του NF-kB και η διαδοχική διάσπαση της δεσμευτικής του πρωτεΐνης IκB επιτρέπει την απελευθέρωσή του και τη σύνδεση του με τον πυρήνα όπου και ενεργοποιεί τα γονίδια στόχους (Kim et al, 2007) Κατά την ενεργοποίησή του από ποικίλους παράγοντες ο NF-kB ρυθμίζει την έκφραση προ-φλεγμονωδών πρωτεϊνών, του ιστικού νεκρωτικού παράγοντα-α (TNF-α), των ιντερλευκινών (IL-1, IL-2, IL-6), των χημειοκινών, των μορίων συγκόλλησης κ.ά.(Yu & Chung, 2006). Από πρόσφατες μελέτες έχει φανεί ότι ο NF-kB διαδραματίζει επίσης έναν ρόλο κλειδί στη ρύθμιση των κυτταρικών μονοπατιών κατά τη φλεγμονή (Go, Jung, Kim, Yu & Chung, 2005)

Ένα άλλο μεταγωγικό μονοπάτι αποτελεί αυτό της MAPK το οποίο μπορεί να πραγματοποιηθεί σε όλα τα ευκαρυωτικά κύτταρα και να διεγερθεί από ποικίλους στρεσογόνους περιβαλλοντικούς αλλά και αυξητικούς παράγοντες (Force & Bonventre, 1998; Kyriakis & Avruch, 2001). Το μονοπάτι αυτό εμπλέκεται σε μεγάλο αριθμό φυσιολογικών διαδικασιών όπως ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση των κυττάρων, η φλεγμονή, η απόπτωση και η μεταγραφή γονιδίων (Force & Bonventre, 1998; Kyriakis & Avruch, 2001; Sweeney, Somwar, Ramlal, Volchuk, Ueyama & Klip, 1999).

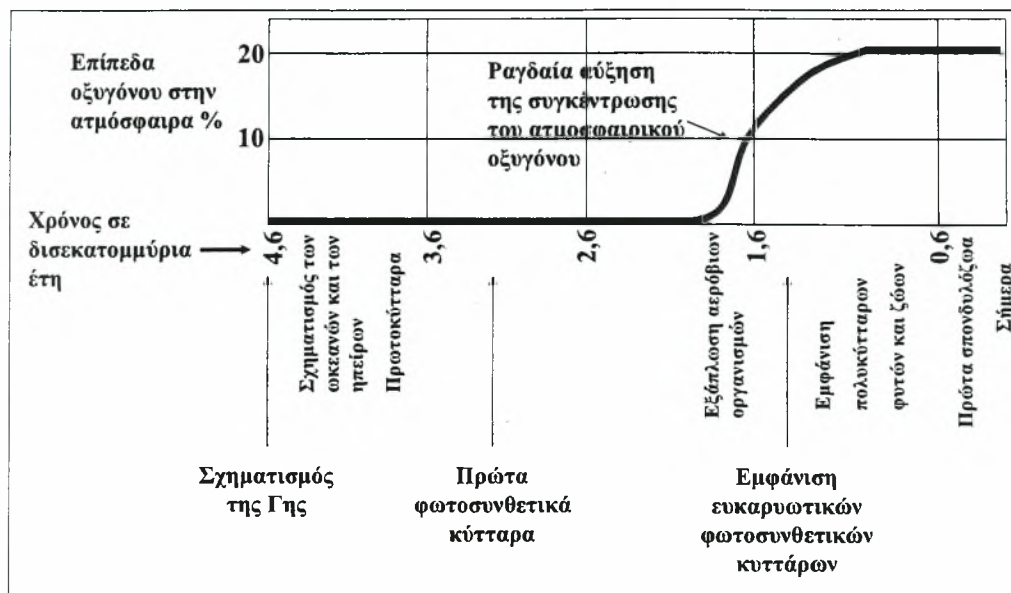


Η Akt αποτελεί μια κινάση σερίνης/θριονίνης και ενεργοποιείται από ποικίλους αυξητικούς παράγοντες (Sable, Filippa Hemmings & Van Obberghen, 1997; Vanhaesebroeck & Alessi, 2000). Ένας πιθανός ρόλος που της έχει αποδοθεί στους σκελετικούς μύες είναι η ρύθμιση αρκετών επιδράσεων της ινσουλίνης στο κύτταρο (Hajdich, Alessi, Hemmings & Hundal, 1998; Ueki et al., 1998) καθώς και ο μεταβολισμός και η αύξηση του μυ (Cho et al., 2001). Η επίδραση της άσκησης στην Akt είναι αμφιλεγόμενη γεγονός που μπορεί να οφείλεται στα διαφορετικά χαρακτηριστικά της άσκησης (ένταση, διάρκεια κ.ά.). Η φυσιολογική λειτουργία του μονοπατιού αυτού κατά τη φυσική δραστηριότητα δεν είναι απόλυτα ξεκαθαρισμένη, ωστόσο φαίνεται να ρυθμίζει τη διέγερση της συνθάσης του γλυκογόνου (Sakamoto, Hirshman, Aschenbach & Goodyear, 2002.)

### *Το οξυγόνο στη γη*

Η αρχική σύσταση της γήινης ατμόσφαιρας δεν είναι γνωστή με ακρίβεια, ωστόσο οι χημικοί συμφωνούν ότι το αέριο οξυγόνο πρέπει να ήταν ελάχιστο καθώς είναι πολύ δραστικό στοιχείο και θα είχε αντιδράσει με άλλα στοιχεία. Λόγω της έλλειψης του οξυγόνου η γη ήταν εκτεθειμένη στην υπεριώδη ακτινοβολία και στις κοσμικές ακτίνες του ήλιου. Πιστεύεται ότι μετά την εμφάνιση των προκαρυωτικών κυττάρων πριν από 3.6 με 3.8 δισεκατομμύρια έτη, στην εξελικτική πορεία της ζωής πάνω στον πλανήτη σημαντικό ρόλο έπαιξε η εμφάνιση φωτοσυνθετικών βακτηρίων (Gould, 1993).

Τα κύτταρα αυτά δέσμευαν το διοξείδιο του άνθρακα της ατμόσφαιρας, ηλιακή ενέργεια, νερό και συνέθεταν υδρογονάνθρακες για την επιβίωσή τους, ενώ παράλληλα απελεύθερωναν οξυγόνο στην ατμόσφαιρα. Η αύξηση της συγκέντρωσης του οξυγόνου στο περιβάλλον ήταν βασική προϋπόθεση για την ανάπτυξη αερόβιων βακτηρίων. Ταυτόχρονα με τη διαδικασία της φωτοσύνθεσης το οξυγόνο άρχισε να υπερτερεί έναντι του διοξειδίου του άνθρακα στην ατμόσφαιρα και ένα μέρος του αφού μετατράπηκε σχημάτισε προοδευτικά το στρώμα του όζοντος (O<sub>3</sub>), το οποίο προστατεύει κάθε μορφή ζωής από τη θανατηφόρα ηλιακή ακτινοβολία (Gould, 1993).



Σχήμα 3. Αύξηση του οξυγόνου στη γήινη ατμόσφαιρα. Προσαρμογή στα ελληνικά από το Κέντρο Περιβαλλοντικής Εκπαίδευσης Καστοριάς.

### Ελεύθερες ρίζες

Οι ελεύθερες ρίζες είναι μόρια ή τμήματα μορίων με ένα ή περισσότερα μονήρη ηλεκτρόνια στην εξωτερική τους στιβάδα (Cheeseman, Slater, 1993; Jenkins, 1988; Rimbach, et al., 1999). Το γεγονός αυτό τις καθιστά ιδιαίτερα ασταθείς και δραστικές χημικά εμφανίζοντας την τάση να δεσμεύουν τα ηλεκτρόνια που τους υπολείπονται, για να αποκτήσουν δομή ευγενούς αερίου (αν η στιβάδα K είναι η εξωτερική πρέπει να είναι συμπληρωμένη με  $2 e^-$ , ενώ οποιαδήποτε άλλη πρέπει να είναι συμπληρωμένη με  $8 e^-$ ), από άλλα μόρια οξειδώνοντάς τα (Guiland, et al. 1989; Petibois, Cazorla, Poortmans, Deleris, 2002; Sen, 2001). Επιπλέον είναι δυνατόν να σχηματίσουν νέες ρίζες αν αντιδράσουν μεταξύ τους ή με άλλα μόρια. (Sen, 2001). Ένα άτομο ή μόριο μπορεί να μετατραπεί σε ρίζα είτε με τη πρόσληψη ενός ηλεκτρονίου (αναγωγή) (αντίδραση 1), είτε με την αποβολή ενός ηλεκτρονίου (οξείδωση) (αντίδραση 2) (Sen, 2001).



Αντίδραση 1



Αντίδραση 2

Μεταξύ των ελεύθερων ριζών διακρίνονται τρεις ομάδες, α) τα δραστικά είδη οξυγόνου που παράγονται όπως φαίνεται και από την ονομασία τους από το οξυγόνο και τα δραστικά είδη β) αζώτου και γ) θείου. Η ταξινόμηση των ειδών αυτών παρουσιάζεται στον πίνακα 1.

**Πίνακας 1.** Ταξινόμηση ελεύθερων ριζών.

<b>Ελεύθερες Ρίζες</b>	<b>Μοριακός Τύπος</b>
<i>Δραστικά είδη Οξυγόνου</i>	<i>ROS</i>
Ιόν υπεροξειδίου του οξυγόνου	$O_2^{\bullet-}$
Οζόν	$O_3$
Μονήρης κατάσταση μοριακού Οξυγόνου	$O_2^{\bullet}$
Ρίζα υδροξυλίου	$OH^{\bullet}$
Υπεροξείδιο του Υδρογόνου	$H_2O_2$
Υποχλωρικό οξύ	$HOCl^{\bullet}$
Ρίζα αλκοξυλίου	$RO^{\bullet}$
Ρίζα περοξυλίου	$ROO^{\bullet}$
Υδροπεροξύλιο	$ROOH^{\bullet}$
<i>Δραστικά είδη Αζώτου</i>	<i>RNS</i>
Οξειδίο του Αζώτου	$NO^{\bullet-}$
Διοξειδίο του Αζώτου	$NO_2$
Περοξεινιτρίτιο ανιόν του νιτρικού υπεροξειδίου	$ONOO^{\bullet}$
<i>Δραστικά είδη Θείου</i>	<i>RSS</i>
Ρίζα Θείου	$RS$

### *Αντιοξειδωτικός μηχανισμός*

Οι ανώτεροι οργανισμοί στην προσπάθειά τους να προστατευθούν από τις επιδράσεις των ελεύθερων ριζών στα διάφορα βιολογικά μόρια, ανέπτυξαν τον αντιοξειδωτικό μηχανισμό. Πρόκειται για ένα σύστημα ενζυμικών και μη ουσιών οι οποίες στόχο έχουν να ουδετεροποιήσουν τις ρίζες ή να περιορίσουν όσο γίνεται τη ζημία που προκαλούν αυτές στα διάφορα μόρια (Dekkers, Van Doornen, Kemper, 1996). Το γεγονός

αυτό το επιτυγχάνουν λειτουργώντας είτε ως δότες είτε ως δέκτες ηλεκτρονίων (Prior & Cao, 1999).

Η βιολογική άμυνα του οργανισμού αποτελείται από ενζυμικούς και μη ενζυμικούς παράγοντες καθώς και από μόρια που επισκευάζουν τις βλάβες που έχουν προκληθεί σε βιολογικά μόρια από τη δράση των ελεύθερων ριζών. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 2) παρουσιάζονται τα βασικότερα αντιοξειδωτικά και ο βιολογικός χώρος δράσης τους.

**Πίνακας 2.** Αντιοξειδωτικός μηχανισμός.

Αντιοξειδωτικός παράγοντας	Χώρος δράσης
Ενζυμικός Μηχανισμός	
Υπεροξειδίο της δισμουτάσης Cu,Zn-SOD	Κυτταρόπλασμα
Ee-SOD	Εξωκυτταρικά υγρά
Mn-SOD	Μιτοχόνδρια
Fe-SOD	Κυτταρόπλασμα
Καταλάση	Υπεροξεισώμα
Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης	Κυτταρόπλασμα, εξωκυτταρικά υγρά, βιολογικές μεμβράνες
Γλουταθειόνη S-τρανσφεράση	Κυτταρόπλασμα
Μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά	
A-τοκοφερόλη	Βιολογικές μεμβράνες, λιποπρωτεΐνες
Ασκορβικό οξύ	Κυτταρόπλασμα, εξωκυτταρικά υγρά
Συνένζυμο Q	Βιολογικές μεμβράνες, λιποπρωτεΐνες, μιτοχόνδρια
Καροτενοειδή	Βιολογικές μεμβράνες, λιποπρωτεΐνες
Ανηγμένη γλουταθειόνη	Κυτταρόπλασμα, εξωκυτταρικά υγρά
Ουρικό οξύ	Κυτταρόπλασμα, εξωκυτταρικά υγρά
Απομονωτές μετάλλων	
Τρανσφερίνη	Εξωκυτταρικά υγρά
Φεριτίνη	Κυτταρόπλασμα
Σερουλοπλασμίνη	Εξωκυτταρικά υγρά
Αλβουμίνη	Εξωκυτταρικά υγρά

Η δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD) αποτελεί ένα από τα ενζυμικά αντιοξειδωτικά και είναι η κύρια άμυνα στα υπεροξείδια. Αντιπροσωπεύει ένα σύνολο

ενζύμων που καταλύουν την αντίδραση μετατροπής της ρίζας του υπεροξειδίου του οξυγόνου σε υπεροξείδιο του υδρογόνου.



Αντίδραση 3

Η CAT αποτελεί το δεύτερο ένζυμο ενάντια στις ρίζες. Πιο συγκεκριμένα βρίσκεται σε κάθε κύτταρο και μετασχηματίζει το υπεροξείδιο του υδρογόνου σε νερό και οξυγόνο (Αντίδραση 4). Επίσης μπορεί να "χρησιμοποιήσει" το υπεροξείδιο του υδρογόνου για να εξουδετερώσει άλλα τοξικά μόρια, όπως συμβαίνει σε αντιδράσεις υπεροξειδωσής που υπάρχει ταυτόχρονα το κατάλληλο υπόστρωμα π.χ. αιθανόλη. (Αντίδραση 5).



Αντίδραση 4



Αντίδραση 5

Στον ενζυμικό αντιοξειδωτικό μηχανισμό ανήκει και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPX) βρίσκεται στα μιτοχόνδρια των κυττάρων και έχει την ικανότητα να καταλύει τη μετατροπή του υπεροξειδίου του υδρογόνου σε νερό (Αντίδραση 6).



Αντίδραση 6.

Κατά την αντίδραση αυτή η GSH μετατρέπεται σε GSSG.

Από τα παραπάνω φαίνεται ότι η CAT και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης έχουν την ίδια λειτουργία απέναντι στο υπεροξείδιο του υδρογόνου, όμως η πρώτη είναι πιο αποτελεσματική σε υψηλές συγκεντρώσεις δραστικών ειδών οξυγόνου, ενώ η δεύτερη έχει σημαντική δράση σε μικρές συγκεντρώσεις του υπεροξειδίου του υδρογόνου (Antunes, Derick, Cadenas, 2002; Jenkins et al. 1993).

Στη συνέχεια παρουσιάζεται ο μη ενζυμικός αντιοξειδωτικός μηχανισμός. Η βιταμίνη E έχει την ικανότητα να δρα απευθείας στα δραστικά είδη οξυγόνου και να τα



ουδετεροποιεί (Evans, 2000). Η υδατοδιαλυτή βιταμίνη C εξωκυτταρικά ουδετεροποιεί τα δραστικά είδη οξυγόνου (Bigard, 2001), ενώ ενδοκυτταρικά ενισχύει τη δράση της βιταμίνης E και της GSH με το να αναγεννά την δραστική μορφή τους (Ashton et al. 1999; Evans, 2000; Ma, Stone, Leclair, 1994). Τέλος για τη λιποδιαλυτή βιταμίνη A πιστεύεται ότι αδρανοποιεί τα δραστικά είδη οξυγόνου και περιορίζει την υπεροξειδωση των λιπιδίων (Ozgozina, Kasaikina, 1995; Powers et al. 1999), ενώ τα φλαβονοειδή φαίνεται να βοηθούν στην εξοικονόμηση των βιταμινών E και A (Morand et al. 1998; Pietta, 2000).

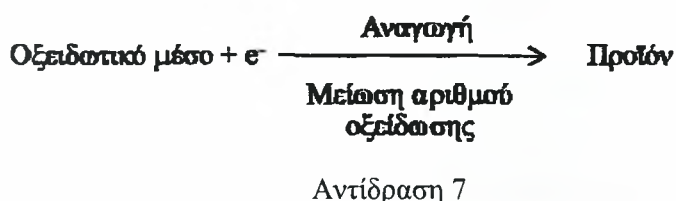
Το συνένζυμο Q10 λειτουργεί ως αντιοξειδωτικό άμεσα στις ρίζες υπεροξειδίου ή με έμμεσο τρόπο αναγεννώντας τις βιταμίνες C και E (Crane, 2001; Witt, Reznick, Viguie, Starke-Reed, Packer, 1992). Το ουρικό οξύ εκτός από τελικό προϊόν του μεταβολισμού των πουρινών (Grootveld, Halliwell, 1987; Hellsten, Tullson, Richter, Bangsbo, 1997; Svensson et al. 2002) αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά αντιοξειδωτικά με άμεση δράση σε συγκεκριμένα δραστικά είδη οξυγόνου (π.χ. ατομικό οξυγόνο, υποχλωρικό οξύ, όζον) (Grootveld et al. 1987; Hooper et al. 2000; Hooper et al. 1998; Kean, Spitsin, Mikheeva, Scott, Hooper, 2000) και επιπλέον βοηθά στην προστασία των ερυθροκυττάρων, των κυτταρικών μεμβρανών και του DNA από την οξείδωση των ελεύθερων ριζών. Ακόμη σχηματίζει σταθερά συμπλέγματα με τα ιόντα του σιδήρου και με αυτόν τον τρόπο αναστέλλει την οξείδωση της βιταμίνης C και την υπεροξειδωση των λιπιδίων (Davies, Sevanian, Muakkasah-Kelly, Hochstein, 1986; Sevanian, Davies, Hochstein, 1991). Οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ είναι μια μορφή πρωτεϊνών που προστατεύουν τα κύτταρα και τις ενδοκυττάρια πρωτεΐνες από τις ελεύθερες ρίζες (Fehrenbach et al. 2001; Hamilton et al. 2003; Nishizawa et al. 1999). Η φερριτίνη αποτελεί την αποθηκευτική πρωτεΐνη του σιδήρου στον οργανισμό. Ο προστατευτικός ρόλος της φερριτίνης έγκειται στο γεγονός ότι ελαχιστοποιεί το σχηματισμό ριζών απομονώνοντας το σίδηρο στο αίμα ή στα κύτταρα (Arosio, Levi, 2002; Meneghini, 1997; Orino et al. 2001). Hentze, Muckenthaler & Andrews, 2004 Τέλος η αλβουμίνη, η σερουλοπλασμίνη και η χολερυθρίνη δρουν δίνοντας ηλεκτρόνια στις ελεύθερες ρίζες (Prier et al. 1999). Η αλβουμίνη και η σερουλοπλασμίνη συμμετέχουν επίσης στην μεταφορά του χαλκού και έτσι περιορίζουν την παραγωγή των ριζών μέσω της αντίδρασης του Fenton (Atanasiu et al. 1998; Rimbach et al. 1999). Η δράση των παραπάνω πρωτεϊνών είναι περιορισμένη γιατί δρουν έμμεσα και σε υγρά του σώματος όπως το αίμα, δηλαδή μακριά από τον τόπο παραγωγής των ελεύθερων ριζών.

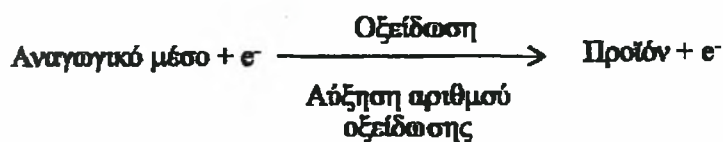
Οι θειόλες περιλαμβάνουν τη σουλφιλομάδα στο μόριό τους (Sen, Packer, 2000) και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο ως αντιοξειδωτικά. Πιο συγκεκριμένα η GSH

αποτελεί την κύρια θειόλη στον οργανισμό. Οι αντιδράσεις σχηματισμού της GSH από γλουταμίνη, κυστεΐνη και γλυκίνη καταλύονται από δυο κυτοζολικά ένζυμα την συνθετάση της γ-γλουταμυλκυστινής (GCS) και τη συνθετάση της GSH. Αυτό συμβαίνει σχεδόν σε όλα τα ανθρώπινα κύτταρα με το ήπαρ να αποτελεί τον κύριο παραγωγό και προμηθευτή της GSH (Wu, Fang, Yang, Lupton, Turner, 2004), ενώ ένα μέρος της προέρχεται από την τροφή (Lu, 2000). Δρα ως υπόστρωμα στις αντιδράσεις αναστολής των δραστικών ειδών οξυγόνου με το ένζυμο της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPX). Επίσης ουδετεροποιεί τα δραστικά είδη οξυγόνου (ROS) και ενισχύει την αντιοξειδωτική ικανότητα των βιταμινών C και E (Groussard et al. 2003; May, Qu, Whitesell, Cobb, 1996).

### **Οξειδοαναγωγική κατάσταση**

Ο όρος οξειδοαναγωγική κατάσταση χρησιμοποιείται για να περιγράψει την αναλογία της αλληλομετατροπής της οξειδωμένης και ανηγμένης μορφής ορισμένου οξειδοαναγωγικού ζευγαριού. Ωστόσο στις μέρες μας ο παραπάνω όρος δεν χρησιμοποιείται μόνο για να περιγράψει μια κατάσταση ενός συγκεκριμένου ζεύγους παραγόντων αλλά πιο γενικά περιγράφει το οξειδοαναγωγικό περιβάλλον του κυττάρου (Schafer & Buettner, 2001). Το οξειδοαναγωγικό περιβάλλον ζευγαριών που βρίσκονται σε βιολογικά υγρά, οργανίδια, κύτταρα ή ιστούς είναι το άθροισμα της αναγωγικής ικανότητας των οξειδοαναγωγικών ζευγαριών. Πιο απλά με τον όρο οξειδοαναγωγική κατάσταση εννοούνται όλες οι χημικές αντιδράσεις κατά τις οποίες αλλάζει ο αριθμός οξείδωσης των ατόμων που συμμετέχουν σε αυτές (αντιδράσεις 7, 8). Έτσι για παράδειγμα ο άνθρακας μπορεί να οξειδωθεί σε διοξείδιο του άνθρακα ή να αναχθεί από το υδρογόνο σε μεθάνιο CH<sub>4</sub>. Με τον όρο οξείδωση εννοείται η αύξηση το αριθμού οξείδωσης, ενώ με τον όρο αναγωγή εννοείται η μείωση του αριθμού οξείδωσης.





Αντίδραση 8

Η ενδοκυτταρική ανηγμένη γλουταθειόνη (GSH) όπως προαναφέρθηκε αποτελεί μια από τις κύριες αμυντικές γραμμές των κυττάρων στις ελεύθερες ρίζες. Κατά τη διάρκεια της αντιοξειδωτικής της δράσης η GSH μετατρέπεται στην οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG). Η GSH αποτελεί την κύρια μικρού μοριακού βάρους θειόλη στα κύτταρα με την οξειδωμένη της μορφή να εμφανίζεται σε συγκεντρώσεις δυο φορές μικρότερες (Fschafner & Buettner, 2001). Η αφθονία της GSH σε σχέση με την GSSG βοηθά να συντηρείται στο κύτταρο μια αναγωγική κατάσταση και να προστατεύονται τα μακρομόρια από οξειδωτική βλάβη.

Η ολική ενδοκυτταρική GSH προσαρμόζεται από διαφορετικά εξωκυτταρικά ερεθίσματα. Χαμηλές εξωκυτταρικές συγκεντρώσεις μορίων που έλκουν ηλεκτρόνια όπως (π.χ. 4-υδροξύ -2(E)-nonenal (HNE)) μπορούν να αυξήσουν την ολική GSH μέσω της παραγωγής της (Iles & Liu, 2004). Η ομοιόσταση της GSH/GSSG διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της οξειδοαναγωγικής κατάστασης των κυττάρων (Schafer & Buettner, 2001). Οι αλλαγές στον αναγωγικό μηχανισμό GSH/GSSG σχετίζονται με τη βιολογική κατάσταση του κυττάρου (Schafer & Buettner, 2001). Το οξειδοαναγωγικό ζευγάρι GSH/GSSG μπορεί εύκολα να παρατηρηθεί μέσω της αντίδρασης του Nernst (Kirlin et al., 1999).

$$E_h = E_o + RT/nF \times \ln[(GSSG)/(GSH)^2]$$

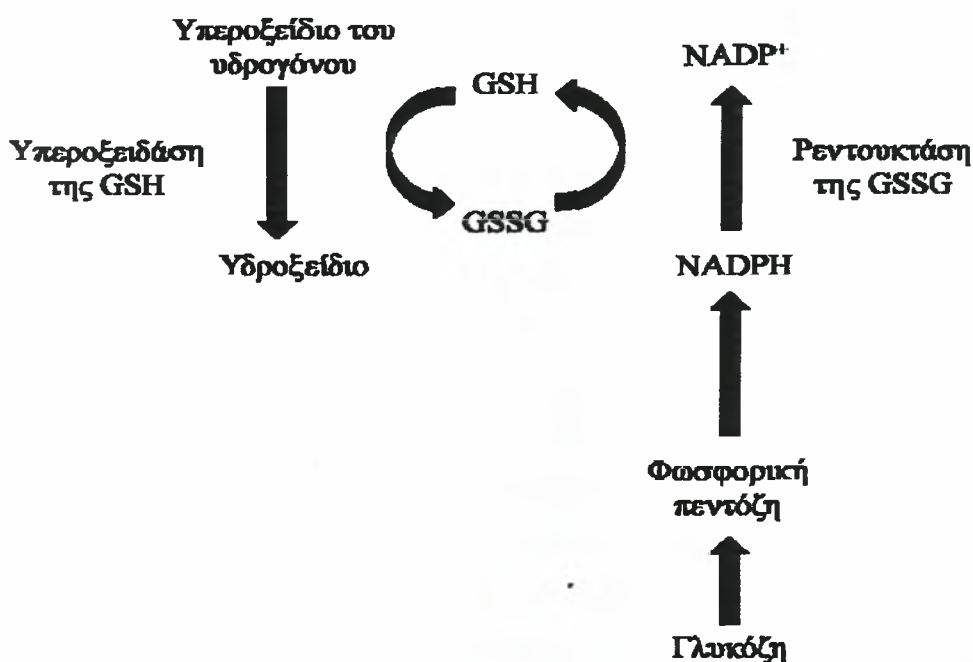
Εξίσωση 1

Όπου  $E_o$  είναι μια σταθερά για το οξειδοαναγωγικό ζευγάρι GSH/GSSG σε ορισμένο pH, το R αποτελεί σταθερά αερίων, το T είναι η απόλυτη θερμοκρασία, το F είναι η σταθερά του Φαραντέι και n είναι ο αριθμός των ηλεκτρονίων που μεταφέρονται.

Στην αντίδραση παρατηρούμε ότι η συγκέντρωση της GSH είναι υψωμένη στο τετράγωνο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα μικρές αλλαγές σε αυτήν να είναι ικανές να μεταβάλλουν την κυτταρική οξειδοαναγωγική κατάσταση (Schafer & Buettner, 2001). Όταν οι παραγόμενες ελεύθερες ρίζες δεν μπορούν να εξουδετερωθούν από τον κυτταρικό

αντιοξειδωτικό μηχανισμό η συγκέντρωση της GSSG αυξάνεται με αποτέλεσμα να χάνεται η ισορροπία στην οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου και να επηρεάζονται αρνητικά οι μεταβολικές διεργασίες του (Schafer & Buettner, 2001).

Η ρύθμιση της ισορροπίας των θειολών είναι μια σύνθετη διαδικασία. Η διατήρηση της GSH στους ιστούς στην ανηγμένη της μορφής πραγματοποιείται μέσω του μηχανισμού της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης και της ρεντουκτάσης της οξειδωμένης γλουταθειόνης. Ο μηχανισμός αυτός που είναι γνωστός ως "οξειδοαναγωγικός κύκλος της GSH" σχετίζεται άμεσα με το οξειδοαναγωγικό ζευγάρι του νικοτινικού αδένινου δινουκλεοτιδίου ( $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ ) (Schafer & Buettner, 2001). Η διαθεσιμότητα της GSH στον οξειδοαναγωγικό της κύκλο εξαρτάται από το NADPH (Σχήμα 4). Αύξηση στην παραγωγή του NADPH εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα της γλυκόζης και από την ύπαρξη και δραστηριότητα του ρυθμιστικού για αυτή τη διαδικασία ενζύμου της γλυκόζης-6-φωσφατο-διυδρογενάσης (G6PD)



**Σχήμα 4.** Ο οξειδοαναγωγικός κύκλος της GSH στο κύτταρο (Από Aw, 2003).

Ο καθορισμός της κυτταρικής οξειδοαναγωγικής κατάστασης απαιτεί μεθοδολογία που θα εξασφαλίζεται η ακριβής μέτρηση των ενδοκυτταρικών συγκεντρώσεων της GSSG και της GSH. Έχουν δημοσιοποιηθεί αρκετές μέθοδοι ήδη από το 1969 (Tietze) με τη χρωματομετρική μέθοδο, ενώ στη συνέχεια αναπτύχθηκαν χρωματογραφικές (Smith,

Dunnett & Mills, 1995) και σπεκτομετρικές μέθοδοι (Steghens, Flourie, Arab & Collombel, 2003). Αν και υπάρχουν αρκετές μέθοδοι για την μέτρηση των GSH και GSSG (Steghens et al., 2003) ορισμένες από αυτές εμφανίζουν περιορισμούς. Είναι γνωστό ότι η οξειδωση της GSH αποτελεί ένα σοβαρό πρόβλημα που οδηγεί στην υπερεκτίμηση της συγκέντρωσης της GSSG (Steghens et al., 2003). Σε κάποιες από τις μεθόδους εκτίμησης η οξειδωση μπορεί να συμβεί κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας των δειγμάτων. Από τις πιο αξιόπιστες μεθόδους αποτελεί η σπεκτομετρία μάζας με τη χρήση ισοτόπων (Zhu, Oe & Blair, 2008)

### ***Οξειδωτικό στρες***

Όταν στον οργανισμό αυξηθεί η συγκέντρωση ελεύθερων ριζών λόγω διαταραχής της ισορροπίας μεταξύ της παραγωγής τους και της εξουδετέρωσής τους από τον αντιοξειδωτικό μηχανισμό, τότε η κατάσταση στην οποία επέρχεται ο οργανισμός ονομάζεται οξειδωτικό στρες (Cooper, Vollaard, Choueiri, & Wilson, 2002). Όπως γίνεται αντιληπτό αυτό μπορεί να συμβεί σε περίπτωση αυξημένου σχηματισμού ριζών (Finaud et al., 2006) ή/και μειωμένης ικανότητας του μηχανισμού άμυνας (Nikolaidis et al., 2006).

### ***Θετικές βιολογικές επιδράσεις των ελεύθερων ριζών***

Οι ελεύθερες ρίζες χρησιμοποιούνται στο ανοσοποιητικό σύστημα του οργανισμού και πιο συγκεκριμένα εναντίον των αντιγόνων στη διάρκεια της φαγοκύτωσης (Fehrenbach & Northoff, 2001; Jenkins, 1988). Ο ρόλος αυτός αυξάνεται κατά τη διάρκεια φλεγμονών ακόμη και αυτών που προέρχονται από έντονη ή τραυματιογόνα άσκηση όπως η έκκεντρη (Malm, 2001). Αν και πολλές μελέτες έχουν επικεντρωθεί στις αρνητικές επιδράσεις των ελεύθερων ριζών, στον αντίποδα διαδραματίζουν έναν σημαντικό ρόλο σε κυτταρικά μονοπάτια ή στη βιογένεση των κυττάρων καθώς μπορούν να λειτουργήσουν ως κυτταρικοί πληροφοριοδότες ή να διαφοροποιήσουν την οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου (Reid, 2001; Sen, 2001). Επίσης τα δραστικά είδη οξυγόνου συμμετέχουν στην ενεργοποίηση των ενζύμων, στην αντιμετώπιση της δηλητηρίασης από φάρμακα και στη διευκόλυνση της υπερπλήρωσης του γλυκογόνου (Jenkins, 1988). Ακόμη οι ελεύθερες ρίζες φαίνεται να έχουν έναν σημαντικό ρόλο στη μυϊκή συστολή (Andrade, Reid, Allen & Westerblad, 1998; Coombes et al., 2001). Το συμπέρασμα αυτό εξάγεται από το γεγονός ότι η αναστολή της παραγωγής τους οδηγεί στην απώλεια της δύναμης σύσπασης των μυϊκών ινών, ενώ αντίθετα η αύξηση των ROS προκαλεί και αύξηση στη δύναμη



σύσπασης (Andrade et al. 1998 Coombes et al., 2001). Τέλος, έχει αναφερθεί ότι το  $H_2O_2$  χρησιμοποιείται για το σχηματισμό των θυροειδικών ορμονών (Halliwell & Cross, 1994).

### *Αρνητικές βιολογικές επιδράσεις των ελεύθερων ριζών*

Εκτός όμως από τις παραπάνω θετικές επιδράσεις οι ελεύθερες ρίζες προκαλούν και αρκετές βλάβες καθώς μπορούν να αλλάξουν το μέγεθος και την μορφή στα μόρια που αλληλεπιδρούν (Alessio, 1993; Cooper, Vollaard, Choueiri, et al., 2002; Jenkins, 1988; Pietta, 20001). Συνεπώς μπορούν να αυξήσουν την απόπτωση σε υγιή κύτταρα, να προκαλέσουν φλεγμονή ή να μεταβάλλουν κυτταρικές λειτουργίες. Όλες αυτές οι βλάβες μπορούν να προκαλέσουν εκφυλιστικές καταστάσεις και ασθένειες (Golden, Hinerfeld & Meion, 2002). Στον πίνακα 3 παρουσιάζονται τα κλινικά σύνδρομα και νοσήματα στα οποία τα ROS. διαδραματίζουν πιθανότατα σημαντικό ρόλο (Kalva, Mantha, Prasad, 1994; Prior, Cao, 1999; Sen, 1995).

**Πίνακας 3.** Κλινικά σύνδρομα και νοσήματα στα οποία οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου διαδραματίζουν πιθανό παθογενετικό ρόλο.

<b>Καρδιαγγειακά</b>	<b>Νευροεκφυλιστικά νοσήματα</b>	<b>Άλλα νοσήματα</b>
Αθηροσκλήρωση	Νόσος Parkinson	Νεφροπάθειες
Σύνδρομο μυοκαρδιακής ισχαιμίας	Νόσος Alzheimer	Σπλαχνική ισχαιμία και επαναιμάτωση
Καρδιακή ανεπάρκεια	Ισχαιμία και οίδημα του Κ.Ν.Σ	Φλεγμονώδη νοσήματα
Κυκλοφοριακό shock	Γήρανση	Πνευμονικές βλάβες
Αγγειοεγκεφαλικές διαταραχές	Επιληπτικές διαταραχές	Εμφύσημα
Αρτηριακή υπέρταση	Σχιζοφρένεια	Καρκίνος και χημική καρκινογένεση
		Αρθρίτιδες
		Αλκοολισμός
		Καταρράκτης

### *Οξείδωση λιπιδίων*

Η οξείδωση των λιποπρωτεϊνών αποτελεί έναν σημαντικό παράγοντα για την πρόκληση της αθηροσκλήρωσης (Young & McEneny, 2001; Vasankari, Kujala, Vasankari et al., 1997). Η οξείδωση ξεκινά από τις λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (LDL)

(Morel, Hessler & Chisolm, 1983) και η έκτασή της εξαρτάται από την αντιοξειδωτική ικανότητα του αίματος (Ma, Stone & Leclair, 1994; Terentis, Thomas, Burr et al., 2002). Η άσκηση λόγω του γεγονότος ότι μπορεί να αυξήσει το οξειδωτικό στρες μπορεί ταυτόχρονα να επιτείνει το πρόβλημα της οξείδωσης των λιποπρωτεϊνών (Liu, Bergholm, Makimattila et al., 1999; Pincemail, Lecomte, Castiau et al 2000). Ωστόσο οι επιδράσεις αυτές είναι μερικώς ή ολικώς εξισορροπημένες στους αθλητές καθώς η άσκηση μειώνει ταυτόχρονα τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιακού προβλήματος (Pincemail, Lecomte, Castiau et al 2000).

Τα ROS έχουν την ικανότητα να οξειδώσουν τα πολυακόρεστων ελεύθερα λιπαρά οξέα (PUFFA), γεγονός που λαμβάνει χώρα στις κυτταρικές μεμβράνες (Alessio, 1993; Cheeseman & Slater, 1993; Jenkins & Goldfarb, 1993). Αυτή η αντίδραση ξεκινά την οξείδωση των λιπιδίων, μια αλυσιδωτή αντίδραση που παράγει άλλες ελεύθερες ρίζες όπως το ROO και το ROOH καθώς και μόρια όπως η Μαλονδιαλδεΐδη (MDA) (Young & McEneny, 2001).

Η οξείδωση των λιπιδίων αλλάζει τη ρευστότητα των κυτταρικών μεμβρανών, μειώνει την ικανότητα διατήρησης της ομοιόστασης του, αυξάνει τη διαπερατότητα των μεμβρανών και την εμφάνιση φλεγμονών (Radak, Kaneko, Tahara et al. 1999). Συνεπώς είναι δυνατόν να ανιχνευθεί απώλεια ενδοκυτταρικών υγρών, υποβάθμιση της μεταφοράς ασβεστίου και μιτοχονδριακές δυσλειτουργίες (Jackson & O'Farrell, 1993; Jenkins, 1988). Κάθε είδος κυττάρου μπορεί να υποστεί ζημιά από την επίδραση των ελεύθερων ριζών συμπεριλαμβανομένων των μυϊκών κυττάρων και των ερυθροκυττάρων (Tavazzi, Di Pierro, Amorini et al 2000).

### ***Οξείδωση πρωτεϊνών***

Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να οξειδώσουν πρωτεΐνες του αίματος αλλά και δομικές πρωτεΐνες καθώς και να αναστείλουν το πρωτεολυτικό σύστημα (Szweda, Friguet & Szweda, 2002). Στη διάρκεια της οξείδωσης οι πρωτεΐνες μπορούν να χάσουν αμινοξέα ή να σπάσουν σε μικρότερες δομές. Αυτές οι αντιδράσεις μπορούν να οδηγήσουν σε αλλαγή των δομικών πρωτεϊνών αλλά και στην ενζυμική λειτουργία (Radak et al., 1999). Η οξείδωση των πρωτεϊνών και των αμινοξέων βρίσκεται σε συνάρτηση με την αύξηση των επιπέδων των πρωτεϊνικών καρβονυλίων (Levine, 2002; Renke, Popadiuk, Korzon et al., 2000) και των οξειδωμένων αμινοξέων (Leewenburgh, Hansen, Holloszy et al., 1999; Stadtman, 2000), παράγωγα που χρησιμοποιούνται ως γενικοί δείκτες του οξειδωτικού

στρες (Berlett & Stadtman, 1997; Leewenburgh et al., 1999; Radak et al., 1999). Η οξειδωση των πρωτεϊνών μπορεί να είναι αποτέλεσμα φλεγμονής, φυσικής δραστηριότητας ή του φαινομένου της ισχαιμίας/επαναιμάτωσης (Renke et al., 2000; Stadtman, 2000). Οι οξειδωμένες πρωτεΐνες, όχι όμως και τα καρβονύλια, καταβολίζονται ανασχηματίζοντας αμινοξέα. Για το λόγο αυτό προκαλείται μπλοκάρισμα στη διαδικασία της πρωτεόλυσης και συσσώρευση οξειδωμένων πρωτεϊνών (Levine, 2002; Renke et al., 2000). Συνεπώς ο καταβολισμός των πρωτεϊνών, οι μεταγραφικές διαδικασίες και η κυτταρική σταθερότητα μειώνονται κάτω από την επίδραση των ROS. Τέλος οι ελεύθερες ρίζες έχουν την ικανότητα να μεταβάλλουν το σύστημα των λυσοσωματίων και των πρωτεοσωμάτων, δυο βασικά μονοπάτια για την αποδόμηση των πρωτεϊνών (Szweda et al., 2002).

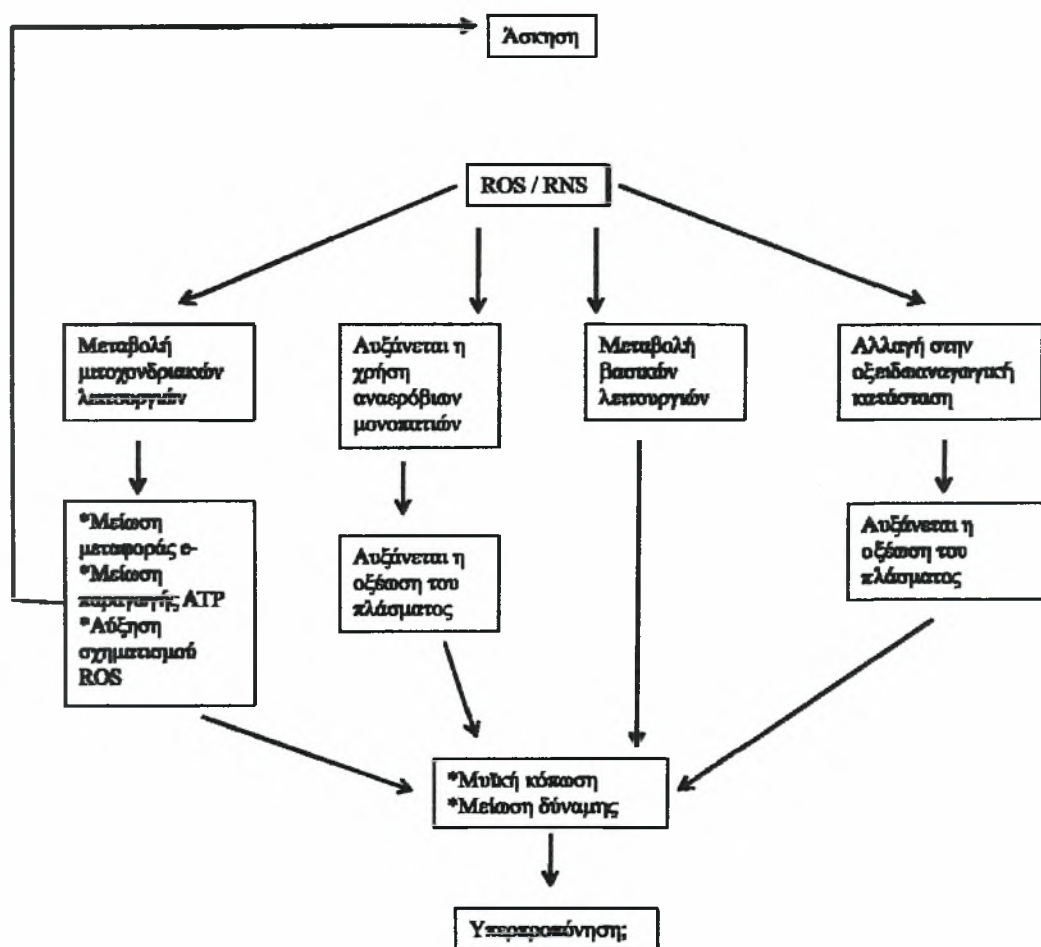
#### ***Οξείδωση των νουκλεϊκών οξέων (DNA)***

Οι ελεύθερες ρίζες επιδρούν και στα νουκλεϊκά οξέα προκαλώντας βλάβες (Alessio, 1993; Jenkins, 1988; Packer, 1997; Wallace, 2002). Το σύστημα επισκευής του DNA πολλές φορές υπερσκελίζεται ή αλλοιώνεται η διαδικασία επισκευής (Wallace, 2002). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η οξειδωση του DNA να προκαλεί μεταλλάξεις και αποτελεί έναν βασικό παράγοντα για τη γήρανση και την πρόκληση καρκίνου (Beckman & Ames, 1997; Kasai, 2002; Wallace, 2002).

#### ***Ελεύθερες ρίζες και μυϊκή κόπωση***

Ένα ποσό ελεύθερων ριζών είναι απαραίτητο για τη μυϊκή σύσπαση (Andrade, Reid, Allen et al 1998; Coombes, Powers, Rowell et al., 2001; Reid, 2001). Παρόλα αυτά το οξειδωτικό στρες που εμφανίζεται στον μυϊκό ιστό σχετίζεται με τη μυϊκή κόπωση κατά τη διάρκεια της άσκησης και με τον μυϊκό πόνο που εμφανίζεται μετά την άσκηση (Jackson & O'Farrell, 1993; Dawson, Henry, Goodman et al., 2002; Laursen, 2001; Reid, Haack, Franchek et al 1992). Οι διαφορετικές υποθέσεις σχετικά με τις επιδράσεις των ROS στη μυϊκή κόπωση παρουσιάζονται στο σχήμα 5. Αρκετοί παράγοντες φαίνεται να επηρεάζουν την επίδραση των ελεύθερων ριζών στη μυϊκή κόπωση. Οι αλλαγές στις μιτοχονδριακές λειτουργίες μετά από έκθεση στα ROS αποτελούν κύριο παράγοντα μυϊκής κόπωσης (Coombes, Rowell, Dodd et al 2002; Reid et al., 1992). Οι ελεύθερες ρίζες επηρεάζουν τα μιτοχόνδρια, τα λιπίδια, τις πρωτεΐνες και το DNA με αποτέλεσμα να επηρεάζονται αρκετές μεταβολικές λειτουργίες όπως και αυτή της αναπνευστικής

αλυσίδας και του σχηματισμού ATP. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα αερόβια μονοπάτια να γίνονται λιγότερο αποτελεσματικά και ο οργανισμός να αναγκάζεται να χρησιμοποιήσει αναερόβιους τρόπους παραγωγής ενέργειας. Αυτό όμως έχει αρνητικές επιδράσεις στο μυ καθώς η χρήση των αναερόβιων μονοπατιών οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων του φωσφόρου και σε οξέωση, δυο κύριοι παράγοντες μυϊκή κόπωσης (Reid et al., 1992).



Σχήμα 5. Οι πιθανές επιδράσεις των δραστικών ειδών οξυγόνου και αζώτου στη μυϊκή κόπωση (Από Finaud et al., 2006)

Οι συσταλτές πρωτεΐνες (ακτίνη, μυοσίνη) και η αντλία ασβεστίου είναι συστατικά των μυών που είναι ευαίσθητα στις αλλαγές της οξειδοαναγωγικής κατάστασης η οποία είναι άμεσα συνδεδεμένη με τη συγκέντρωση των ελεύθερων ριζών. Συνεπώς η μυϊκή σύσπαση (συσταλτές πρωτεΐνες) και ο έλεγχός της (αντλία ασβεστίου) μπορούν να επηρεαστούν (Goldfarb, 1999). Τα ROS μπορούν να οδηγήσουν σε αύξηση του ενδοκυτταρικού ασβεστίου και αδρανοποίηση των ενζύμων που βρίσκονται στο χώρο

αυτό γεγονός που μπορεί να οδηγεί στη μυϊκή κόπωση (Evans, 2000). Στη διάρκεια ποικίλων μορφών άσκησης όπως είναι και η έκκεντρη άσκηση μπορεί να παρατηρηθεί αυξημένη απελευθέρωση σιδήρου (από την φεριτίνη ή την αιμοσφαιρίνη) η οποία μπορεί να αυξήσει το οξειδωτικό στρες κατά την άσκηση και μετά από αυτή οδηγώντας σε μυϊκή κόπωση και βλάβες (Childs, Jacobs, Kaminski, Halliwell. & Leeuwenburgh, 2001). Επιπλέον δεδομένα δείχνουν ότι η μυϊκή συστολή μπορεί να τροποποιηθεί από τις ελεύθερες ρίζες (Sen, Kolosova, Hanninen et al., 1995). Τα ROS προκαλούν αξιοσημείωτη διαταραχή του συστήματος μεταφορά ποτάσιου στο μυ. Έχει φανεί από μελέτες ότι ο μυϊκό πόνος και η μείωση της μέγιστης παραγωγής δύναμης είναι αποτέλεσμα της μυϊκής αύξησης του μονοξειδίου του αζώτου (NO) (Radak, Pucso, Mecseki et al., 1999). Η ρίζα αυτή μειώνει τη δύναμη σύσπασης μέσω της αναστολής της δραστηριότητας ενός ενζύμου (Ca<sup>2+</sup>-ATPase) στο σαρκοπλασματικό δίκτυο. Επιπλέον το NO προκαλεί υπερπόλωση των μεμβρανών που έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της παραγόμενης δύναμης κατά τη συστολή. Εν κατακλείδι φαίνεται πιθανό ότι τα δραστικά είδη οξυγόνου και αζώτου που οδηγούν σε μείωση της μέγιστης παραγόμενης δύναμης μπορεί να αποτελούν έναν προστατευτικό μηχανισμό μέσω του οποίου οι σκελετικοί μύες προστατεύονται από περαιτέρω βλάβη μέσω της πολύ μεγάλης παραγόμενης δύναμης (Radak et al., 1999).

### *Ανίχνευση και μέτρηση του οξειδωτικού στρες*

Η εκτίμηση του οξειδωτικού στρες μπορεί να γίνει είτε μετρώντας απευθείας τις παραγόμενες ελεύθερες ρίζες, είτε μετρώντας τα προϊόντα των αντιδράσεων των ριζών με βιολογικά μόρια, είτε τέλος μετρώντας την δραστηριότητα των ενζύμων και τις συγκεντρώσεις του αντιοξειδωτικού μηχανισμού (Clarkson et al. 2000; Duthie, 1999; Jenkins, 2000). Η απευθείας μέτρηση των ελεύθερων ριζών στηρίζεται στις παραμαγνητικές τους ιδιότητες (Ashton et al. 1998; Ashton et al. 1999; Rimbach et al. 1999). Οι μετρήσεις μπορούν να γίνουν σε ζωντανό οργανισμό (in vivo) ή εκτός αυτού (ex vivo). Η εφαρμογή της μεθόδου στον ανθρώπινο οργανισμό δεν είναι ιδιαίτερα πρακτική λόγω της τοξικότητας των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιούνται (Clarkson et al. 2000; Rimbach et al. 1999). Τα δείγματα αίματος συλλέγονται σε συσκευασίες που περιέχουν διάλυμα με σταθεροποιητές των ριζών. Μετά τη φυγοκέντρωση ο ορός αναλύεται με μια φασματοσκοπική μέθοδο. Παρόλα αυτά, τα αποτελέσματα θα πρέπει να αντιμετωπιστούν με επιφύλαξη καθώς τα δραστικά είδη οξυγόνου έχουν μικρό χρόνο ημιζωής, αντιδρούν



πολύ εύκολα και έχουν πολύ μικρές συγκεντρώσεις (Ashton et al. 1999; Cooper et al. 2002; Jenkins, 2000).

Ένας άλλος τρόπος εκτίμησης του οξειδωτικού στρες είναι η μέτρηση της υπεροξειδωσής των μεμβρανών των λιπιδίων ή των λιπαρών οξέων μέσω των ουσιών που παράγονται. Η υπεροξειδωσής των λιπιδίων οδηγεί στο σχηματισμό πολλών κύριων προϊόντων οξειδωσής όπως τα συζευγμένα διένυα ή τα υδροπεροξειδία των λιπιδίων (Aruoma, 1999; Ashton et al. 1999; Clarkson et al. 2000) και δευτερευόντων προϊόντων όπως η μαλονδιαλδεΐδη, τα F2-ισοπροστάνια, το πεντάνιο, το αιθάνιο και το εξάνιο (Finaud et al. 2006). Η μαλονδιαλδεΐδη αποτελεί ένα από τα δευτερεύοντα προϊόντα της οξειδωσής των λιπιδίων και παράγεται από την αυτοοξειδωσής των λιπαρών οξέων. Εκτιμάται μέσω της αντίδρασής της με το θειοβαρβιτουρικό οξύ. Αν και η μέθοδος αυτή δεν θεωρείται αξιόπιστη χρησιμοποιείται με επιφύλαξη ως γενικός δείκτης της υπεροξειδωσής των λιπιδίων (Clarkson et al. 2000; Groussard et al. 2003; Rimbach et al. 1999). Ωστόσο μερικές έρευνες δείχνουν ότι η MDA δεν αποτελεί εξειδικευμένη μέθοδο για την εκτίμηση του οξειδωτικού στρες μετά από άσκηση (Groussard et al. 2003). Μια άλλη τεχνική με περιορισμένη όμως χρηστική αξία είναι η μέτρηση στα εκπνεόμενα αέρια πτητικών υδρογονανθράκων όπως το πεντάνιο, το εξάνιο και το αιθάνιο, καθώς τα αέρια αυτά μπορούν να σχηματιστούν και με άλλους τρόπους εκτός από την οξειδωσής που προκαλούν οι ρίζες (Rimbach et al. 1999). Τα τελευταία χρόνια βρέθηκε ότι τα F2-ισοπροστάνια παράγονται από την υπεροξειδωσής που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες στο αραχιδονικό οξύ (Aruoma, 1999). Αρκετές μελέτες δείχνουν την αξιοπιστία αυτού του δείκτη καθώς και άλλων περισσότερο πρόσφατων όπως η οξειδωμένη LDL στο αίμα ή τα αντισώματα κατά της οξειδωμένης LDL (Frank, Pompella, Biesalski, 2000; Pincemail et al. 2000; Willcox, Catignani, Roberts, 2002).

Για την εκτίμηση της επίδρασης του οξειδωτικού στρες στις πρωτεΐνες η πιο συνηθισμένη μέθοδος είναι η μέτρηση των καρβονυλίων που σχηματίζονται (Levine, 2002; Stadtman, Levine, 2000). Ένας πιο πολύτιμος δείκτης είναι η αναλογία των καρβονυλίων προς τη συνολική πρωτεΐνη η οποία μετρείται για το σκοπό αυτό (Chen, Chang, Wie, 2001). Η μέθοδος αυτή είναι χρήσιμη καθώς τα καρβονύλια έχουν μεγάλο χρόνο ημιζωής και μπορούν να δείξουν συσσωρευμένες επιδράσεις του οξειδωτικού στρες στον οργανισμό (π.χ. μετά από ένα μπλοκ προπονήσεων). Επίσης η μέτρηση των οξειδωμένων αμινοξέων αποτελεί έναν άλλο δείκτη της οξειδωσής των πρωτεϊνών (Leeuwenburgh et al. 1999) χωρίς να υπάρχει όμως αυτή τη στιγμή επαρκής γνώση για την

κινητική των αμινοξέων περιορίζοντας έτσι την ερμηνεία των ευρημάτων (Leeuwenburgh et al. 1999; Rimbach et al. 1999).

Η εκτίμηση της καταστροφής που προκαλεί το οξειδωτικό στρες στο DNA συνήθως γίνεται με τη μέτρηση του νουκλεοτίδιου 8-υδροξυ-2'-δεοξυγουανωσίνης (8-OHdG). Η ουσία αυτή παράγεται κατά την οξείδωση της γουανίνης από τις ελεύθερες ρίζες. Ωστόσο υπάρχουν κάποιες αμφιβολίες για την ακρίβεια της μεθόδου καθώς η ουσία αυτή ενδέχεται να σχηματίζεται μέσα στις αρτηρίες με αυτοοξείδωση στη διάρκεια ή ακόμη και μετά τη δειγματοληψία (Dizdaroglu, Jaruga, Brincioglu, Rodriguez, 2002; Hofer, Moller, 2002).

Σε πολλές μελέτες χρησιμοποιείται η μέτρηση της δραστηριότητας των τριών ενζύμων του αντιοξειδωτικού μηχανισμού των οποίων η εξέλιξη παρουσιάζει μια προσαρμογή στην παραγωγή των ελεύθερων ριζών μετά την άσκηση (Marzatico, Pansarasa, Bertorelli, Somenzini, Della Valle, 1997; Miyazaki et al. 2001). Μπορεί να εμφανιστεί αύξηση της δραστηριότητας ή και μείωση στην περίπτωση που το οξειδωτικό στρες είναι σημαντικό ή έχει μεγάλη διάρκεια.

Η μέτρηση στο πλάσμα των αντιοξειδωτικών βιταμινών (A, C και E) μπορεί να χρησιμοποιηθεί εκτός από την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του οργανισμού και ως έμμεσος δείκτης του οξειδωτικού στρες (Rimbach et al. 1999). Επίσης ένα άλλο αντιοξειδωτικό που μπορούμε να μετρήσουμε είναι οι θειόλες. Έλλειψη των πρωτεϊνών αυτών μπορεί να εμφανιστεί στη διάρκεια μιας μεγάλης περιόδου οξειδωτικού στρες. Η GSH αποτελεί την πιο σημαντική θειόλη στον ανθρώπινο οργανισμό και μαζί με την οξειδωμένη της μορφή αποτελούν βασικούς δείκτες για την εκτίμηση του οξειδωτικού στρες. Η αναλογία τους αποτελεί έναν επιπλέον κλινικό δείκτη καθώς οι ελεύθερες ρίζες οξειδώνουν την GSH σε GSSG (Svensson et al. 2002; Tessier et al. 1995). Αν και το ουρικό οξύ είναι ένα σημαντικό αντιοξειδωτικό του οργανισμού (Marklund, Ostman, Nalmo, Persson, Hillered, 2000; Wayner, Burton, Ingold, Barclay, Locke, 1987), μόνο του δεν αποτελεί αξιόπιστο δείκτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας και του οξειδωτικού στρες. Ωστόσο η αλλαντοΐνη που είναι παράγωγο οξείδωσης του ουρικού οξέος και απουσιάζει σε φυσιολογικές συνθήκες από τα ανθρώπινα υγρά είναι ένας χρήσιμος ενδογενής δείκτης του οξειδωτικού στρες. Από την άλλη πλευρά μελέτες αναφέρουν περιορισμένη λειτουργική αξία του δείκτη αυτού γιατί μπορεί να οξειδωθεί από τις ελεύθερες ρίζες στα δείγματα αίματος και έτσι να υπερεκτιμηθεί το οξειδωτικό στρες (Marklund et al. 2000).

Ένας άλλος δείκτης που χρησιμοποιείται είναι η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) που οφείλει την ονομασία της και την εμφάνισή της στην ύπαρξη πολλών αντιοξειδωτικών ουσιών στα ανθρώπινα υγρά και στη δύσκολη μέτρηση κάθε μιας από αυτές ξεχωριστά. Η συνηθέστερη τεχνική περιλαμβάνει τη χρήση προ – οξειδωτικών με στόχο να μετρηθεί η ικανότητα απορρόφησης (σε φωτόμετρο) των ριζών του οξυγόνου (Cao, Prior, 2000; Prior et al. 1999). Η μέθοδος αυτή έχει μειονεκτήματα καθώς ο δείκτης επηρεάζεται από διατροφικές συνήθειες. Επιπλέον είναι δυνατόν να αλλάξουν οι συγκεντρώσεις κάποιων αντιοξειδωτικών παραγόντων χωρίς να μεταβληθεί η TAC (Kohen, Vellaichamy, Hrbac, Gati, Tirosch, 2000).

Τέλος η κρεατινική κινάση (CK) και η μυοσφαιρίνη αποτελούν δείκτες της βλάβης στα μυϊκά κύτταρα (Ortenblad, Madsen & Djurhuus, 1997; Petiboys, Cazorla, Poortmans et al., 2002). Αυτοί οι παράμετροι επίσης μπορούν να θεωρηθούν έμμεσοι δείκτες του οξειδωτικού στρες καθώς η οξείδωση των λιπιδίων προκαλεί βλάβες στις κυτταρικές μεμβράνες (Petiboys et al., 2002, Rimbach, Hohler, Fischer et al., 1999) κάνοντάς τες περισσότερο διαπερατές επιτρέποντας τη διάχυση στο εξωκυττάριο περιβάλλον αυτών των παραμέτρων (Dawson et al., 2002). Ωστόσο η CK και η μυοσφαιρίνη δεν είναι εξειδικευμένοι δείκτες του οξειδωτικού στρες και ιδιαίτερα στους αθλητές που έχουν υψηλές συγκεντρώσεις στο αίμα τους των παραμέτρων αυτών (Dawson et al., 2002).

Συμπερασματικά για τη μέτρηση του οξειδωτικού στρες και του αντιοξειδωτικού μηχανισμού μπορούμε να αναφέρουμε ότι κάθε μέθοδος έχει τα θετικά της στοιχεία και τους περιορισμούς της. Καμία από αυτές δεν μπορεί να λειτουργήσει αυτόνομα, αλλά μια ομάδα με δείκτες οξειδωτικής καταστροφής λιπιδίων, πρωτεϊνών και DNA καθώς και η TAC μαζί με κάποια αντιοξειδωτικά φαίνεται να είναι η πιο αξιόπιστη μέθοδος για την εκτίμηση του οξειδωτικού στρες (Prior et al. 1999).

### ***Μηχανισμοί παραγωγής ελεύθερων ριζών***

Οι ελεύθερες ρίζες σχηματίζονται στον οργανισμό με ποικίλους τρόπους. Κατ' αρχήν παράγονται κατά τον μεταβολισμό του οξυγόνου ο οποίος λαμβάνει χώρα στα μιτοχόνδρια (Di Meo, Venditti, 2001). Ένας δεύτερος μηχανισμός με τον οποίο παράγονται είναι η μεταβολή της αιματικής ροής των μυών (ισχαιμία-επαναιμάτωση), η οποία εμφανίζεται έπειτα από εγχειρήσεις, σοκ ή κατά τη διάρκεια φυσικής δραστηριότητας (Fehrenbach, Northoff, 2001; Frederiks, Bosch, 1995; Thompson-Gorman, Zweier, 1990). Ακόμη ένα σημαντικό ποσό ελεύθερων ριζών παράγεται από τα

ουδετερόφιλα και τα μακροφάγα λευκά αιμοσφαίρια κατά την φαγοκύτωση μικροοργανισμών (Fehrenbach et al. 2001; Hampton, Kettle & Winterbourn, 1998). Επίσης, η οξειδωση της αιμοσφαιρίνης και της μυοσφαιρίνης μπορούν να οδηγήσουν στο σχηματισμό δραστικών ειδών οξυγόνου (Ames, Catchcart, Schwiers, Hochstein, 1981; Thomas, 2000). Τέλος κάποιες άλλες καταστάσεις που μπορούν να προκαλέσουν τη δημιουργία ριζών (μετασχηματισμός του  $O_2^{\bullet-}$  σε  $OH^{\bullet}$ ), είναι η αυξημένη κεντρική θερμοκρασία του σώματος, οι κατεχολαμίνες και το γαλακτικό οξύ (Clarkson, Thompson, 2000; Cooper, Vollaard, Choueiri, Wilson, 2002).

Κατά την άσκηση ο σχηματισμός των ριζών πραγματοποιείται μέσω των ίδιων μηχανισμών που γίνεται και κατά την ηρεμία, όμως κάποιοι από αυτούς κυριαρχούν. Έτσι η αποβολή των ηλεκτρονίων κατά την λειτουργία της αναπνευστικής αλυσίδας, η μεταβολή της αιματικής ροής των μυών (Cooper et al. 2002) και η δράση των λευκών αιμοσφαιρίων στις φλεγμονές που προκαλούνται κατά την άσκηση ενοχοποιούνται για τη μαζική παραγωγή των ριζών. Όπως είναι γνωστό η άσκηση αναγκάζει τον οργανισμό να αυξήσει τις ποσότητες του οξυγόνου που φτάνουν στους εργαζόμενους μύες περίπου 100 φορές σε σχέση με τα επίπεδα ηρεμίας. Το οξυγόνο αυτό συμμετέχει στην αερόβια παραγωγή ενέργειας μέσω της αναπνευστικής αλυσίδας που λαμβάνει χώρα στα μιτοχόνδρια. Ένα ποσοστό του οξυγόνου αυτού (1-3%) διαφεύγει και σχηματίζει δραστικά είδη οξυγόνου (Boveris & Chance, 1973). Κατά το δεύτερο μηχανισμό σε ορισμένους ιστούς στη διάρκεια έντονης άσκησης υπάρχει μειωμένη παροχή αίματος (under perfusion), ενώ κατά την αποκατάσταση επανέρχεται η ροή του αίματος στον ιστό (reperfusion). Η αυξημένη οξυγόνωση του ιστού που ακολουθεί, έχει ως επακόλουθο την παραγωγή ελεύθερων ριζών (Radak, 2000). Τέλος κατά την άσκηση προκαλούνται στον οργανισμό ορισμένες φλεγμονές οι οποίες καταπολεμούνται από τα ουδετερόφιλα και τα μακροφάγα λευκά αιμοσφαίρια. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας παράγονται ελεύθερες ρίζες (Fehrenbach et al. 2001).

Στη συνέχεια θα γίνει αναφορά στους τρεις βασικότερους μηχανισμούς παραγωγής δραστικών ειδών οξυγόνου που σχετίζονται με την έκκεντρη άσκηση. Όπως προαναφέρθηκε τα μιτοχόνδρια των μυών παράγουν ελεύθερες ρίζες κατά τη διάρκεια και για σύντομο χρονικό διάστημα αμέσως μετά από άσκηση που προκαλεί μυϊκή καταστροφή (Leeuwenburgh & Heinecke, 2001). Αν και κατά τις έκκεντρες συσπάσεις καταναλώνεται λιγότερο οξυγόνο σε σύγκριση με τις μειωμετρικές (Lastayo, Reich, Urquhart, Hoppeler & Lindstedt, 1999) η παραγωγή των δραστικών ειδών οξυγόνου στα μιτοχόνδρια πιθανόν



είναι περισσότερο αυξημένη μετά την έκκεντρη άσκηση και όχι κατά τη διάρκεια αυτής. Ωστόσο είναι απίθανο η αυξημένη παραγωγή ελεύθερων ριζών που πραγματοποιείται από αυτόν τον μηχανισμό να είναι υπεύθυνη για την αύξηση του οξειδωτικού στρες/βλάβης που εμφανίζεται μετά (Nikolaidis et al., 2008).

Η άλλη σημαντική πηγή ριζών κατά την άσκηση είναι το φαινόμενο της ισχαιμίας/επαναιμάτωσης (Finaud et al., 2006). Κατά τη διάρκεια της άσκησης η ροή του αίματος σε ορισμένες μυϊκές ομάδες που συσπώνται μέγιστα μπορεί να μειωθεί και έτσι να βρίσκονται σε συνθήκες υποξίας (Finaud et al., 2006). Μετά την άσκηση αυτοί οι ιστοί λαμβάνουν μεγαλύτερη ποσότητα αίματος και επομένως και περισσότερο οξυγόνο (Finaud et al., 2006). Στους ιστούς που βρίσκονται σε υποξία η αφυδρογονάση της ξανθίνης μπορεί να μετατραπεί σε ξανθίνη οξειδάση (Finaud et al., 2006). Κατά την επαναιμάτωση το  $O_2$  και το  $H_2O_2$  μπορούν να σχηματιστούν μέσω δυο αντιδράσεων που καταλύονται από την ξανθίνη οξειδάση οδηγώντας στο σχηματισμό της υποξανθίνης και ξανθίνης (Finaud et al., 2006). Τα υποστρώματα για την ξανθίνη οξειδάση είναι διαθέσιμα ιδιαίτερα κατά την εξαντλητική άσκηση, όπου εμφανίζεται έντονη αποδόμηση των πουρινών (Leeuwenburgh & Heinecke, 2001). Παρόλα αυτά δεν υπάρχουν ξεκάθαρες μαρτυρίες ότι η ξανθίνη οξειδάση παίζει σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό οξειδίων στον άνθρωπο (Leeuwenburgh & Heinecke, 2001). Επιπλέον φαίνεται απίθανο το φαινόμενο της ισχαιμίας επαναιμάτωσης το οποίο λαμβάνει χώρα κατά τη διάρκεια και λίγο μετά την άσκηση να μπορεί να εξηγήσει την καθυστερημένη αύξηση του οξειδωτικού στρες που εμφανίζεται ακόμη και μέρες μετά την άσκηση που προκαλεί την μυϊκή καταστροφή (Nikolaidis et al., 2008).

Η διήθηση των φαγοκυττάρων στο σκελετικό μυ αποτελεί μια άλλη πηγή δραστικών ειδών οξυγόνου αμέσως μετά την άσκηση αλλά και για μεγάλο χρονικό διάστημα μετά από αυτή (Close, Ashton, McArdle & Maclaren, 2005). Η έκκεντρη άσκηση μπορεί να αυξήσει τη διήθηση των λευκοκυττάρων στο μυ, τη φλεγμονή και την εκτεταμένη οξειδωτική βλάβη (Close et al., 2005). Τα φαγοκύτταρα όπως τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα αποτελούν κύρια πηγή ελεύθερων ριζών καθώς χρησιμοποιούν ποικίλα δραστικά είδη (συμπεριλαμβανομένων του  $O_2$ , του  $H_2O_2$  και του HOCl) για να εξουδετερώσουν παθογόνους μικροοργανισμούς (Close et al., 2005). Οι ρίζες αυτές μπορούν επίσης να καταστρέψουν γειτονικούς ιστούς (Close et al., 2005). Αυτή η οξειδωτική αλυσίδα έχει δείχθει, άμεσα σε ποντίκια (McArdle et al., 1999; Zerba, Komorowski & Faulkner, 1990) και έμμεσα σε ανθρώπους, ότι λαμβάνει χώρα περίπου 3



ημέρες μετά από έκκεντρες δραστηριότητες (Close, Ashton, Cable, Doran & MacLaren, 2004). Συνεπώς το καθυστερημένο οξειδωτικό στρες που εμφανίζεται μετά από άσκηση που προκαλεί μυϊκή καταστροφή πιθανότατα προκαλείται από τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα και άλλα φαγοκύτταρα που συγκεντρώνονται στο σημείο της αρχικής μυϊκής βλάβης (Nikolaidis et al., 2008).

### ***Ο ρόλος των ελεύθερων ριζών στον ασκησιογενή μυϊκό τραυματισμό***

Όπως έχει προαναφερθεί σε προηγούμενο κεφάλαιο οι ελεύθερες ρίζες που απελευθερώνονται μπορούν να επιδεινώσουν τον αρχικό μυϊκό τραυματισμό που προκαλείται από την άσκηση προσβάλλοντας τους παρακείμενους υγιείς ιστούς μέσω της οξειδωτικής τροποποίησης των λιπιδίων, των πρωτεϊνών και των νουκλεϊκών οξέων τους (Pierce AP, de Waal E, McManus LM, Shireman PK, Chaudhuri, 2007; Tidball, 2005). Το γεγονός αυτό ενισχύεται από την παρατήρηση ότι πειραματόζωα με έλλειψη μυελοπεροξειδάσης εμφάνισαν μικρότερο ασκησιογενή τραυματισμό στις μεμβράνες των μυϊκών κυττάρων, έστω και αν παρουσίαζαν τα ίδια επίπεδα φλεγμονής με τα πειραματόζωα της ομάδας ελέγχου (που διέθεταν μυελοπεροξειδάση) (Nguyen, Lusic & Tidball, 2005). Από την άλλη πλευρά υπάρχουν ερευνητές που υποστηρίζουν ότι αυτή η δράση των ουδετερόφιλων μάλλον είναι ευεργετική για την μετέπειτα επιδιόρθωση και αύξηση του μυϊκού ιστού μέσω της δράσης των ελεύθερων ριζών που απελευθερώνουν (Nguyen et al., 2005; Teixeira, Zamuner, Zuliani, et al. 2003; Tidball, 2005; Toumi & Best, 2003). Ωστόσο αν αυτή η άποψη ισχύει, δεν είναι ακόμη κατανοητός ο μηχανισμός μέσω των οποίων οι ελεύθερες ρίζες που παράγονται κατά την οξεία φλεγμονή, αμέσως μετά τον ασκησιογενή μυϊκό τραυματισμό, θα μπορούσαν να επηρεάσουν ευεργετικά (ή μη) την διαδικασία επούλωσης και ανάπτυξης του μυ.

Επίσης αν παραδεχθούμε ότι οι ελεύθερες ρίζες αποτελούν ρυθμιστικούς παράγοντες της ασκησιογενούς μυϊκής φλεγμονής θα πρέπει να διαλευκανθεί η ακριβής φάση δράσης τους καθώς και μέσω ποιού ή ποιών μηχανισμών εκφράζουν αυτόν το ρόλο τους. Η απάντηση σε αυτά τα ερωτήματα θα έδινε την ευκαιρία να κατανοήσουμε τον μηχανισμό της μυϊκής φλεγμονής έτσι ώστε να συμβάλλουμε στην ανάπτυξη προσεγγίσεων (φαρμάκων, θεραπειών ή μεθόδων) όχι μόνο για την αντιμετώπιση της ασκησιογενούς μυϊκής φλεγμονής σε τραυματισμένους ή εξαντλημένους αθλητές, αλλά και σε όλες τις υπόλοιπες εκφυλιστικές ασθένειες για τις οποίες ο μυϊκός τραυματισμός αποτελεί κεντρικό θέμα (π.χ. μυϊκές δυστροφίες). Είναι ωστόσο γενικά αποδεκτό ότι οι

μοριακές διαδικασίες οι οποίες ρυθμίζουν την εξέλιξη του τραυματισμού του μυϊκού ιστού και την επούλωσή του δεν έχουν ακόμη αποσαφηνιστεί σε μεγάλο μέρος τους.

Ωστόσο υπάρχουν αρκετές ενδείξεις ότι η έκθεση των κυττάρων σε χαμηλές συγκεντρώσεις δραστικών ειδών οξυγόνου δεν επιδρά μόνο στον αντιοξειδωτικό μηχανισμό αλλά και σε μεταβολικά μονοπάτια που σχετίζονται με τη μεταφορά της γλυκόζης, τη δραστηριότητα της ΑΤΡάσης, την απελευθέρωση του ασβεστίου, τη δραστηριότητα της κρεατινικής κινάσης, τη βιογένεση των μιτοχονδρίων και τη διαφοροποίηση των μυϊκών ινών (Sakamoto & Goodyear, 2002; St-Pierre et al., 2006; Taylor & Starnes, 2003). Τα επίπεδα των αναγωγικών ενώσεων (π.χ. ανηγμένη γλουταθειόνη (GSH), θειορεδοξίνη (Trx), n-ακετυλοκυστεΐνη (NAC), α-λιποϊκό οξύ) στο κύτταρο και η αναγωγική κατάσταση του κυττάρου γενικότερα παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση των σηματοδοτικών μονοπατιών που ελέγχουν την γονιδιακή έκφραση των αντιοξειδωτικών πρωτεϊνών.

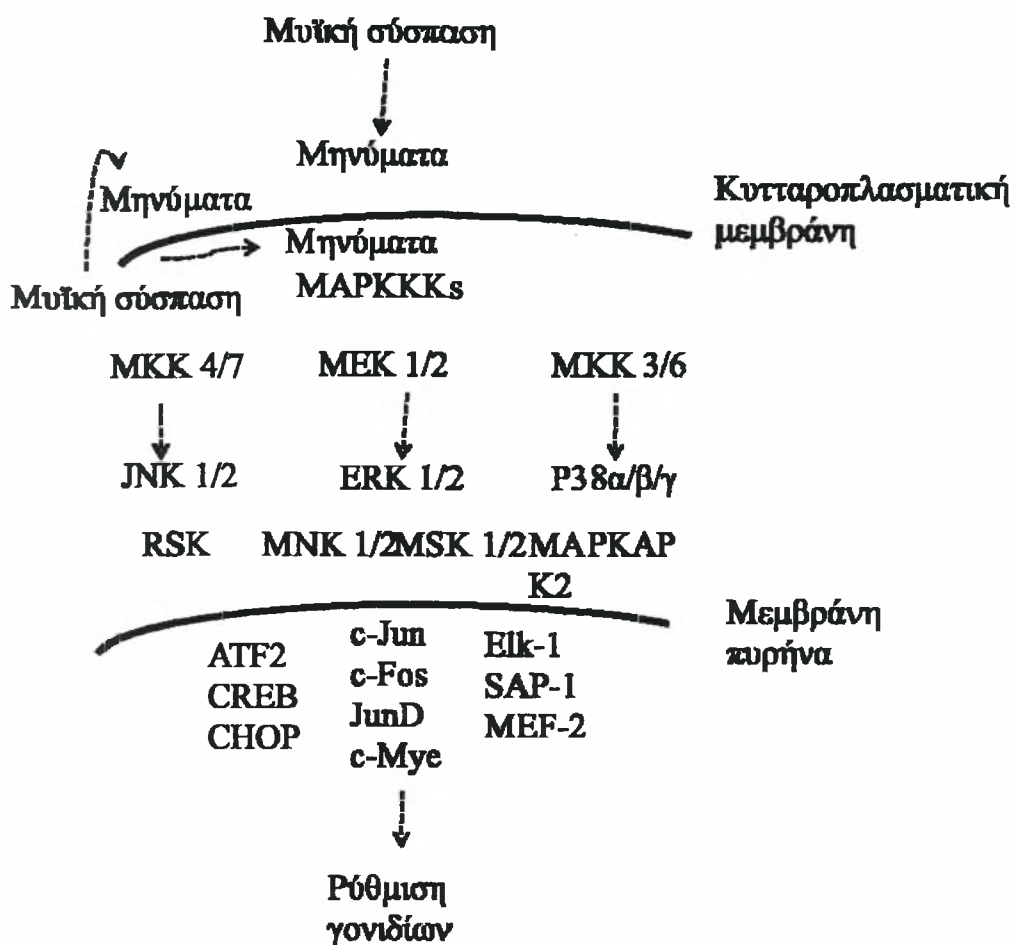
#### ***Οξειδοαναγωγική κατάσταση και μεταγωγικά μονοπάτια***

Οι ελεύθερες ρίζες επιδρούν σε μονοπάτια που μπορούν αδρά να κατηγοριοποιηθούν σε πέντε κατηγορίες: α) ορμόνες, κυτοκίνες, αυξητικοί παράγοντες, β) κανάλια μεταφοράς ιόντων, γ) μεταγραφή γονιδίων, δ) νευρο-διαμόρφωση και ε) απόπτωση. Στη συνέχεια θα παρουσιαστούν βασικές κυτταρικές λειτουργίες που ανήκουν στις παραπάνω κατηγορίες και επηρεάζονται από τις ρίζες ή την οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου και έχουν σχέση με τον ασκησιογενή μυϊκό τραυματισμό. Ορισμένοι από τους μηχανισμούς οι οποίοι υπόκεινται σε οξειδοαναγωγικό έλεγχο τόσο κατά την άσκηση όσο και σε συνθήκες ηρεμίας είναι αυτοί των NF-κB, AP-1, MAPK, P13K/Akt κ.ά (Jackson, 2009). Η ενεργοποίηση αυτών των μηχανισμών στον ασκούμενο μυ οδηγεί στην γονιδιακή έκφραση αντιοξειδωτικών πρωτεϊνικών μορίων και στην ενεργοποίηση μεταβολικών μονοπατιών του κυττάρου.

Οι μεταγραφικοί παράγοντες NF-κB αποτελούν μια μεγάλη οικογένεια μεταγραφικών παραγόντων και (πυρηνικοί παράγοντες κάπα Β) βρίσκονται σε αδρανή κατάσταση στο κυτταρόπλασμα καθώς είναι δεσμευμένοι με τις ανασταλτικές πρωτεΐνες IκB (Baeuerle & Baltimore, 1988). Ο NF-κB ενεργοποιείται από ποικίλα εξωτερικά ερεθίσματα όπως το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, οι προφλεγμονώδεις κυτοκίνες (TNF-α, IL-1, IL-6), τα λιποπολυσακχαρίδια (LPS) κ.ά. Οι παράγοντες αυτοί πιστεύεται ότι ενεργοποιούν την κινάση του IκB (IKK), ή κάποια από τις πρωτεϊνικές κινάσες ζ (PKCζ) ή την πρωτεϊνική

κινάση του RNA (Flohé, Brigelius-Flohé, Saliou, Traber & Packer, 1997; Sen & packer, 1996). Η φωσφορυλίωση των ser-32 και ser-36 του IκBa οδηγεί στην εξάπλωση του IκB και σε πρωτεολυτικές διαδικασίες από το πρωτεόσωμα 26S. Η αποσύνδεση του IκB αποδεσμεύει τις υπομονάδες (πρωτεΐνες) P50/P65 του NF-κB και μεταφέρονται στους πυρήνες όπου δεσμεύουν τα γονίδια στόχους του DNA. Οι πιο γνωστές πρωτεΐνες και τα πιο γνωστά ένζυμα που ενεργοποιούνται με αυτή τη διαδικασία είναι η MnSOD-2, η συνθετάση της γ-γλουταμυλκυστεΐνης (GCS), η συνθετάση του μονοξειδίου του αζώτου (iNOS), η κυκλοοξυγενάση, το VCAM-1 και αρκετές κυτοκίνες.

Η MAPK (mitogen activated protein kinase) έχει μια σύνθετη ιεραρχία παραγόντων συμπεριλαμβανομένων της εξωτερικής ρυθμιστικής κινάσης (ERK), της τερματικής αμινο-κινάσης c-Jun (JNK) και του p38<sup>MAPK</sup> οι οποίοι ρυθμίζονται από τις αντίστοιχες κινάσες (MEK/MKK) (Allen & Tresini, 2000). Το μονοπάτι της MAPK διεγείρεται κυρίως από αυξητικούς παράγοντες (GFs), φλεγμονώδεις κυτοκίνες (TNFα, IL-1, IL-6) και τα λιποπολυσακχαρίδια (LPS). Στα μονοπάτια της ERK και της JNK που έχουν μελετηθεί αρκετά ο παράγοντας Ras παίζει σημαντικό ρόλο στην αρχική φάση ενεργοποίησης της MAPK. Μετά τη δέσμευση του υποδοχέα από τους αυξητικούς παράγοντες (π.χ. ο PDGF), σχετιζόμενες πρωτεΐνες (Sos, Grb-2, Shc) αναδιαμορφώνονται οδηγώντας στην ενεργοποίηση του Ras. Με τη σειρά του ο παράγοντας αυτός διεγείρει τη μεταφορά και τη φωσφορυλίωση του Raf-1, τον κυρίαρχο παράγοντα της αναλογίας MEK/MKKs. Οι φλεγμονώδεις κυτοκίνες επιδρούν στον Ras αυξάνοντας τη συγκέντρωση του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> στο κυτοσόλιο που ενεργοποιεί αρκετές ισομορφές της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC) (Cappoll & May, 1994). Η PKC φαίνεται να λειτουργεί ως ρυθμιστικό ένζυμο της ενεργοποίησης της MAPK διεγείροντας τους παράγοντες MEK/MKKs (Abe et al., 1998) (σχήμα 6).



**Σχήμα 6.** Επίδραση της μυϊκής σύσπασης στο μονοπάτι της MAP κινάσης στο σκελετικό μυ (Από Sakamoto et al., 2002).

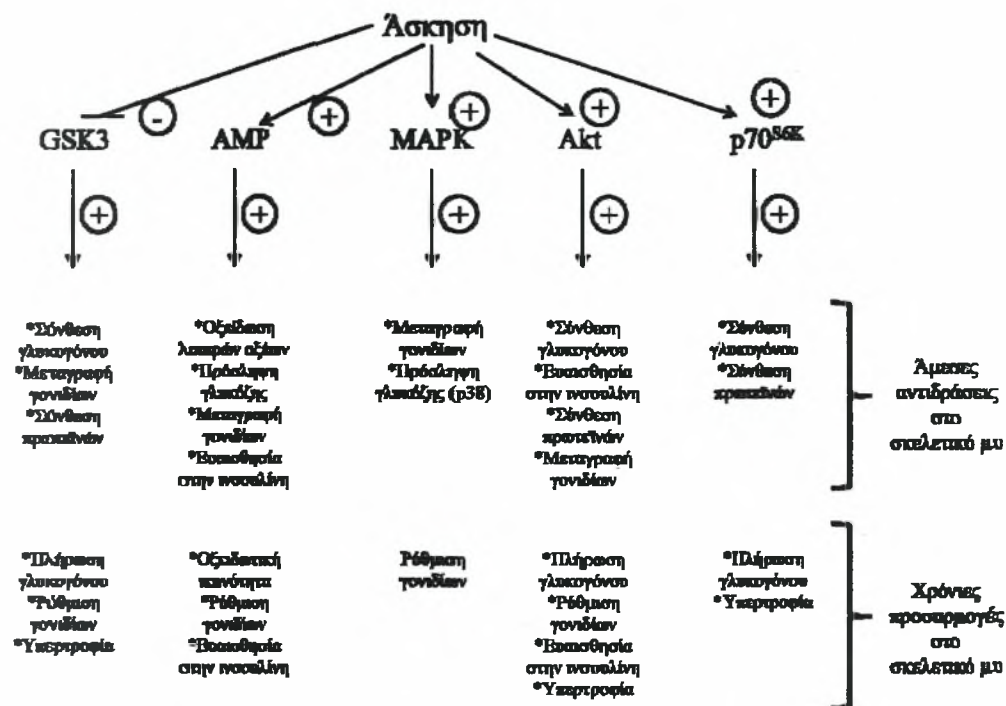
Ο NF-κB και η MAPK αποτελούν ξεχωριστά μονοπάτια στο κύτταρο. Ο NF-κB είναι υπεύθυνος για την αντιμετώπιση τοξικών και στρεσογόνων συνθηκών και την παραγωγή κυτοκινών που οδηγούν στη φλεγμονή, την απόπτωση και την προσαρμογή. Όσο αφορά το μονοπάτι της MAPK οδηγεί στην αύξηση, την ανάπτυξη, τη μεταγραφή και τον ανασχηματισμό του κυττάρου. Ωστόσο υπάρχουν και ανεπιθύμητες παρεμβολές μεταξύ των μονοπατιών αυτών. Έτσι το μονοπάτι της MAPK συμμετέχει στη ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων που ελέγχονται βασικά από το μονοπάτι του NF-κB. Για παράδειγμα η ERK και η p38 παίζουν σημαντικό ρόλο στην προσωρινή ρύθμιση της ενεργοποίησης του NF-κB από την IL-1β και το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Jiang et al., 2004; Kefaloyiannis, Gaitanaki & Beis, 2006). Αυτά τα αποτελέσματα ωστόσο προέρχονται κυρίως από λείους μύες και καλλιέργειες μυών και απομένει να επαληθευτούν σε σκελετικούς μύες θηλαστικών.

Η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη-1 (AP-1) αποτελεί ένα σημαντικό μεταγραφικό παράγοντα που ρυθμίζει την έκφραση αρκετών γονιδίων μεταβάλλοντας την οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου (Allen & Tresini, 2000). Ο παράγοντας αυτός λειτουργεί ταυτόχρονα και ως ενεργοποιητής (c-Fos, c-Jun) και ως αναστολέας (Fos-σχετικά αντιγόνα, Fra-1, Fra-2) (Catani et al., 2004). Ανάλογα με την οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου οι Fos και Jun μπορούν να αλληλεπιδράσουν με άλλους μεταγραφικούς παράγοντες (ATF, C/EBP, Maf) οδηγώντας στην ενεργοποίηση ή την αναστολή της μεταγραφής αντιοξειδωτικών γονιδίων και ανοσοενεργών πρωτεϊνών (Bergelson, Pinkus & Danie, 1994; Sekhar et al., 1997). Είναι γνωστό εδώ και καιρό ότι οι κυτοκίνες TNF- $\alpha$  και IL-1 μπορούν να προκαλέσουν την έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα c-Fos. Πρόσφατες έρευνες προτείνουν ότι η λειτουργία της AP-1 σχετίζεται άμεσα με τα μονοπάτια των NF- $\kappa$ B και της MAPK (Catani et al., 2004). Επιπλέον η ενεργοποίηση παραγόντων (c-Fos, Fra-1) διεγείρει την έκφραση της IL-8, αν και ο αποκλεισμός της MEK1 από τον παράγοντα PD98059 εμποδίζει την έκφραση σχεδόν όλων των υπομονάδων της AP-1, δείχνοντας ότι απαιτείται η ενεργοποίηση της ERK (Hoffmann et al., 2005). Επιπλέον η IL-8 μπορεί να δεσμευτεί με τον παράγοντα p65NF- $\kappa$ B. Το γεγονός αυτό έχει συνεργιστικό ρόλο με τη δράση του c-Fos.

Η Akt/Protein Kinase B είναι μια κινάση της σερίνης/θρυονίνης και ενεργοποιείται από ένα σύνολο αυξητικών παραγόντων και μηχανισμών που είτε εξαρτώνται είτε δεν εξαρτώνται από την κινάση PI3 (Sable CL, Filippa N, Hemmings B, and Van Obberghen, 1997; Sakane et al., 1997; Vanhaesebroeck & Alessi, 2000). Η λειτουργία της Akt στο σκελετικό μυ σχετίζεται με τη ρύθμιση αρκετών κυτταρικών επιδράσεων της ινσουλίνης καθώς η υπερβολική έκφραση ενεργών μορφών της Akt μιμείται τις δράσεις της ινσουλίνης (Hajdich, Alessi, Hemmings & Hundal, 1998; Tobe et al., 1998). Επιπλέον έχει φανεί ότι η Akt διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην υπερτροφία και στην πρόληψη της μυϊκής ατροφίας *in vivo* (Bodine et al., 2001). Όσο αφορά την ενεργοποίηση της Akt από την άσκηση υπάρχουν αντικρουόμενες απόψεις (Brozinick JT Jr and Birnbaum, 1998; Lund et al., 1998; Thorell et al., 1999). Αυτή η ασυμφωνία ευρημάτων δείχνει ότι η μυϊκή σύσπαση μπορεί να ρυθμίζει την Akt με τρόπο που εξαρτάται από την ένταση και τη διάρκεια της άσκησης. Μυϊκές συσπάσεις σε πειράματα *in situ* έδειξαν ότι αυξάνεται η φωσφορυλίωση της Akt (Goodyear, Giorgino, Balon, Condorelli & Smith, 1995; Wojtaszewski et al., 1999). Η φυσιολογική λειτουργία του μονοπατιού της Akt στην άσκηση δεν είναι επαρκώς εξακριβωμένη (σχήμα 7), αλλά έχει φανεί ότι η Akt ρυθμίζει τη



διέγερση της συνθάσης του γλυκογόνου (Sakamoto, Hirshman, Aschenbach & Goodyear, 2002).



Σχήμα 7. Κυτταρικά μονοπάτια στο σκελετικό μυ στα οποία μπορεί να επιδράσει η άσκηση (Από Sakamoto et al., 2002)

### *Το NO και τα ROS ως ρυθμιστές της μυϊκής σύσπασης*

Το μονοξείδιο του αζώτου NO παράγεται στα βιολογικά συστήματα μέσω της ενζυματικής δράσης της συνθάσης του. Οι σκελετικοί μύες ουσιαστικά παράγουν την ισομορφή 1 της συνθάσης αυτής (NOS1) που βρίσκεται στο σαρκείλημα και εκφράζεται κυρίως από τις μυϊκές ίνες ταχείας συστολής (Kobzik, Reid, Bredt & Stamler, 1994).

Το ενδογενές NO ρυθμίζει τη μυϊκή συστολή στους μύες των θηλαστικών. Σε μελέτες που έχουν γίνει στο μυ του διαφράγματος σε πειραματόζωα βρέθηκε ότι η δύναμη σε υπομέγιστες τετανικές συσπάσεις αυξήθηκε με την επίδραση διαφόρων αναστολέων του NO (Kobzik et al., 1994; Reid, 1996). Αντιστρόφως η υπομέγιστη δύναμη μειώθηκε από την επίδραση του NO (Kobzik et al., 1994; Reid, 1996) Από τα παραπάνω φαίνεται ότι το NO περιορίζει τη μυϊκή σύσπαση (Reid, 1998) και ένας τρόπος που το επιτυγχάνει αυτό είναι μέσω του μονοπατιού του NO/cGMP (ειδική φωσφοδιεστεράση, cGMP) (Abraham, Kobzik, Moody, Reid & Stamler, 1998; Kobzik et al., 1994). Επίσης η ισομορφή NOS3 σχετίζεται στενά με τα μιτοχόνδρια των σκελετικών μυών (Kobzik,

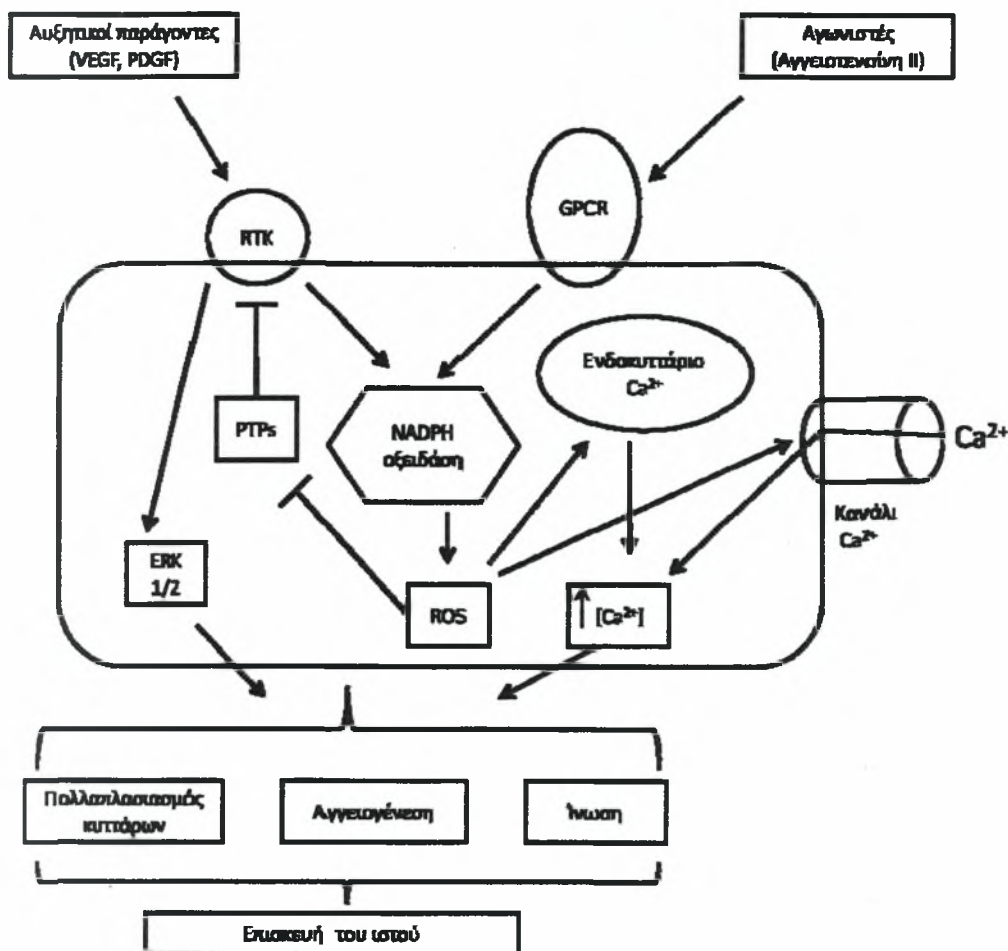
Stringer, Balligand, Reid & Stamler, 1995) και εξασθενεί τη λειτουργία της αναπνευστικής αλυσίδας αναστέλλοντας την οξειδάση του κυτοχρώματος (Cleeter, Cooper, Darley-Usmar, Moncada & Schapira, 1994) ή άλλα μιτοχονδριακά ένζυμα (Andersson, Leighton, Young, Blomstrand & Newsholme, 1998). Ακόμη τα παράγωγα του NO αναστέλλουν την γλυκεραλδεύδη-3-φωσφορική υδρογενάση (Mohr, Stamler & Brune, 1996) και την κρεατινική κινάση (Gross et al., 1996), ρυθμίζουν τη μεταφορά της γλυκόζης (Roberts, Barnard, Scheck & Balon, 1997) και διεγείρουν την οξείδωση της γλυκόζης και άλλων μορίων (Young & Leighton, 1998). Αυτές οι δράσεις μπορούν να περιορίσουν την παραγωγή και τη διαθεσιμότητα του ATP. Έτσι έμμεσα μπορεί να ανασταλεί η μυϊκή σύσπαση όταν οι μύες εκτίθενται στο NO (Gross et al., 1996).

Σε σκελετικούς μύες που βρίσκονται σε ηρεμία τα ROS βρίσκονται σε μικρές συγκεντρώσεις (Andrade, Moody, Stamler & Reid, 1996; Reid et al., 1992) και είναι απαραίτητα για τη φυσιολογική παραγωγή δύναμης. Η επιλεγμένη μείωση των ενδογενών ROS από τα αντιοξειδωτικά ένζυμα προκαλεί μείωση στη δύναμη, γεγονός που αντιστρέφεται με την μείωση των ενζύμων (Regnier, Lorenz & Sieck, 1992; Reid, Khawli & Moody, 1993). Τα εξωγενή ROS έχουν διπλή επίδραση στους ήρεμους μύες. Έκθεση σε χαμηλά επίπεδα ROS αυξάνουν τη δύναμη, ενώ υψηλότερες συγκεντρώσεις μειώνουν τη δύναμη (Andrade, Reid, Allen & Westerblad, 1998; Nashawati, Dimarco & Supinski, 1993; Oba, Koshita & Yamaguchi, 1996). Τα ROS ενδεχομένως ελευθερώνουν τις διόδους ασβεστίου του σαρκοπλασματικού δικτύου (Aghdasi, Zhang, Wu, Reid & Hamilton, 1997; Oba et al., 1996) και αναστέλλουν την ATPάση που εξαρτάται από το ασβέστιο (Grover, Samson & Misquitta, 1997; Xu, Zweier & Becker, 1997) αυξάνοντας με αυτόν τον τρόπο την παραγόμενη δύναμη.

Κατά τη διάρκεια της άσκησης οι σκελετικοί μύες παράγουν ελεύθερες ρίζες (Borzzone, Zhao, Merola, Berliner & Clanton, 1994; Davies, Quintanilha, Brooks & Packer, 1982; Koren, Sauber, Sentjurs & Schara, 1983). Το οξειδωτικό στρες που εμφανίζεται στο μυ (Alessio, 1993) συνεισφέρει στην πρόκληση οξείας κόπωσης (Reid, 1998). Το ενδογενώς παραγόμενο NO δεν φαίνεται να σχετίζεται άμεσα με την εμφάνιση της κόπωσης. Ακόμη η χορήγηση αναστολέων του NO επιταχύνει την εμφάνιση της κόπωσης (Albetrini, Lafortuna & Aguggini, 1997) και παραδόξως μειώνεται η κατανάλωση οξυγόνου από τους μύες (Chang, Ward & Hussain, 1993)! Σε αντίθεση τα ROS φαίνεται να σχετίζονται άμεσα με την εμφάνιση της κόπωσης. Η έντονη άσκηση αυξάνει τα επίπεδα των ROS τόσο στο κυτταρόπλασμα όσο και στον εξωκυττάριο χώρο (Reid et al., 1992;

Reid, Shoji, Moody & Entman, 1992). Το γεγονός αυτό αυξάνει τα επίπεδα των βιοχημικών δεικτών του οξειδωτικού στρες όπως η οξειδωμένη γλουταθειόνη και η Μαλονδιαλδεΐδη (Alessio, 1993; Packer, 1997). Η επίδραση εξωγενών φαρμακευτικών αντιοξειδωτικών έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της κόπωσης (Khawli & Reid, 1994; Reid et al., 1992). Οι παρατηρήσεις αυτές δείχνουν ότι τα ROS αποτελούν ρυθμιστές της κόπωσης (Reid, 1998).

Είναι γνωστό ότι τα ένζυμα Nox αποτελούν μια βασική πηγή ROS στο κύτταρο και την εμφάνιση οξειδωτικού στρες σε αυτό. Πιστεύεται ότι η οξειδάση του NADPH μπορεί να συνεισφέρει στην εμφάνιση αρκετών παθοφυσιολογικών καταστάσεων (Griendling, Sorescu & Ushio-Fukai, 2000; Lassègue & Clempus, 2003; Lambeth, 2007). Μετά την ανάπτυξη της φλεγμονής η ενεργοποίηση παραγόντων που ανήκουν στην οικογένεια της οξειδάσης της NADPH (Nox, Duox) σε κύτταρα όπως οι μυοβλάστες, τα κερατινοκύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα διασφαλίζουν μια παρατεταμένη παροχή χαμηλών ποσοτήτων ROS (Sen, 2003). Το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> παράγεται στο σημείο τραυματισμού και πιθανόν λειτουργεί ως οξειδοαναγωγικό σηματοδοτικό μονοπάτι που προάγει την επούλωση και την αποφυγή της μόλυνσης (Sen et al., 2002). Είναι γνωστό ότι η ενδοαγγειακή οξειδάση του NADPH αυξάνεται από κυτοκίνες (TNF- $\alpha$ , IL-1) και από προφλεγμονώδεις παράγοντες όπως η αγγειοτενσίνη II και ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (Griendling et al., 2000; Wu, Schuster, Tyml, & Wilson, 2007). Επιπλέον οι παραπάνω παράγοντες αυξάνουν την έκφραση της οξειδάσης του NADPH στα κύτταρα (Manea, Manea, Gafencu, Raicu & Simionescu, 2008; Moe et al., 2006). Ακόμη από μελέτη έχει δειχθεί ότι η τοπική περιστασιακή παρουσία του αναστολέα gp91ds-tat της οξειδάσης του NADPH εμποδίζει την εσωτερική αύξηση των αγγείων μετά από ανάλογο τραυματισμό (Jacobson et al., 2003) (σχήμα 8). Είναι φανερό ότι τα ένζυμα της ομάδας των Nox είναι σημαντικά για τη διαδικασία επούλωσης στα αιμοφόρα αγγεία κατά τον ανασχηματισμό τους (Chan, Jiang, Peshavariya & Dusting, 2009).



**Σχήμα 8.** Η οξειδάση της NADPH ρυθμίζει ενδοκυτταρικά μονοπάτια. Η δέσμευση των αυξητικών παραγόντων VEGF και PDGF με τους υποδοχείς τους τις κινάσες της τυροσίνης ή η δράση της αγγειοστενίνης, ενεργοποιεί την οξειδάση της NADPH. Τα ROS οξειδώνουν τα υπολείμματα κυστεΐνης από τις φωσφατάσες των πρωτεϊνών (PPT), αδρανοποιώντας τα ένζυμα και οδηγώντας στην ενίσχυση της ενεργοποίησης κινασών όπως η ERK1/2. Τα ROS μπορούν να αυξήσουν το ενδοκυττάριο Ca ενισχύοντας την είσοδο των ιόντων Ca<sup>2+</sup> δια μέσου της κυτταρικής μεμβράνης ή προάγοντας την απελευθέρωση των ιόντων Ca από τις ενδοκυττάρειες αποθήκες. Αυτοί οι μηχανισμοί εμπλέκονται στην προώθηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της ίνωσης και της αγγειογένεσης, βασικές διαδικασίες της επισκευής του ιστού. (Από Chan et al., 2009).

Πολλοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι τα ουδετερόφιλα και ο δευτερογενής τραυματισμός που προκαλούν μέσω της παραγωγής ROS παίζουν σημαντικό ρόλο στις μετέπειτα φάσεις της επιδιόρθωσης και αναδιαμόρφωσης του μυϊκού ιστού μέσω της πρωτεόλυσης που επιφέρουν στον τραυματισμένο ιστό και της τελικής του φαγοκύτωσης. Η άποψη αυτή ενισχύθηκε από την παρατήρηση ότι ο μικρότερος ρυθμός

φαγοκυττάρωσης από τα ουδετερόφιλα του τραυματισμένου μυ συνδέεται με την πιο περιορισμένη ικανότητα επιδιόρθωσης και αναγέννησής του αργότερα (Ground, 1987). Όταν αδρανοποιήθηκαν τα ουδετερόφιλα και ο μηχανισμός του δευτερογενούς τραυματισμού που προκάλεσαν μετά από μυϊκό τραυματισμό, παρατηρήθηκε μικρότερος ρυθμός επιδιόρθωσης και αύξησης του μυϊκού ιστού (Teixeira CFP, Zamuner SR, Zuliani et al., 2003). Κάποιοι άλλοι υποστηρίζουν επίσης ότι ο δευτερογενής τραυματισμός της κυτταρικής μεμβράνης από τα ουδετερόφιλα είναι αναγκαίος για την μετέπειτα επιδιόρθωση και αύξηση της μυϊκής ίνας (Judge & Dodd, 2004).

Όπως περιγράφηκε πριν, οι κυτοκίνες παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο τόσο στην εξέλιξη της οξείας φλεγμονής όσο και στη διακοπή της. Έχει αποδειχθεί ότι οι ROS που παράγονται κατά τον ασκησιογενή τραυματισμό μεταβάλλουν το οξειδοαναγωγικό δυναμικό του κυττάρου ενεργοποιώντας σηματοδοτικά μονοπάτια (π.χ. του NF-κΒ) τα οποία ελέγχουν την σύνθεση των κυτοκινών (Peake, Suzuki & Coombes, 2007). Αυτό το εύρημα επιβεβαιώθηκε από τη μείωση της σύνθεσης προ- και αντι-φλεγμονοδών κυτοκινών και αναστολή της λειτουργίας αυτών των σηματοδοτικών μονοπατιών μετά από δράση αντιοξειδωτικών ενζύμων και χορήγηση αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων (Peake et al., 2007). Αντίστροφα, ορισμένες κυτοκίνες μπορούν να προκαλέσουν αύξηση των ROS και ενεργοποίηση του μηχανισμού του NF-κΒ (Peake et al., 2007). Είναι δε χαρακτηριστικές, οι *in vitro* παρατηρήσεις ότι ορισμένες αντιοξειδωτικές βιταμίνες όπως η α-τοκοφερόλη και το ασκοβικό οξύ μπορούν σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις να δράσουν και ως προ-οξειδωτικά πιθανά εξαιτίας της παραπάνω επίδρασής τους στη σύνθεση των κυτοκινών (Peake et al., 2007). Ωστόσο, θα πρέπει να πούμε εδώ ότι οι περισσότερες μελέτες χορήγησαν αντιοξειδωτικά κατά τη διάρκεια της άσκησης ενώ μέτρησαν τους δείκτες φλεγμονής και τις κυτοκίνες μέχρι και 24 ώρες μετά από αυτήν. Ωστόσο, η επίδραση των αντιοξειδωτικών σκευασμάτων μπορεί να επέδρασε πιο καθυστερημένα, δηλαδή αρκετές ημέρες μετά την άσκηση. Επίσης, είναι αμφίβολο αν κάποια από αυτά τα εξωγενή συμπληρώματα μπορούν να μεταβάλλουν την οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου όπως για παράδειγμα κάνει η NAC (Peake et al., 2007). Άρα, τα ROS και η οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου εμπλέκονται και στη σύνθεση κυτοκινών κατά την φλεγμονή. Ωστόσο, η σύντομη χορήγηση των αντιοξειδωτικών και η σύντομη δειγματοληψία σε αυτές τις μελέτες δεν μας επιτρέπει να γνωρίζουμε πως η αναστολή του οξειδωτικού στρες μπορεί να επηρεάσει τη λειτουργία των μακροφάγων, πολλές



υποκατηγορίες των οποίων δραστηριοποιούνται στη φάση επούλωσης και ανασύνθεσης του μυϊκού ιστού αρκετές ημέρες μετά τον ασκησιογενή τραυματισμό.

Πιο συγκεκριμένα οι φλεγμονώδεις κυτοκίνες και τα μόρια συγκόλλησης αποτελούν σημαντικούς γονιδιακούς στόχους για τα μονοπάτια του NF-κB και της MAPK. Κατά τη διάρκεια έντονης άσκησης και ιδιαίτερα όταν αυτή περιλαμβάνει έκκεντρες συσπάσεις έχει παρατηρηθεί προοδευτική αύξηση στα επίπεδα κυτοκινών στο αίμα και στα μυϊκά κύτταρα (Pyne, 1994). Και τα δυο προαναφερθέντα μονοπάτια σχετίζονται με την προαγωγή της φλεγμονής στο μυ λόγω του ότι αυξάνεται η παραγωγή των ROS από τα ουδετερόφιλα και τα μακροφάγα (Bejma & Ji, 1999). Οι κυτοκίνες με τη σειρά τους προκαλούν την έκφραση των μορίων συγκόλλησης (VCAM-1, CINC-1, MCP-1) διευκολύνοντας τη διαπήδηση των λευκοκυττάρων τα οποία ενισχύουν την οξειδωτική βλάβη από τα ROS (Aoi et al., 2004). Όπως έχει προαναφερθεί μετά την πρόκληση του μυϊκού τραυματισμού απελευθερώνονται φλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως οTNFα, η IL-1 και η IL-6 από τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και/ή από τον κατεστραμμένο μυϊκό ιστό. Κατά τη διάρκεια της πρώτης φάσης της μυϊκής βλάβης οι παραπάνω κυτοκίνες προάγουν την έκφραση γονιδίων μορίων συγκόλλησης όπως του VCAM-1, του CINC-1, του MCP-1 και του NOS. Επιπροσθέτως ορισμένες κυτοκίνες μπορούν να προσκολληθούν σε υποδοχείς των μεμβρανών και να ενεργοποιήσουν την παραγωγή ορισμένων ενζύμων μέσω των ROS όπως το COX-2, την οξειδάση του NADPH και την οξειδάση της ξανθίνης.

Σε καλλιέργεια μυϊκών κυττάρων φάνηκε ότι η παραγωγή της IL-6 ρυθμίζεται από δυο μονοπάτια της MAPK (p38 αναστολέα SB-208350, ERK αναστολέα PD-98059) που περιορίζουν την παραγωγή της (Luo, Hershko, Robb, Wray & Hasselgren, 2003). Η ERK έχει βρεθεί ότι ρυθμίζει την έκφραση γονιδίων όπως αυτό της συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου (iNOS) και του COX-2 όχι όμως και αυτά του VCAM-1 ή του MnSOD (Jiang et al., 2004). Ακόμη έχει δειχθεί ότι στα μυοσωληνάρια (Aoi et al., 2004) το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> διεγείρει τον παράγοντα p65 και την έκφραση του CINC-1 και του MCP-1. Τα παραπάνω ευρήματα αποτελούν ορισμένα στοιχεία για την επιβεβαίωση της οξειδοαναγωγικής ρύθμισης της φλεγμονής.

Όπως προαναφέρθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο τα μόρια συγκόλλησης διαδραματίζουν έναν πολύ σημαντικό ρόλο στη διαπήδηση των λευκοκυττάρων από την κυκλοφορία του αίματος στο σημείο τραυματισμού. Ένας μηχανισμός μέσω του οποίου τα ROS επιδρούν στα μόρια συγκόλλησης είναι μέσω της παρακίνησης αρκετών

αντιδράσεων φωσφορυλίωσης της πρωτεΐνης τυροσίνης (Poulsen, Loft & Vistisen, 1996). Η pp125<sup>FAK</sup> (τοπική κινάση συγκόλλησης) είναι μια κινάση ευαίσθητη στις ρίζες (Laaksonen DE, Atalay M, Niskanen L, et al. 1996; Poulsen, et al., 1996). Πρόσθετα η φωσφορυλίωση της κινάσης αυτής στο κυτοσόλιο εμπλέκεται στην οξειδωτική ρύθμιση της διαδικασίας προσκόλλησης (Roys, Sen, Gozin, Andrieu & Pasquier, 2000). Πιο συγκεκριμένα αποτελεί ένα αρχικό γεγονός που ρυθμίζει την αλληλεπίδραση των ιντεγκρινών με τον κυτταροσκελετό και εξωκυτταρικές δομές (Laaksonen DE, Atalay M, Niskanen L, et al. 1996). Οι άλλες κύριες πρωτεΐνες που ταυτοποιούνται με την αυξημένη φωσφορυλίωση μετά από έκθεσή τους στη ρίζα O<sub>2</sub> είναι η παξιλίνη (πρωτεΐνη σύνδεσης των εστιών προσκόλλησης, PAX) και η p130cas (Poulsen, et al., 1996). Και οι δυο αυτές πρωτεΐνες λειτουργούν τοπικά και ως υπόστρωμα των FAK (Sies, 1997). Αύξηση στη φωσφορυλίωση των FAK, παξιλίνη και p130cas ήταν εμφανής μετά από 1 λεπτό έκθεσής τους στη ρίζα του O<sub>2</sub>, ενώ τα επίπεδα της φωσφορυλίωσης συνέχισαν να αυξάνονται το λιγότερο για ακόμη 15 λεπτά. Η επίδραση της ρίζας δεν επηρέασε τα συνολικά επίπεδα των τριών παραπάνω πρωτεϊνών στο κύτταρο (Poulsen, et al., 1996).

Όσο αφορά τη ρύθμιση σηματοδοτικών μονοπατιών και μηχανισμών από την οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου (Jackson, 2009) έχει προταθεί ένα σημαντικός ρόλος για την αναστρέψιμη οξείδωση των κυστεϊνών στη ρύθμιση της οξειδοαναγωγικής κατάστασης και μέσω αυτής στη ρύθμιση μεταβολικών, σηματοδοτικών και γονιδιακών μηχανισμών (Jackson, 2009). Φαίνεται λοιπόν ότι η οξειδοαναγωγική ρύθμιση των σηματοδοτικών μονοπατιών των κυττάρων αποτελεί τον βασικό μηχανισμό προσαρμογής των κυττάρων στους οξειδωτικούς παράγοντες όπως οι ROS. Η έκφραση των αντιοξειδωτικών ενζύμων και των ενζύμων που ελέγχουν την οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου όπως το σύστημα της γλουταθειόνης, στον σωστό βαθμό και στο σωστό τμήμα του κυττάρου, είναι το κλειδί για τη διατήρηση της ομοιόστασης της αναλογίας οξειδωτικών-αντιοξειδωτικών. Μερικά αντιοξειδωτικά γονίδια ενεργοποιούνται άμεσα για να αντιμετωπίσουν την οξεία αύξηση ελεύθερων ριζών όπως π.χ. στην ασκησιογενή φλεγμονή ενώ άλλα γονίδια εκφράζονται με πιο αργό ρυθμό στην χρόνια έκθεση του κυττάρου σε συνθήκες αυξημένης παραγωγής ελεύθερων ριζών (π.χ. στη γήρανση, ασθένειες, χρόνια άσκηση). Για παράδειγμα, η καταλάση και η GPX διατηρούν υπό έλεγχο τη συγκέντρωση του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Η μεταβολή της συγκέντρωσης των γλουταθειονών και γενικότερα των πρωτεϊνικών δισουλφιδίων μπορεί να επηρεάσει σε σημαντικό βαθμό την ενζυμική δραστηριότητα, τους μεταγραφικούς παράγοντες και τους μεταφορείς δίνοντας

έτσι τη δυνατότητα στα κύτταρα να αντιμετωπίσουν τις μεταβολές των θειολών όπως της αναλογίας ανηγμένης/οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSH/GSSG) ή της αναλογίας ανηγμένης/οξειδωμένης θειορεδοξίνης (TRx-(SH)<sub>2</sub>/TRx-SS) (Jackson, 2009). Για παράδειγμα, η μεταβολή της οξειδοαναγωγικής κατάστασης είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB τόσο στο κυτοσόλιο όσο και στον πυρήνα του κυττάρου, ενώ η σύνδεση του NF-κB στο DNA απαιτεί ένα πιο ανηγμένο περιβάλλον (Jackson, 2009).

Η GSH διαδραματίζει έναν πολύ σημαντικό ρόλο στην αντιοξειδωτική άμυνα του μυ κατά την άσκηση καθώς αποτελεί το υπόστρωμα δράσης της GPX για την ρύθμιση των κατάλληλων οξειδοαναγωγικών συνθηκών και την ουδετεροποίηση ριζών όπως το OH και το O<sub>2</sub>. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι το περιοριστικό ένζυμο για τη σύνθεση της GSH είναι η συνθετάση της γ-γλουταμυλκυστεΐνης (GCS) και μπορεί να αυξηθεί μέσω της αερόβιας προπόνησης στους σκελετικούς μύες και στο ήπαρ αρουραίων (Ramires & Ji, 2001; Sen, 1995). Για την γονιδιακή έκφραση της GCS δεν είναι γνωστά πολλά στοιχεία. Στα θηλαστικά η GCS αποτελείται από την υπομονάδα της βαριάς αλυσίδας (GCS-HS) και από την υπομονάδα της ελαφριάς αλυσίδας (GCS-LC) (Rahman & MacNee, 2000). Η έκφραση της GCS-HS ρυθμίζεται από μηχανισμό που είναι ευαίσθητος στην οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου, σε αντιοξειδωτικά και σε προφλεγμονώδεις κυτοκίνες. Η GCS-HS συνδέεται με τον NF-κB γεγονός που είναι ουσιώδες για την έκφραση της GCS σε αρκετά είδη κυττάρων (Chan & Kwong, 2000). Εάν αυτά τα σηματοδοτικά μονοπάτια είναι ταυτόχρονα και λειτουργικά στα μυϊκά κύτταρα μπορεί να είναι βασικοί μηχανισμοί της ρύθμισης της βιοσύνθεσης μέσω της προπόνησης.

Η ομοιότητα των δυο μορφών της γλουταθειόνης (GSH/GSSG) είναι σημαντικός παράγοντας στη μυϊκή φλεγμονή και ο κύριος ενδοκυτταρικός ρυθμιστής των επιπέδων της GSH και της δραστηριότητας της GCS. Στη διάρκεια της αναπνευστικής αλυσίδας η GSH καταναλώνεται λόγω της αυξημένης παραγωγής των ROS από την οξειδάση του NADPH στα ουδετερόφιλα. Υψηλά επίπεδα της GSH προφυλάσσουν από την πρόκληση της φλεγμονής μερικώς αναστέλλοντας την έκφραση του παράγοντα ICAM-1 (Kevil et al., 2004). Τα οξειδωτικά μπορούν μόνο να μειώσουν τα επίπεδα της GSH στο ενδοθήλιο, καθώς σε μέτρηση της συγκέντρωσης της GSH μετά την επίδραση του οξειδωτικού στρες, στις 6-12 ώρες, βρέθηκε να διπλασιάζεται σε συνδυασμό με διπλασιασμό της δραστηριότητας της GCS. Επιπλέον αυξήθηκε από 1.3 έως 1.6 φορές η έκφραση της GCSmRNA (Ray, Watkins, Misso & Thompson, 2002). Καθώς η ιδανική αναλογία

GSH/GSSG είναι βασική για τα οξειδοαναγωγικά μονοπάτια, αρκετές μελέτες προτείνουν ότι τα κύτταρα έχουν αναπτύξει χρονοεξαρτώμενες μεταβολές στην έκφραση της GCS μέχρι η ενδοκυτταρική GSH να φτάσει τα επιθυμητά επίπεδα ανάλογα με το στάδιο της φλεγμονής.

Όσο αφορά την ενδοκυτταρική οξειδοαναγωγική κατάσταση και τη ρύθμιση του NF-κΒ έχει δειχθεί ότι τα χαμηλά επίπεδα της GSSG στο κυτοσόλιο έχουν ως αποτέλεσμα τα T-κύτταρα να αποτυγχάνουν να ενεργοποιήσουν τον NF-κΒ, ενώ αντίθετα υψηλά επίπεδα της GSSG αναστέλλουν την σύνδεση του ενεργοποιημένου NF-κΒ στο ανάλογο τμήμα του DNA. Για αυτό το λόγο φαίνεται ότι μια ενδιάμεση συγκέντρωση της ενδοκυτταρικής GSSG είναι απαραίτητη για την αποτελεσματική ενεργοποίηση του NF-κΒ. Οι Droge και συν. (1994) έδειξαν ότι η έλλειψη της GSH στα T-κύτταρα σχετίζεται με την καταστολή της λειτουργίας του NF-κΒ. Αυτή η επίδραση πιστεύεται ότι συνδέεται με τα πολύ χαμηλά επίπεδα της GSSG, που θεωρούνταν απαραίτητα για την ενεργοποίηση του NF-κΒ σε κύτταρα με έλλειψη στη GSH (Droge et al., 1994).

Ο ιστικός νεκρωτικός παράγοντας-α (TNF-α) μια κυτοκίνη που όπως έχει προαναφερθεί παράγεται από τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα (Akira, Hirano, Taga, Kishimoto, 1990) είναι ένας άμεσος και ισχυρός ενεργοποιητής του NF-κΒ. Ο παράγοντας αυτός πιστεύεται ότι εμπλέκεται στην απώλεια μυϊκής μάζας (καχεξία) (Spiegelman & Hotamisligil, 1993; Strassmann, Fong, Kenney & Jacob, 1992). Η απώλεια μυϊκής μάζας και η πρόκληση καχεξίας είναι ένα συχνό φαινόμενο που παρατηρείται σε πληθυσμούς με χρόνιες ασθένειες όπως το AIDS, ο καρκίνος κ.ά. (Tracey & Cerami, 1993). Η μυϊκή απώλεια θεωρείται μια από τις βασικότερες αιτίες θανάτου μεταξύ των ασθενών με καρκίνο (Pistere & Pearlstone, 1993). Πρόσφατα έχει δειχθεί ότι η εξαντλητική άσκηση των αθλητών έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων του TNF-α στον ορό (Weinstock et al., 1997) γεγονός που υποδεικνύει ότι ο παράγοντας αυτός μπορεί να εμπλέκεται κατά την εξαντλητική άσκηση στην πρόκληση μυϊκής βλάβης. Σε άλλη μελέτη έχει φανεί ότι ο TNF-α αποτελεί έναν βασικό παρακινητή της ενεργοποίησης του NF-κΒ στους L6 μυοβλάστες. Επίσης η κυτταρική GSH πιθανότατα σχετίζεται με την ενεργοποίηση του NF-κΒ και όχι τα υψηλά επίπεδα της GSSG όπως έχει προαναφερθεί (Droge et al., 1994).

Η σηματοδότηση μονοπατιών από την ινσουλίνη απαιτεί την αυτοφωσφορλίωση υποδοχέων της (Tyr-1158, Tyr-1162 και Tyr-1163) (Dickens & Tavaré, 1992; Hubbard, 1997). Σε υγιή κύτταρα υψηλές συγκεντρώσεις του υπεροξειδίου του υδρογόνου και



προϊόντων των θειολών αυξάνουν τις ινσουλινομιμητικές επιδράσεις μορίων παρόλο που υπάρχει απουσία ινσουλίνης (Hayes & Lockwood, 1987; Tamura et al., 1984). Η ενεργοποίηση του υποδοχέα της ινσουλίνης από υψηλές συγκεντρώσεις του υπεροξειδίου του υδρογόνου μπορεί να ρυθμίζεται από την αναστολή των φωσφατασών της τυροσίνης (Heffetz, Bushkin, Drop & Zick, 1990).

Χαμηλότερες συγκεντρώσεις της ρίζας αυτής δεν είναι επαρκείς για να προκαλέσουν την αυτοφωσφορυλίωση των υποδοχέων της ινσουλίνης, ωστόσο οξειδοαναγωγικά μηνύματα έχουν συνεργιστικό ρόλο στην ενεργοποίηση του υποδοχέα της ινσουλίνης. Επειδή η παραγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου μπορεί να προκληθεί από την ινσουλίνη (Krieger-Brauer, Medda & Kather, 1997; Mukherjee, Attaway & Mukherjee, 1982) η επίδραση της οξειδοαναγωγικής κατάστασης εμφανίζεται να αποτελεί μέρος μιας θετικής ρύθμισής της. Η διέγερση της παραγωγής των ROS μέσω των υποδοχέων της ινσουλίνης και της ευαισθησίας τους στην οξειδοαναγωγική κατάσταση δείχνουν σε κάποιον βαθμό τη συνεργασία μεταξύ των υποδοχέων της ινσουλίνης και άλλων υποδοχέων στην κυτταρική μεμβράνη.

### ***Κινάσες***

Σε συμφωνία με την ισχυρή αναστολή της φωσφατάσης της τυροσίνης από το υπεροξείδιο του υδρογόνου σε υψηλές συγκεντρώσεις αρκετοί ερευνητές αναφέρουν μαζική αύξηση της φωσφορυλίωσης της τυροσίνης αρκετών κυτταρικών πρωτεϊνών σε συνθήκες ιδιαίτερα οξειδωτικές (Schieven, Kirihara, Myers, Ledbetter & Uckun, 1993; Schieven et al., 1994). Αυτές οι συνθήκες ενισχύουν τη δραστικότητα των κινάσων (Lck, Fyn, Syk) (Hayashi, Ueno & Okamoto, 1993; Schoonbroodt, Legrand-poels, Best-Belpromme & Piette, 1997), αν και η φυσιολογική συνάφεια αυτών των ισχυρά οξειδωτικών συνθηκών είναι ασαφείς. Η έκθεση των T κυττάρων σε 0.15 ή 0.5 mM υπεροξειδίου του υδρογόνου αποφέρει μια φωσφορυλιωμένη πρωτεΐνη, την Src. Αυτή η φωσφορυλίωση συνδέεται με την αύξηση της δραστικότητας της κινάσης p56lck (Nakamura et al., 1993). Ανάλογο με αυτό το εύρημα είναι το ότι το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> διεγείρει ένα σημαντικό ρυθμιστή (JAK2) της ενεργοποίησης του μονοπατιού Ras/Raf/ERK. Η παρατήρηση αυτή έγινε σε μυοβλάστες ποντικών με έλλειψη στον παράγοντα p60src αλλά όχι στον παράγοντα p59fyn. Μελέτες σε ανθρώπινα T-κύτταρα έδειξαν ότι είδη της MAPK ενεργοποιήθηκαν από ήπια ενδοκυτταρική οξείδωση των θειολών (Hehner et al., 2000). Η δραστικότητα της κινάσης p59fyn ενεργοποιείται από χαμηλές συγκεντρώσεις



δισουλφιδίων της γλουταθειόνης και οι κινάσες της οικογένειας Src (p59fyn, p56lck) ενεργοποιούνται έντονα από την ενδοκυτταρική οξειδοαναγωγική κατάσταση (Hehner et al., 2000)

Όπως και στην περίπτωση αρκετών άλλων σηματοδοτικών μονοπατιών η δραστικότητα της κινάσης των υποδοχέων της ινσουλίνης ενισχύεται όχι μόνο από την έκθεση στα ROS αλλά και από την αλλαγή στην ενδοκυτταρική οξειδοαναγωγική κατάσταση (Schmid, Benna, Galter, Klein & Dro, 1998). Ωστόσο οι μοριακές λεπτομέρειες της ενεργοποίησης των κινασών της οικογένειας των Src από ήπιες οξειδωτικές συνθήκες δεν είναι απόλυτα κατανοητές.

Αλλαγές στο κυτταρικό ασβέστιο διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση αρκετών ενδοκυτταρικών μονοπατιών συμπεριλαμβανομένων της PKC-α και των μονοπατιών που εξαρτώνται από την καλμοδουλίνη (Clapham, 1995). Αυτά τα μονοπάτια εμπλέκονται επίσης σε αποπτωτικές διαδικασίες. Τα επίπεδα του ασβεστίου μπορούν να αυξηθούν από τα ROS σε ποικίλα είδη κυττάρων μέσω της κινητοποίησης του ενδοκυτταρικού ασβεστίου από τις "αποθήκες" στις οποίες βρίσκεται η μέσω της εισροής εξωκυττάρου ασβεστίου (Dreherd & Junod, 1996; Hallbrucker, Ritter, Lang, Gerok & Ha, 1993; Okabe et al., 1991). Η αύξηση της συγκέντρωσης του ασβεστίου μέσω της επίδρασης των ROS συμβάλλει στην ενεργοποίηση του PKC-α από το οξειδωτικό στρες (Larsson & Cerutti, 1989) και στην μεταγραφική αύξηση πρωτεϊνών της AP-1 (c-Fos, c-Jun) (Maki, Berezsky, Fagnoli, Holbrook & Trump, 1992; Shibanuma, Kuroki & Nose, 1988). Οι ελεύθερες ρίζες και η οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου (αλλοίωση της αναλογίας GSH/GSSG) φαίνεται ότι ρυθμίζουν και την έναρξη του μηχανισμού της απόπτωσης (μέσω της ενεργοποίησης και απενεργοποίησης των κασπασών, πρωτεϊνών που ρυθμίζουν την απόπτωση) ο οποίος θυμίζουμε ότι είναι σημαντικός για την απομάκρυνση κυτταρικών υπολειμμάτων του μυϊκού ιστού αλλά και την απομάκρυνση των ουδετερόφιλων κατά τον τερματισμό της οξείας φλεγμονής από τα μακροφάγα (Ciricu & Aw, 2010). Κατά τη διαδικασία της απόπτωσης που μπορεί να διεγερθεί από ποικίλα ερεθίσματα (APO-1/Fas/CD95) αυξάνεται η παραγωγή των ROS στο κύτταρο (Hohnson, Yu, Frans, Lowenstein & Finkel, 1996; Korsmeyer, 1995; Zamzami et al., 1995). Ωστόσο ορισμένοι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η διέγερση ορισμένων υποδοχέων (APO-1/Fas/CD95) δεν προκαλεί την παραγωγή των ROS (Hug, Enari & Nagata, 1994) ενώ ορισμένοι άλλοι ερευνητές διαπίστωσαν αλλαγές στις κυτταρικές μεμβράνες, που είναι τυπικές της απόπτωσης, παρόλο που υπήρχε απουσία των ROS (Castedo et al., 1996;

Jacobson, Burne & Raff, 1994). Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι οι προοξειδωτικές συνθήκες δεν αποτελούν γενικά προϋπόθεση για την απόπτωση. Παρόλα αυτά υψηλές συγκεντρώσεις των ROS προκαλούν απόπτωση σε αρκετά είδη κυττάρων (Dumont et al., 1999; Slater, Stefan, Novel, Van Den Dobbelen & Orrenius, 1995). Η έκθεση των T λεμφοκυττάρων σε σχετικά ήπιες συγκεντρώσεις του υπεροξειδίου του υδρογόνου βρέθηκε ότι προκαλεί απόπτωση που εξαρτάται από τα μόρια CD95 και απαιτεί τη μιτοχονδριακή παραγωγή των ROS και την ενεργοποίηση του NF-κB (Dumont et al., 1999). Οι παρατηρήσεις αυτές όμως δεν έχουν εξακριβωθεί για τον τραυματισμένο σκελετικό μυ και δεν μπορούμε να ξέρουμε τις επιπτώσεις του στην επούλωση του μυϊκού ιστού.

Η απόπτωση από το NO σχετίζεται με μείωση της συγκέντρωσης της καρδιολιπίνης, μείωση της δραστηριότητας της αναπνευστικής αλυσίδας στα μιτοχόνδρια και απελευθέρωση του κυτοχρώματος c των μιτοχονδρίων στο κυττόςολιο (Umansky et al., 2000; Ushmorov et al., 1999). Ωστόσο ορισμένα κύτταρα όπως αυτά του ενδοθηλίου είναι εξαιρετικά ανθεκτικά στην πρόκληση της απόπτωσης από το NO (Lopez-Collazo, Mateo, Miras-Portugal & Bosca, 1997), ενώ χαμηλές συγκεντρώσεις της ρίζας προστατεύουν από την απόπτωση κυττάρων αναστέλλοντας ορισμένες κασπάσες (Cohen, 1997; Kim, Talanian & Billiar, 1997). Υψηλά επίπεδα γλουταθειόνης στο κύτταρο συνδέονται με αυξημένη αντίσταση του κυττάρου στην απόπτωση που προκαλείται από το NO (Umansky et al., 2000).

Όσο αφορά τον παράγοντα TNF-α έχει βρεθεί ότι προκαλεί την ενδογενή παραγωγή των ROS από τα μιτοχόνδρια (O'Donnell, Spycher & Azzi, 1995; Schulze-Osthoff et al., 1992). Στα λευκοκύτταρα και στους μυοβλάστες ο TNF-α αυξάνει την απελευθέρωση του υπεροξειδίου μέσω της ενεργοποίησης της οξειδάσης του NADPH. Αυτή η διαδικασία επηρεάζει τον πολλαπλασιασμό ή τον κυτταρικό θάνατο που εξαρτάται από την παραγωγή των ROS στο κύτταρο (Klebanoff, Vadas, Harlan, Sparks, Gamble & Agosti, 1986; Meier et al., 1989).

Όσο αφορά τη σύνδεση των ROS με τον καθυστερημένο μυϊκό πόνο (DOMS) έχει βρεθεί ότι δεν σχετίζονται. Πιο συγκεκριμένα σε μελέτη των Close και συν. (2004) βρέθηκε ότι η αύξηση των ROS μετά από τρέξιμο σε κατωφέρεια παρατηρείται στις 72 ώρες μετά και εμφανίζεται όταν οι μέσες τιμές του DOMS έχουν επιστρέψει στα πριν την άσκηση επίπεδα. Από το γεγονός αυτό γίνεται φανερό ότι η παραγωγή των ROS δεν συνδέεται άμεσα με την εμφάνιση του DOMS. Σε μια άλλη μελέτη (Hellsten, Frandsen,

Orthenblad, Sjodin & Richter, 1997) αναφέρεται ότι η παραγωγή των ROS στις μέρες μετά την έκκεντρη άσκηση είναι αποτέλεσμα της φλεγμονής που αναπτύσσεται στο σημείο τραυματισμού με την εισβολή των λευκοκυττάρων. Η διαδικασία αυτή λαμβάνει χώρα ακόμη και για 4 ημέρες μετά την άσκηση.

Αναμφίβολα η άσκηση αποτελεί το βασικότερο φυσιολογικό ερέθισμα για τη μεταφορά της γλυκόζης στο σκελετικό μυ. Η πρόσληψη της από τους μύες κατά τη διάρκεια της δραστηριότητας μπορεί να αυξηθεί μέχρι και 50 φορές (Katz, Broberg, Sahlin & Wahren, 1986). Από πειράματα σε ποντίκια με χορήγηση N-ακετυλοκυστεΐνης (NAC) προκλήθηκε αναστολή έως και 50% της γλυκόζης που μεταφέρθηκε στους μύες. Η παρατήρηση αυτή βρίσκεται σε συμφωνία με το γεγονός ότι μειώθηκε επίσης κατά 50% περίπου η ενεργοποίηση και φωσφορυλίωση της (ενεργοποιημένης πρωτεϊνικής κινάσης) AMPK. Επιπλέον φάνηκε ότι η NAC δεν επηρέασε σημαντικά τους άλλους ρυθμιστές της μεταφοράς της γλυκόζης (π.χ. υποξία, ινσουλίνη). Από τα ευρήματα αυτά φαίνεται ότι τα ενδογενώς παραγόμενα ROS διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της μεταφοράς της γλυκόζης και αυτό γίνεται μέσω του ελέγχου της AMPK (Katz, 2007). Ένα υποθετικό σχήμα ρύθμισης είναι το παρακάτω. Αρχικά το πρώτο βήμα είναι η απελευθέρωση των ιόντων ασβεστίου  $Ca^{2+}$  από το σαρκοπλασματικό δίκτυο στο κυτταρόπλασμα. Το ασβέστιο αυτό με τη σειρά του πιθανόν παίζει έναν σημαντικό ρόλο στην έναρξη της μεταφοράς της γλυκόζης μέσω αρκετών μηχανισμών. Τα ιόντα αυτά μπορούν να ενεργοποιήσουν την πρωτεϊνική κινάση της καλμοδουλίνης (CaMK) II κατά τη διάρκεια της μυϊκής σύσπασης, παράγοντας που φαίνεται να εμπλέκεται στην ενεργοποίηση της μεταφοράς της γλυκόζης (Rose & Hargreaves, 2003; Rose, Kiens & Richter, 2006). Γενικά έχει αναφερθεί ότι η αύξηση των  $Ca^{2+}$  στο κυτταρόπλασμα μπορεί να ρυθμίσει τη μεταφορά γλυκόζης σε συνθήκες ήπιας άσκησης όπου οι αλλαγές στα φωσφαγόνα υψηλής ενέργειας είναι μικρές. Αντίθετα η AMPK μπορεί να ρυθμίζει τη μεταφορά γλυκόζης κατά τη διάρκεια ασκήσεων με υψηλότερη ένταση και εντονότερες μεταβολές στα φωσφαγόνα (Wright, Hucker, Holloszy & Han, 2004).

### ***Αντιοξειδωτικά και μυϊκός τραυματισμός/φλεγμονή***

Ο μηχανισμός πρόκλησης μυϊκής βλάβης κατά τη διάρκεια ασυνήθιστης άσκησης όπως έχει προαναφερθεί πιστεύεται ότι οφείλεται στις υψηλές δυνάμεις που εφαρμόζονται στα σαρκομέρια. Οι μικροβλάβες που εμφανίζονται έχουν ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση αρκετών μηχανισμών τόσο του μυϊκού όσο και του συνδετικού ιστού. Εκτός

από τις μηχανικές δυνάμεις χημικές αλλαγές που συνδέονται με τη φλεγμονή και το οξειδωτικό στρες μπορούν να επεκτείνουν τη βλάβη (Pizza, Peterson, Baas & Koh, 2005). Αυτές οι διαδικασίες εμφανίζονται να είναι σημαντικές όχι μόνο για την αποδόμηση των στοιχείων που έχουν υποστεί βλάβη αλλά και για την επούλωση του ιστού. Στο συγκεκριμένο κεφάλαιο θα γίνει αναφορά στην προστασία από την πρόκληση μυϊκής βλάβης που προσφέρουν τα εξωτερικά αντιοξειδωτικά καθώς επίσης και τη συνεισφορά τους στην θεραπεία του ιστού. Συνήθως τα αντιοξειδωτικά χορηγούνται για την προστασία από την ανάπτυξη φλεγμονής ή οξειδωτικού στρες ή και των δύο.

Αρκετοί μηχανισμοί κατά την ανάπτυξη της φλεγμονής σχετίζονται με τα RONS (Cannon & Blumberg, 2000), συμπεριλαμβανομένης της διαδικασίας διαπύδησης των λευκοκυττάρων στον κατεστραμμένο μυϊκό ιστό (Klebanoff 1982; Tsivitse et al., 2003). Τα ουδετερόφιλα και τα μονοκύτταρα παράγουν RONS κατά τη διάρκεια της οξειδωτικής τους αλυσίδας (Cannon & Blumberg, 2000). Η οξειδάση της NADPH καταλύει την αντίδραση παραγωγής του υπεροξειδίου του οξυγόνου ( $O_2$ ) γεγονός που μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή άλλων RONS. Τα δραστικά είδη οξυγόνου και αζώτου μπορούν να παραχθούν από αντιδράσεις των προστανοειδών ή των προϊόντων τους (Halliwell & Gutteridge, 1985; McArdle, Edwards & Jackson, 1991) και μπορούν να επηρεάσουν τις πρωτεάσες που ενεργοποιούνται από τα ιόντα ασβεστίου (McArdle, Edwards & Jackson, 1992). Τα προστανοειδή της κυκλοφορίας έχει αναφερθεί ότι αυξάνονται μετά από έκκεντρη άσκηση (Smith et al., 1993). Οι ρίζες έχουν κατηγορηθεί για την απώλεια της ομοιόστασης του ασβεστίου στο μυ (Essig & Nosek, 1997).

Τα φλεγμονώδη κύτταρα που συγκεντρώνονται στον κατεστραμμένο μυ ελευθερώνουν πρωτεολυτικά ένζυμα τα οποία λειτουργούν σε συνδυασμό με τις παραγόμενες κυτοκίνες για τον ανασχηματισμό του ιστού. Τα ουδετερόφιλα μπορούν να επηρεάσουν τη βλάβη στα μυοσωληνάρια (McLoughlin, Mylona, Hornberger, Esser & Pizza, 2003) μέσω της απελευθέρωσης κυτοκινών (π.χ. TNF- $\alpha$ ). Ορισμένες από αυτές τις κυτοκίνες επιβαρύνουν τη διαφοροποίηση των μυοβλαστών, το σχηματισμό μυοσωληναρίων και τη σύνθεση πρωτεϊνών (Cassatella 1999; Langen et al., 2002). Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι κυτοκίνες που απελευθερώνονται από τα φλεγμονώδη κύτταρα (π.χ. IL-6) μπορούν να ενισχύσουν τη μυογένεση (Cassatella 1999) ή να προάγουν τη δραστηριότητα των μακροφάγων κατά τον πολλαπλασιασμό των μυοβλαστών (Cantini et al., 2002). Για το λόγο αυτό αναστολή της διαδικασίας της



φλεγμονής δεν μειώνει μόνο τη δευτερογενή βλάβη, αλλά ανάλογα με τις μεταβολές των κυτοκινών επηρεάζει την επισκευή και ανακατασκευή του μυ.

Από αρκετές μελέτες έχει φανεί ότι η έκκεντρη άσκηση έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση των αιματολογικών και μυϊκών δεικτών του οξειδωτικού στρες (Close, Ashton, Cable, Doran & MacLaren, 2004; Goldfarb, Bloomer & McKenzie, 2005; You et al., 2005). Οι διαφορές στα ευρήματα μπορεί να σχετίζονται με τους δείκτες που εξετάστηκαν, το είδος και τα χαρακτηριστικά της άσκησης ή τα χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων.

Από παρεμβατικές μελέτες με τη χρήση ενός αντιοξειδωτικού πριν από έκκεντρη άσκηση έχουν φανεί μικτά αποτελέσματα (Goldfarb, 1999). Τα αντιοξειδωτικά που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι οι βιταμίνες Α και C, η ουβικινόνη, το άλφα λιποϊκό οξύ και τα ισοφλαβονοειδή. Σε ορισμένες μελέτες χρησιμοποιήθηκαν πειραματόζωα ενώ σε άλλες συμμετείχαν άνθρωποι. Επίσης σε αρκετές μελέτες χρησιμοποιήθηκαν συνδυασμοί αντιοξειδωτικών σε μια προσπάθεια να σιγουρευτούν τα οφέλη από τη μείωση του οξειδωτικού στρες.

Οι βιταμίνες είναι απαραίτητες για τη φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού. Ωστόσο ο οργανισμός δεν έχει τη δυνατότητα να τις συνθέσει μόνος του και για αυτό το λόγο είναι απαραίτητο να τις προσλάβει μέσω της τροφής. Οι βιταμίνες παρέχουν στο κύτταρο αντιοξειδωτική προστασία (βιταμίνες C και A, λιποϊκό οξύ), σταθεροποίηση μεμβρανών (βιταμίνη E), σύνθεση συνδετικού ιστού (βιταμίνη C) και συμβάλλουν στη μεταφορά των ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια (ουβικινόνη).

Η βιταμίνη E είναι μια λιποδιαλυτή βιταμίνη που έχει αντιοξειδωτικό ρόλο αλλά ταυτόχρονα βοηθά και στη σταθεροποίηση των μεμβρανών. Συνήθως βρίσκεται σε χαμηλές συγκεντρώσεις εντός των μεμβρανών όλων των κυττάρων. Η βιταμίνη αυτή μπορεί να οξειδωθεί ή να αναχθεί και να αλληλεπιδράσει με τη βιταμίνη C και τη γλουταθειόνη. Έχει οκτώ ισομορφές με αυτήν που εμφανίζει τη μεγαλύτερη βιολογική δραστηριότητα να είναι η d-α-τοκοφερόλη (α-τοκοφερόλη).

Από τις αρχές της δεκαετίας του 80 η βιταμίνη E χρησιμοποιήθηκε για να βρεθούν οι επιδράσεις της στους ασκούμενους μύες. Έτσι σε μια από τις πρώτες μελέτες οι Jackson και συν. (1983) αναφέρουν ότι η έλλειψη της βιταμίνης E στη διαίτα αρσενικών και θηλυκών ποντικών αυξάνει τη μυϊκή βλάβη μετά από ηλεκτρική διέγερση. Η εξωγενής χορήγηση της βιταμίνης βρέθηκε ότι μπορούσε να μειώσει τη μυϊκή βλάβη και να περιοριστούν οι οξειδωτικές βλάβες στους ιστούς (Aoi et al., 2004; Goldfarb, McIntosh, Boyer & Fatouros, 1994; Resnick, Witt, Matsumoto & Packer, 1992; Sen et al., 1997).



Ωστόσο υπάρχουν μελέτες σε ζώα όπου η λήψη της βιταμίνης E δεν είχε θετικές επιδράσεις όσο αφορά την αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες και την αποκατάσταση των μυών μετά από τραυματισμό (Warren, Jenkins, Packer, Witt & Armstrong, 1992). Ακόμη σε έρευνα με ενδοφλέβια χορήγηση της βιταμίνης αν και αυξήθηκε η συγκέντρωσή της στους μύες έως και 3 φορές, δεν επηρέαστηκε η μυϊκή καταστροφή που προκλήθηκε μετά από έκκεντρες συσπάσεις σε αρουραίους *in situ* (Van der Meulen, McArdel, Jackson & Faulkner, 1997)

Από τις παραπάνω μελέτες σε ζώα φάνηκε ότι η βιταμίνη E μπορεί να περιορίζει το οξειδωτικό στρες σε ορισμένες περιπτώσεις και να σταθεροποιήσει τις κυτταρικές μεμβράνες με αποτέλεσμα τη μικρότερη εκροή μορίων. Η βιταμίνη μπορεί να επιδράσει στο μονοπάτι της φλεγμονής και σε άλλα μονοπάτια ευαίσθητα στην οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου.

Οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε ανθρώπους ποικίλουν σε διάφορους τομείς όπως για παράδειγμα στη διάρκεια χορήγησης της βιταμίνης (από 3 εβδομάδες μέχρι 5 μήνες), στη δόση της (από 200 UI μέχρι 2000 UI την ημέρα), στο είδος της άσκησης και στα χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων. Οι Sumida και συν. (1989) αναφέρουν πως δόση 201 UI βιταμίνης E για 4 εβδομάδες είχε ως αποτέλεσμα μικρότερη υπεροξείδωση των λιπιδίων. Σε άλλη μελέτη δόση 268 UI για 3 εβδομάδες δεν προστάτευσε την πτώση της δύναμης (Jakeman & Maxwell, 1993). Επίσης σε άλλες μελέτες που χρησιμοποίησαν χαμηλές δόσεις της βιταμίνης E δεν αναφέρθηκαν αλλαγές στη μυϊκή λειτουργία.

Οι Cannon και συν. (1990) αναφέρουν μειωμένα επίπεδα CK σε νεαρούς άνδρες μετά από τρέξιμο σε κατωφέρεια και πιο καλή αποκατάσταση σε ηλικιωμένους άνδρες μετά από χορήγηση της βιταμίνης E. Ωστόσο δεν υπήρχαν επιδράσεις της βιταμίνης στα ουδετερόφιλα της κυκλοφορίας, αλλά μείωσε τα επίπεδα της IL-6 για 12 ημέρες μετά την άσκηση (Cannon et al., 1990). Σε άλλη μελέτη με δόση των 800 UI βιταμίνης βρέθηκε ότι περιορίζει την εμφάνιση του οξειδωτικού στρες (Meydani et al., 1993). Παρόμοια αποτελέσματα φάνηκαν και από μια πρόσφατη μελέτη (Sacheck, Milbury, cannon, Roubenoff & Blumberg, 2003).

Σε αντίθεση με αυτές τις έρευνες έχει αναφερθεί ότι η άσκηση με βάρη για όλο το σώμα είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των DOMS, της CK και των δεικτών του οξειδωτικού στρες στο αίμα χωρίς η βιταμίνη E να επιδρά σε αυτές τις αλλαγές (Avery et al., 2003; Boyer et al., 1996). Η χορήγηση της βιταμίνης E φαίνεται να συνοδεύεται από

υψηλότερες συγκεντρώσεις CK σε σύγκριση με τη συνθήκη ελέγχου μετά από ένα σετ άσκησης αλλά δεν υπήρχαν διαφορές μετά από πολλαπλά σετ (Avery et al., 2003). Επίσης οι Beaton και συν. (2002) αναφέρουν ότι η λήψη βιταμίνης E δεν προστάτευσε τους συμμετέχοντες από τη μείωση παραγόμενης δύναμης, τη διαπήδηση των μακροφάγων, τη μυϊκή βλάβη μετά από 240 έκκεντρες συσπάσεις σε ισοκινητικό μηχάνημα.

Συμπερασματικά η βιταμίνη E εμφανίζει αμφιλεγόμενα αποτελέσματα στις ανθρώπινες μελέτες γεγονός που μπορεί να σχετίζεται με την έκταση της μυϊκής βλάβης μετά την άσκηση. Αναφέρεται ότι η βιταμίνη μπορεί να μειώσει τη διαρροή μορίων από τις μεμβράνες (π.χ. CK). Επίσης η βιταμίνη έχει μικρή ή ανύπαρκτη επίδραση στο μυϊκό πόνο και στην αποκατάσταση από αυτόν. Ακόμη πολύ περιορισμένα είναι τα στοιχεία για την επίδραση της βιταμίνης στην ανάπτυξη της φλεγμονής μετά τη μυϊκή βλάβη και την επούλωση του ιστού.

Η βιταμίνη C είναι ένα σημαντικό αντιοξειδωτικό και έχει σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό συνδετικού ιστού και στη λειτουργία του ανοσοποιητικού. Η βιταμίνη C έχει ανηγμένη μορφή και μπορεί να οξειδωθεί βοηθώντας στην αναγέννηση της βιταμίνης E (Niki, Saito, Kawakami & Kamiya, 1984) ή της γλουταθειόνης. Η βιταμίνη C μεταφέρεται δια μέσου των μεμβρανών και αποθηκεύεται σε όλους τους ιστούς. Η συγκέντρωσή της στους ιστούς είναι από 3 έως 10 φορές υψηλότερη σε σύγκριση με αυτή του πλάσματος. Έχει αναφερθεί ότι η χορήγηση βιταμίνης C για 7 με 10 μήνες δεν επηρέασε τα επίπεδά της στο πλάσμα σε αθλητές (Telford, catchpole, Deakin, McLeay & Plank, 1992). Αντιθέτως χορήγηση βιταμίνης C (1000 mg) σε συνδυασμό με βιταμίνη E (400 UI) αύξησε τα επίπεδα της βιταμίνης C σε νεαρούς ενήλικες (Bloomer, Goldfarb & McKenzie, 2006).

Οι Frei και συν. (1989) έδειξαν ότι η βιταμίνη αυτή αποτελεί βασικό αντιοξειδωτικό σε πειράματα *in vitro* και ειδικά στο πλάσμα του αίματος. Ωστόσο περιορισμένος αριθμός ερευνών έχει μελετήσει την επίδραση της βιταμίνης C στη μυϊκή καταστροφή σε συνδυασμό με το οξειδωτικό στρες. Σε ορισμένες μελέτες έχει φανεί ότι η λήψη της βιταμίνης C μείωνε τις αρνητικές επιδράσεις του οξειδωτικού στρες μετά από άσκηση (Alessio, Goldfarb & Cao, 1997; Goldfarb, Patrick, Bryer & You, 2005; Thompson et al., 2001a; Vasankari, Kujala, Sarna & Ahotupa, 1998) και ενίσχυε την αποκατάσταση της μυϊκής λειτουργίας μετά από έντονη δραστηριότητα (Jakeman & Maxwell, 1993).

Παρόλα αυτά υπάρχουν και μελέτες που δεν βρήκαν σημαντικές επιδράσεις της βιταμίνης C. Οι Thompson και συν. (2003) εξέτασαν την πιθανή επίδραση του χρόνου λήψης της βιταμίνης C στη μυϊκή βλάβη. Όταν δόθηκαν 200 mg της βιταμίνης αμέσως μετά από διαλειμματικό τρέξιμο δεν είχαν θετικές επιδράσεις ούτε στη CK του ορού, ούτε στο μυϊκό πόνο ούτε στην αποκατάσταση της μυϊκής λειτουργίας. Επιπλέον οι συγκεντρώσεις της IL-6 και της MDA δεν διέφεραν μετά την άσκηση μεταξύ των δυο γκρουπ. Παρόμοια ευρήματα εμφάνισαν και οι ερευνητές με διπλάσια δόση της βιταμίνης στα 400 mg/ημέρα (Thompson et al., 2004).

Σε μια άλλη μελέτη δόθηκε υψηλή δόση βιταμίνης C (3 g/ημέρα) για 3 ημέρες πριν την άσκηση και 4 μετά από αυτή. Οι συμμετέχοντες που λάμβαναν τη βιταμίνη C ανέφεραν σημαντικά λιγότερα DOMS. Σε παρόμοια μελέτη (Byer & Goldfarb, 2006) βρέθηκε ότι στη συνθήκη όπου χορηγήθηκε η βιταμίνη C αναφέρονται μικρότερα ποσά DOMS χωρίς ωστόσο να βρεθούν διαφορές στα επίπεδα της γλουταθειόνης και της CK στο αίμα.

Συμπερασματικά η βιταμίνη C πιθανόν έχει ορισμένες θετικές επιδράσεις στους δείκτες οξειδωτικού στρες μετά από άσκηση. Πρόσθετα η βιταμίνη φαίνεται να ωφελεί όσο αφορά την εμφάνιση των DOMS αλλά θα πρέπει η λήψη να γίνεται πριν την άσκηση και να συνεχίζεται για κάποιες ημέρες μετά από αυτή.

Το συνένζυμο Q ή αλλιώς η ουβικινίνη λειτουργεί ως μεσολαβητής στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων και επίσης εμφανίζει και αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Έχει προταθεί ότι το συνένζυμο Q έχει θετικές επιδράσεις στη μείωση του οξειδωτικού στρες και ενδεχομένως στη μυϊκή καταστροφή. Οι Laaksonen και συν. (1995) ανέφεραν ότι η χορήγηση του συνενζύμου Q για 6 εβδομάδες (120 mg/ημέρα) δεν επηρεάζει την απόδοση και τα επίπεδα της MDA στον ορό. Τα ευρήματα αυτά συμφωνούν με αυτά προηγούμενων ερευνών όπου το συνένζυμο Q δεν είχε επιδράσεις στην απόδοση και στην λιπιδική υπεροξείδωση (Braun, Clarkson, Freedson & Kohl, 1991; Malm, Svensson, Ekblom & Sjodin, 1997).

Σε αντίθεση, η χορήγηση του συνενζύμου Q σε ποντίκια μείωσε τη CK του ορού και τα επίπεδα της γαλακτικής αφυδρογονάσης μετά από τρέξιμο σε κατωφέρεια σε σύγκριση με τη συνθήκη ελέγχου (Shimomura, Suzuki, Sugiyama, Hanaki & Ozawa, 1991). Η χορήγηση του ενζύμου σε κουνέλια για 4 εβδομάδες μείωσε τη λιπιδική υπεροξείδωση στο ήπαρ και την καρδιά των πειραματοζώων (Faff & Frankiewicz-Jozko, 1997). Το συνένζυμο αυτό δεν φάνηκε να έχει επιδράσεις στην αύξηση της CK στον ορό

των κουνελιών μετά από τρέξιμο μέχρι την εξάντληση. Σε μια μελέτη ανασκόπησης των Rosenfeld και συν (2003) αναφέρεται ότι στις 6 από τις 11 μελέτες αναφέρονται θετικές επιδράσεις του συνενζύμου Q.

Σε άλλη μελέτη χορήγηση 120 mg/ημέρα για 20 ημέρες σε νέους υγιείς άνδρες αύξησε τα επίπεδα του συνενζύμου Q στο πλάσμα αλλά δεν επηρεάστηκαν τα μυϊκά επίπεδα του συνενζύμου (Svensson et al., 1999). Σε μια μελέτη με ποντίκια η χορήγηση του συνενζύμου Q για 11 εβδομάδες αύξησε τα επίπεδα του συνενζύμου στο πλάσμα (Kamzalov, Sumien, Forster & Sohal, 2003), αύξηση που σχετιζόταν με την ποσότητα της δόσης που δίνονταν στα ποντίκια. Από τα αποτελέσματα επίσης φαίνεται αύξηση στα επίπεδα της α-τοκοφερόλης εντός των ιστών. Ακόμη δεν είναι εξακριβωμένο εάν τα επίπεδα του συνενζύμου Q μπορούν να αυξηθούν σε όλους τους ανθρώπινους ιστούς αν και κάτι τέτοιο έχει παρατηρηθεί στις μελέτες με ζώα (Bhagavan & Chopra, 2006). Απαιτείται επιπλέον έρευνα για να εξακριβωθεί εάν το συνένζυμο Q μπορεί να περιορίσει το οξειδωτικό στρες που εμφανίζεται μετά από άσκηση.

Το α-λιποϊκό οξύ (ALA) μετατρέπεται άμεσα σε διυδρο λιποϊκό οξύ (DHLA) εντός του κυττάρου. Το παράγωγο αυτό έχει δείχθει ότι βοηθά στην αναγέννηση άλλων αντιοξειδωτικών όπως οι βιταμίνες E και C όταν βρίσκονται στην οξειδωμένη τους μορφή. Πρόσθετα το α-λιποϊκό οξύ μπορεί να αυξήσει τα ενδοκυττάρια επίπεδα της γλουταθειόνης (Han, Handelman & Packer, 1995) και μπορεί να δράσει ως αντιοξειδωτικό (Packer, Witt & Tritschler, 1995) βοηθώντας στη μείωση του οξειδωτικού στρες. Από έρευνες έχει προταθεί ότι η χορήγηση του α-έποικου οξέος μπορεί να μειώσει το οξειδωτικό στρες στον καρδιακό ιστό ηλικιωμένων αρουραίων (Suh et al., 2001) σε διαβητικά ποντίκια (Dincer et al., 2002) καθώς και σε άλλους ιστούς όπως ο εγκέφαλος και το ήπαρ τους (Hagen et al., 1999). Θετικές επιδράσεις του ALA αναφέρονται και από τους Khanna και συν. (1999) η οποίοι μεταξύ άλλων βρήκαν αύξηση της ολικής γλουταθειόνης στο ήπαρ και στο αίμα ενώ αναφέρεται και βελτίωση της δράσης της ινσουλίνης (Saengsirisuwan, Kinnick, Schmit & Henriksen, 2001; Saengsirisuwan Perez, Sloniger, Maier & Henriksen., 2004) με χρήση του συμπληρώματος αυτού.

Ωστόσο υπάρχουν και αντίθετες αναφορές καθώς μια πρόσφατη μελέτη δείχνει ότι η χορήγηση του α-λιποϊκού οξέος σε ηλικιωμένα ποντίκια αυξάνει την πρωτεϊνική οξειδωση στον καρδιακό μυ (Catakay, Kayal, Sivas & Tekeli, 2005). Συμπερασματικά εάν το α-λιποϊκό οξύ βοηθά στην αποφυγή της εμφάνισης του οξειδωτικού στρες και στο μονοπάτι της ινσουλίνης, ενδέχεται να βοηθά στον περιορισμό της μυϊκής βλάβης.



Δυστυχώς δεν υπάρχουν μελέτες που να ερεύνησαν την επίδραση του ALA στην έκκεντρη άσκηση και τη μυϊκή βλάβη που προκαλεί.

Τα ισοφλαβινοειδή είναι μια ομάδα φυτικών χημικών που έχουν ορισμένες αντιοξειδωτικές δράσεις. Αρκετά μόρια αυτής της ομάδας έχουν εξεταστεί για το ρόλο τους στην προστασία από ασθένειες που σχετίζονται με τα δραστικά είδη αζώτου (Wedworth & Lynch, 1995). Επί του παρόντος δεν υπάρχει ομοθυμία για τις επιδράσεις των μορίων αυτών στην πρόληψη ασθενειών. Αρουραίοι που έτρωγαν πρωτεΐνη σόγιας αναφέρεται ότι είχαν χαμηλότερα επίπεδα TBARS στο πλάσμα σε σχέση με αυτούς που έτρωγαν καζείνη (Madani, Prost & Belleville, 2000). Ορισμένα από τα συστατικά της πρωτεΐνης σόγιας (π.χ. γενιστεΐνη) αποτελούν ισοφλαβινοειδή.

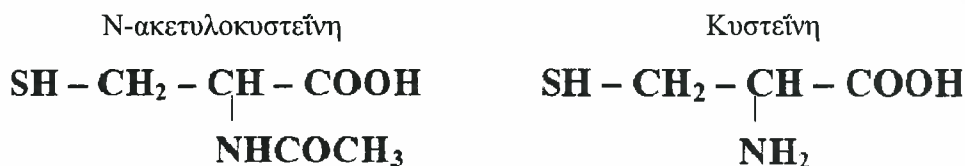
Από χορήγηση της γενιστεΐνης σε αρουραίους βρέθηκε ότι δεν επηρεάστηκαν τα αντιοξειδωτικά ένζυμα της κυκλοφορίας του αίματος (Chen & Bakhiet, 1998). Σε αντίθεση η πρωτεΐνη σόγιας σε σύγκριση με την καζείνη βοηθά στην εξασθένιση της ενεργοποίησης της καλπαΐνης στους μύες ποντικών μετά από τρέξιμο μέχρι την εξάντληση (Nikawa et al., 2002). Η συγκέντρωση της CK στο πλάσμα ήταν σημαντικά μειωμένη στο γκρουπ που έτρωγε σόγια όμως τα TBARS και η ενεργοποίηση των αντιοξειδωτικών ενζύμων ήταν παρόμοια με το γκρουπ ελέγχου. Τα αποτελέσματα των ερευνών που χρησιμοποίησαν σόγια είναι αμφιλεγόμενα και δεν είναι εξακριβωμένο εάν αναστέλλουν το οξειδωτικό στρες που παράγεται από την άσκηση, για το λόγο αυτό απαιτείται επιπλέον έρευνα.

Οι Saito και συν. (2007) μελέτησαν την επίδραση της αποκυνίνης στην απόπτωση κυττάρων αρουραίων. Ο παράγοντας αυτός αποτελεί αναστολέα της δράσης της οξειδάσης της NADPH. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι η αποκυνίνη μπορεί να περιορίσει τη διαδικασία της απόπτωσης. Παρόμοια ευρήματα βρέθηκαν και από τους Sheu και συν. (2008). Πιο συγκεκριμένα οι ερευνητές αυτοί χορήγησαν ονοκιάλη που αποτελεί αναστολέα της οξειδάσης της NADPH. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι επηρεάζει το μονοπάτι του NF-κB που σχετίζεται με την αύξηση της γλυκόζης, μειώνοντας την απόπτωση και τον κυτταρικό θάνατο των ενδοθηλιακών κυττάρων.

Η N-ακετυλοκυστεΐνη αποτελεί πρόδρομο της κυστεΐνης (σχήμα 9) που μπορεί άμεσα να εξουδετερώσει ελεύθερες ρίζες (Aguoma, Halliwell, Hoey & Butler, 1989). Ωστόσο η κύρια αντιοξειδωτική επίδραση της NAC είναι η αύξηση της διαθεσιμότητας της κυστεΐνης έτσι ώστε να υπάρχει υπόστρωμα για την ανασύνθεση της GSH (Lauterburg, Corcoran & Mitchell, 1983). Η αποακετυλίωση της NAC στον άνθρωπο πραγματοποιείται στο ήπαρ αλλά και στα κύτταρα του ενδοθηλίου δίνοντάς τους τη



δυνατότητα να χρησιμοποιήσουν την παραχθείσα κυστεΐνη (Thor, Moldeus & Orgenius, 1979; Sjodin, Nilsson, Hallberg & Tunek, 1989). Η NAC εμφανίζεται να ενισχύει τη σύνθεση της GSH σε καταστάσεις όπου οι ανάγκες για την τελευταία είναι μεγάλες (Burgunder, Varriale & Lauterburg, 1989).



**Σχήμα 9.** Μοριακοί τύποι N-ακετυλοκυστεΐνης και κυστεΐνης.

Η NAC έχει κλινική χρήση εδώ και 40 χρόνια. Χρησιμοποιείται ως μυκολυτικό στη χρόνια βρογχίτιδα καθώς και σε άλλες ασθένειες (Grassi & Morandini, 1976). Στην δηλητηρίαση από παρακεταμόλη που συνοδεύεται και από μείωση της GSH χρησιμοποιούν τη NAC ως αντίδοτο (Flanagan & Meredith, 1991). Ακόμη η NAC χρησιμοποιείται στις χρόνιες φλεγμονές καθώς και σε ασθένειες που εμπλέκεται το ανοσοποιητικό σύστημα όπως το AIDS (Herzenberg et al., 1997). Τέλος χορηγείται σε μελέτες που σχετίζονται με την απόπτωση και την μεταγραφή γονιδίων (Cotgreave, 1997).

Παρενέργειες από τη λήψη της NAC αναφέρονται μόνο σε πολύ υψηλές δόσεις (Mant, Tempowski, Volans & Talbot, 1984). Αλλεργικές αντιδράσεις (οίδημα, βρογχόσπασμο κ.ά.) έχουν αναφερθεί σε ενήλικες που λάμβαναν πολύ υψηλές δόσεις (Prescott, Donovan, Jarvie & Proudfoot, 1989).

Η εξήγηση των διαφορετικών φαρμακοκινητικών μελετών της NAC οφείλεται στο διαφορετικό σχεδιασμό που έχουν οι μελέτες (δόση, τρόπος χορήγησης). Η NAC μπορεί να βρίσκεται στο πλάσμα σε ελεύθερη μορφή ή δεσμευμένη με πρωτεΐνες (Holdiness, 1991). Η λήψη της NAC από το στόμα έχει ως αποτέλεσμα την πλήρη απορρόφησή της από τον οργανισμό. Η μέγιστη συγκέντρωση στο πλάσμα επιτυγχάνεται εντός 1-2 ωρών (Bonanomi & Gazzaniga, 1980; Maddock, 1980). Ωστόσο έχει δειχθεί ότι ενισχύει τη σύνθεση της GSH όταν οι απαιτήσεις για την τελευταία αυξηθούν όπως γίνεται κατά τη δηλητηρίαση από την παρακεταμόλη (Burgunder et al., 1989). Επιπλέον έχει βρεθεί ότι αυξάνεται η συγκέντρωση της κυστεΐνης στο πλάσμα και της GSH στο πλάσμα και τις αεροφόρους οδούς μετά από στοματική λήψη της NAC (Bridgeman, Marsden, MacNee, Flenley & Ryle, 1991). Μετά από ενδοφλέβια λήψη της NAC ο μέσος χρόνος ημιζωής της ήταν περίπου 6 ώρες και η μέση απομάκρυνση από το πλάσμα ήταν  $0.11-0.19 \text{ l/h}^{-1}\text{Kg}^{-1}$

(Olsson, Johansson, Gabrielsson & Bolme, 1988; Prescott, Donovan, Jarvie & Proudfoot, 1989)

Μια μελέτη που ερευνήθηκε η επίδραση της NAC στην απόδοση ήταν αυτή των Reid και συν. (1994). Πιο συγκεκριμένα χορήγησαν 150 mg/Kg του αντιοξειδωτικού ενδοφλέβια πριν από την πρόκληση μυϊκών συστολών με ηλεκτρική διέγερση. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι η NAC μπορεί να βελτιώσει την απόδοση των μυών κατά τη διάρκεια άσκησης.

Σε μια άλλη μελέτη (Sen, Rankinen, Vaisanen & Rauramaa, 1994) ερευνήθηκε ο ρόλος της NAC στο οξειδωτικό στρες που παράγεται μετά από αερόβια άσκηση. Χορήγησαν το αντιοξειδωτικό σε δόση 800 mg 2 ημέρες πριν την άσκηση και το πρωί πριν γίνει η άσκηση. Η λήψη της NAC είχε ως αποτέλεσμα να αυξηθεί η αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος χωρίς ωστόσο να επηρεάσει τα επίπεδα της γλουταθειόνης του αίματος.

Οι Medved και συν. (2003) ερεύνησαν την ενδοφλέβια χορήγηση της NAC στην οξειδοαναγωγική κατάσταση του αίματος και στην απόδοση κατά τη διάρκεια έντονης διαλειμματικής άσκησης. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι η NAC περιορίζει τη συγκέντρωση της οξειδωμένης γλουταθειόνης, αυξάνει τη συγκέντρωση των ιόντων  $K^+$  χωρίς ωστόσο να επιδρά στο χρόνο εμφάνισης της κόπωσης. Σε μελέτη του ίδιου εργαστηρίου (Medved et al., 2004) ερεύνησαν την επίδραση της NAC στην μυϊκή κυστεΐνη και γλουταθειόνη καθώς και στην κόπωση. Το αντιοξειδωτικό χορηγήθηκε ενδοφλέβια 20 λεπτά πριν και κατά τη διάρκεια της αερόβια άσκησης. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι η NAC βελτιώνει την απόδοση στην αερόβια ικανότητα ενισχύοντας τη μυϊκή κυστεΐνη και τη διαθεσιμότητα της GSH.

Οι Quadrilatero και Hoffman-Goetz (2004) μελέτησαν τον ρόλο του οξειδωτικού στρες στην απόπτωση των λεμφοκυττάρων σε εξαντλημένα από την άσκηση πειραματόζωα. Χορηγήθηκε με ένεση 1 g/Kg σωματικού βάρους NAC, 30 λεπτά πριν από την άσκηση στο διάδρομο. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι τα ζώα που έλαβαν το αντιοξειδωτικό διαχειρίστηκαν καλύτερα τα ενδοκυττάρια επίπεδα της γλουταθειόνης περιορίζοντας την απόπτωση των λεμφοκυττάρων. Παρόμοια ευρήματα βρήκαν οι ίδιοι ερευνητές σε μια μεταγενέστερη μελέτη τους (Quadrilatero & Hoffman-Goetz, 2005) όπου διαπιστώθηκε ότι η NAC ανέστειλε την αλλαγή στις αποπτωτικές πρωτεΐνες των λεμφοκυττάρων μετά την άσκηση.

Σε μια άλλη μελέτη (Koechlin et al., 2004) ερεύνησαν την επίδραση του οξειδωτικού στρες στην αντοχή των τετρακέφαλων ασθενών με χρόνια αποφρακτική πνευμονική νόσο (COPD). Οι ερευνητές για την αναστολή του οξειδωτικού στρες χορήγησαν στους συμμετέχοντες NAC. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι το αντιοξειδωτικό βελτιώνει την ικανότητα αντοχής και περιορίζεται το οξειδωτικό στρες που παράγεται από την άσκηση. Οι Lazagona και συν. (2004) μελέτησαν την επίδραση 600 mg NAC στο οξειδωτικό στρες που εμφανίζουν ασθενείς με καρδιαγγειακά νοσήματα. Μετά την 20 ήμερη χορηγία του αντιοξειδωτικού διαπιστώθηκε ότι τα οξειδωμένα προϊόντα των πρωτεϊνών μειώθηκαν σημαντικά.

Οι Matuszczak και συν. (2005) μελέτησαν την επίδραση της NAC στην οξείδωση της γλουταθειόνης και στην κόπωση κατά τη διάρκεια άσκησης με τα χέρια. Από τα ευρήματα φάνηκε ότι η NAC ενίσχυσε την ομοιόσταση της γλουταθειόνης και πιθανότατα μείωσε τη μυϊκή κόπωση κατά τη διάρκεια άσκησης με τα χέρια.

Οι McKenna και συν. (2006) μελέτησαν την επίδραση της NAC στις μυϊκές αντλίες  $\text{Na}^+ \text{K}^+$  κατά τη διάρκεια έντονης αερόβιας άσκησης. Η χορήγηση του αντιοξειδωτικού έγινε ενδοφλέβια και από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι η NAC περιορίζει τη μυϊκή κόπωση βελτιώνοντας τη λειτουργία της αντλίας  $\text{K}^+$ .

Οι Kelly και συν. (2009) μελέτησαν την επίδραση της χορήγησης 1800 mg NAC 45 λεπτά πριν από 30 λεπτά αερόβιας άσκησης στο 85% της  $\text{VO}_2\text{max}$ . Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι στη συνθήκη των συμμετεχόντων όπου λάμβαναν τη NAC εμφάνισαν χαμηλότερα επίπεδα κόπωσης των αναπνευστικών μυών γεγονός που δείχνει ότι η NAC μπορεί να επηρεάσει τους δείκτες κόπωσης μέσω της ενίσχυσης που προσφέρει στον αντιοξειδωτικό μηχανισμό.

Σε μια άλλη μελέτη οι Pinheiro και συν. (2010) μελέτησαν τις επιδράσεις της NAC σε δείκτες μυϊκής καταστροφής μετά από άσκηση σε αρουραίους. Η χορήγηση του αντιοξειδωτικού έγινε ενδοφλέβια και 1 ώρα πριν την άσκηση. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι η NAC περιόρισε α) την κόπωση μετά από τιτανικές συστολές καθώς και β) τους δείκτες οξειδωτικού στρες.

Υπάρχουν αρκετές μελέτες που χρησιμοποίησαν συνδυασμό αντιοξειδωτικών παραγόντων μετά από άσκηση που προκαλεί μυϊκή καταστροφή. Ο συνδυασμός βιταμίνης E 400 UI και βιταμίνης C 200 mg για 4.5 εβδομάδες σε προπονημένους συμμετέχοντες μείωσε την απώλεια της CK αλλά δεν επηρέασε τα TBARS της κυκλοφορίας μετά από μαραθώνιο (Rokitsi et al., 1994b). Ο συνδυασμός βιταμίνης E 400 UI, βιταμίνης C 1000

mg και β-καροτένιο 30 mg για 6 εβδομάδες μείωσε την MDA, ωστόσο δεν παρατηρήθηκαν άλλες διαφορές σε δείκτες του οξειδωτικού στρες μεταξύ της συνθήκης όπου τα υποκείμενα λάμβαναν τα αντιοξειδωτικά και της συνθήκης ελέγχου (Kanter, Nolte & Holloszy, 1993). Ένα αντιοξειδωτικό μίγμα με 10 mg β-καροτένιο, 1000 mg βιταμίνη C και 800 UI βιταμίνη E δόθηκε για 8 εβδομάδες βοήθησε να ενισχυθεί το σύστημα της γλουταθειόνης και να μειωθεί η απώλεια CK στον ορό μετά από τρέξιμο σε κατωφέρεια (Viguié, Packer & Brooks, 1989). Ένας άλλος συνδυασμός από 9 UI βιταμίνης E και 90 mg συνενζύμου Q για 3 εβδομάδες είχαν μικρές επιδράσεις στην CK μετά από μαραθώνιο δρόμο (Kaikkonen et al., 1998). Αυτές οι μικρές δόσεις των δυο αντιοξειδωτικών μπορούσαν να ενισχύσουν την αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος αλλά δεν επηρέασαν την μυϊκή βλάβη.

Ένας άλλος συνδυασμός αντιοξειδωτικών με βιταμίνη C (12.5 mg/Kg σωματικού βάρους) και N-ακετυλοκυστεΐνης (NAC) (10 mg/Kg σωματικού βάρους) δόθηκε αμέσως μετά από έκκεντρη άσκηση (Childs, Jacobs, Kaminski, Halliwell & Leewenburgh, 2001). Η χορήγηση αυτών των αντιοξειδωτικών μετά από 30 έκκεντρες συστολές στους μύες των χεριών έδειξε να επιδεινώνει τη μυϊκή βλάβη και τη φλεγμονή που αναπτύχθηκε.

Δυο διαφορετικές δόσεις των βιταμινών C και E αναφέρεται ότι έχουν μη σημαντικές επιδράσεις στους δείκτες μυϊκής καταστροφής τόσο στο αίμα όσο και στον μυϊκό ιστό (Dawson et al., 2002). Οι συμμετέχοντες πήραν τις βιταμίνες για 4 εβδομάδες και μετά έτρεξαν 21 χιλιόμετρα. Στη συνέχεια ακολούθησαν 4 εβδομάδες "καθαρισμού" και έπειτα οι συμμετέχοντες πήραν τη διπλάσια δόση βιταμινών (1000 mg C + 1000 IU E). Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι δεν υπήρχαν διαφορές μεταξύ των δυο δόσεων. Οι συγκεντρώσεις των βιταμινών αυξήθηκαν στον ορό σημαντικά μετά τις 4 εβδομάδες χορήγησης. Η MDA αυξήθηκε 28% στο γκρουπ που έπαιρνε τις βιταμίνες και 40% στο γκρουπ που λάμβανε το placebo, αλλά οι διαφορές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές. Η CK αυξήθηκε στον ορό 24 ώρες μετά την άσκηση και στα δυο γκρουπ. Η λήψη των βιταμινών δεν φάνηκε να επηρεάζει τους δείκτες μυϊκής καταστροφής μετά την άσκηση.

Οι Phillips και συν. (2003) έδωσαν έναν συνδυασμό αντιοξειδωτικών (τοκοφερόλη, φλαβονοειδή, ωμέγα-3 λιπαρά οξέα) 7 ημέρες πριν και 7 ημέρες μετά από ένα έκκεντρο πρωτόκολλο άσκησης για τα χέρια. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι η γαλακτική αφυδρογονάση και η CK του ορού αυξήθηκαν, επίσης αυξήθηκε ο πόνος και μειώθηκε το εύρος κίνησης χωρίς να υπάρχουν διαφορές με τη συνθήκη ελέγχου. Σε αντίθεση η IL-6 και η CRP ήταν σημαντικά μειωμένες στο γκρουπ που λάμβανε τα

αντιοξειδωτικά. Από τα ευρήματα φάνηκε ότι τα αντιοξειδωτικά μπορούν να έχουν ανασταλτικές δράσεις στην ανάπτυξη της φλεγμονής αλλά δεν επηρέασαν την εκροή μυϊκών πρωτεϊνών ή τη έκταση της μυϊκής βλάβης που προκλήθηκε από την έκκεντρη άσκηση.

Σε μια άλλη μελέτη ο συνδυασμός των βιταμινών E και C που χορηγούνταν για 37 ημέρες πριν από 300 έκκεντρες συστολές του τετρακέφαλου έδειξε να εξασθενεί τη μείωση της μυϊκής δύναμης χωρίς ωστόσο να επιδρά στο ποσό των DOMS (Shafat, Butler, Jensen & Donnelly, 2004). Από έρευνα σε αγύμναστες γυναίκες φάνηκε ότι ο συνδυασμός των βιταμινών E, C με το σελήνιο που δόθηκε για 14 ημέρες πριν και για 2 ημέρες μετά από 48 έκκεντρες συσπάσεις μειώνει την αύξηση της CK και των DOMS (Bloomer, Goldfarb, McKenzie, You & Nguyen, 2004). Ωστόσο δεν υπήρξε προστασία από την πτώση της παραγόμενης δύναμης και στο εύρος κίνησης. Η λήψη των αντιοξειδωτικών για 2 μέρες μετά την άσκηση έδειξε να μειώνει τη διαπερατότητα των μεμβρανών που εμφανίζεται λόγω του στρες, το μυϊκό πόνο αλλά δεν επηρέασε τη μυϊκή λειτουργία.

Σε έρευνα των You και συν. (2005) δόθηκε σε αρουραίους που έτρεξαν σε κατωφέρεια συνδυασμός βιταμινών E και C. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι τα ζώα που λάμβαναν τα αντιοξειδωτικά σχημάτισαν λιγότερες ποσότητες πρωτεϊνικών καρβονυλίων στους μύες τους σε σύγκριση με τη συνθήκη ελέγχου. Οι δείκτες του οξειδωτικού στρες στο αίμα είχαν μικρότερες τιμές σε σύγκριση με τους μύες αλλά δεν υπήρχαν σοβαρές διαφορές μεταξύ των δυο ομάδων μελέτης (συνθήκη αντιοξειδωτικών – συνθήκη ελέγχου). Επίσης δεν εμφανίστηκαν σημαντικές αλλαγές στην MDA και στη γλουταθειόνη σε καμιά από τις ομάδες.

Ένα άλλο μίγμα αντιοξειδωτικών από NAC και επιγαλοκατεχίνη (EGCG) χρησιμοποιήθηκε από τους Kerksick και συν. (2010) για να δουν τις επιδράσεις του για φυσιολογικές και κυτταρικές αλλαγές στον σκελετικό μυ μετά από έκκεντρες συσπάσεις. Δόθηκαν 1800 mg από κάθε αντιοξειδωτικό για 14 ημέρες. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι η έκκεντρη άσκηση αυξάνει σημαντικά τη μυϊκή βλάβη, τους δείκτες μιτοχονδριακής απόπτωσης, τη δραστηριότητα αποπτωτικών ενζύμων και τους δείκτες της φλεγμονής στο αίμα. Ο πόνος εμφανίστηκε να είναι πιο αμβλύς στα γκρουπ που λάμβαναν τα αντιοξειδωτικά ωστόσο απαιτείται περαιτέρω έρευνα για να εξακριβωθούν οι ακριβείς επιδράσεις του συνδυασμού των παραπάνω αντιοξειδωτικών.



### ***Συμπερασματικά για τη χρήση αντιοξειδωτικών***

Η χρήση αντιοξειδωτικών για την προστασία από τη μυϊκή βλάβη και το οξειδωτικό στρες δεν έχει σαφείς επιδράσεις. Η διαπήδηση των μακροφάγων και οι αλλαγές στο ανοσοποιητικό και στα ROS με τον ανασχηματισμό του μυ είναι πιθανά διαδικασίες που επηρεάζονται από τα αντιοξειδωτικά. Τα ακριβή ποσά που χρειάζονται για την προστασία της οξειδωτικής βλάβης σε πειράματα *in vivo* είναι υπό έρευνα. Επίσης σημαντικό στοιχείο αποτελεί η χρονική στιγμή δειγματοληψίας. Εάν η φλεγμονή έχει ξεκινήσει ή εάν τα μέταλλα (στις αντιδράσεις Fenton) έχουν ελευθερωθεί από τον ιστό, τα αντιοξειδωτικά μπορεί να δράσουν ως προοξειδωτικά και αντί να προστατέψουν μπορεί να επιδεινώσουν την κατάσταση.

Η NAC, η οποία προτείνεται στην παρούσα πρόταση για την αλλοίωση της οξειδοαναγωγικής κατάστασης των μυϊκών κυττάρων, αυξάνει την ενδοκυττάρια συγκέντρωση της GSH αλλάζοντας έτσι το οξειδοαναγωγικό δυναμικό, την αποτελεσματικότητα των βασικών σηματοδοτικών μονοπατιών και φυσικά την τελική γονιδιακή έκφραση αντιοξειδωτικών πρωτεϊνών (Flohe, Brigelius-Flohe, Saliou, Traber, Packer, 1997).

Ο σκελετικός μυς είναι ιστός με αξιοθαύμαστη προσαρμοστικότητα σε διάφορα ερεθίσματα. Πρόσφατα προσδιορίστηκαν ορισμένοι σηματοδοτικοί μηχανισμοί που διαθέτει ο σκελετικός μυς για να μπορεί να εμφανίζει αυτή την προσαρμοστικότητα (σχήμα 10). Ωστόσο, παραμένουν ακόμη άγνωστοι οι παράγοντες που ρυθμίζουν αυτά τα σηματοδοτικά μονοπάτια τα οποία φαίνεται ότι είναι ιδιαίτερα ενεργά και κατά τη διάρκεια του κύκλου της ασκησιογενούς φλεγμονής βοηθώντας τον μυ να ανταπεξέλθει στον τραυματισμό του. Αν και οι ROS συμμετάσχουν στη ρύθμιση αυτών των σηματοδοτικών μηχανισμών μέσω της επίδρασής τους στην οξειδοαναγωγική κατάσταση του μυ και ταυτόχρονα είναι ιδιαίτερα αυξημένες σε συνθήκες φλεγμονής αλλά και άσκησης (τόσο κατά τη διάρκεια αλλά και μετά από αυτή κατά τη φάση ανάληψης), ο ρόλος της οξειδοαναγωγικής κατάστασης στην εξέλιξη του κύκλου της ασκησιογενούς φλεγμονής μετά τη διακοπή της άσκησης δεν έχει εξεταστεί. Οι περισσότερες μελέτες εξέτασαν τον ρόλο των ROS και της οξειδοαναγωγικής κατάστασης μέσω χορήγησης αντιοξειδωτικών παραγόντων κατά τη διάρκεια της άσκησης και όχι μετά από αυτή οπότε εξελίσσεται και κορυφώνεται ο κύκλος της ασκησιογενούς φλεγμονής.



τη διάρκεια της οξειδωτικού τραυματισμού από τα ROS που απελευθερώνονται από τα ουδετερόφιλα η GSH καταναλώνεται σε σημαντικό βαθμό. Έχει αναφερθεί ότι η αύξηση της ενδοκυττάριας GSH προλαμβάνει τη φλεγμονή αναστέλλοντας την έκφραση των μορίων συγκόλλησης (Kevil CG, Pruitt H, Kavanagh TJ, et al., 2004). Στην παρούσα πρόταση παρουσιάζουμε ένα μοντέλο πρόληψης της αλλοίωσης της οξειδοαναγωγικής κατάστασης του μυϊκού κυττάρου και του αίματος για 8 ημέρες μετά από έντονο ασκησιογενή μυϊκό τραυματισμό μέσω της χορήγησης NAC η οποία βοηθά στη διατήρηση των επιπέδων της GSH (Leff et al., 1993) στις διάφορες φάσεις της ασκησιογενούς φλεγμονής.

Η παρούσα μελέτη θα επιχειρήσει να μεταβάλει την οξειδοαναγωγική κατάσταση στο αίμα και στο μυϊκό κύτταρο μετά από ασκησιογενή μυϊκό τραυματισμό και να εξετάσει τις επιπτώσεις αυτής της μεταβολής στην λειτουργική κατάσταση του μυ (παραγωγή δύναμης) και την πρωτεϊνική έκφραση των βασικότερων πρωτεϊνών που χαρακτηρίζουν τον κύκλο της ασκησιογενούς φλεγμονής στον μυ. Η αποσαφήνιση της σημασίας της οξειδοαναγωγικής κατάστασης στον ασκησιογενή τραυματισμό του σκελετικού μυ στον άνθρωπο θα δώσει την ευκαιρία στην επιστημονική κοινότητα να διερευνήσει τα παρακάτω:

α) Τους μηχανισμούς που χαρακτηρίζουν τον μυϊκό τραυματισμό. Η κατανόηση αυτών των μηχανισμών θα βοηθήσει στην ανάπτυξη μεθοδολογιών ή τεχνικών για τη μείωση των συνεπειών ή των συμπτωμάτων του και την επιτάχυνση της επούλωσής του σε καταστάσεις όπως αυτές που περιγράφηκαν παραπάνω.

β) Ο μυϊκός τραυματισμός και η φλεγμονή που τον συνοδεύει αποτελεί βασικό χαρακτηριστικό πολλών εκφυλιστικών παθήσεων όπως οι μυϊκές δυστροφίες, η καχεξία κ.α. Η ανάλυση του ρόλου της οξειδοαναγωγικής κατάστασης στην ρύθμιση των διαφόρων φάσεων της φλεγμονής θα βοηθούσε την ανάπτυξη φαρμάκων και μεθόδων για τον περιορισμό της.

γ) Ένα μεγάλο μέρος των αθλητών υψηλού επιπέδου αλλά και των αθλούμενων παγκοσμίως γενικότερα παρουσιάζει μυοσκελετικούς τραυματισμούς και συμπτώματα μυϊκού τραυματισμού ή ασκησιογενούς φλεγμονής εξαιτίας της συμμετοχής σε προγράμματα έντονης άσκησης. Αν και έχει προταθεί η χρήση αντιοξειδωτικών και άλλων συναφών σκευασμάτων για την αντιμετώπιση του προβλήματος, μεταξύ άλλων θεραπειών, δεν είμαστε σίγουροι για το αν αυτά τα σκευάσματα δρουν ευεργετικά ή ανασταλτικά

όσον αφορά την επούλωση και αύξηση του μυϊκού ιστού. Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας θα μας δώσουν την ευκαιρία να απαντήσουμε σε αυτό το ερώτημα.

δ) Αν οι παρατηρήσεις που έχουν δημοσιευθεί έως τώρα σε πειραματόζωα ισχύουν και για τον ανθρώπινο σκελετικό μυ.

### *Ανακεφαλαίωση*

Η σημασία της παρούσας μελέτης έγκειται στο γεγονός ότι προσπαθεί να διαλευκάνει το ρόλο της οξειδοαναγωγικής κατάστασης του μυϊκού κυττάρου στις διάφορες φάσεις που ακολουθούν τον ασκησιογενή μυϊκό τραυματισμό. Η γνώση αυτή θα βοηθήσει στην ανάπτυξη διατροφικών, φαρμακευτικών και άλλων μεθόδων για την ταχύτερη επούλωση του μυϊκού ιστού.

Στην παρούσα έρευνα έγινε προσπάθεια να μεταβληθεί η οξειδοαναγωγική κατάσταση στο αίμα και στο μυϊκό κύτταρο μέσω της χορήγησης NAC (Leff et al., 1993), μετά από έκκεντρη άσκηση που προκάλεσε μυϊκό τραυματισμό. Στη συνέχεια εξετάστηκαν οι επιπτώσεις αυτής της μεταβολής στη λειτουργική κατάσταση του μυ (παραγωγή δύναμης) και την πρωτεϊνική έκφραση των βασικότερων πρωτεϊνών που χαρακτηρίζουν τον κύκλο της ασκησιογενούς φλεγμονής του μυϊκού κυττάρου.

### III. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζονται με λεπτομέρειες η επιλογή του δείγματος και τα χαρακτηριστικά του, ο σχεδιασμός της μελέτης, οι μέθοδοι αξιολόγησης των εξεταζομένων παραμέτρων και η στατιστική ανάλυση. Όπως προαναφέρθηκε σκοπός της μελέτης ήταν να εξετάσει τις επιπτώσεις της μεταβολής της οξειδοαναγωγικής κατάστασης του αίματος και των μυϊκών κυττάρων, μετά από ασκησιογενή μυϊκό τραυματισμό, στη λειτουργική κατάσταση του μυ.

#### *Δείγμα*

Στη μελέτη έλαβαν μέρος εθελοντικά 10 υγιείς άντρες οι οποίοι γυμνάζονταν ερασιτεχνικά ( $VO_{2max} >45$  mL/Kg/min). Η ηλικία τους ήταν μεταξύ 19 και 25 έτη. Οι εθελοντές ενημερώθηκαν με έντυπα για το σχεδιασμό της έρευνας και υπέγραψαν έντυπο συναίνεσης όπου τους εξηγούνταν η πειραματική διαδικασία, τα πλεονεκτήματα από τη συμμετοχή τους, οι προσδοκώμενες ωφέλειες και οι υποχρεώσεις τους. Για την έρευνα τηρήθηκαν οι κατευθυντήριες γραμμές του Κώδικα Δεοντολογίας Ερευνών του Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης και του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων παρουσιάζονται στον πίνακα 4.

#### *Κριτήρια συμμετοχής δοκιμαζομένων*

Τα κριτήρια που έπρεπε να πληρούν οι συμμετέχοντες ήταν τα παρακάτω:

- α) Ήταν άνδρες εθελοντές.
- β) Το τελευταίο εξάμηνο δεν είχαν ιατρικό ιστορικό.
- γ) Το τελευταίο εξάμηνο δεν είχαν λάβει φαρμακευτική αγωγή που να επηρεάζει τον αντιοξειδωτικό μηχανισμό τους καθώς και συμπληρώματα διατροφής με αντιοξειδωτικά.
- δ) Δεν ήταν καπνιστές.
- ε) Κατά τη διάρκεια της μελέτης δεν κατανάλωναν αλκοόλ και δεν συμμετείχαν σε αθλητικές δραστηριότητες.
- στ) Ασκοούνταν τουλάχιστον 3 φορές την εβδομάδα για διάστημα μεγαλύτερο ή ίσο των 12 μηνών.



ζ) Τέλος τα άτομα αυτά δεν εμφάνιζαν αλλεργία ή δυσανεξία στη Ν-ακετυλοκυστεΐνη, δεν είχαν πρόσφατο μυϊκό τραυματισμό ή κάποιο είδος μυοπάθειας.

#### *Ερευνητικός σχεδιασμός*

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε με διπλά τυφλό, σχεδιασμό σύμφωνα με το παρακάτω πρόγραμμα:

Α. Στην πρώτη επίσκεψή τους στο εργαστήριο, οι εθελοντές συμπλήρωσαν το έντυπο συγκατάθεσης και το έντυπο προσωπικών στοιχείων και ιατρικού ιστορικού. Επίσης τους δόθηκαν οδηγίες για τον τρόπο καταγραφής της διατροφής τους σε συγκεκριμένα έντυπα που τους χορηγήθηκαν. Τέλος οι εθελοντές εξοικειώθηκαν με όλες τις δοκιμασίες αξιολόγησης της απόδοσης καθώς και με το ισοκινητικό δυναμόμετρο εκτελώντας υπομέγιστες σύγκεντρες, έκκεντρες και ισομετρικές επαναλήψεις.

Β. Τρεις ημέρες μετά, κατά τη δεύτερη επίσκεψή των εθελοντών στο εργαστήριο, πραγματοποιήθηκαν οι ανθρωπομετρικές μετρήσεις (σωματικό ύψος, σωματικό βάρος και σωματική σύσταση), η αξιολόγηση της φυσικής κατάστασης (μέτρηση της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου) και η αξιολόγηση της μυϊκής απόδοσης (μέγιστη έκκεντρη δύναμη στις 60 °/sec).

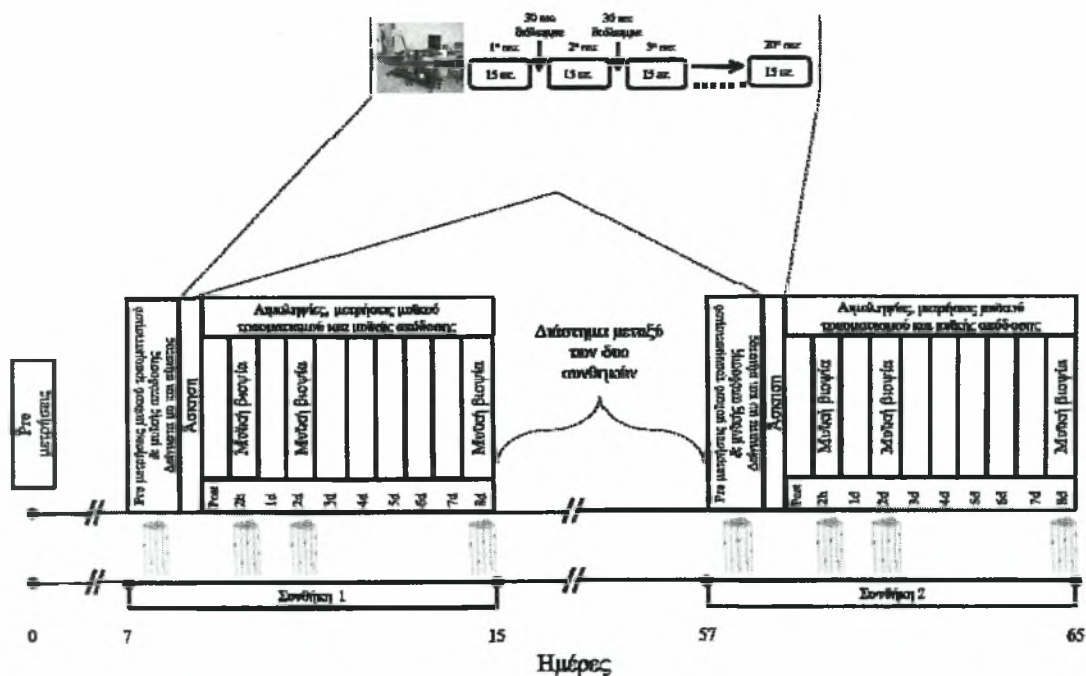
Γ. Μια εβδομάδα αργότερα, οι εθελοντές προσήλθαν στο εργαστήριο μεταξύ 9:00-11:00 π.μ. όπου έγινε αιμοληψία και λήψη μυϊκής βιοψίας. Έπειτα μετρήθηκε το εύρος κίνησης γόνατος, αλλά και ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος για να διαπιστωθεί φυσιολογικά η απουσία μυϊκού τραυματισμού. Στη συνέχεια, οι εθελοντές εκτέλεσαν το πρωτόκολλο έκκεντρης άσκησης σε ισοκινητικό μηχάνημα. Αμέσως μετά την ολοκλήρωση του τελευταίου σετ, οι εθελοντές έλαβαν Ν-ακετυλοκυστεΐνη (NAC) ή placebo (αδρανής ουσία με παρόμοια γεύση με την NAC, χωρίς κάποια επίδραση στον οργανισμό) σε δοσολογία 20 mg/Kg σωματικού βάρους. Επίσης μετά την ολοκλήρωση του έκκεντρου πρωτοκόλλου, έγιναν και πάλι αιμοληψία και αξιολόγηση του μυϊκού τραυματισμού. Δύο ώρες μετά την ολοκλήρωση του τελευταίου σετ, έγινε αιμοληψία, μυϊκή βιοψία, αξιολόγηση της μυϊκής απόδοσης και μέτρηση του μυϊκού τραυματισμού.

Δ. Για τις επόμενες οκτώ ημέρες οι εθελοντές έρχονταν στο εργαστήριο καθημερινά, στις 7:00 π.μ. όπου τους χορηγούνταν η πρώτη δόση της NAC ή του Pla και μετά από διάλειμμα μίας ώρας πραγματοποιούνταν αιμοληψία, αξιολόγηση του μυϊκού τραυματισμού και της μυϊκής απόδοσης. Τη δεύτερη και όγδοη μέρα πραγματοποιήθηκε η τρίτη και τέταρτη μυϊκή βιοψία. Η δεύτερη δόση της NAC ή του Pla δινόταν το μεσημέρι

και η τρίτη δόση το βράδυ κάθε μέρας. Οι δόσεις απείχαν μεταξύ τους περίπου οκτώ ώρες. Καθ' όλη τη διάρκεια των οκτώ ημερών, οι εθελοντές κατέθεταν συμπληρωμένα τα ημερήσια διατροφικά τους ημερολόγια.

Ε. Η όλη διαδικασία επαναλήφθηκε με ακριβώς τον ίδιο τρόπο για το κάθε άτομο άλλη μια φορά μετά το πέρας 6 εβδομάδων έτσι ώστε να ολοκληρωθεί η συμμετοχή του κάθε εθελοντή και στις δυο συνθήκες (κάθε εθελοντής έλαβε τόσο NAC όσο και Placebo). Η συμμετοχή των εθελοντών στη συνθήκη της NAC ή του Pla έγινε με τυχαία επιλογή. Για τη μια συνθήκη οι βιοψίες έγιναν στο ένα πόδι και για την άλλη συνθήκη στο άλλο.

Ο ερευνητικός σχεδιασμός της μελέτης συνοψίζεται στο σχήμα 11.

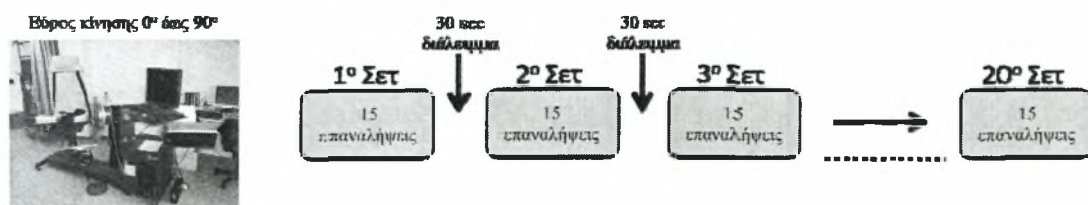


Σχήμα 11. Ερευνητικός σχεδιασμός.

### Πρωτόκολλο έκκεντρης άσκησης

Η άσκηση πραγματοποιήθηκε με ένα ισοκινητικό δυναμόμετρο Isoforce (TUR GmbH, Berlin, Germany) με τους εθελοντές στην καθιστή θέση. Κάθε εθελοντής σταθεροποιούνταν στο κάθισμα του δυναμόμετρου με έναν ιμάντα γύρω από τη μέση και δύο ιμάντες, φερόμενους κάθετα, γύρω από τους ώμους. Δύο επιπλέον ιμάντες τοποθετημένοι κεντρικά του γόνατος χρησιμοποιήθηκαν για την σταθεροποίηση των μηρών, ενώ ένας τρίτος ιμάντας χρησιμοποιήθηκε για την σταθεροποίηση της κνήμης πάνω στον βραχίονα του δυναμόμετρου. Μεγιστοποίηση της σταθεροποίησης κατά την ισοκινητική άσκηση επιτυγχάνονταν από τον κάθε εθελοντή με κράτημα των λαβών που

βρίσκονταν εκατέρωθεν του καθίσματος του δυναμόμετρου. Πριν την εκτέλεση της ισοκινητικής άσκησης πραγματοποιούνταν ευθυγράμμιση του άξονα περιστροφής του δυναμόμετρου με τον άξονα περιστροφής της άρθρωσης του γόνατος και διαδικασία υπολογισμού του βάρους του βραχίονα του δυναμόμετρου/κνήμης-ποδιού (gravity correction procedure) στις ισοκινητικές παραμέτρους (π.χ. μέγιστη ροπή κλπ.). Η ισοκινητική άσκηση περιλάμβανε 300 έκκεντρες συστολές των εκτεινόντων μυών του γόνατος (15 επαναλήψεις × 20 σειρές με 30 sec διάλειμμα μεταξύ της κάθε σειράς) (σχήμα 12) οι οποίες πραγματοποιούνταν μεταξύ πλήρους έκτασης (0°) και 90° κάμψης του γόνατος (εύρος κίνησης 90°) με γωνιακή ταχύτητα 30°/s. Η προσπάθεια ενισχύονταν λεκτικά από τον εξεταστή (ίδιος σε κάθε μέτρηση) και με ανατροφοδότηση, δίνοντας τη δυνατότητα οπτικής επαφής του κάθε εξεταζόμενου με το αποτέλεσμα της κάθε προσπάθειάς του όπως αυτό απεικονίζονταν στην οθόνη του ισοκινητικού δυναμόμετρου. Πριν την ισοκινητική άσκηση κάθε εξεταζόμενος πραγματοποιούσε δεκαπεντάλεπτη προθέρμανση που περιλάμβανε 8 λεπτά άσκηση σε εργοποδήλατο Monark (Monark, Vansbro, Sweden) με αντίσταση 50W και με ταχύτητα 70 στροφές το λεπτό, μυϊκές διατάσεις για 3 λεπτά καθώς και 5-6 έκκεντρες συστολές των εκτεινόντων μυών του γόνατος για εξοικείωση με το πρωτόκολλο ισοκινητικής άσκησης. Η ισοκινητική άσκηση πραγματοποιήθηκε στο ένα πόδι για την κάθε συνθήκη (P1a και NAC) με την επιλογή να είναι τυχαία.

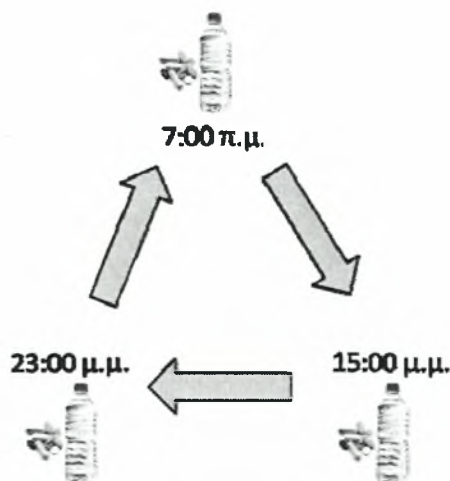


Σχήμα 12. Πρωτόκολλο άσκησης.

### Χορήγηση N-ακετυλοκυστεΐνης και Placebo

Οι εθελοντές αμέσως μετά την ολοκλήρωση του πρωτοκόλλου άσκησης και κάθε μέρα για τις επόμενες οκτώ ημέρες ανάληψης λάμβαναν N-ακετυλοκυστεΐνη ή Placebo (λακτόζη) σε δοσολογία 20 mg/Kg σωματικού βάρους σύμφωνα με ένα διπλά τυφλό σχεδιασμό. Η συνολική ημερήσια ποσότητα της NAC που λάμβανε ο κάθε εθελοντής χωριζόταν σε τρεις ισόποσες δόσεις που τις λάμβαναν κατά την άφιξή τους στο εργαστήριο στις 7.00 π.μ. και μετά από οκτώ και δεκάξι ώρες αντίστοιχα (σχήμα 13). Κάθε εθελοντής αφού συμμετείχε και στις δυο συνθήκες (λήψη NAC, λήψη P1a)

αποτέλεσε έλεγχο του εαυτού του έτσι ώστε να ελαχιστοποιηθεί η διαφοροποίηση στη βιολογική μεταβλητότητα που εμφάνισε ο καθένας από αυτούς στη λήψη του αντιοξειδωτικού. Η NAC σε μορφή σκόνης (Trebon N acetylcysteine, UNI-PHARMA, E.U.) προετοιμάστηκε με διάλυση της συγκεκριμένης μάζας της (20 mg/Kg σωματικού βάρους) σε 375 mL νερού και 125 mL μη σαχαρούχου τονωτικού ποτού. Επιπλέον προστέθηκαν 2 g γλυκόζης/δεξτρόζης σε σκόνη για να βελτιωθεί η γεύση. Σύμφωνα με την μελέτη πιλότο που έγινε όσο αφορά τη γεύση, η προσθήκη του τονωτικού ποτού και της γλυκόζης/δεξτρόζης βοήθησαν στο να μη διακρίνονται τα διαλύματα της NAC από αυτά του placebo. Το διάλυμα που παρασκευαζόταν τοποθετούνταν σε τρία μπουκάλια/ημέρα (φυλάσσονταν στο ψυγείο πριν την χορήγηση) τα οποία καταναλώνονταν από τους δοκιμαζόμενους παρουσία του ερευνητή. Κατά τον ίδιο τρόπο γινόταν και η παρασκευή του διαλύματος placebo με τη διαφορά ότι δεν περιείχε NAC. Μετά από πιλοτική χορήγηση της NAC διαπιστώθηκε ότι οι εθελοντές δεν παρουσίαζαν καθόλου παρενέργειες αν και ένας γιατρός ήταν πάντα έτοιμος να αντιμετωπίσει τυχόν ανεπιθύμητες παρενέργειες που μπορεί να εμφάνιζαν από τη λήψη της (Medved, Brown, Bjorksten & McKenna, 2004).



**Σχήμα 13.** Λήψη NAC ή Placebo.

#### *Διαιτολόγιο και διατροφική αξιολόγηση*

Η διατροφική αξιολόγηση πραγματοποιούνταν σε καθημερινή βάση καθώς κάποιες τροφές θα μπορούσαν να επηρεάσουν την συγκέντρωση της γλουταθειόνης και την αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού. Οι εθελοντές καθοδηγήθηκαν από την ερευνητική ομάδα να ακολουθήσουν τη συνηθισμένη καθημερινή τους διατροφή και ένας

διαιτολόγος τους έδειξε τον τρόπο που θα κατεγραφαν τις ποσότητες της διατροφής τους. Για τις δυο πειραματικές συνθήκες (συνθήκη NAC και συνθήκη Pla) ακολούθησαν σχεδόν το ίδιο διαιτολόγιο. Πιο συγκεκριμένα, οι συμμετέχοντες κατέγραφαν την καθημερινή τους διατροφή με ακρίβεια, ξεκινώντας πέντε μέρες πριν την εκτέλεση του πρωτοκόλλου άσκησης κατά την πρώτη συνθήκη μέχρι και την όγδοη ημέρα μετά την ολοκλήρωσή του (NAC ή Pla). Έτσι, όταν ήρθαν να εκτελέσουν τη δεύτερη συνθήκη εφάρμοσαν το διαιτολόγιο που ήδη είχαν καταγράψει. Επίσης, καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος (13 ημέρες για την 1<sup>η</sup> συνθήκη και 13 ημέρες για τη 2<sup>η</sup> συνθήκη) οι εθελοντές απείχαν από τη λήψη καφεΐνης, αλκοόλ και κάθε άλλου διατροφικού συμπληρώματος και φαρμακευτικού σκευάσματος. Τα διαιτητικά χαρακτηριστικά της διατροφής τους αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας ένα διατροφικό σύστημα ανάλυσης της Science Fit Diet 200A (Science Technologies, Athens, Greece).

### ***Σωματομετρικές μετρήσεις***

Μετρήθηκε το σωματικό βάρος και ύψος των συμμετεχόντων καθώς και το σωματικό τους λίπος. Το σωματικό βάρος μετρήθηκε με ακρίβεια μισού κιλού (0.5 Kg) χρησιμοποιώντας ένα μηχανικό ζυγό (Beam Balance 710, Seca, UK). Στους εξεταζόμενους δόθηκε η οδηγία να σταθούν στο κέντρο του ζυγού και να καταλείψουν το βάρος τους εξίσου και στα δύο πόδια. Το σωματικό ύψος μετρήθηκε στο πλησιέστερο μισό εκατοστό (0.5 cm) με χρήση αναστημόμετρου (Stadiometer 208, Seca, UK). Η μέτρηση του ύψους έγινε σε όρθια θέση με τις φτέρνες ενωμένες και τα πέλματα να σχηματίζουν γωνία περίπου 60°. Στους δοκιμαζόμενους δόθηκε η οδηγία οι φτέρνες, οι γλουτοί και το πάνω μέρος της πλάτης να ακουμπούν στο αναστημόμετρο και να κοιτούν ευθεία μπροστά. Αμέσως μετά, έπαιρναν βαθιά αναπνοή την οποία και κρατούσαν, έως ότου ο εξεταστής κατέβαζε την επίπεδη επιφάνεια όσο μπορούσε, συμπιέζοντας τα μαλλιά. Στη συνέχεια καταγραφόταν το ύψος που αναγραφόταν στο αναστημόμετρο. Για τον υπολογισμό του Δείκτη Σωματικής Μάζας (ΔΣΜ), χρησιμοποιήθηκαν οι τιμές από το ύψος από όρθια θέση εκφρασμένο σε μέτρα (m) και το σωματικό βάρος εκφρασμένο σε κιλά (Kg). Ακολούθως υπολογίστηκε με βάση τον τύπο  $\Delta\Sigma\text{M (Kg/m}^2\text{)} = \text{σωματικό βάρος (Kg)}/\text{ύψος}^2\text{ (m}^2\text{)}$ .

Η μέτρηση του ποσοστού σωματικού λίπους, της μάζας του λιπώδη ιστού και της μυϊκής μάζας έγινε με τη μέθοδο της απορροφησιομετρίας διπλής ενέργειας ακτίνων X



(DXA) (Lunar, DPX-MD scanner DXA model DPXL, LUNAR Radiation, Madison, WI, USA) όπως έχει ήδη περιγραφεί (Levine, et al. 2000).

Όλες οι αξιολογήσεις των ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών έγιναν σύμφωνα με τις οδηγίες της Αμερικανικής Αθλητιατρικής Εταιρείας (ACSM, 2002), το πρωί μετά από ολονύκτια νηστεία. Οι συμμετέχοντες μετρήθηκαν χωρίς υποδήματα και με ελαφρύ ντύσιμο.

### ***Μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου***

Η μέτρηση της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου πραγματοποιήθηκε σε εργοδιάδρομο (Marathon, Medical technology, LTD) χρησιμοποιώντας το πρωτόκολλο των Paschalis και συν. (2005). Σύμφωνα με το πρωτόκολλο, η αρχική επιβάρυνση τέθηκε στα 9 km/h και κάθε δύο λεπτά αυξανόταν κατά 1 Km/h (η κλίση παρέμεινε μηδενική καθ' όλη τη διάρκεια της μέτρησης). Για την αξιολόγηση χρησιμοποιήθηκε αυτόματος αναλυτής αερίων (SensorMedics 2900c, SensorMedics Corporation, USA). Ο μετρητής της ροής βαθμονομήθηκε με έγχυση 3 λίτρων αέρα, χρησιμοποιώντας ειδική σύριγγα. Η μονάδα περιλάμβανε μετατροπέα των όγκων οξυγόνου και διοξειδίου του άνθρακα, αισθητήρα θερμοκρασίας (θερμόμετρο) και μετατροπέα πίεσης. Η βαθμονόμηση των αναλυτών οξυγόνου και διοξειδίου του άνθρακα πραγματοποιούνταν με αέρια ακριβείας εμπορίου (16% O<sub>2</sub>, 4% CO<sub>2</sub>, ισορροπία N<sub>2</sub>, Sensormedics, Calif., USA). Η βαθμονόμηση πραγματοποιούνταν πριν την αξιολόγηση, ώστε να υπάρχει βεβαιότητα για τα δεδομένα της. Για τον υπολογισμό των όγκων του οξυγόνου και του διοξειδίου του άνθρακα χρησιμοποιήθηκε σύστημα ανοικτής σπειρομέτρησης, ο υπολογισμός τους πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο breath by breath (ανά 30 δευτερόλεπτα). Καθ' όλη τη διάρκεια μέτρησης αλλά και για 15 λεπτά μετά την ολοκλήρωσή της, γινόταν καταγραφή της καρδιακής συχνότητας με καρδιοσυχνόμετρο τύπου Polar 625x (Electro polar, Kempele, Finland), της αρτηριακής πίεσης με μηχανικό πιεσόμετρο και της υποκειμενικής αίσθησης της κόπωσης με την κλίμακα Borg. Για να διαπιστωθεί ότι έχει επιτευχθεί η καταγραφή της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου (VO<sub>2max</sub>) έπρεπε να ικανοποιείται τουλάχιστον ένα από τα ακόλουθα κριτήρια: α) ή να εμφανιστεί πλατό στην VO<sub>2</sub> παρά την αύξηση της ταχύτητας στον εργοδιάδρομο, β) ή οι τιμές στο αναπνευστικό πηλίκο να ξεπεράσουν την τιμή 1.10, γ) ή να εμφανιστεί πλατό στην καρδιακή συχνότητα, δ) ή να εξαντληθεί ο δοκιμαζόμενος (ACSM, 2006). Οι δοκιμαζόμενοι δεν εμφάνισαν στηθαγχικά συμπτώματα, υπερβολική αύξηση της αρτηριακής πίεσης ή συμπτώματα δυσφορίας. Πριν

τη μέτρηση ο δοκιμαζόμενος έκανε προθέρμανση στον διάδρομο για πέντε λεπτά και διατατικές ασκήσεις για άλλα 3 λεπτά.

#### *Αξιολόγηση, μη-βιοχημικών, δεικτών μυϊκού τραυματισμού*

*Καθυστερημένος μυϊκός πόνος (DOMS).* Για την αξιολόγηση του DOMS χρησιμοποιήθηκε η ομώνυμη κλίμακα. Πρόκειται για ένα ερωτηματολόγιο με κλίμακα από το 1 έως το 10, όπου το 1 σημαίνει μία φυσιολογική κατάσταση χωρίς πόνο και το 10 δηλώνει έντονο πόνο (Σχήμα 14). Ο εθελοντής ενώ βρισκόταν σε καθιστή θέση με τον τετρακέφαλο μυ χαλαρό, αντιστοιχούσε τον πόνο που αισθανόταν στον μυ όταν του ασκούσαν πίεση ( Paschalis, Koutedakis, Baltzopoulos, Mougios, Jamurtas & Theoharis, 2005).

#### **ΚΛΙΜΑΚΑ ΚΑΘΥΣΤΕΡΗΜΕΝΟΥ ΜΥΙΚΟΥ ΠΟΝΟΥ (DOMS)**

<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
<b>Φυσιολογικός</b>	<b>Ενοχλητικός</b>			<b>Επίπονος</b>			<b>Πολύ Επίπονος</b>		

**Σχήμα 14.** Κλίμακα για την εκτίμηση του καθυστερημένου μυϊκού πόνου.

*Έυρος κίνησης γόνατος (δείκτης οιδήματος του ασκούμενου ποδιού).* Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε με ηλεκτρονικό γωνιόμετρο (Saunders Digital Inclinator) ενώ ο εθελοντής βρισκόταν σε πρηνή κατάκλιση με το πόδι όπου θα γινόταν η αξιολόγηση σε ελαφριά κάμψη σύμφωνα με τη μέθοδος των Norkin & White (1985). Το γωνιόμετρο τοποθετούνταν πάνω στην κνήμη του και στη συνέχεια εκτελούσε πλήρη κάμψη στην άρθρωση του γόνατος διατηρώντας την ακραία θέση για 2-3 sec. Πραγματοποιήθηκαν τρεις προσπάθειες και η καλύτερη καταγράφηκε ως η επίδοσή του.

*Αξιολόγηση Μυϊκής απόδοσης.* Για την αξιολόγηση της μυϊκής απόδοσης του ασκούμενου ποδιού χρησιμοποιήθηκε το ισοκινητικό μηχάνημα στο οποίο έγινε η άσκηση (Isoforce). Οι εθελοντές τοποθετήθηκαν στο μηχάνημα με τον ίδιο ακριβώς τρόπο όπως και κατά το έκκεντρο πρωτόκολλο άσκησης και πραγματοποίησαν την ίδια προθέρμανση. Στη συνέχεια μετρήθηκε η μέγιστη έκκεντρη δύναμη στις 60 °/sec. Έγιναν τρεις προσπάθειες με ένα λεπτό διάλειμμα ανάμεσα. Οι εθελοντές είχαν οπτική παρακίνηση

μέσω της οθόνης του ισοκινητικού δυναμόμετρου και ταυτόχρονα ενθαρρύνονταν λεκτικά κατά τη διάρκεια των προσπαθειών τους. Το δυναμόμετρο πριν από κάθε αξιολόγηση βαθμονομήθηκε σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Πριν την πραγματοποίηση της μελέτης έγινε πιλοτική αξιολόγηση της αξιοπιστίας των μετρήσεων του δυναμόμετρου. Πιο συγκεκριμένα σε 10 εθελοντές (n=10) μετρήθηκε δυο φορές η μέγιστη έκκεντρη ροπή στις 60 °/sec σε διάστημα 7 ημερών (την ίδια ώρα της ημέρας) στο ισχυρό πόδι (σχήμα 15). Οι συντελεστές διακύμανσης μεταξύ των επαναλαμβανόμενων μετρήσεων ήταν στο 0,98 και 0,95 αντίστοιχα.

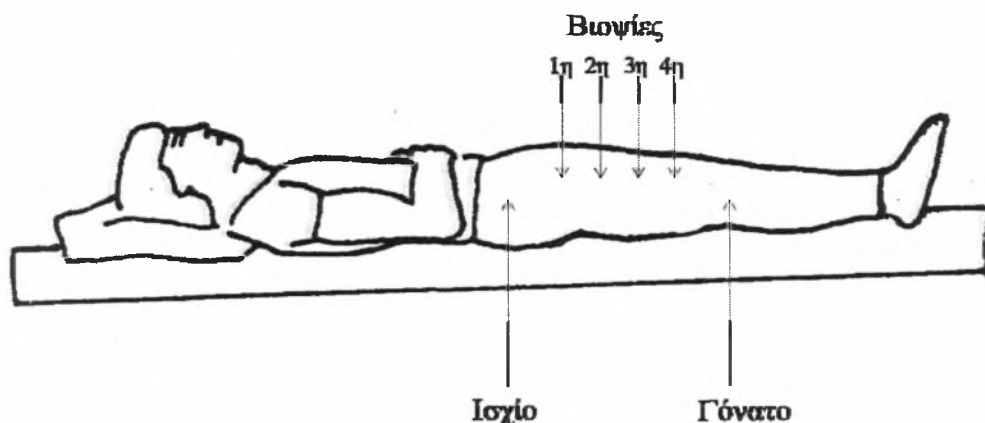


**Σχήμα 15.** Σχεδιασμός πιλοτικής έρευνας για την αξιολόγηση της αξιοπιστίας των μετρήσεων του δυναμόμετρου.

### ***Βιοψίες και διαχείριση τους***

*Λήψη μυϊκής βιοψίας.* Η μυϊκή βιοψία πραγματοποιήθηκε στην περιοχή του μηρού (στον έξω πλατύ μυ) από εκπαιδευμένο γιατρό (χειρουργός) χρησιμοποιώντας μία πλήρως αποστειρωμένη βελόνα, ενώ ο εθελοντής ήταν ξαπλωμένος σε ύπτια θέση πάνω σε ιατρικό κρεβάτι. Όλες οι βιοψίες λήφθηκαν με βελόνα, με τον τρόπο που περιγράφηκε από τον Bergstrom (1962) με την χρήση αναρρόφησης (Evans, Phinney & Young, 1982). Η 1<sup>η</sup> μυϊκή βιοψία έγινε στον έξω πλατύ μηριαίο μυ, περίπου 30 εκατοστά πάνω από την επιγονατίδα, ενώ η 2<sup>η</sup>, η 3<sup>η</sup> και η 4<sup>η</sup> στα 3, 6 και 9 εκατοστά πιο κάτω, αντίστοιχα (σχήμα 16). Η περιοχή της τομής αφού ξυρίστηκε (χρησιμοποιήθηκε αποστειρωμένο ξυραφάκι), καλύφθηκε με ειδικό χειρουργικό πεδίο και απολυμάνθηκε προσεχτικά με αντισηπτικό. Στη συνέχεια, έγινε ένεση μικρής ποσότητας τοπικού αναισθητικού (Inj. Sol. Xylocaine 1% σε ποσότητα 2.5-3 cc ανά μυϊκή βιοψία) κάτω από το δέρμα (δύο ενέσεις ανά άτομο ανά βιοψία, η μία ήταν επιφανειακή και η δεύτερη σε λίγο μεγαλύτερο βάθος, χωρίς όμως να διαπερνάει το επιμύϊο). Στη συνέχεια και αφού άρχισε η δράση της χορηγούμενης ξυλοκαΐνης, πραγματοποιήθηκε μια μικρή τομή (0.5 εκατοστά) στο δέρμα με νυστέρι μίας χρήσης για να δημιουργηθεί το άνοιγμα για τη μυϊκή βιοψία. Στη συνέχεια έγινε εισαγωγή της βελόνας στην τομή. Όταν η βελόνα διαπερνούσε το επίμυο, ο γιατρός έδινε εντολή ώστε ένας βοηθός να αρχίσει να τραβάει το έμβολο του μηχανισμού αναρρόφησης, ώστε

να αποσπαστεί μεγαλύτερο κομμάτι (120 – 180 mg). Έπειτα η βελόνα αποσυρόταν και ο βοηθός πραγματοποιούσε την προετοιμασία των δειγμάτων (περιγράφεται παρακάτω). Μετά τη βιοψία για τη σύγκλιση του τραύματος χρησιμοποιήθηκαν ράμματα “nylon” 3.0 ή “sterile strips”. Επιπλέον επάνω στην τομή τοποθετούνταν βαζελινούχα γάζα “Fucidin” για αποστείρωση καθώς και αυτοκόλλητη γάζα. Μία εβδομάδα μετά, ο γιατρός που έκανε τη μυϊκή βιοψία έλεγχε την πορεία της επούλωσης.



Σχήμα 16. Σημεία λήψης μυϊκών βιοψιών.

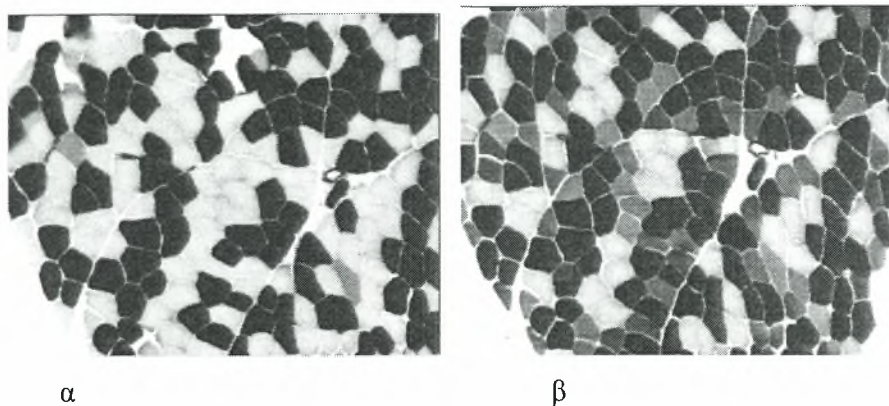
*Προετοιμασία δειγμάτων μετά την λήψη βιοψίας.* Μετά την εξαγωγή της βελόνας της βιοψίας από τον έξω πλατύ μυ, ο μυϊκός ιστός μεταφέρονταν με αποστειρωμένη τσιμπίδα πάνω σε διαμορφωμένο πάγκο εργασίας. Στη συνέχεια, το δείγμα χωρίζονταν σε 2 μέρη. Το πρώτο μέρος έμπαινε αμέσως σε υγρό άζωτο, για την αρχική μέτρηση των επιπέδων της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών των μοριακών μονοπατιών της AKT-mTOR, MAPK και NF-κB και αποθηκεύονταν σε πλαστικό σωληνάριο τύπου «falcon» το οποίο και τοποθετούνταν μέσα στο δοχείο με το υγρό άζωτο. Το δεύτερο μέρος της βιοψίας, τοποθετούνταν πάνω σε ειδικό πλακίδιο με τέτοιο τρόπο ώστε οι μυϊκές ίνες να είναι παράλληλες μεταξύ τους. Για την άμεση ψύξη του χρησιμοποιούνταν αντιδραστήριο με το όνομα freezing reagent. Στη συνέχεια, το δείγμα βυθιζόταν σε δοχείο με ισοπεντάνιο (σημείο τήξης). Έπειτα, το παγωμένο πια δείγμα τοποθετούνταν σε «falcon» και στη συνέχεια στον υπερκαταψύκτη στους (-80°C).

*Προετοιμασία των δειγμάτων για τις ιστοχημικές αναλύσεις.* Η προετοιμασία των δειγμάτων για τις ιστοχημικές αναλύσεις γινόταν με τη χρήση της κρουτόμου (Leica

CM1510 S, Wetzlar, 35578 Germany). Τα δείγματα των βιοψιών μεταφέρονταν από την υπερκατάψυξη στο θάλαμο της κρυοτόμου (-20°C) μέσα σε δοχείο με υγρό άζωτο. Στη συνέχεια, κάθε δείγμα τοποθετούνταν στο ειδικό στήριγμα της κρυοτόμου με τέτοιο τρόπο ώστε η εγκάρσια επιφάνεια των δειγμάτων να είναι κάθετη ως προς το έδαφος. Η στερέωση του δείγματος πάνω στο στήριγμα γινόταν με την χρήση ειδικής κόλλας, η οποία πάγωνε στους -80°C με χρήση του αντιδραστηρίου freezing reagent. Η κοπή των τομών ρυθμιζόταν στα 10 μm. Η επεξεργασία των δειγμάτων για τις αναλύσεις περιελάμβανε:

*A) Επεξεργασία για την χρώση της ΑΤΡάσης:* Για την μέτρηση των εγκάρσιων επιφανειών, της διαμέτρου και των παραγόντων ατροφίας-υπερτροφίας όλων των τύπων μυϊκών ινών (τύπου I, IIα και IIx) πραγματοποιούνταν ιστοχημική χρώση της ΑΤΡάσης. Έπειτα από την τοποθέτηση του δείγματος πάνω στην κρυοτόμο, ακολουθούσε η κοπή των δειγμάτων για την ανάλυση της ΑΤΡάσης. Για κάθε δείγμα χρησιμοποιούνταν 2 πλακάκια, ένα για pH 4.3 και ένα για pH 4.6 (των Brooke και Kaiser (1970 a,b). Συγκεκριμένα, έγινε ιστοχημική ανάλυση των ινών σε pH 4.3 ώστε να γίνει διαχωρισμός των ινών τύπου I (στην εικόνα 17α φαίνονται ως μαύρες) από τις ίνες τύπου II (λευκές ίνες της εικόνας 17α), ενώ η ανάλυση σε pH 4.6 έγινε για περαιτέρω διαχωρισμό των ινών τύπου II σε ίνες τύπου IIα (λευκές στην εικόνα 17β) και IIx (γκρίζες στην εικόνα 17β). Μετά την κοπή, οι τομές τοποθετούνταν στα πλακάκια και ελέγχονταν στο μικροσκόπιο για το εάν ήταν σωστά τοποθετημένες (να μην υπάρχουν διπλώσεις). Όσα πλακάκια ήταν έτοιμα φυλάσσονταν στο ψυγείο, στους 4°C, μέχρι να τελειώσει η διαδικασία για όλα τα πλακάκια. Τότε τοποθετούνταν προσεχτικά σε ειδικά κουτιά και αποθηκεύονταν στους -80°C.





**Σχήμα 17.** Διάκριση μυϊκών ινών: α) διαχωρισμός των ινών λόγω του διαλύματος με pH 4,3. Σε αυτό το pH οι μαύρες ίνες είναι τύπου I ενώ οι λευκές είναι τύπου II, και β) διαχωρισμός των ινών λόγω του διαλύματος με pH 4,6. Σε αυτό το pH οι μαύρες ίνες είναι τύπου I, οι γκριζες τύπου IIIx ενώ οι λευκές είναι τύπου IIIa.

*Διαλύματα που παρασκευάστηκαν για τις ιστοχημικές αναλύσεις. Διαλύματα pH:* Τα διαλύματα των δύο pH που χρησιμοποιούνταν για την χρώση της ATPάσης, ήταν παρόμοια, με την μόνη διαφοροποίηση στο pH τους. Για κάθε 20 mL διαλύματος χρησιμοποιούνταν 5 mL Barbitol Acetate (1.47gr Sodium Barbitol Solution, 0.97gr Sodium Acetate 3- hydrate και 50 mL dH<sub>2</sub>O), 10 mL 0,1N HCL [10 mL 1N HCL (10.4 mL πυκνού HCL σε 125mL dH<sub>2</sub>O) σε 90 mL dH<sub>2</sub>O] και 5 mL dH<sub>2</sub>O. Αφού παρασκευάστηκαν τα δύο διαλύματα ρυθμίζονταν το pH τους με την χρήση pHμέτρου, το ένα σε pH 4.3 και το άλλο σε pH 4.6. Για την ρύθμιση του pH των διαλυμάτων χρησιμοποιήθηκαν 4 διαλύματα τα οποία ήταν: α) 1N HCL, β) 0.1N HCL, γ) 1N NaOH (4 gr NaOH σε 100 mL dH<sub>2</sub>O) και δ) 0.1N NaOH (10 mL 1N NaOH σε 90 mL dH<sub>2</sub>O).

*Διάλυμα A:* 20 mL διαλύματος αποτελούνταν από 4 mL 0,1M Sodium Barbitol (2.06 gr Sodium Barbitol Solution σε 100 mL dH<sub>2</sub>O), 4 mL 0,18M Calcium Chloride (CaCl<sub>2</sub>, 2.6 gr Calcium Chloride σε 100 mL dH<sub>2</sub>O) και 12 mL dH<sub>2</sub>O. Μετά την παρασκευή του ρυθμίστηκε το pH του στο 9.4. Για την ρύθμιση αυτή χρησιμοποιήθηκαν τα ίδια διαλύματα που περιγράφηκαν παραπάνω.

*Διάλυμα B:* 20 mL διαλύματος, αποτελούνταν από 4 mL 0.1M Sodium Barbitol, 2mL 0.18M Calcium Chloride, 14 mL dH<sub>2</sub>O και τέλος 50 mg ATPάσης. Μετά την παρασκευή του διαλύματος έγινε ρύθμιση του pH στο 9.4.

*Διάλυμα Calcium Chloride (CaCl<sub>2</sub>) 1%:* Διαλύθηκε 1 g CaCl<sub>2</sub> σε dH<sub>2</sub>O με τελικό όγκο τα 100 mL.

*Διάλυμα Cobalt Chloride (CoCl<sub>2</sub>) 2%:* Διαλύθηκαν 2 g CoCl<sub>2</sub> σε dH<sub>2</sub>O με τελικό όγκο τα 100 mL.

*Διάλυμα Αμμωνίας (Ammonium Sulfide):* Το διάλυμα έγινε από 2 mL Ammonium Sulfide και 98 mL dH<sub>2</sub>O.

*Διάλυμα Ηωσίνης 5%:* Διαλύθηκαν 5 g Ηωσίνης σε dH<sub>2</sub>O με τελικό όγκο τα 100 mL.

Τα διαλύματα των αλκοολών και της ξυλόλης ήταν έτοιμα.

*Διαδικασία πραγματοποίησης της χρώσης της ΑΤΡάσης.* Για κάθε δείγμα χρησιμοποιούνταν δύο πλακάκια, ένα για το διάλυμα με pH 4.3 και ένα για pH 4.6 με προσθήκη των διαλυμάτων των pH στα αντίστοιχα πλακάκια. Στο πρώτο διάλυμα επωαζόταν για 5 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Ύστερα από τα 5 λεπτά απομακρύνονταν το διάλυμα αυτό και γινόταν προσθήκη του διαλύματος Α με το οποίο επωαζόταν για 15 λεπτά. Στη συνέχεια απομακρύνονταν και αυτό το διάλυμα και γινόταν προσθήκη του διαλύματος Β (διάλυμα ΑΤΡάσης) στο οποίο ακολουθούσε επώαση για 45 λεπτά.

Μετά τα 45 λεπτά της επώασης του διαλύματος Β πάνω στα πλακάκια, το διάλυμα απομακρύνονταν και γινόταν πλύση με την χρήση του διαλύματος Calcium Chloride 1%. Αναλυτικά, έγιναν 3 ανανεώσεις αυτού του διαλύματος, όπου η κάθε μία παρέμενε μέσα στο δοχείο με τα πλακάκια για 3 λεπτά και κάθε φορά γινόταν ανάδευση. Μετά την 3<sup>η</sup> φορά και αφού απομακρύνονταν το διάλυμα από το δοχείο γινόταν μια πλύση των πλακιδίων με απιονισμένο νερό (dH<sub>2</sub>O). Ακολούθως, μέσα στα δοχεία τοποθετούνταν το διάλυμα του Cobalt Chloride 2%, το οποίο παρέμενε για 3 λεπτά. Έπειτα ακολουθούσε πλύσιμο των πλακιδίων με διάλυμα 0.1 M Sodium Barbitol και μετά ξέβγαλμα με νερό βρύσης για 5 φορές και τέλος με dH<sub>2</sub>O για 2 φορές.

Σειρά έπειτα είχε η προσθήκη στα δοχεία του διαλύματος της αμμωνίας, η οποία παρέμενε στα δοχεία για 25 δευτερόλεπτα και ακολουθούσαν 4 ξεβγάλματα με dH<sub>2</sub>O. Έπειτα ακολουθούσε ξέβγαλμα με νερό βρύσης και η τοποθέτηση τους σε μια σειρά από διαλύματα αλκοόλης (70% αλκοόλη, 90% αλκοόλη, 95% αλκοόλη, 100% αλκοόλη) και τέλος στα δύο διαλύματα της ξυλόλης. Τα πλακάκια σε κάθε ένα από τα παραπάνω διαλύματα παρέμειναν για 3 λεπτά. Τέλος, ύστερα και από τα 3 λεπτά στην τελευταία ξυλόλη, πάνω στα πλακάκια τοποθετούνταν καλύπτρες, οι οποίες στερεώνονταν με τη χρήση κόλλας (DPX) και τα δείγματα παρατηρούνταν στο μικροσκόπιο.

*Ανάλυση των δειγμάτων μετά την χρώση της ATPάσης.* Το τελικό στάδιο αυτής της διαδικασίας ήταν η μέτρηση των εγκάρσιων επιφανειών των διάφορων ινών, η διευκρίνιση των ποσοστών τους, ο καθορισμός του ποσοστού του μυός που καταλαμβάνει ο κάθε τύπος μυϊκής ίνας. Οι μετρήσεις αυτές πραγματοποιούνταν μέσω του προγράμματος ImagePro (Media Cybernetics Inc, Silver Spring, MD, USA). Συγκεκριμένα, μετά από ψηφιοποίηση και αποθήκευση όλων των εικόνων, πραγματοποιούνταν η ανάλυση της κάθε φωτογραφίας για τις εγκάρσιες επιφάνειες των μυϊκών ινών (CSA). Με την ολοκλήρωση της μέτρησης των εγκάρσιων επιφανειών για τις ίνες ίδιου τύπου, τα δεδομένα αποθηκεύονταν για την περαιτέρω ανάλυση τους.

*Μέτρηση της διείσδυσης των μακροφάγων στα μυϊκά κύτταρα.* Η μέτρηση της διείσδυσης των μακροφάγων πραγματοποιούνταν μέσω της δέσμευσης του μονοκλωνικού αντισώματος CD68. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνταν κομμάτια του μυός που κόβονταν εγκάρσια στην κρυοτόμο σε πάχος έξι  $\mu\text{m}$  (KP1-70761, Santa Cruz, California, USA, 1:50). Τα δείγματα αφού ξηραίνονταν με τη χρήση αέρα επώαζονταν με το αντίσωμα για 1 ώρα. Ακολουθούσε επώαση μισής ώρας με τον παράγοντα anti -mouse Ig και άλλης μισής ώρας με τον παράγοντα avidin peroxidase (Mouse ExtrAvidin® Peroxidase Staining Kit, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Η περοξειδάση εντοπιζόταν με τη χρήση του υποστρώματος 3-αμινο-9-εθυλκαρβαζόλη (AEC) (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) το οποίο παρασκευάζονταν σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Η επώαση με το διάλυμα του υποστρώματος γινόταν για 5-10 λεπτά. Τα δείγματα στη συνέχεια τοποθετούνταν σε ζελατινές γλυκερόλης. Ιστός από τις αμυγδαλές χρησιμοποιούνταν σε κάθε δείγμα ως έλεγχος. Η ταυτοποίηση του αριθμού των μακροφάγων σε κάθε δείγμα γινόταν από δυο ερευνητές οι οποίοι δεν γνώριζαν την ταυτότητα του δείγματος. Η μέση τιμή των δυο μετρήσεων χρησιμοποιήθηκε στις στατιστικές αναλύσεις. Τα μακροφάγα εκφράζονταν ως ο συνολικός αριθμός των θετικών κυττάρων δια του συνολικού αριθμού των μυϊκών ινών κάθε δείγματος (Manta et al., 2006).

*Μέτρηση των φωσφορυλιωμένων πρωτεϊνών των μεταγωγικών μονοπατιών.* Τα αντισώματα που χρησιμοποιούνταν ήταν το μονοκλωνικό anti-phospho-Akt<sup>Ser473</sup>, και τα πολυκλωνικά anti-phospho-MTOR<sup>Ser2448</sup>, το p70S6K<sup>Thr389</sup>, το p38MAPK<sup>Thr180/Tyr182</sup> και του

TNF- $\alpha$ , της εταιρείας Cell Signaling Technology Inc. (Beverly, MA, U.S.A.). Το μονοκλωνικό  $\alpha$ -tubulin ήταν της εταιρείας Sigma Aldrich Corp. (St. Louis, MO, U.S.A.). Το δευτερεύον αντίσωμα anti-rabbit/mouse και τα αντιδραστήρια ήταν των εταιρειών Amersham Biosciences (Buckinghamshire, U.K.) και Pierce Biotechnology (Rockford, IL, U.S.A.).

*Διαδικασία μέτρησης των ενδοκυτταρικών πρωτεϊνών (Akt, mTOR, p70S6K, p38MAPK, TNF- $\alpha$ ).* Τα δείγματα ομογενοποιήθηκαν σε παγωμένο buffer με την παρακάτω σύσταση (50mM Tris-HCL, pH 7.5, 1mM EDTA, 1mM EGTA, 10% glycerol, 1% triton-X, 50mM sodium fluoride, 5mM Na pyrophosphate, 1mM dithiothreitol (DTT), 10 $\mu$ g/mL trypsin inhibitor, 2 $\mu$ g/mL aprotinin, 1mM benzamidine and 1mM phenylmethylsulfonyl fluoride). Το προϊόν της κυτταρολυσίας φυγοκεντρήθηκε στα 12.000 g για 20 λεπτά στους 4 C°. Οι συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών καθορίστηκαν με τη χρήση ενός kit πρωτεϊνών BCA (Pierce, Rockford, IL, U.S.A.). Ο διαχωρισμό των πρωτεϊνών έγινε με τη χρήση ηλεκτροφόρησης (SDS/PAGE) και στη συνέχεια μεταφέρθηκαν σε μεμβράνες polyvinylidene difluoride (PVDF) (Bio-Rad, Hercules, CA, U.S.A.). Οι μεμβράνες σφραγίστηκαν με σχετικό αντιδραστήριο (5% non-fat milk/TBS-T) για 90 λεπτά. Όλα τα βασικά αντισώματα επώαστηκαν στη διάρκεια της νύχτας στους 4 C°. Οι μεμβράνες ξεπλύθηκαν πριν την χρήση των αντιδραστηρίων και προσδιορίστηκαν ποσοτικά με πυκνόμετρο (Bio-Rad Chemidoc). Όλες οι τιμές πυκνότητας εκφράστηκαν στη συνέχεια σε σχέση με το δείγμα ελέγχου που χρησιμοποιήθηκε με το αντίσωμα  $\alpha$ -tubulin.

*MyoD.* Η πρωτεΐνη MyoD Santa Cruz (M-318, Santa Cruz, CA, USA) αραιώθηκε σε αναλογία 1:200 με διάλυμα 5% BSA+TBST. Το δευτερεύον αντίσωμα goat anti-rabbit IgG αραιώθηκε σε αναλογία 1:5.000 σε PBS που περιείχε 50% Odyssey® blocking buffer (LI-COR Biosciences, Lincoln, USA) και 0.01% SDS. Η πρωτεΐνη GAPDH (G8795, Sigma-Aldrich, Sydney, Australia) αραιώθηκε σε αναλογία 1:1000 με διάλυμα 5% BSA+TBST. Το δευτερεύον αντίσωμα rabbit anti-mouse IgG αραιώθηκε σε αναλογία 1:5.000 σε PBS που περιείχε 50% Odyssey® blocking buffer (LI-COR Biosciences, Lincoln, USA) και 0.01% SDS. Μετά το πλύσιμο οι πρωτεΐνες αναλύθηκαν μέσω ενός υπολογιστικού προγράμματος (Odyssey® Infrared Imaging System, LI-COR Biosciences, Lincoln, USA). Το GAPDH χρησιμοποιήθηκε ως έλεγχος στη θέση της ακτίνης που χρησιμοποιήθηκε για τις άλλες πρωτεΐνες.

*Μέτρηση των τριχοειδών αγγείων.* Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για τη χρώση του επιθηλίου των τριχοειδών αγγείων ονομάζεται PAS A-amylase. Μετά τη χρώση εμφανίστηκε το περίγραμμα των μυϊκών ινών και τα τριχοειδή αγγεία με ροζ χρώμα, ενώ το σώμα των μυϊκών ινών είχε λευκό χρώμα.

*Διάλυμα FIX:* Σε 8 mL Αιθανόλης (100%) προστέθηκαν 1.5 mL Χλωροφόρμιο και 0.5 mL Acetic Acid.

*Διάλυμα Περιοδικού Οξέως 0.5%:* Διαλύθηκαν 50 mg Περιοδικό οξύ σε 10 mL dH<sub>2</sub>O.

*Διάλυμα A-amylase:* Έτοιμο από την εταιρία Sigma (Sigma a-6755).

*Διάλυμα Schiff:* Έτοιμο από την εταιρία Sigma (Sigma c.n. 395-2-016), (αποθήκευση στους 4° C, χρήση σε θερμοκρασία δωματίου).

Για την μέτρηση αρχικά διαλέχθηκαν τα πλακάκια που επρόκειτο να χρησιμοποιηθούν και έγινε απόψυξή τους σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν για επώαση 10 λεπτών στο δοχείο που περιείχε το διάλυμα FIX. Ακολούθησε ξέπλυμα των πλακιδίων με dH<sub>2</sub>O για 15 φορές. Μετά από τον καθαρισμό αυτόν τοποθετήθηκαν τα πλακίδια σε box (το οποίο περιείχε dH<sub>2</sub>O). Έπειτα τα πλακίδια τοποθετήθηκαν για επώαση στο διάλυμα της A-amylase για 1 ώρα στους 37 °C. Ακολούθως προστέθηκε το διάλυμα Schiff στους 37° C και μετά από 1 ώρα επώαση έγινε ξέπλυμα των πλακιδίων με dH<sub>2</sub>O για 15 φορές. Στο επόμενο βήμα τα πλακίδια τοποθετήθηκαν σ' ένα δοχείο με το περιοδικό οξύ 0.5% για 20 λεπτά. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε ξέπλυμα των πλακιδίων 15 φορές με dH<sub>2</sub>O. Έπειτα τα πλακίδια τοποθετήθηκαν σε δοχείο με το διάλυμα Schiff για 15 λεπτά στους 37 °C. Μετά από αυτή την επώαση ακολούθησε Tap-Water, τουλάχιστον για 10 λεπτά. Έπειτα τα πλακίδια τοποθετήθηκαν σε διάλυμα αλκοόλης και ξυλόλης διαδοχικά (3 λεπτά σε κάθε διάλυμα). Τέλος μετά την ξυλόλη προστέθηκε μια σταγόνα DPX, καλύφθηκαν με τις καλυπτρίδες και παρατηρήθηκαν στο μικροσκόπιο.

#### ***Αιμοληψία και διαχείριση των δειγμάτων***

Για κάθε μια από τις συνθήκες (NAC ή Pla) λήφθηκαν από κάθε εθελοντή έντεκα δείγματα αίματος των 16 mL από τη μεσοβασιλική φλέβα σε καθιστή θέση μετά από ολονύκτια νηστεία. Δειγματοληψίες έγιναν πριν την άσκηση (δείγμα ηρεμίας), αμέσως και



δύο ώρες μετά την άσκηση και μία, δύο, τρεις, τέσσερις, πέντε, έξι, επτά και οκτώ ημέρες μετά.

Για τη συλλογή ορού συλλέχθηκαν 6 mL αίματος που μοιράστηκαν σε δύο σωληνάρια SST. Αυτά παρέμειναν για 20 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια φυγοκεντρήθηκαν στις 3.500 στροφές για 15 λεπτά στους 4°C. Το υπερκείμενο υγρό συλλέχθηκε σε πολλαπλά σωληνάρια erpendorf που καταψύχθηκαν στους -75 °C μέχρι την ημέρα της μέτρησης.

Επιπλέον 7 mL αίματος διοχετεύθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες με αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (EDTA) για την παρασκευή πλάσματος και αιμολύματος ερυθρών αιμοσφαιρίων. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στις 2.800 στροφές για 10 λεπτά στους 4°C και το υπερκείμενο υγρό (πλάσμα) συλλέχθηκε σε πολλαπλά σωληνάρια erpendorf που καταψύχθηκαν στους -80°C μέχρι την ημέρα της μέτρησης.

Για τη μέτρηση του γαλακτικού οξέος (πριν και αμέσως μετά την άσκηση), έγινε λήψη επιπλέον 14 μl τριχοειδικού αίματος τα οποία αναμείχθηκαν με 140 μl υπερχλωρικού οξέος (HClO<sub>4</sub>). Ακολούθησε έντονη ανάδευση και αποθήκευση στους -80°C μέχρι την ημέρα της μέτρησης.

Τέλος, 2 mL αίματος τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες με αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (EDTA) για τη μέτρηση της γενικής αίματος.

Ο υπολογισμός της μεταβολής του όγκου του πλάσματος μετά την άσκηση σε σχέση με πριν έγινε σύμφωνα με την εξίσωση των Dill και Costill, (1974).

*Γενική αίματος.* Η γενική αίματος πραγματοποιήθηκε εντός 24 ωρών από τη δειγματοληψία με τη χρήση αυτόματου αιματολογικού αναλυτή (Sysmex K-1000 autoanalyzer, TOA Electronics, Japan).

*Μέτρηση γαλακτικού οξέος.* Η μέτρησή του έγινε σπεκτροφωτομετρικά με τη χρήση ενζυμικής μεθόδου και αντιδραστήρια της εταιρίας Sigma Chemicals (St. Louis, Missouri, USA).

*Μέτρηση κρεατινικής κινάσης.* Η κρεατινική κινάση (CK) μετρήθηκε στον χημικό αναλυτή Cobas Integra Plus-400 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

*Μέτρηση της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP).* Η μέτρηση της CRP έγινε με τη χρήση αντιδραστηρίων Cobas Integra 800 Clinical Chemistry System (Roche Diagnostics, Germany).

*Μέτρηση μορίων συγκόλλησης.* Η μέτρηση των μορίων συγκόλλησης ICAM-1 και VCAM-1 στο πλάσμα έγινε στο μηχάνημα Luminex-100 IS (Integrated System) Luminex Corporation, Austin, TX, USA, χρησιμοποιώντας το κιτ αντιδραστηρίων Lincos Human Sepsis/Apoptosis, 6-Plex Panel (Lincos Research, Inc., MO, USA). Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν από το λογισμικό Luminex 2.3 Version software. Όλες οι αναλύσεις έγιναν σύμφωνα με τις οδηγίες των κατασκευαστών. Οι συντελεστές διακύμανσης intra και inter για το μόριο ICAM-1 ήταν 5.5% και 8.7% αντίστοιχα ενώ για το μόριο VCAM-1 ήταν 4% και 12% (Berrahmoune, Lamont, Herbeth, FitzGerald & Visvikis-Siest, 2006). Οι E και P Σελεκτίνες μετρήθηκαν στο πλάσμα στην ELISA χρησιμοποιώντας “βιοπλακέτες” Evidence®, (Randox Laboratories, Crumlin, United Kingdom). Η “βιοπλακέτα” αποτελούνταν από μια επιφάνεια 9X9 mm στην οποία υπήρχαν διακριτές επιφάνειες ελέγχου (βοθρία). Τα αντισώματα ήταν τοποθετημένα σε προκαθορισμένες θέσεις (βοθρία) της χημικά ελεγχόμενης επιφάνειας της “βιοπλακέτας”. Για αυτή την ανοσοενζυμική διαδικασία (ELISA) σε κάθε βοθρίο της “βιοπλακέτας” είχε πραγματοποιηθεί η αντίδραση των αντισωμάτων με το δείγμα που της είχε τοποθετηθεί. Το φωτεινό ίχνος που διαπερνούσε το κάθε “βοθρίο” λαμβανόταν από μια κάμερα και μετατρέπονταν από το ανάλογο λογισμικό σε συγκέντρωση της Σελεκτίνης που συγκρίθηκαν με τις καμπύλες ελέγχου (Liu et al., 2005).

*Μέτρηση κυτοκινών.* Οι συγκεντρώσεις των ιντερλευκινών στον ορό του αίματος (IL-6, IL-8, IL-10) μετρήθηκαν με ανοσοενζυμική μέθοδο (ELISA) (Luminex-100 IS Integrated System, Luminex Corporation, Austin, TX, USA) (MILLIPLEX® human cytokine panel, Millipore Corp. St. Charles, Missouri, USA).

#### ***Μέτρηση οξειδοαναγωγικής κατάστασης του μυ και δεικτών οξειδωτικού στρες***

*Προετοιμασία μυϊκών δειγμάτων.* Τα μυϊκά δείγματα αρχικά κονιορτοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας γουδί και γουδοχέρι σε υγρό άζωτο. Στη συνέχεια ένα μέρος (g) από το κνίκιαμα που προέκυπτε ομογενοποιήθηκε με δυο μέρη (mL) φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα (PBS, 0.01M, pH 7.4 (138 mM NaCl, 2.7 mM KCl και 1 mM EDTA)) και ένα

μείγμα πρωτεϊνικών αναστολέων (1  $\mu\text{M}$  aprotinin, 1  $\mu\text{g/mL}$  leupeptin and 1 mM PMSF). Έπειτα ακολούθησε έντονη ανάδευση (vortex) και σύντομη εφαρμογή υπερήχων έχοντας το δείγμα στον πάγο. Τέλος τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στα 12.000 g για 30 λεπτά στους 4° C και το υπερκείμενο συλλέχθηκε για τις περαιτέρω μετρήσεις.

*Μέτρηση της ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH) στο μν.* Η μέτρηση της ανηγμένης γλουταθειόνης έγινε σύμφωνα με τις οδηγίες των Reddy και συν. (2004).

*Διαλύματα.* Για την παρασκευή  $\approx 500$  mL φωσφορικού ρυθμιστικού διαλύματος 67 mM (pH 7.95) ακολουθήθηκε η παρακάτω διαδικασία. Αρχικά παρασκευάστηκαν 25 mL διαλύματος δισόξινου φωσφορικού καλίου  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (67 mM, με MB: 136) και 500 mL διαλύματος μονοόξινου φωσφορικού νατρίου  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (67 mM, με MB: 178). Για το διάλυμα του  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  διαλύθηκαν 0.227 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  σε 25 mL απιονισμένο νερό. Για το διάλυμα του  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  διαλύθηκαν 5.94 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  σε 500 mL απιονισμένο νερό. Τέλος σε ένα ποτήρι ζέσεως προστέθηκαν τα δυο διαλύματα προοδευτικά μέχρι το τελικό διάλυμα να αποκτήσει pH 7.95.

Για τη δημιουργία του διαλύματος 5,5-διθειοδισ-(2-νιτροβενζοϊκό οξύ), 1mM (DTNB, MB: 396.35) χρειάστηκε διάλυμα 1% διένυδρου τριφωσφορικού νατρίου, (MB:294.10) που παρασκευάστηκε διαλύοντας 1 g διένυδρου τριφωσφορικού νατρίου σε απιονισμένο νερό έτσι ώστε ο τελικός όγκος του διαλύματος ήταν 100 mL. Στη συνέχεια σε αυτό διαλύθηκαν 0.0396 g DTNB.

*Διαδικασία.* Σε κάθε erpendorf που προοριζόταν για “τυφλό” έγινε προσθήκη 660  $\mu\text{L}$  φωσφορικού ρυθμιστικού διαλύματος (67 mM, pH 7.95), 330  $\mu\text{L}$  5,5'-διθειοδισ-(2-νιτροβενζοϊκού οξέος) (DTNB) (1 mM) και 20  $\mu\text{L}$  απιονισμένου νερού. Στα erpendorfs των δειγμάτων έγινε προσθήκη 660  $\mu\text{L}$  φωσφορικού ρυθμιστικού διαλύματος 67 mM (pH 7.95), 330  $\mu\text{L}$  DTNB (1 mM) και 20  $\mu\text{L}$  δείγματος (αραιωμένο 1:2). Ακολούθησε ανακίνηση των erpendorfs αρκετές φορές και επώαση στο σκοτάδι για 45 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια μετρήθηκε η απορρόφηση στο φωτόμετρο (Hitachi 2001 UV/VIS, Hitachi Instruments Inc., U.S.) στα 412 nm.

*Μέτρηση της οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSSG).* Για την οξειδωμένη γλουταθειόνη ακολουθήθηκαν οι οδηγίες του Tietze (1969).

*Διαλύματα.* Για την παρασκευή 100 mL διαλύματος καυστικού νατρίου 1M (NaOH, MB: 40) διαλύθηκαν 4 g NaOH σε 100 mL απιονισμένου νερού.

Για την παρασκευή  $\approx 475$  mL φωσφορικού ρυθμιστικού διαλύματος 143 mM Na-P, 6.3 mM EDTA, pH 7.5) ακολουθήθηκε η παρακάτω διαδικασία. Αρχικά παρασκευάστηκαν 400 mL διαλύματος μονόξινου φωσφορικού νατρίου  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (143 mM, με MB: 177.99) και 75 mL διαλύματος δισόξινου φωσφορικού νατρίου  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (143 mM, με MB: 156.01). Για το διάλυμα του  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  διαλύθηκαν 1.67 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  σε 75 mL απιονισμένο νερό. Για το διάλυμα του  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  διαλύθηκαν 10.18 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  σε 400 mL απιονισμένο νερό. Στη συνέχεια γινόταν ανάμιξη των δυο διαλυμάτων και το νέο διάλυμα που παράχθηκε είχε pH  $\sim 7.5$ . Στο διάλυμα αυτό διαλύθηκαν 1.11 g αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (EDTA) και ακολούθησε διόρθωση του pH στο 7.5 με την προσθήκη καυστικού νατρίου. Τέλος σε ένα ποτήρι ζέσεως προστέθηκαν τα δυο διαλύματα προοδευτικά μέχρι το τελικό διάλυμα να αποκτήσει pH 7.95.

Για την παρασκευή του διαλύματος ελέγχου 10  $\mu\text{mol/L}$  (MB: 612.6) διαλύθηκαν 0.0061 g οξειδωμένης γλουταθειόνης σε 10 mL φωσφορικού ρυθμιστικού διαλύματος. Στη συνέχεια έγινε αραιώση 100 φορές με φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα έτσι ώστε η συγκέντρωση του τελικού διαλύματος ήταν 10  $\mu\text{mol/L}$ . Το διάλυμα αυτό παρασκευάστηκε την ημέρα της μέτρησης και καλύφθηκε με αλουμινόχαρτο για να αποφευχθεί η φωτόλυση.

Για την παρασκευή του διαλύματος  $\beta$ -Νικοτινάμιδου αδένινου δινουκλεοτιδίου 3 mM (NADPH, MB: 833.4) διαλύθηκαν 0.0025 g NADPH σε 1 mL φωσφορικού ρυθμιστικού διαλύματος. Το διάλυμα αυτό έγινε την ημέρα της μέτρησης και καλύφθηκε με αλουμινόχαρτο για προφύλαξη από το φως.

Για τη δημιουργία του διαλύματος 5,5'-διθειοδις-(2-νιτροβενζοϊκό οξύ), 10 mM (DTNB, MB: 396.35) διαλύθηκαν 0.04 g DTNB σε 10 mL φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα και παρασκευάστηκε την ημέρα της μέτρησης.

*Διαδικασία.* Αρχικά έγινε ρύθμιση στο pH των αιμολυμάτων με την προσθήκη καυστικού νατρίου 1M (NaOH). Πιο συγκεκριμένα σε 50  $\mu\text{L}$  αιμολύματος έγινε προοδευτική προσθήκη 1-2  $\mu\text{L}$  NaOH μέχρι το τελικό τους pH να είναι μεταξύ 7 και 7.5. Στη συνέχεια έγινε προσθήκη 1  $\mu\text{L}$  2-βυνιλ πυριδίνιου σε κάθε δείγμα και επώαστηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 2 ώρες. Κατά τη διάρκεια της επώασης γινόταν ανάδευση κάθε 30 λεπτά.

Στο erpendorf που αφορούσε το "τυφλό" προστέθηκαν 600  $\mu\text{L}$  φωσφορικού ρυθμιστικού διαλύματος, 100  $\mu\text{L}$  NADPH, 100  $\mu\text{L}$  DTNB και 199  $\mu\text{L}$  απιονισμένου νερού. Στα erpendorfs των δειγμάτων και του "standard" προστέθηκαν οι ίδιες ποσότητες

ρυθμιστικού διαλύματος, NADPH και DTNB όπως στο “τυφλό”. Στα δείγματα προστέθηκαν 194  $\mu\text{L}$  απιονισμένου νερού και 5  $\mu\text{L}$  δείγματος (αραιωμένο 1:2), ενώ στο “standard” προστέθηκαν 124  $\mu\text{L}$  απιονισμένου νερού και 75  $\mu\text{L}$  διαλύματος GSSG.

Ακολούθησε ανακίνηση των εppendorfs αρκετές φορές και επώαση για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια σε κάθε εppendorf ξεχωριστά έγινε προσθήκη 1  $\mu\text{L}$  αναγωγάσης της γλουταθειόνης, ανακινήθηκαν αρκετές φορές και έπειτα μετρήθηκε η απορρόφηση στο φωτόμετρο στα 412 nm για 180 sec.

*Μέτρηση των ουσιών που αντιδρούν με θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS στο  $\mu\text{M}$ ).* Για τις ουσίες που αντιδρούν με θειοβαρβιτουρικό οξύ ακολουθήθηκαν οι οδηγίες των Keles και συν. (2001).

*Διαλύματα.* Για την παρασκευή  $\approx 100$  mL διαλύματος τρις-υδροχλώριο 200 mM (Tris-HCl, pH 7.4) παρασκευάστηκαν πρώτα 25 mL διαλύματος τρις υδροξυ μεθυλ αμινομεθάνιο (Tris, 200 mM, MB:121.14) και 42 mL διαλύματος HCl (0.1 N, MB:36.46). Για το Tris διαλύθηκαν 0.61 g του προϊόντος σε 25 mL απιονισμένο νερό. Για το HCl αραιώθηκαν 0.42 mL HCl 37% (10.1 N) σε 42 mL απιονισμένο νερό. Στη συνέχεια σε ένα ποτήρι ζέσεως προστέθηκαν τα δυο διαλύματα και στη συνέχεια συμπληρώθηκε απιονισμένο νερό έτσι ώστε το τελικό διάλυμα να έχει όγκο 100 mL και pH 7.4.

Για την παρασκευή 10 mL διαλύματος θειικού νατρίου με θειοβαρβιτουρικό οξύ  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (2 M) – TBA (55 mM) διαλύθηκαν 2.84 g  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (142.04) και and 0.08 g TBA (144.1) σε 10 mL απιονισμένο νερό. Το διάλυμα αυτό παρασκευάστηκε την ημέρα της μέτρησης.

*Διάλυμα Τριχλωροακετικού οξέος 35% (TCA).* Για τη δημιουργία 100 mL διαλύματος διαλύθηκαν 35 g TCA σε απιονισμένο νερό έτσι ώστε το τελικό διάλυμα είχε όγκο 100 mL.

*Διάλυμα Τριχλωροακετικού οξέος 70% (TCA).* Για τη δημιουργία 100 mL διαλύματος διαλύονταν 70 g TCA σε απιονισμένο νερό έτσι ώστε το τελικό διάλυμα είχε όγκο 100 mL.

*Διαδικασία.* Σε δοκιμαστικούς σωλήνες Falcon έγινε προσθήκη 50  $\mu\text{L}$  δείγματος (αραιωμένο 1:2) ή 100  $\mu\text{L}$  απιονισμένου νερού για το “τυφλό”. Στη συνέχεια έγινε προσθήκη 500  $\mu\text{L}$  TCA 35% και 500  $\mu\text{L}$  τρις – υδροχλωρίου, αναδεύτηκαν και επώαστηκαν για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθησε προσθήκη 1 mL  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (2 M) – TBA (55 mM) και επώαση στους 95 °C για 45 λεπτά. Στη συνέχεια τα



δείγματα τοποθετήθηκαν στον πάγο για 5 λεπτά και προστέθηκε 1 mL TCA 70% που ακολουθήθηκε από νέα ανάδευση. Από κάθε δοκιμαστικό σωλήνα Falcon μεταφέρονταν 1 mL σε erpendorf και φυγοκεντρήθηκαν στα 15.000 g για 3 λεπτά. Τέλος 900  $\mu$ L του υπερκείμενου υγρού μεταφέρθηκαν σε κιουβέτα και μετρήθηκε η απορρόφηση στο φωτόμετρο στα 530 nm.

*Μέτρηση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων (PC) στο  $\mu$ v.* Η συγκέντρωση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων υπολογίστηκε σύμφωνα με τις οδηγίες των Patsoukis και συν. (2004).

Ο σχηματισμός των καρβονυλίων ανιχνεύτηκε μετά από αντίδραση με 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) και τη μετατροπή του σε 2,4-dinitrophenylhydrazone (DNP-hydrazone).

*Διαλύματα.* Διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 2.5N (MB: 36.46, υπάρχει στο εμπόριο σε πυκνότητα 37% που αντιστοιχεί σε 10.1 N). Για τη δημιουργία 100 mL διαλύματος HCl 2.5 N HCl, έγινε προσθήκη 24.6 mL από το 37% HCl (ίσο με 10.1 N HCl) σε  $\approx$ 70 mL απιονισμένο νερό και στη συνέχεια συμπληρώθηκε απιονισμένο νερό μέχρι να φτάσει σε τελικό όγκο 100 mL.

Διάλυμα 2,4-δινιτροφενυλδραζίνης 14 mM (DNPH, MB: 198.1). Για τη δημιουργία 100 mL διαλύματος, διαλύθηκαν 0.2833 g DNPH σε 100 mL διαλύματος HCl 2.5 N. Το διάλυμα αυτό έγινε την ημέρα των μετρήσεων και καλύφθηκε με αλουμινόχαρτο για να αποφευχθεί η φωτόλυση.

Διάλυμα ουρίας 5 M (pH 2.3, MB: 60.06). Για τη δημιουργία 100 mL διαλύματος ουρίας 5 M, διαλύθηκαν 30 g ουρίας σε  $\approx$ 70 mL απιονισμένο νερό και στη συνέχεια συμπληρώθηκε απιονισμένο νερό μέχρι τελικό όγκο τα 100 mL.

Διάλυμα Τριχλωροακετικού οξέος 10% (TCA). Για τη δημιουργία 100 mL διαλύματος διαλύθηκαν 10 g TCA σε απιονισμένο νερό έτσι ώστε το τελικό διάλυμα είχε όγκο 100 mL.

Διάλυμα Τριχλωροακετικού οξέος 20% (TCA). Για τη δημιουργία 100 mL διαλύματος διαλύθηκαν 20 g TCA σε απιονισμένο νερό έτσι ώστε το τελικό διάλυμα είχε όγκο 100 mL.

*Διαδικασία.* Όσο αφορά τη διαδικασία θα πρέπει να αναφερθεί ότι για κάθε δείγμα έγινε ξεχωριστό "τυφλό". Ο χειρισμός των δειγμάτων έγινε ως εξής: Στα erpendorf έγινε προσθήκη 50  $\mu$ L δείγματος (αραιωμένο 1:2) και 50  $\mu$ L 20% TCA και ακολούθησε

ανάδευση στο vortex. Έπειτα επώαστηκαν στον πάγο για 15 λεπτά και φυγοκεντρήθηκαν στις 15.000 στροφές για 5 λεπτά στους 4 °C. Απομακρύνθηκε το υπερκείμενο και έγινε προσθήκη στο ίζημα των δειγμάτων που περιείχαν ορό 0.5 mL διαλύματος 2,4-δινιτροφενυλδραζίνη (DNPH), ενώ στα “τυφλά” τους 0.5 mL 2.5 N υδροχλώριο. Ακολούθησε ανάδευση και επώαση στο σκοτάδι για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου όπου κάθε 15 λεπτά γινόταν ανάδευση των erpendorf. Στη συνέχεια φυγοκεντρήθηκαν στις 15.000 στροφές για 5 λεπτά στους 4 °C. Απομακρύνθηκε το υπερκείμενο και έγινε ανάδευση και φυγοκέντριση, όπως παραπάνω, αφού προηγουμένως προστέθηκε 1 mL 10% TCA. Απομακρύνθηκε εκ νέου το υπερκείμενο υγρό και μετά από προσθήκη 0.5 mL αιθανόλης και 0.5 mL αιθυλικής ακετόνης (1:1 v:v) αναδεύτηκαν και φυγοκεντρήθηκαν. Τα βήματα της αφαίρεσης του υπερκείμενου και της προσθήκης αιθανόλης και αιθυλικής ακετόνης επαναλήφθηκαν δυο επιπλέον φορές. Στη συνέχεια αφαιρέθηκε το υπερκείμενο και προστέθηκε 1 mL ουρίας (5M, pH 2,3), έγινε ανάδευση και επώαστηκαν στους 37 °C για 15 λεπτά. Ακολούθησε φυγοκέντριση στις 15.000 στροφές για 3 λεπτά στους 4 °C. Τέλος μετρήθηκε η απορρόφηση του υπερκείμενου στο φωτόμετρο στα 375 nm.

Η ολική πρωτεΐνη μετρήθηκε με τη χρήση αντιδραστηρίων Bradford της εταιρείας Sigma-Aldrich.

Οι συντελεστές διακύμανσης inter και intra για τις παραπάνω μετρήσεις (GSH, GSSG, TBARS, PC) ήταν 4.2-8.81% και 4.2-7.1%, αντίστοιχα.

### **Στατιστική ανάλυση**

Από το σχεδιασμό της έρευνας υπήρχαν δυο διαφορετικές συνθήκες (placebo και NAC) που εξετάστηκαν σε έντεκα χρονικές στιγμές. Για τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων όλων των μεταβλητών με εξαίρεση τα περιγραφικά χαρακτηριστικά και τα δεδομένα της διατροφής, χρησιμοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δυο παράγοντες (συνθήκη × χρόνος) εκ των οποίων και οι δυο ήταν επαναλαμβανόμενοι. Για την εύρεση των στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των επιπέδων των παραγόντων εφαρμόστηκε το τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni.

Για να διερευνηθούν οι μηδενικές υποθέσεις της μελέτης που αφορούσαν στα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση διακύμανσης ως προς έναν επαναλαμβανόμενο παράγοντα (συνθήκη), ενώ για την ανάλυση των αποτελεσμάτων που αφορούσαν τη διατροφή εφαρμόστηκε t-test για εξαρτημένα δείγματα. Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε στο  $p < .05$  για όλες τις αναλύσεις.

#### IV. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Όπως προαναφέρθηκε για τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων εφαρμόστηκε ανάλυση διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δυο παράγοντες (συνθήκη × χρόνος) εκ των οποίων και οι δυο ήταν επαναλαμβανόμενοι. Στην αρχή ελέγχθηκε η αλληλεπίδραση των παραγόντων και όπου δεν ήταν στατιστικά σημαντική έγινε έλεγχος των κύριων επιδράσεων. Τέλος εφαρμόστηκε το τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni για την εύρεση των επιμέρους διαφορών, μεταξύ των επιπέδων των παραγόντων. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση.

Αρχικά παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από την εξέταση των ανθρωπομετρικών και φυσιολογικών χαρακτηριστικών του δείγματος, της ανάλυσης των διατροφικών τους στοιχείων και των στοιχείων του πρωτοκόλλου άσκησης στο ισοκινητικό δυναμόμετρο. Ακολουθεί η παρουσίαση της μεταβολής του όγκου πλάσματος του αίματος των συμμετεχόντων μετά την άσκηση που πραγματοποίησαν και στη συνέχεια τα χαρακτηριστικά των δειγμάτων μυϊκής βιοψίας και η οξειδοαναγωγική κατάσταση του μυ. Έπειτα παρουσιάζονται οι δείκτες οξειδωτικού στρες στο μυ (TBARS, PC), οι δείκτες απόδοσης (μέγιστη ροπή μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec, σχετική μέγιστη ροπή μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec, μέση ροπή μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec, σχετική μέση ροπή μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec), οι δείκτες μυϊκού τραυματισμού (DOMS, KJRM, CK), οι δείκτες φλεγμονής (λευκά αιμοσφαίρια, διείσδυση μακροφάγων στον μυϊκό ιστό, CRP, κυτοκίνες (IL-1β, IL-6, IL-10)), τα μόρια συγκόλλησης (ICAM-1, VCAM-1, Σελεκτίνη P, Σελεκτίνη E), οι δείκτες αύξησης και αναστολής της πρωτεϊνοσύνθεσης (pS6 και TNF-a, αντίστοιχα) και τα μεταγωγικά μονοπάτια Akt/mTOR, MAPK, NF-kB.

##### *Ανθρωπομετρικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά*

Από τη στατιστική ανάλυση δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων σε κανένα ανθρωπομετρικό και φυσιολογικό χαρακτηριστικό (ηλικία, σωματικό βάρος, σωματικό ύψος, δείκτης μάζας σώματος, σωματικό λίπος, άλιπη σωματική μάζα, μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου). Αναλυτικά τα χαρακτηριστικά του δείγματος αναφέρονται στον πίνακα 4.

**Πίνακας 4.** Ανθρωπομετρικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων (μέση τιμή  $\pm$  τυπική απόκλιση).

Μεταβλητή	Placebo	NAC
Ηλικία (έτη)	23.5 $\pm$ 2.5	23.5 $\pm$ 2.5
Σωματικό βάρος (Kg)	76.3 $\pm$ 9.0	76.0 $\pm$ 9.7
Ύψος σε όρθια θέση (m)	1.77 $\pm$ 0.1	1.77 $\pm$ 0.1
Δείκτης Μάζας Σώματος (Kg*m <sup>-2</sup> )	24.4 $\pm$ 2.2	24.3 $\pm$ 2.2
Ποσοστό Σωματικού Λίπους (%)	14.3 $\pm$ 3.5	14.2 $\pm$ 3.2
Άλιπη Σωματική Μάζα (Kg)	65.2 $\pm$ 7.0	65.1 $\pm$ 7.3
Μέγιστη Πρόσληψη Οξυγόνου (mL*Kg <sup>-1</sup> *min <sup>-1</sup> )	47.7 $\pm$ 4.6	47.5 $\pm$ 4.4

#### *Ανάλυση διατροφής*

Δεν σημειώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων όσο αφορά τη διατροφική τους πρόσληψη τόσο πριν την εκτέλεση του πρωτοκόλλου άσκησης όσο και κατά τη διάρκεια των οκτώ ημερών που ακολούθησαν την εκτέλεση αυτού. Επίσης δεν υπήρχαν διαφορές στη διατροφική πρόσληψη των εθελοντών μεταξύ των ημερών πριν την άσκηση με τις ημέρες μετά την άσκηση, γι' αυτό και παρουσιάζεται μόνο ο πίνακας της διατροφικής πρόσληψης κατά τη διάρκεια των 8 ημερών του πειράματος.

**Πίνακας 5.** Ανάλυση της καθημερινής διατροφικής πρόσληψης (μέσος όρος  $\pm$  τυπική απόκλιση) των συμμετεχόντων κατά τη διάρκεια των οκτώ ημερών μετά την εκτέλεση της άσκησης στις δύο συνθήκες (Placebo και NAC).

	Placebo	NAC
Ενέργεια (Kcal)	2693.4 $\pm$ 121.8	2587.1 $\pm$ 145.2
Υδατάνθρακες (% ενέργειας)	55.8 $\pm$ 3.5	55.5 $\pm$ 4.1
Λίπη (% ενέργειας)	27.6 $\pm$ 3.1	28.2 $\pm$ 3.2
Πρωτεΐνες (% ενέργειας)	16.6 $\pm$ 1.9	16.3 $\pm$ 1.3
Σελήνιο (μg/ημέρα)	44.6 $\pm$ 4.2	41.9 $\pm$ 3.7
Ψευδάργυρος (mg/ημέρα)	12.1 $\pm$ 1.3	12.6 $\pm$ 0.9
Βιταμίνη A (mg/ημέρα, RE)	1.07 $\pm$ 0.2	1.10 $\pm$ 0.1
Βιταμίνη C (mg/ημέρα)	124.2 $\pm$ 9.5	129.6 $\pm$ 11.8
Βιταμίνη E (mg/ημέρα, α-TE <sup>1</sup> )	8.6 $\pm$ 0.8	8.9 $\pm$ 0.7

RE, ισοδύναμα ρετινόλης; α-TE, ισοδύναμα α-τοκοφερόλης.

### Χαρακτηριστικά πρωτοκόλλου άσκησης

*Μέση ροπή.* Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης που εφαρμόστηκε για τη μέση ροπή που αναπτύχθηκε από τους συμμετέχοντες κατά την άσκησή τους φάνηκε ότι είχαν παρόμοιες μεταβολές. Η μείωση της ροπής στο 20<sup>ο</sup> σετ σε σύγκριση με το 1<sup>ο</sup> σετ έφτασε κοντά στο 35%. Επίσης δεν εμφανίστηκαν διαφορές μεταξύ των αρχικών μετρήσεων (1<sup>ov</sup> σετ) των δυο συνθηκών (πίνακας 7). Παρακάτω στον πίνακα 8. παρουσιάζεται ανά σετ η μέση ροπή που επιτεύχθηκε από τους συμμετέχοντες. Οι ποσοστιαίες μεταβολές της μέσης ροπής κατά τη διάρκεια της άσκησης στις δυο συνθήκες παρουσιάζονται στο σχήμα 18.

**Πίνακας 6.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη μέση ροπή που αναπτύχθηκε από τους εθελοντές κατά τη διάρκεια της άσκησης.

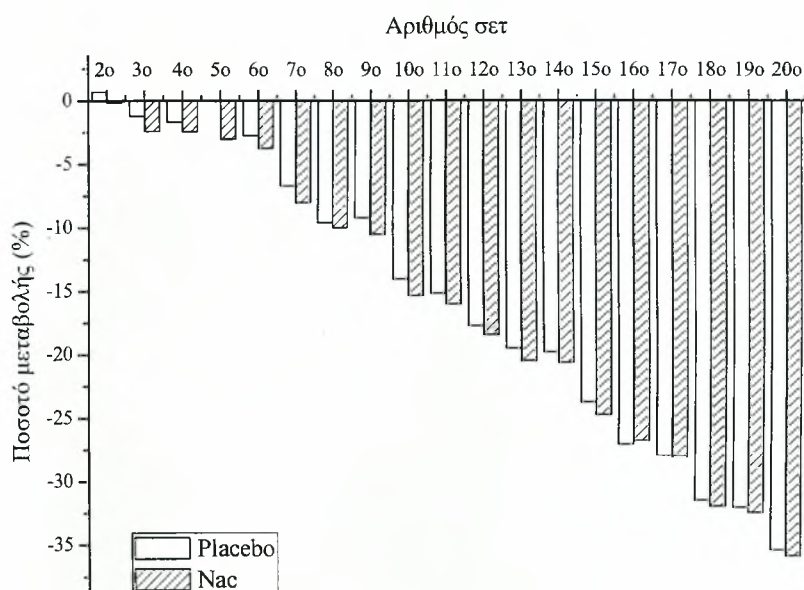
Στατιστικοί δείκτες για τη μέση ροπή που αναπτύχθηκε από τους εθελοντές κατά τη διάρκεια της άσκησης		
	F	p
Αλληλεπίδραση	0.013	1.000
Κύρια επίδραση συνθήκης	0.033	0.859
Κύρια επίδραση χρόνου	12.204	<0.001

**Πίνακας 7.** Μέση ροπή σε κάθε σετ της άσκησης για κάθε συνθήκη (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση) α: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre (p<.05).

Αριθμός σετ	Μέση ροπή (Nm)	
	Placebo	NAC
1 <sup>ο</sup> σετ	272.60 ± 84.36	277.67 ± 62.43
2 <sup>ο</sup> σετ	274.42 ± 87.72	277.26 ± 71.42
3 <sup>ο</sup> σετ	269.32 ± 83.88	270.98 ± 67.83
4 <sup>ο</sup> σετ	268.05 ± 73.44	270.92 ± 73.07
5 <sup>ο</sup> σετ	272.44 ± 80.73	269.28 ± 74.80
6 <sup>ο</sup> σετ	265.11 ± 83.24	267.28 ± 80.93
7 <sup>ο</sup> σετ	254.32 ± 77.28	255.38 ± 63.83
8 <sup>ο</sup> σετ	246.44 ± 70.56	249.92 ± 60.35
9 <sup>ο</sup> σετ	247.48 ± 70.77	248.46 ± 58.52
10 <sup>ο</sup> σετ	234.35 ± 60.48	235.07 ± 57.51
11 <sup>ο</sup> σετ	231.31 ± 65.44	233.24 ± 65.57 <sup>a</sup>
12 <sup>ο</sup> σετ	224.34 ± 65.53 <sup>a</sup>	226.50 ± 77.35 <sup>a</sup>



13 <sup>ο</sup> σετ	219.43 ± 65.60 <sup>a</sup>	220.83 ± 69.73 <sup>a</sup>
14 <sup>ο</sup> σετ	218.68 ± 61.88 <sup>a</sup>	220.42 ± 83.31 <sup>a</sup>
15 <sup>ο</sup> σετ	207.94 ± 51.09 <sup>a</sup>	209.01 ± 70.07 <sup>a</sup>
16 <sup>ο</sup> σετ	198.79 ± 55.56 <sup>a</sup>	203.30 ± 61.43 <sup>a</sup>
17 <sup>ο</sup> σετ	196.44 ± 55.05 <sup>a</sup>	199.74 ± 55.75 <sup>a</sup>
18 <sup>ο</sup> σετ	186.72 ± 49.4 <sup>a</sup>	188.87 ± 60.01 <sup>a</sup>
19 <sup>ο</sup> σετ	185.21 ± 48.6 <sup>a</sup>	187.50 ± 52.64 <sup>a</sup>
20 <sup>ο</sup> σετ	176.06 ± 66.2 <sup>a</sup>	178.03 ± 63.73 <sup>a</sup>



**Σχήμα 18.** Ποσοστιαία μεταβολή της μέσης ροπής κατά τη διάρκεια της άσκησης.

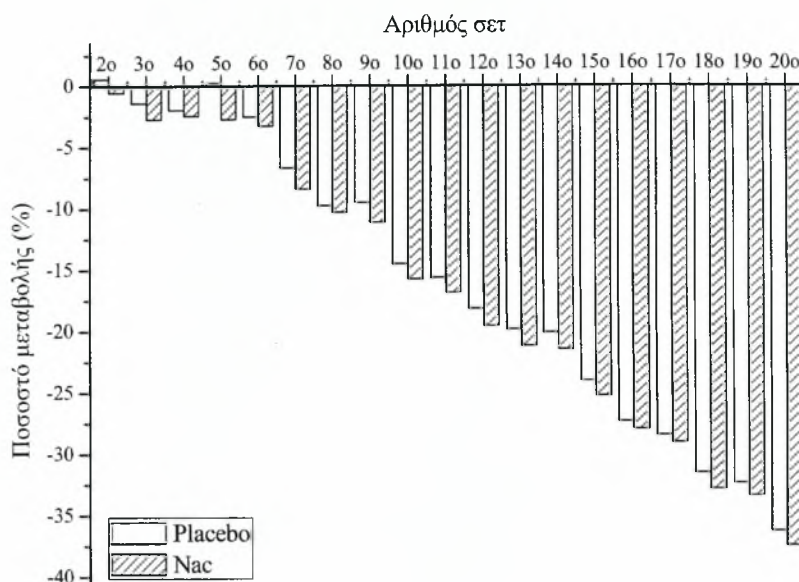
*Σχετική ροπή.* Ένα άλλο χαρακτηριστικό του πρωτοκόλλου άσκησης είναι αυτό της σχετικής ροπής. Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης που εφαρμόστηκε και για την παράμετρο αυτή φάνηκε ότι στις δυο συνθήκες εμφανίστηκαν παρόμοιες μεταβολές. Επίσης δεν διέφεραν οι αρχικές μετρήσεις των δυο συνθηκών (πίνακας 9). Στον πίνακα 10 παρουσιάζονται οι μέσες τιμές της σχετικής ροπής και οι τυπικές αποκλίσεις τους. Οι ποσοστιαίες μεταβολές της σχετικής ροπής κατά τη διάρκεια της άσκησης στις δυο συνθήκες παρουσιάζονται στο σχήμα 19.

**Πίνακας 8.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη σχετική ροπή που αναπτύχθηκε από τους εθελοντές κατά τη διάρκεια της άσκησης.

Στατιστικοί δείκτες για τη σχετική ροπή που αναπτύχθηκε από τους εθελοντές κατά τη διάρκεια της άσκησης		
	F	p
Αλληλεπίδραση	13.416	1.000
Κύρια επίδραση συνθήκης	0.093	0.767
Κύρια επίδραση χρόνου	0.019	<0.001

**Πίνακας 9.** Σχετική ροπή σε κάθε σετ της άσκησης για κάθε συνθήκη (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση) α: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre (p<.05).

Αριθμός σετ	Σχετική ροπή (Nm/Kg)	
	Placebo	NAC
1 <sup>ο</sup> σετ	3.59 ± 1.13	3.69 ± 0.92
2 <sup>ο</sup> σετ	3.61 ± 1.20	3.67 ± 1.01
3 <sup>ο</sup> σετ	3.54 ± 1.13	3.59 ± 0.93
4 <sup>ο</sup> σετ	3.52 ± 0.96	3.60 ± 1.06
5 <sup>ο</sup> σετ	3.60 ± 1.13	3.59 ± 1.12
6 <sup>ο</sup> σετ	3.50 ± 1.18	3.57 ± 1.23
7 <sup>ο</sup> σετ	3.35 ± 1.06	3.38 ± 0.86
8 <sup>ο</sup> σετ	3.24 ± 0.94	3.31 ± 0.84
9 <sup>ο</sup> σετ	3.25 ± 0.94	3.28 ± 0.81
10 <sup>ο</sup> σετ	3.07 ± 0.73	3.11 ± 0.79
11 <sup>ο</sup> σετ	3.03 ± 0.82	3.07 ± 0.83 <sup>a</sup>
12 <sup>ο</sup> σετ	2.94 ± 0.83 <sup>a</sup>	2.97 ± 0.94 <sup>a</sup>
13 <sup>ο</sup> σετ	2.88 ± 0.81 <sup>a</sup>	2.91 ± 0.90 <sup>a</sup>
14 <sup>ο</sup> σετ	2.87 ± 0.76 <sup>a</sup>	2.90 ± 1.02 <sup>a</sup>
15 <sup>ο</sup> σετ	2.73 ± 0.66 <sup>a</sup>	2.76 ± 0.88 <sup>a</sup>
16 <sup>ο</sup> σετ	2.61 ± 0.74 <sup>a</sup>	2.66 ± 0.76 <sup>a</sup>
17 <sup>ο</sup> σετ	2.57 ± 0.68 <sup>a</sup>	2.62 ± 0.71 <sup>a</sup>
18 <sup>ο</sup> σετ	2.46 ± 0.65 <sup>a</sup>	2.48 ± 0.72 <sup>a</sup>
19 <sup>ο</sup> σετ	2.43 ± 0.58 <sup>a</sup>	2.46 ± 0.60 <sup>a</sup>
20 <sup>ο</sup> σετ	2.29 ± 0.81 <sup>a</sup>	2.31 ± 0.66 <sup>a</sup>



**Σχήμα 19.** Ποσοστιαία μεταβολή της σχετικής ροπής κατά τη διάρκεια της άσκησης.

*Διαφορά ροπής μεταξύ 1<sup>ου</sup> και 20<sup>ου</sup> σετ άσκησης.* Ένα άλλο χαρακτηριστικό του πρωτοκόλλου άσκησης στο οποίο δεν εμφανίστηκαν από την ανάλυση των δεδομένων σημαντικές μεταβολές μεταξύ των δυο συνθηκών ( $F_{(1,9)}=0.256$ ,  $p=.625$ ) είναι η διαφορά της τιμής της ροπής του 1<sup>ου</sup> με το 20<sup>ο</sup> σετ άσκησης (πίνακας 11).

**Πίνακας 10.** Μεταβολή της ροπής μεταξύ 1<sup>ου</sup> και 20<sup>ου</sup> σετ άσκησης στην κάθε συνθήκη (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση).

Μεταβολή μεταξύ 1 <sup>ου</sup> και 20 <sup>ου</sup> σετ (Nm/Kg)		
	Placebo	NAC
<b>Μεταβολή</b>	0.34 ± 0.19	0.38 ± 0.18

*Γαλακτικό οξύ.* Τέλος ένας συμπληρωματικός δείκτης του αίματος που χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση του πρωτοκόλλου άσκησης ήταν το γαλακτικό οξύ. Δειγματοληψία αίματος για τη συγκεκριμένη παράμετρο έγινε πριν (pre) και αμέσως μετά (post) την άσκηση καθώς και 2 ώρες (2h post) μετά το τέλος αυτής. Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης φάνηκε ότι δεν υπήρχαν διαφορές σε καμία από τις μετρήσεις (pre, post, 2h post) μεταξύ των δυο συνθηκών (placebo – NAC). Ωστόσο εμφανίστηκαν διαφορές μεταξύ των μετρήσεων μέσα στην κάθε συνθήκη (πίνακας 12). Πιο

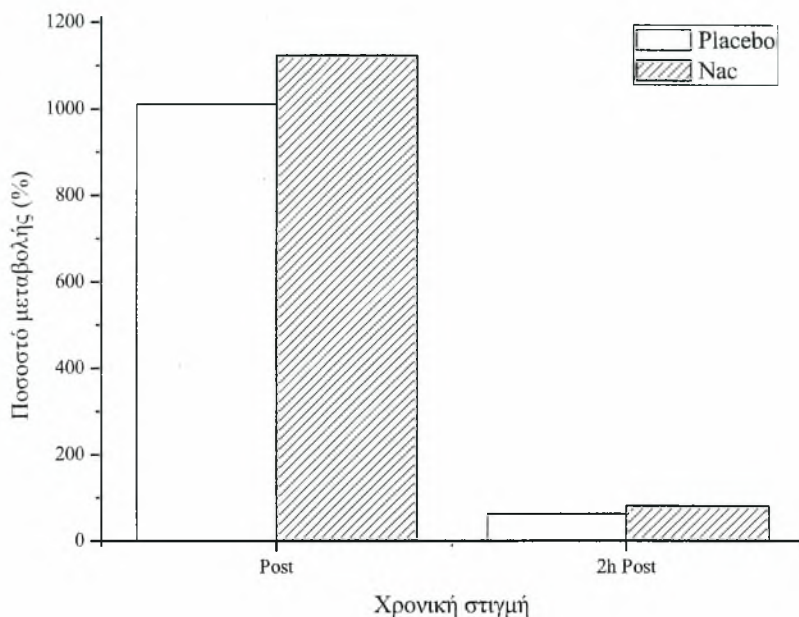
συγκεκριμένα μετά από το τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni βρέθηκε ότι για τη συνθήκη placebo η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος στο αίμα αμέσως μετά την άσκηση αυξήθηκε κατά 1011% ( $p < .001$ ), ενώ στις 2 ώρες μετά ήταν αυξημένη κατά 62.7% ( $p = .004$ ). Επίσης διέφερε και η μέτρηση post με την μέτρηση 2h post κατά 85.4% ( $p < .001$ ). Όμοια για τη συνθήκη NAC βρέθηκε αύξηση στη μέτρηση post κατά 1123.3% ( $p < .001$ ) και στις 2h post κατά 81% ( $p = .001$ ). Όμοια με τη συνθήκη placebo βρέθηκε διαφορά της μέτρησης post με τη μέτρηση 2h post κατά 85.2% ( $p < .001$ ). Στον πίνακα 13 παρουσιάζονται οι μέσες τιμές και οι τυπικές αποκλίσεις για τη μεταβλητή αυτή. Στο σχήμα 20 παρουσιάζονται οι ποσοστιαίες μεταβολές του γαλακτικού οξέος στις δυο συνθήκες.

**Πίνακας 11.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για το γαλακτικό οξύ.

Στατιστικοί δείκτες για το γαλακτικό οξύ		
	F	p
Αλληλεπίδραση	1.281	0.302
Κύρια επίδραση συνθήκης	1.832	0.209
Κύρια επίδραση χρόνου	146.290	<0.001

**Πίνακας 12.** Γαλακτικό οξύ (μέση τιμή  $\pm$  τυπική απόκλιση) a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p < .05$ ).

Γαλακτικό οξύ (Nm/Kg)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	1.185 $\pm$ 0.233	1.125 $\pm$ 0.200
Post	13.165 $\pm$ 3.024 <sup>a</sup>	13.762 $\pm$ 2.738 <sup>a</sup>
2h post	1.928 $\pm$ 0.551 <sup>a,b</sup>	2.036 $\pm$ 0.605 <sup>a,b</sup>



**Σχήμα 20.** Ποσοστιαία μεταβολή της συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέος στο αίμα.

### *Χαρακτηριστικά δειγμάτων μυϊκών βιοψιών*

*Ποσοστό των τύπων μυϊκών ινών.* Τα χαρακτηριστικά των μυϊκών βιοψιών που εξετάστηκαν ήταν το ποσοστό των οξειδωτικών μυϊκών ινών (τύπου I), των οξειδογλυκολυτικών μυϊκών ινών (τύπου IIa) και των γλυκολυτικών μυϊκών ινών (τύπου IIx). Από τη στατιστική ανάλυση που εφαρμόστηκε δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στα ποσοστά των μυϊκών ινών στις μετρήσεις των δυο συνθηκών (placebo – NAC) (πίνακας 14). Επιπλέον στον πίνακα 15 παρουσιάζονται τα ποσοστά των τύπων των μυϊκών ινών. Οι ποσοστιαίες διαφορές του τύπου των μυϊκών ινών στις δυο συνθήκες παρουσιάζονται στο σχήμα 21.

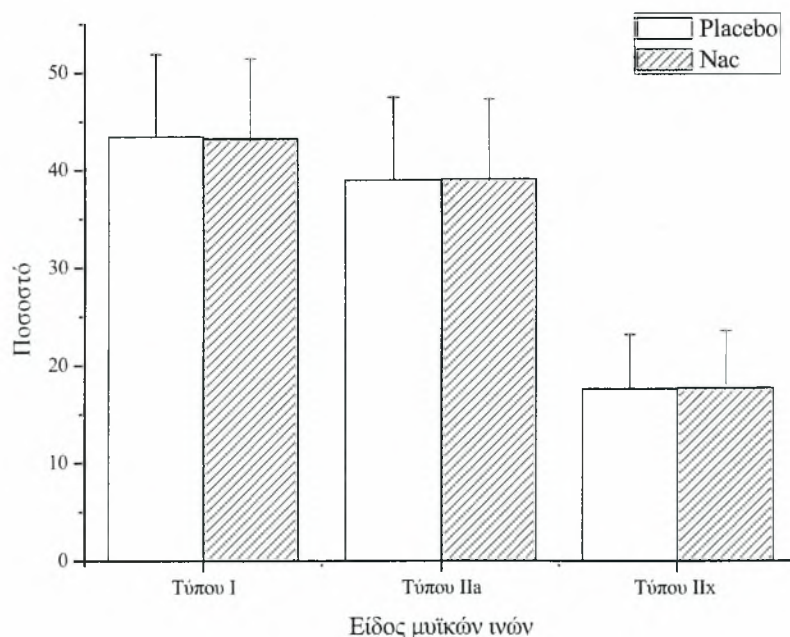


**Πίνακας 13.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τα ποσοστά των τριών τύπων μυϊκών ινών.

Στατιστικοί δείκτες του ποσοστού μυϊκών ινών τύπου I, IIa και IIx		
Μυϊκές ίνες	F	p
Τύπου I	1.144	0.313
Τύπου IIa	0.025	0.877
Τύπου IIx	0.050	0.828

**Πίνακας 14.** Ποσοστά των μυϊκών ινών τύπου I, IIa και IIx (%).

Ποσοστό μυϊκών ινών τύπου I, IIa και IIx (%)		
Μυϊκές ίνες	Placebo	NAC
Τύπου I	43.43 ± 8.46	43.23 ± 8.22
Τύπου IIa	39.00 ± 8.50	39.10 ± 8.10
Τύπου IIx	17.57 ± 5.57	17.68 ± 5.87



**Σχήμα 21.** Ποσοστό κάθε τύπου μυϊκών ινών ανά συνθήκη (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση).

*Εγκάρσια επιφάνεια κάθε τύπου μυϊκών ινών.* Ένα άλλο χαρακτηριστικό των μυϊκών βιοψιών που μελετήθηκε ήταν η εγκάρσια επιφάνεια του κάθε τύπου μυϊκών ινών. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων παρουσιάζονται στον πίνακα 17. Επιπλέον από τα

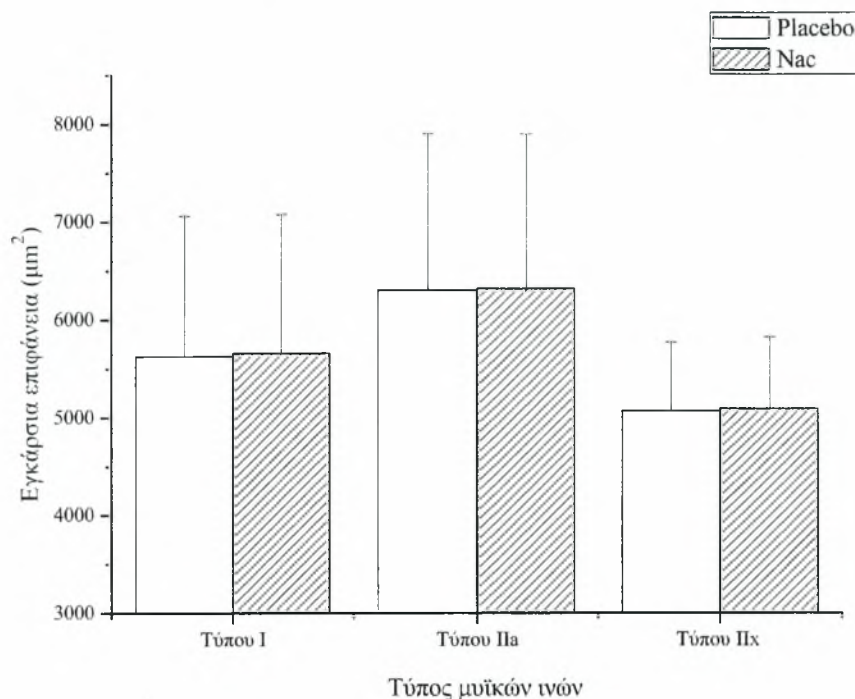
αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης φάνηκε ότι δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στις αρχικές αλλά και στις υπόλοιπες μετρήσεις των δυο συνθηκών (placebo – NAC) (πίνακας 16). Στο σχήμα 22 παρουσιάζονται οι ποσοστιαίες διαφορές της εγκάρσιας επιφάνειας των τριών τύπων των μυϊκών ινών στις δυο συνθήκες.

**Πίνακας 15.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για την εγκάρσια επιφάνεια των τριών τύπων μυϊκών ινών.

Στατιστικοί δείκτες της εγκάρσιας επιφάνειας των μυϊκών ινών τύπου I, IIa και IIx		
Εγκάρσια επιφάνεια	F	p
Τύπου I	1.121	0.317
Τύπου IIa	1.173	0.307
Τύπου IIx	0.465	0.513

**Πίνακας 16.** Εγκάρσια επιφάνεια μυϊκών ινών τύπου I, IIa και IIx.

Εγκάρσια επιφάνεια μυϊκών ινών τύπου I, IIa και IIx ( $\mu\text{m}^2$ )		
Μυϊκές ίνες	Placebo	NAC
Τύπου I	5626.10 ± 1436.71	5657.30 ± 1419.29
Τύπου IIa	6302.50 ± 1597.93	6319.60 ± 1579.64
Τύπου IIx	5066.20 ± 699.24	5088.30 ± 734.34



**Σχήμα 22.** Εγκάρσια επιφάνεια των τριών τύπων των μυϊκών ινών (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση).

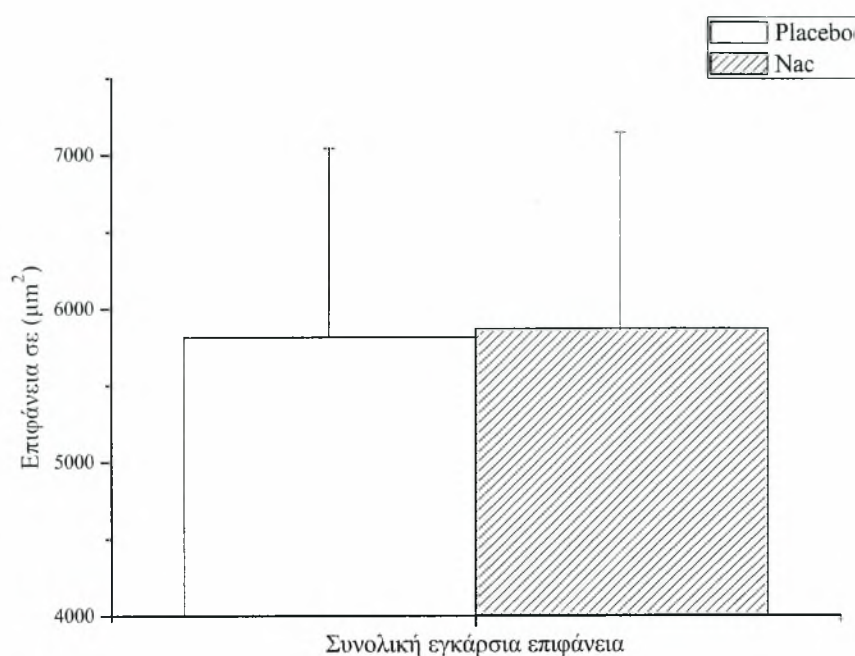
Μέση εγκάρσια επιφάνεια των μυϊκών ινών. Επίσης δεν βρέθηκαν διαφορές από τη στατιστική ανάλυση που έγινε στα αποτελέσματα της μέσης εγκάρσιας επιφάνειας των μυϊκών ινών μεταξύ των μετρήσεων στις δυο συνθήκες (placebo – NAC) (πίνακας 18). Στον πίνακα 19 παρουσιάζονται οι τιμές και οι τυπικές αποκλίσεις των μέσων εγκάρσιων επιφανειών των μυϊκών ινών. Οι ποσοστιαίες διαφορές της μέσης εγκάρσιας επιφάνειας στις δυο συνθήκες παρουσιάζονται στο σχήμα 23.

**Πίνακας 17.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη μέση εγκάρσια επιφάνεια των μυϊκών ινών του μυ.

Στατιστικοί δείκτες για τη μέση εγκάρσια επιφάνεια του μυ		
	F	p
Μέση εγκάρσια επιφάνεια	4.738	0.057

**Πίνακας 18.** Μέση εγκάρσια επιφάνεια του μυ.

Μέση εγκάρσια επιφάνεια του μυ (μm <sup>2</sup> ) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Μυϊκές ίνες	Placebo	NAC
Μυς	5812.80 ± 1229.37	5870.00 ± 1273.38



**Σχήμα 23.** Μέση εγκάρσια επιφάνεια των μυϊκών ινών του μυ (μέση τιμή  $\pm$  τυπικό σφάλμα).

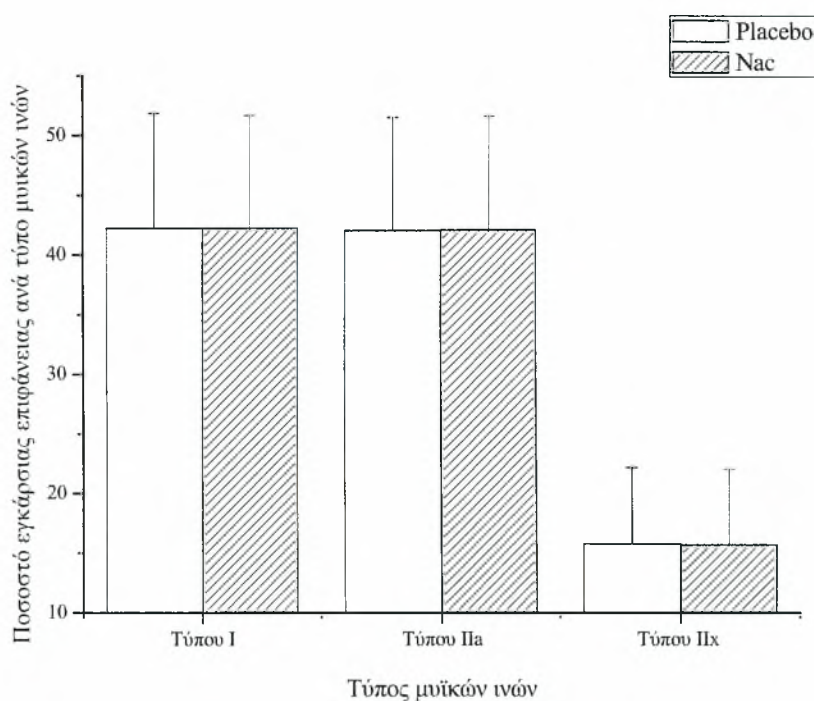
Ποσοστό της εγκάρσιας επιφάνειας κάθε τύπου μυϊκών ινών. Ακόμη ένα χαρακτηριστικό των μυϊκών βιοψιών που μελετήθηκε ήταν το ποσοστό της εγκάρσιας επιφάνειας κάθε τύπου μυϊκών ινών στη συνολική επιφάνεια του μυ (πίνακας 21). Από τη στατιστική ανάλυση που εφαρμόστηκε φάνηκε ότι δεν υπήρχαν σημαντικές μεταβολές ανάμεσα στις μετρήσεις των δυο συνθηκών (placebo – NAC) (πίνακας 20). Οι ποσοστιαίες διαφορές του ποσοστού συμμετοχής της εγκάρσιας επιφάνειας κάθε τύπου των μυϊκών ινών στη συνολική εγκάρσια επιφάνεια στις δυο συνθήκες παρουσιάζονται στο σχήμα 24.

**Πίνακας 19.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για το ποσοστό συμμετοχής της εγκάρσιας επιφάνειας κάθε τύπου μυϊκών ινών στη συνολική εγκάρσια επιφάνεια του μυ.

Στατιστικοί δείκτες για το ποσοστό συμμετοχής της εγκάρσιας επιφάνειας κάθε τύπου μυϊκών ινών στη συνολική εγκάρσια επιφάνεια του μυ		
Είδος μυϊκών ινών	F	p
Τύπου I	0.106	0.752
Τύπου IIa	0.942	0.357
Τύπου IIx	0.603	0.458

**Πίνακας 20.** Ποσοστό συμμετοχής της εγκάρσιας επιφάνειας κάθε τύπου μυϊκών ινών στη συνολική εγκάρσια επιφάνεια του μυ (%).

Ποσοστό συμμετοχής της εγκάρσιας επιφάνειας κάθε τύπου μυϊκών ινών στη συνολική εγκάρσια επιφάνεια του μυ (%) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Μυϊκές ίνες	Placebo	NAC
Τύπου I	42.20 ± 9.63	42.23 ± 9.43
Τύπου Ια	42.02 ± 9.49	42.07 ± 9.55
Τύπου Ιχ	15.78 ± 6.40	15.70 ± 6.33



**Σχήμα 24.** Ποσοστό συμμετοχής της εγκάρσιας επιφάνειας κάθε τύπου μυϊκών ινών στη συνολική εγκάρσια επιφάνεια του μυ (μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα).

*Αριθμός μυϊκών ινών – Αριθμός τριχοειδών αγγείων.* Τέλος όσο αφορά τα χαρακτηριστικά των μυϊκών βιοψιών δε διαπιστώθηκαν διαφορές στις μετρήσεις μεταξύ των δυο συνθηκών τόσο στον αριθμό των μυϊκών ινών όσο και στον αριθμό των τριχοειδών αγγείων όπως φαίνεται και στον παρακάτω πίνακα 22. Στον πίνακα 23 παρουσιάζονται οι μέσες τιμές και οι τυπικές αποκλίσεις των μετρήσεων για την κάθε μεταβλητή. Στα σχήματα 25 και 26 παρουσιάζονται οι ποσοστιαίες διαφορές του αριθμού των μυϊκών ινών και των τριχοειδών αγγείων στις δυο συνθήκες.

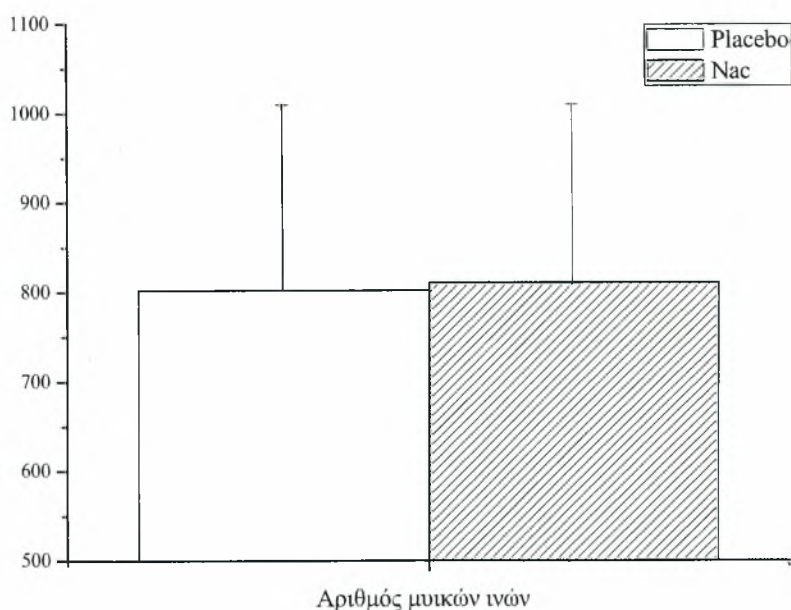


**Πίνακας 21.** Αποτελέσματα προς ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τον αριθμό των μυϊκών ινών και τον αριθμό τριχοειδών αγγείων.

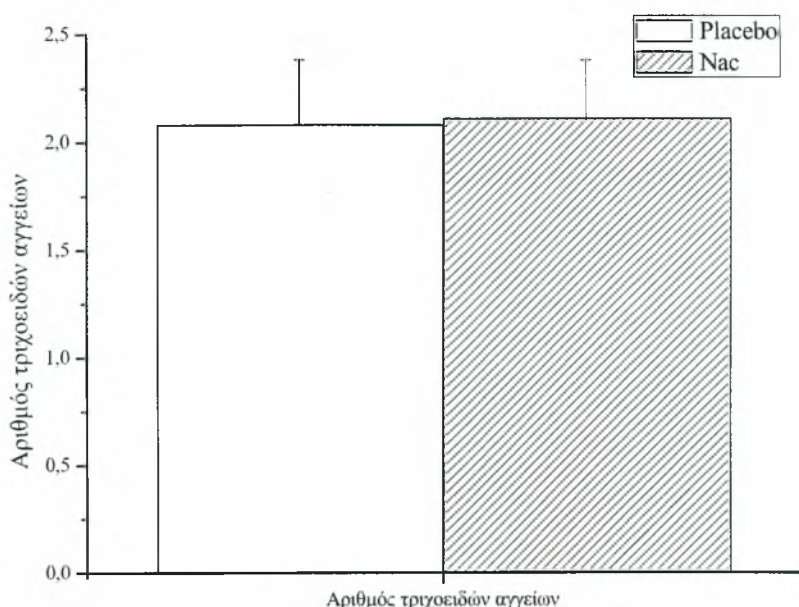
Στατιστικοί δείκτες για τον αριθμό μυϊκών ινών και τον αριθμός τριχοειδών αγγείων		
Μεταβλητή	F	p
Μυϊκές ίνες	0.204	0.662
Τριχοειδή αγγεία	0.392	0.547

**Πίνακας 22.** Αριθμός μυϊκών ινών και αριθμός τριχοειδών αγγείων.

Αριθμός μυϊκών ινών - Αριθμός τριχοειδών αγγείων (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Μεταβλητή	Placebo	NAC
Αριθμός μυϊκών ινών	802.00 ± 207.64	810.90 ± 199.11
Αριθμός τριχοειδών αγγείων	2.08 ± 0.30	2.11 ± 0.27



**Σχήμα 25.** Αριθμός μυϊκών ινών (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση).



**Σχήμα 26.** Αριθμός τριχοειδών αγγείων (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση).

### **Μεταβολή του όγκου πλάσματος**

Η στατιστική ανάλυση (ανάλυση διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δυο παράγοντες (συνθήκη × χρόνος) εκ των οποίων και οι δυο ήταν επαναλαμβανόμενοι) έδειξε ότι η μεταβολή του όγκου πλάσματος δεν ήταν σημαντική ( $p > .05$ ) οπότε δεν χρειάστηκε να γίνουν διορθώσεις. Η μεταβολή του όγκου πλάσματος υπολογίστηκε με βάση τη μέθοδο των Dill και Costil (1974). Ο πίνακας 24 παρουσιάζει τους μέσους όρους και τις σταθερές αποκλίσεις των μεταβολών του όγκου πλάσματος στις δύο συνθήκες.

**Πίνακας 23.** Η μεταβολή του όγκου πλάσματος αμέσως μετά την άσκηση (σε σχέση με τις τιμές ηρεμίας) στις δύο συνθήκες (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση).

<b>NAC</b>	0.98 ± 0.06
<b>Placebo</b>	0.96 ± 0.05

### **Οξειδοαναγωγική κατάσταση στο μυ**

*Ανηγγμένη γλουταθειόνη (GSH) στο μυ.* Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης που έγινε για την παράμετρο της ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH) στο μυ φάνηκε ότι η συγκέντρωσή της μειώθηκε στο μυ για τη συνθήκη placebo κατά 22.6% στη

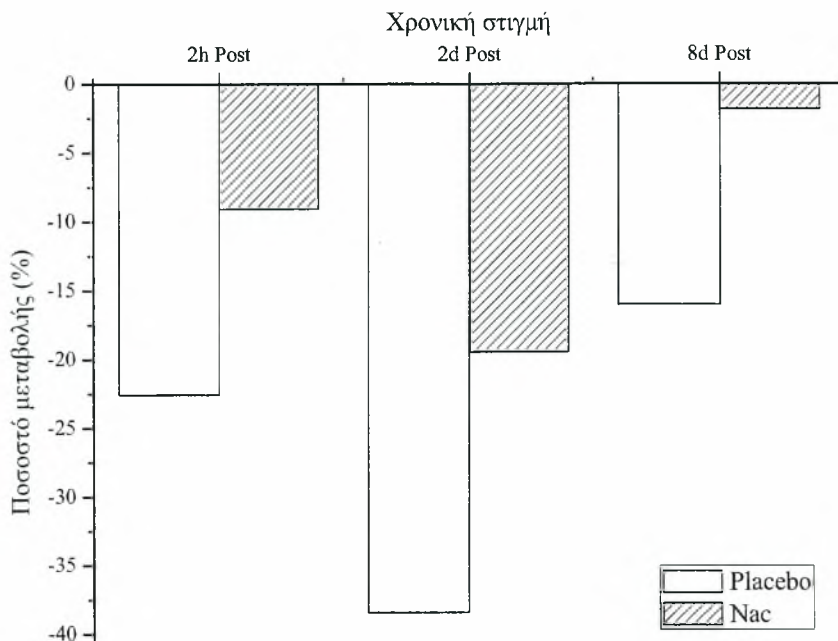
μέτρηση στις 2 ώρες ( $p<.001$ ), κατά 38.4% στη μέτρηση στις 2 ημέρες ( $p<.001$ ) και κατά 16.1% στη μέτρηση στις 8 ημέρες ( $p<.001$ ) μετά την άσκηση. Όμοια από το τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni για τη συνθήκη NAC φάνηκε ότι η GSH του μυ μειώθηκε κατά 9.1% στις 2 ώρες ( $p<.001$ ) και κατά 19.5% στις 2 ημέρες ( $p<.001$ ) μετά την άσκηση (πίνακας 26). Επιπλέον παρουσιάστηκε σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(3,27)}=21.790$ ,  $p<.001$ ) (πίνακας 25). Μετά την εφαρμογή των τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni βρέθηκε ότι δεν διέφεραν μεταξύ τους στις δυο συνθήκες (placebo –NAC) οι αρχικές μετρήσεις. Ωστόσο διέφεραν οι μετρήσεις στις 2 ώρες ( $p<.009$ ), στις 2 ημέρες ( $p<.001$ ) και στις 8 ημέρες ( $p<.004$ ) μετά την άσκηση. Οι ποσοστιαίες μεταβολές της GSH στις δυο συνθήκες παρουσιάζονται στο σχήμα 27.

**Πίνακας 24.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τα GSH στο μυ.

Στατιστικοί δείκτες για την GSH στο μυ		
	F	p
Αλληλεπίδραση	21.790	<0.001
Κύρια επίδραση συνθήκης	11.012	0.009
Κύρια επίδραση χρόνου	194.223	<0.001

**Πίνακας 25.** GSH στο μυ (umol/mg πρωτεΐνης). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p<.05$ ).

GSH στο μυ (umol/mg πρωτεΐνης) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	0.055 ± 0.010	0.054 ± 0.009
2h Post	0.043 ± 0.008 <sup>a</sup>	0.049 ± 0.008 <sup>a,b</sup>
2d Post	0.034 ± 0.007 <sup>a</sup>	0.043 ± 0.007 <sup>a,b</sup>
8d Post	0.047 ± 0.009 <sup>a</sup>	0.053 ± 0.008 <sup>b</sup>



Σχήμα 27. Ποσοστιαία μεταβολή της GSH στο μυ.

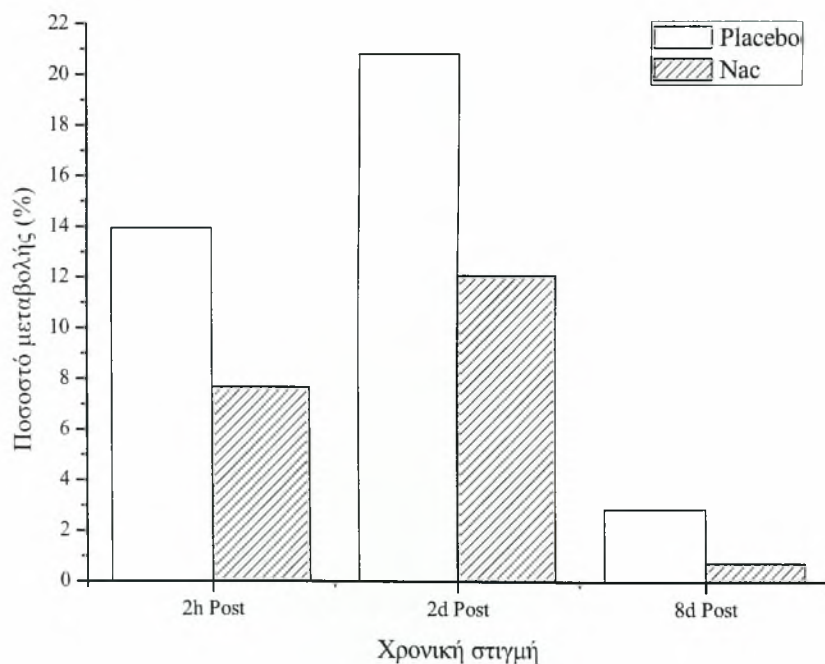
Οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG) στο μυ. Η οξειδωμένη γλουταθειόνη στο μυ κατά τη συνθήκη placebo ήταν αυξημένη κατά 13.9% ( $p < .001$ ) στις 2 ώρες μετά την άσκηση, κατά 20.8% ( $p < .001$ ) στις 2 ημέρες μετά την άσκηση και κατά 2.9% στις 8 ημέρες μετά την άσκηση ( $p = .035$ ). Στη συνθήκη NAC η GSSG ήταν αυξημένη στις 2 ώρες (7.7%,  $p < .001$ ) μετά την άσκηση και στις 2 ημέρες (12%,  $p < .001$ ) μετά την άσκηση, ενώ στις 8 ημέρες μετά είχε επανέλθει στα πριν την άσκηση επίπεδα (πίνακας 28). Τέλος από τη στατιστική φάνηκε να υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(3,27)} = 40.983$ ,  $p < .001$ ) (πίνακας 27). Από τα τεστ πολλαπλών συγκρίσεων φάνηκε οι δυο συνθήκες να διαφέρουν στις 2 ώρες ( $p = .017$ ) και στις 2 ημέρες ( $p < .001$ ) μετά την άσκηση. Οι ποσοστιαίες μεταβολές της GSSG στο μυ στις δυο συνθήκες παρουσιάζονται στο σχήμα 28.

**Πίνακας 26.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για την GSSG στο μυ.

Στατιστικοί δείκτες για την GSSG στο μυ		
	F	p
Αλληλεπίδραση	40.983	<0.001
Κύρια επίδραση συνθήκης	4.308	0.068
Κύρια επίδραση χρόνου	192.750	<0.001

**Πίνακας 27.** GSSG στο μυ (nmol/mg πρωτεΐνης). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).

GSSG στο μυ (nmol/mg πρωτεΐνης) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	1.083 ± 0.105	1.096 ± 0.112
2h Post	1.234 ± 0.093 <sup>a</sup>	1.180 ± 0.107 <sup>a,b</sup>
2d Post	1.308 ± 0.085 <sup>a</sup>	1.228 ± 0.090 <sup>a,b</sup>
8d Post	1.114 ± 0.105 <sup>a</sup>	1.104 ± 0.114



**Σχήμα 28.** Ποσοστιαία μεταβολή της GSSG στο μυ.



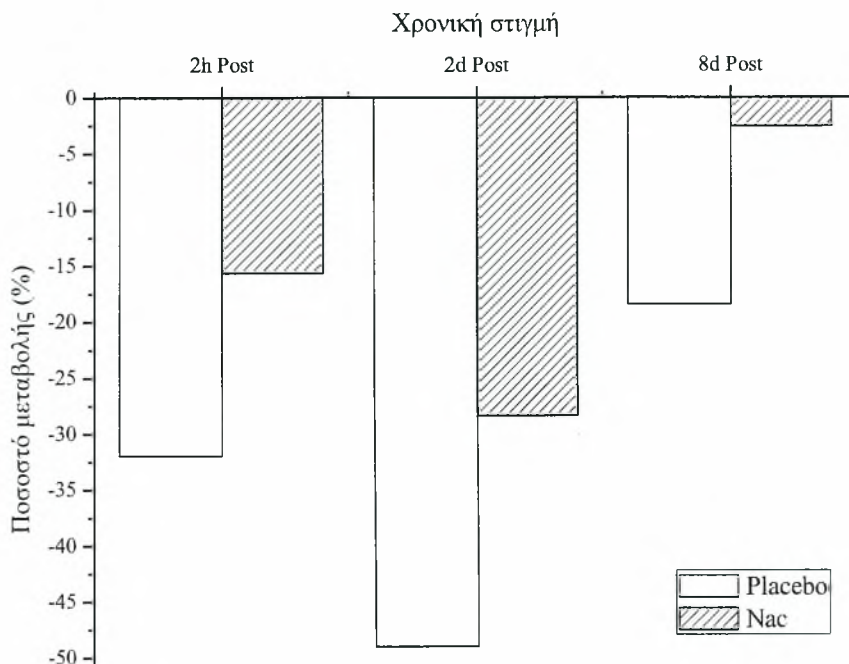
*Αναλογία GSH/GSSG.* Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης που έγινε για το λόγο της ανηγμένης προς την οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSH/GSSG) στο μυ φάνηκε ότι στη συνθήκη placebo η αναλογία αυτή μειώθηκε σημαντικά κατά 32% στις 2 ώρες ( $p<.001$ ), κατά 49% στις 2 ημέρες ( $p<.001$ ) και κατά 18.4% στις 8 ημέρες μετά την άσκηση ( $p<.001$ ). Στη συνθήκη NAC η αναλογία ήταν μειωμένη στις 2 ώρες κατά 15.7% ( $p<.001$ ) και στις 2 ημέρες μετά την άσκηση κατά 28.4% ( $p<.001$ ) (πίνακας 30). Επίσης από τη στατιστική φάνηκε ότι υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(3,27)}=22.757$ ,  $p<.001$ ) (πίνακας 29). Μετά την εφαρμογή των τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni βρέθηκε ότι διέφεραν μεταξύ τους στις δυο συνθήκες (placebo –NAC) η μέτρηση που έγινε στις 2 ώρες ( $p=.001$ ), στις 2 ημέρες ( $p<.001$ ) και στις 8 ημέρες ( $p=.004$ ) μετά την άσκηση, ενώ δεν υπήρχαν διαφορές στις αρχικές μετρήσεις των δυο συνθηκών. Στο σχήμα 29 παρουσιάζονται οι ποσοστιαίες μεταβολές του λόγου GSH/GSSG στις δυο συνθήκες.

**Πίνακας 28.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τα GSH/GSSG στο μυ.

Στατιστικοί δείκτες του λόγου GSH/GSSG στο μυ		
	F	p
Αλληλεπίδραση	22.757	<0.001
Κύρια επίδραση συνθήκης	15.266	0.004
Κύρια επίδραση χρόνου	406.934	<0.001

**Πίνακας 29.** Αναλογία GSH/GSSG στο μυ. a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p<.05$ ).

GSH/GSSG στο μυ (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	50.838 ± 5.033	49.284 ± 6.622
2h Post	34.594 ± 4.607 <sup>a</sup>	41.564 ± 5.991 <sup>a,b</sup>
2d Post	25.940 ± 4.010 <sup>a</sup>	35.309 ± 4.730 <sup>a,b</sup>
8d Post	41.475 ± 4.978 <sup>a</sup>	48.028 ± 0.460 <sup>b</sup>



Σχήμα 29. Ποσοστιαία μεταβολή του λόγου GSH/GSSG στο μυ.

#### *Δείκτες οξειδωτικού στρες στο μυ*

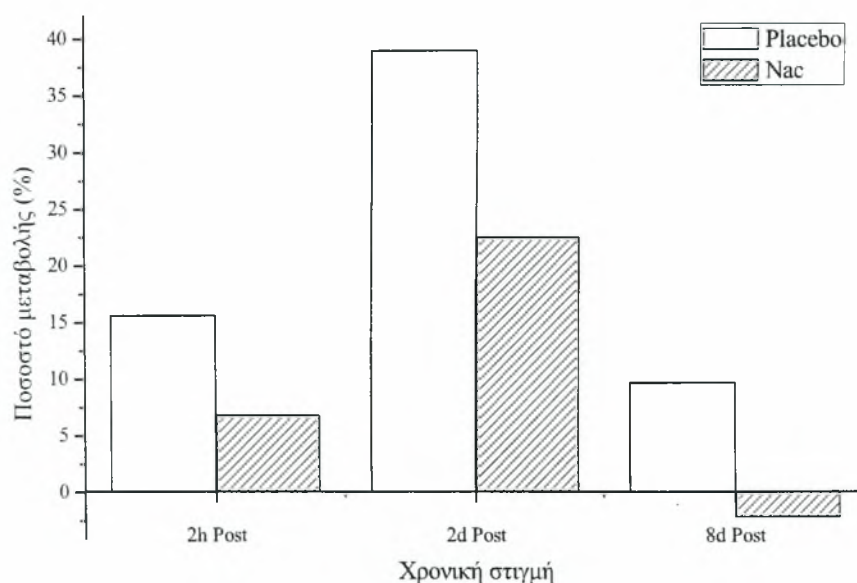
Ουσίες που αντιδρούν με θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS) στο μυ. Από τα αποτελέσματα των τεστ πολλαπλών συγκρίσεων φάνηκε ότι τα επίπεδα των TBARS στο μυ όσο αφορά τη συνθήκη placebo ήταν αυξημένα στις 2 ώρες ( $p < .001$ ) και στις 2 και 8 ημέρες μετά την άσκηση ( $p < .001$ ) σε ποσοστά 15.6%, 38.9% και 9.7% αντίστοιχα. Όμοια για τη συνθήκη NAC βρέθηκε ότι τα TBARS ήταν αυξημένα στο μυ στις 2 ώρες κατά 6.8% ( $p < .001$ ) και στις 2 ημέρες κατά 22.4% ( $p < .001$ ) (πίνακας 32). Επιπλέον από τη στατιστική ανάλυση διαπιστώθηκε σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(3,27)}=27.253$ ,  $p < .001$ ) (πίνακας 31). Μετά την εφαρμογή των τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni βρέθηκε ότι οι δυο συνθήκες διέφεραν μεταξύ τους στις 2 ώρες ( $p < .01$ ) και στις 2 και 8 ημέρες ( $p < .001$ ) μετά την άσκηση, χωρίς ωστόσο να διαφέρουν οι αρχικές μετρήσεις των δυο συνθηκών. Οι ποσοστιαίες μεταβολές των TBARS στο μυ στις δυο συνθήκες παρουσιάζονται στο σχήμα 30.

**Πίνακας 30.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τα TBARS στο μυ.

Στατιστικοί δείκτες για τα TBARS στο μυ		
	F	p
Αλληλεπίδραση	27.253	<0.001
Κύρια επίδραση συνθήκης	21.836	0.001
Κύρια επίδραση χρόνου	105.008	<0.001

**Πίνακας 31.** TBARS στο μυ (nmol/mg πρωτεΐνης). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).

TBARS στο μυ (nmol/mg πρωτεΐνης) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	0.755 ± 0.050	0.762 ± 0.045
2h Post	0.873 ± 0.046 <sup>a</sup>	0.814 ± 0.044 <sup>a,b</sup>
2d Post	1.049 ± 0.092 <sup>a</sup>	0.933 ± 0.061 <sup>a,b</sup>
8d Post	0.828 ± 0.044 <sup>a</sup>	0.746 ± 0.040 <sup>b</sup>



**Σχήμα 30.** Ποσοστιαία μεταβολή των TBARS στο μυ.

*Πρωτεϊνικά καρβονύλια (PC) στο μυ.* Από τα αποτελέσματα του στατιστικού ελέγχου που έγινε για τα πρωτεϊνικά καρβονύλια του μυ φάνηκε ότι στη συνθήκη placebo

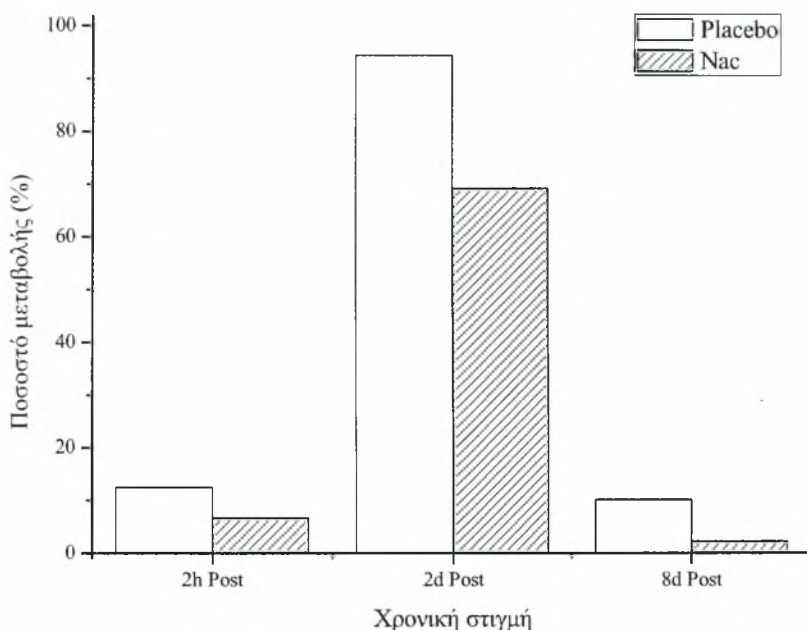
η συγκέντρωσή τους ήταν αυξημένη κατά 12.4% ( $p < .001$ ) στις 2 ώρες μετά την άσκηση. Στις 2 ημέρες μετά αυξήθηκε κατά 94.3% ( $p < .001$ ) και στις 8 ημέρες μετά την άσκηση ήταν αυξημένη κατά 10.1% ( $p = .004$ ). Στη συνθήκη NAC τα PC του μυ αυξήθηκαν στις πρώτες 2 ώρες κατά 6.7% ( $p < .001$ ) και στις 2 ημέρες μετά κατά 69.1% ( $p < .001$ ), ενώ στις 8 ημέρες μετά επανήλθαν σχεδόν στα επίπεδα πριν την άσκηση (πίνακας 34). Ακόμη από τη στατιστική φάνηκε ότι υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(3,27)} = 16.344$ ,  $p < .001$ ) (πίνακας 33). Μετά την εφαρμογή των τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni βρέθηκε ότι διέφεραν μεταξύ τους στις δυο συνθήκες (placebo – NAC) όλες οι μετρήσεις που έγιναν στο μυ μετά την άσκηση εκτός από τις αρχικές. Για την ακρίβεια διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις μετρήσεις στις 2 ώρες ( $p < .008$ ), στις 2 ημέρες ( $p < .001$ ) και στις 8 ημέρες ( $p < .006$ ) μετά την άσκηση. Οι ποσοστιαίες μεταβολές των PC στις δυο συνθήκες παρουσιάζονται στο σχήμα 31.

**Πίνακας 32.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τα PC στο μυ.

Στατιστικοί δείκτες για τα PC στο μυ		
	F	p
Αλληλεπίδραση	16.344	<0.001
Κύρια επίδραση συνθήκης	35.026	<0.001
Κύρια επίδραση χρόνου	293.227	<0.001

**Πίνακας 33.** PC στο μυ (nmol/mg πρωτεΐνης). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p < .05$ ).

PC στο μυ (nmol/mg πρωτεΐνης) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	1.423 ± 0.144	1.406 ± 0.106
2h Post	1.600 ± 0.174 <sup>a</sup>	1.500 ± 0.092 <sup>a,b</sup>
2d Post	2.765 ± 0.353 <sup>a</sup>	2.377 ± 0.239 <sup>a,b</sup>
8d Post	1.567 ± 0.150 <sup>a</sup>	1.437 ± 0.093 <sup>b</sup>



Σχήμα 31. Ποσοστιαία μεταβολή των PC στο μυ.

#### Δείκτες απόδοσης

Μέγιστη ροπή έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα  $60^\circ/\text{sec}$ . Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης που εφαρμόστηκε φάνηκε ότι για τη συνθήκη placebo η μέγιστη ροπή στις  $60^\circ/\text{sec}$  έκκεντρης μυϊκής σύσπασης ήταν μειωμένη σε σύγκριση με την αρχική μέτρηση για όλες τις μετρήσεις μέχρι και την 7<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p < .001$  για όλες τις μετρήσεις). Πιο συγκεκριμένα η μείωση κορυφώθηκε στις 2 ημέρες μετά την άσκηση σε ποσοστό που έφτασε το 55.8%, ενώ την 8<sup>η</sup> ημέρα οι τιμές της μέγιστης ροπής προσέγγισαν τα πριν την άσκηση επίπεδα. Όμοια για τη συνθήκη NAC διέφερε σημαντικά από όλες τις άλλες μετρήσεις μέχρι και την 8<sup>η</sup> ημέρα με  $p < .001$  (πίνακας 36). Οι τιμές της μέγιστης ροπής για τη συνθήκη αυτή μειώθηκαν μετά την άσκηση μέχρι και 43.3% (τη 2<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση). Ακόμη από τη στατιστική φάνηκε ότι υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(9,81)}=42.866$ ,  $p < .001$ ) (πίνακας 35). Μετά την εφαρμογή των τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni βρέθηκε ότι διέφεραν μεταξύ τους στις δυο συνθήκες (placebo – NAC) οι μετρήσεις που έγιναν την 1<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p = .002$ ), τη 2<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p = .01$ ) και την 8<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p = .012$ ). Δεν διέφεραν οι αρχικές



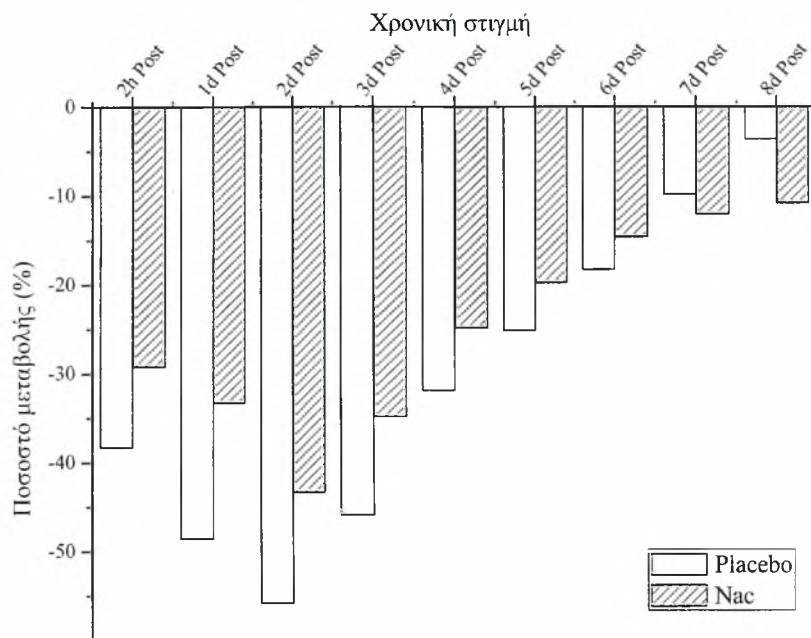
μετρήσεις μεταξύ των δυο συνθηκών. Οι ποσοστιαίες μεταβολές της μέγιστης ροπής στις δυο συνθήκες παρουσιάζονται στο σχήμα 32.

**Πίνακας 34.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη μέγιστη ροπή έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec.

Στατιστικοί δείκτες για τη μέγιστη ροπή μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec		
	F	p
Αλληλεπίδραση	42.866	<0.001
Κύρια επίδραση συνθήκης	0.265	0.619
Κύρια επίδραση χρόνου	182.215	<0.001

**Πίνακας 35.** Μέγιστη ροπή έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec (Nm). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).

Μέγιστη ροπή μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec (Nm) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	375.188 ± 74.718	356.989 ± 79.567
2h Post	231.617 ± 49.958 <sup>a</sup>	252.704 ± 54.406 <sup>a</sup>
1d Post	192.914 ± 37.930 <sup>a</sup>	238.290 ± 50.568 <sup>a,b</sup>
2d Post	165.842 ± 27.922 <sup>a</sup>	202.347 ± 47.145 <sup>a,b</sup>
3d Post	203.129 ± 39.803 <sup>a</sup>	232.742 ± 48.294 <sup>a</sup>
4d Post	255.661 ± 46.385 <sup>a</sup>	268.362 ± 55.859 <sup>a</sup>
5d Post	280.893 ± 49.856 <sup>a</sup>	286.398 ± 59.109 <sup>a</sup>
6d Post	306.591 ± 60.929 <sup>a</sup>	304.831 ± 67.963 <sup>a</sup>
7d Post	338.366 ± 65.401 <sup>a</sup>	314.060 ± 67.241 <sup>a</sup>
8d Post	361.716 ± 72.420	318.364 ± 68.169 <sup>a,b</sup>



**Σχήμα 32.** Ποσοστιαία μεταβολή της μέγιστης ροπής έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec.

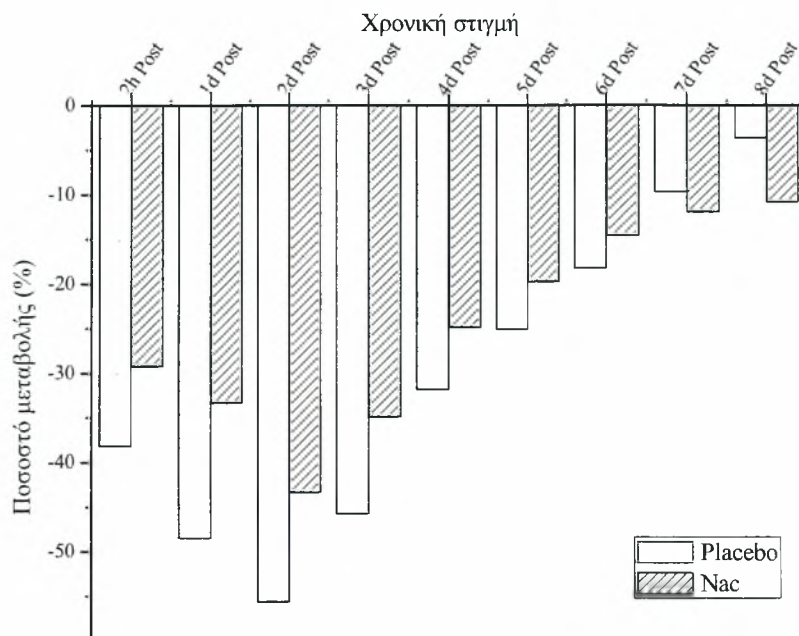
*Σχετική μέγιστη ροπή μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec.* Οι τιμές του δείκτη αυτού όσο αφορά τη συνθήκη placebo μειώθηκαν μετά την άσκηση (με  $p < .001$  για τις μετρήσεις μέχρι και την 7<sup>η</sup> ημέρα.). Η μεγαλύτερη μείωση εμφανίστηκε στις 2 ημέρες μετά την άσκηση σε ποσοστό 55.6%, ενώ στη συνέχεια η διαφορά με την αρχική μέτρηση μειωνόταν μέχρι την 8<sup>η</sup> ημέρα. Για τη συνθήκη της NAC από τα τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni φάνηκε να έχει μειωθεί η σχετική μέγιστη ροπή σε όλες τις μετρήσεις μετά την αρχική ( $p < .001$ ). Όμοια με την συνθήκη placebo η ελάχιστη τιμή της ροπής επιτεύχθηκε τη 2<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση όπου υπήρξε μείωση κατά 43.4% (πίνακας 38). Επιπλέον από τη στατιστική φάνηκε ότι υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(9,81)}=52.002$ ,  $p < .001$ ) (πίνακας 37). Μετά την εφαρμογή των τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni βρέθηκε ότι διέφεραν μεταξύ τους στις δυο συνθήκες (placebo –NAC) οι μετρήσεις που έγιναν την 1<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p=.003$ ), τη 2<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p=.012$ ) και την 8<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p=.017$ ), χωρίς να διαφέρουν οι αρχικές μετρήσεις των δυο συνθηκών μεταξύ τους. Στο σχήμα 33 παρουσιάζονται οι ποσοστιαίες μεταβολές της σχετικής μέγιστης ροπής στις δυο συνθήκες.

**Πίνακας 36.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη σχετική μέγιστη ροπή έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec.

Στατιστικοί δείκτες για τη σχετική μέγιστη ροπή μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec		
	F	p
Αλληλεπίδραση	52.002	<0.001
Κύρια επίδραση συνθήκης	0.520	0.489
Κύρια επίδραση χρόνου	201.384	<0.001

**Πίνακας 37.** Σχετική μέγιστη ροπή έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec (Nm/Kg). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).

Σχετική μέγιστη ροπή μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec (Nm/Kg) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	4.909 ± 0.780	4.727 ± 1.132
2h Post	3.035 ± 0.575 <sup>a</sup>	3.345 ± 0.760 <sup>a</sup>
1d Post	2.527 ± 0.405 <sup>a</sup>	3.152 ± 0.696 <sup>a,b</sup>
2d Post	2.178 ± 0.303 <sup>a</sup>	2.677 ± 0.653 <sup>a,b</sup>
3d Post	2.662 ± 0.440 <sup>a</sup>	3.078 ± 0.663 <sup>a</sup>
4d Post	3.348 ± 0.467 <sup>a</sup>	3.553 ± 0.788 <sup>a</sup>
5d Post	3.677 ± 0.490 <sup>a</sup>	3.793 ± 0.840 <sup>a</sup>
6d Post	4.013 ± 0.644 <sup>a</sup>	4.037 ± 0.975 <sup>a</sup>
7d Post	4.434 ± 0.724 <sup>a</sup>	4.162 ± 0.977 <sup>a</sup>
8d Post	4.731 ± 0.766	4.215 ± 0.971 <sup>a,b</sup>



**Σχήμα 33.** Ποσοστιαία μεταβολή της σχετικής μέγιστης ροπής έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα  $60^\circ/\text{sec}$ .

*Μέση ροπή μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα  $60^\circ/\text{sec}$ .* Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης που έγινε για τη συνθήκη placebo φάνηκε πτώση η οποία την 7<sup>η</sup> ημέρα ήταν στο 9.7% ( $p < .001$ ). Η μέγιστη πτώση εμφανίστηκε τη 2<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση που άγγιξε το 61.1%. Στη συνθήκη NAC μειώθηκε η μέση ροπή σε όλες τις μετρήσεις μετά την άσκηση μέχρι και την 8<sup>η</sup> ημέρα ( $p < .001$ ) με τη μεγαλύτερη μείωση να εμφανίζεται τη 2<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση (45.4%) (πίνακας 40). Ακόμη από τη στατιστική φάνηκε ότι υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(9,81)}=29.410$ ,  $p < .001$ ) (πίνακας 39). Μετά την εφαρμογή των τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni βρέθηκε ότι δεν διέφεραν οι αρχικές μετρήσεις των δυο συνθηκών (placebo –NAC) αλλά οι μετρήσεις που έγιναν την 1<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p = .011$ ), τη 2<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p = .001$ ) και την 8<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p = .033$ ). Οι ποσοστιαίες μεταβολές της μέσης ροπής στις δυο συνθήκες παρουσιάζονται στο σχήμα 34.

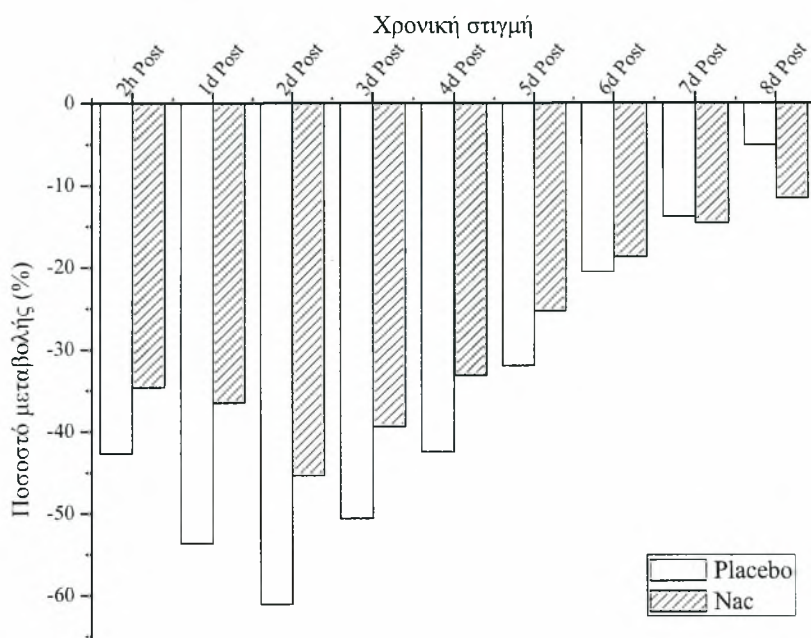
**Πίνακας 38.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη μέση ροπή έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec.

Στατιστικοί δείκτες για τη μέση ροπή μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec		
	F	p
Αλληλεπίδραση	29.410	<0.001
Κύρια επίδραση συνθήκης	0.020	0.890
Κύρια επίδραση χρόνου	153.561	<0.001

**Πίνακας 39.** Μέση ροπή έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec (Nm). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p < .05$ ).

Μέση ροπή μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec (Nm) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	230.418 ± 50.817	212.687 ± 52.163
2h Post	132.151 ± 26.283 <sup>a</sup>	139.133 ± 26.620 <sup>a</sup>
1d Post	106.856 ± 21.225 <sup>a</sup>	135.050 ± 31.812 <sup>a,b</sup>
2d Post	89.696 ± 14.089 <sup>a</sup>	116.219 ± 21.722 <sup>a,b</sup>
3d Post	113.811 ± 21.063 <sup>a</sup>	128.906 ± 28.789 <sup>a</sup>
4d Post	132.502 ± 25.502 <sup>a</sup>	142.148 ± 31.299 <sup>a</sup>
5d Post	156.782 ± 29.499 <sup>a</sup>	158.856 ± 36.832 <sup>a</sup>
6d Post	183.062 ± 37.392 <sup>a</sup>	172.834 ± 41.054 <sup>a</sup>
7d Post	198.577 ± 40.946 <sup>a</sup>	181.620 ± 43.960 <sup>a</sup>
8d Post	218.746 ± 45.677	188.139 ± 43.676 <sup>a,b</sup>





**Σχήμα 34.** Ποσοστιαία μεταβολή της μέσης ροπής έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec.

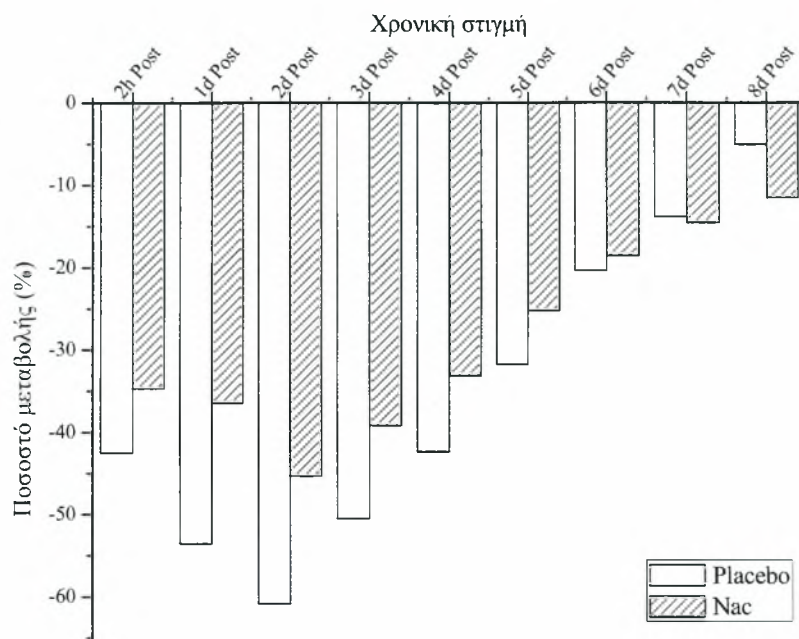
*Σχετική μέση ροπή μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec.* Στη συνθήκη placebo η σχετική μέση ροπή ήταν μειωμένη σε σχέση με την αρχική μέτρηση σε όλες τις άλλες μετρήσεις μέχρι και την 7<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση. Την 8<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση οι τιμές της ροπής προσέγγισαν τα πριν την άσκηση επίπεδα. Στις πρώτες 8 μετρήσεις (2h post, 1d post, 2d post, 3d post, 4d post, 5d post, 6d post, 7d post) υπήρχε πτώση που κυμαινόταν από 13.8% την 7<sup>η</sup> ημέρα μέχρι και 60.9% τη 2<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p < .001$  για όλες τις μετρήσεις). Στη συνθήκη NAC όλες οι μετρήσεις μετά την άσκηση ήταν μειωμένες ( $p \leq .001$ ) με την κορύφωση της πτώσης να εμφανίζεται και εδώ στις 2 ημέρες μετά το πρωτόκολλο άσκησης (45.3%) (πίνακας 42). Από τη στατιστική φάνηκε ότι υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(9,81)}=31.665$ ,  $p < .001$ ) (πίνακας 41). Μετά την εφαρμογή των τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni βρέθηκε ότι διέφεραν μεταξύ τους στις δυο συνθήκες (placebo –NAC) οι μετρήσεις που έγιναν την 1<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p=.015$ ), τη 2<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p=.002$ ) και την 8<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p=.012$ ). Δεν διέφεραν οι αρχικές μετρήσεις των δυο συνθηκών μεταξύ τους. Οι ποσοστιαίες μεταβολές της σχετικής μέσης ροπής στις δυο συνθήκες παρουσιάζονται στο σχήμα 35.

**Πίνακας 40.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη σχετική μέση ροπή έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec.

Στατιστικοί δείκτες για τη σχετική μέση ροπή μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec		
	F	p
Αλληλεπίδραση	31.665	<0.001
Κύρια επίδραση συνθήκης	0.158	0.700
Κύρια επίδραση χρόνου	187.204	<0.001

**Πίνακας 41.** Σχετική μέση ροπή έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec (Nm/Kg). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).

Σχετική μέση ροπή μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec (Nm/Kg) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	3.003 ± 0.478	2.822 ± 0.772
2h Post	1.726 ± 0.256 <sup>a</sup>	1.843 ± 0.376 <sup>a,b</sup>
1d Post	1.395 ± 0.190 <sup>a</sup>	1.793 ± 0.467 <sup>a,b</sup>
2d Post	1.175 ± 0.135 <sup>a</sup>	1.543 ± 0.331 <sup>a</sup>
3d Post	1.486 ± 0.183 <sup>a</sup>	1.717 ± 0.457 <sup>a</sup>
4d Post	1.731 ± 0.243 <sup>a</sup>	1.888 ± 0.475 <sup>a</sup>
5d Post	2.049 ± 0.291 <sup>a</sup>	2.110 ± 0.552 <sup>a</sup>
6d Post	2.391 ± 0.365 <sup>a</sup>	2.299 ± 0.638 <sup>a</sup>
7d Post	2.589 ± 0.367 <sup>a</sup>	2.412 ± 0.659 <sup>a</sup>
8d Post	2.852 ± 0.415	2.498 ± 0.651 <sup>a,b</sup>



**Σχήμα 35.** Ποσοστιαία μεταβολή της σχετικής μέσης ροπής έκκεντρης μυϊκής σύσπασης σε ταχύτητα 60°/sec.

### **Δείκτες μυϊκού τραυματισμού**

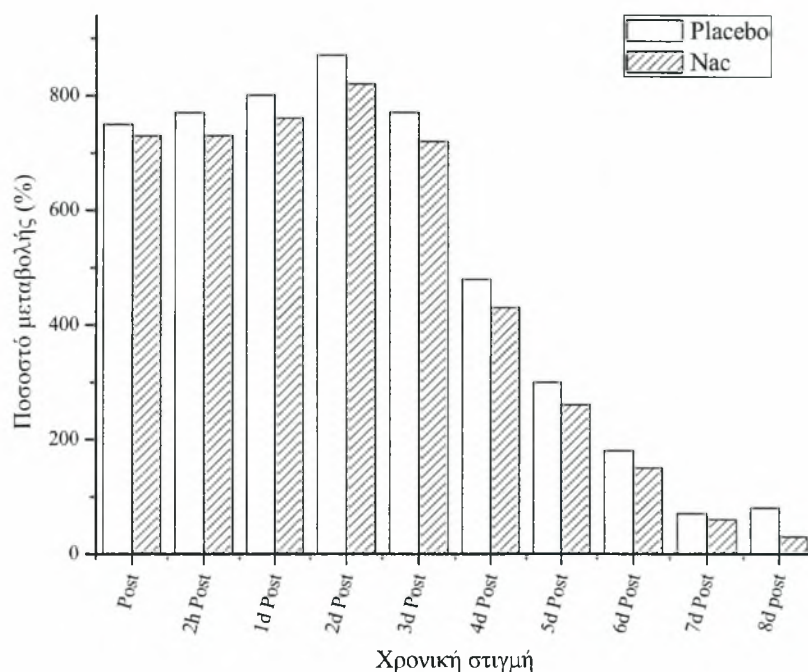
**Καθυστερημένος μυϊκός πόνος (DOMS).** Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης που έγινε για τον καθυστερημένο μυϊκό πόνο φάνηκε ότι για τη συνθήκη placebo ήταν αυξημένος ο πόνος μέχρι και την 5<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p < .001$  για όλες τις μετρήσεις μέχρι και την 5<sup>η</sup> ημέρα). Η μέγιστη αίσθηση του πόνου εμφανίστηκε την 2<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση, ενώ από την 6<sup>η</sup> ημέρα σχεδόν εξαλείφθηκε. Όμοια στη συνθήκη NAC η αίσθηση του πόνου ήταν αυξημένη μέχρι και την 5<sup>η</sup> ημέρα με κορύφωση και εδώ τη 2<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση (μέχρι την 3<sup>η</sup> ημέρα  $p \leq .001$ , την 4<sup>η</sup> ημέρα  $p = .003$  και την 5<sup>η</sup> ημέρα  $p = .031$ ). Ακόμη από τη στατιστική δεν φάνηκε να υπάρχει κάποια αλληλεπίδραση (πίνακας 43). Στο σχήμα 36 παρουσιάζονται Οι ποσοστιαίες μεταβολές των DOMS στις δυο συνθήκες.

**Πίνακας 42.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τον καθυστερημένο μυϊκό πόνο.

<b>Στατιστικοί δείκτες για τον καθυστερημένος μυϊκός πόνος (DOMS)</b>		
	<b>F</b>	<b>p</b>
Αλληλεπίδραση	0.226	0.993
Κύρια επίδραση συνθήκης	3.011	0.117
Κύρια επίδραση χρόνου	118.320	<0.001

**Πίνακας 43.** Καθυστερημένος μυϊκός πόνος (DOMS). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre ( $p < .05$ ).

<b>Καθυστερημένος μυϊκός πόνος (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)</b>		
<b>Χρονική στιγμή</b>	<b>Placebo</b>	<b>NAC</b>
Pre	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
Post	8.50 ± 0.70 <sup>a</sup>	8.30 ± 0.86 <sup>a</sup>
2h Post	8.70 ± 0.50 <sup>a</sup>	8.30 ± 0.42 <sup>a</sup>
1d Post	9.00 ± 0.37 <sup>a</sup>	8.60 ± 0.34 <sup>a</sup>
2d Post	9.70 ± 0.15 <sup>a</sup>	9.20 ± 0.25 <sup>a</sup>
3d Post	8.70 ± 0.21 <sup>a</sup>	8.20 ± 0.29 <sup>a</sup>
4d Post	5.80 ± 0.39 <sup>a</sup>	5.30 ± 0.60 <sup>a</sup>
5d Post	4.00 ± 0.26	3.60 ± 0.50 <sup>a</sup>
6d Post	2.80 ± 0.42	2.50 ± 1.72
7d Post	1.70 ± 0.67	1.60 ± 0.84
8d Post	1.80 ± 0.63	1.30 ± 0.67



Σχήμα 36. Ποσοστιαία μεταβολή του καθυστερημένου μυϊκού πόνου.

Εύρος κίνησης στην άρθρωση του γόνατος (KJRM). Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης που έγινε για το εύρος κίνησης στην άρθρωση του γόνατος φάνηκε ότι για τη συνθήκη placebo ήταν μειωμένο στη μέτρηση αμέσως μετά την άσκηση κατά 8.07% ( $p=.045$ ), στις 2 ώρες μετά την άσκηση κατά 8.35% ( $p=.008$ ) και 1 ημέρα μετά την άσκηση κατά 6.08% ( $p=.04$ ). Στις επόμενες μετρήσεις το εύρος κίνησης επανήλθε στα επίπεδα πριν την άσκηση. Στη συνθήκη NAC δεν υπήρχε καμιά διαφορά της αρχικής μέτρησης με τις υπόλοιπες (πίνακας 46). Επίσης δεν υπήρχαν διαφορές μεταξύ των αρχικών μετρήσεων των δυο συνθηκών. Ακόμη από τη στατιστική δεν φάνηκε να υπάρχει κάποια αλληλεπίδραση (πίνακας 45). Οι ποσοστιαίες μεταβολές του KJRM στις δυο συνθήκες παρουσιάζονται στο σχήμα 37.

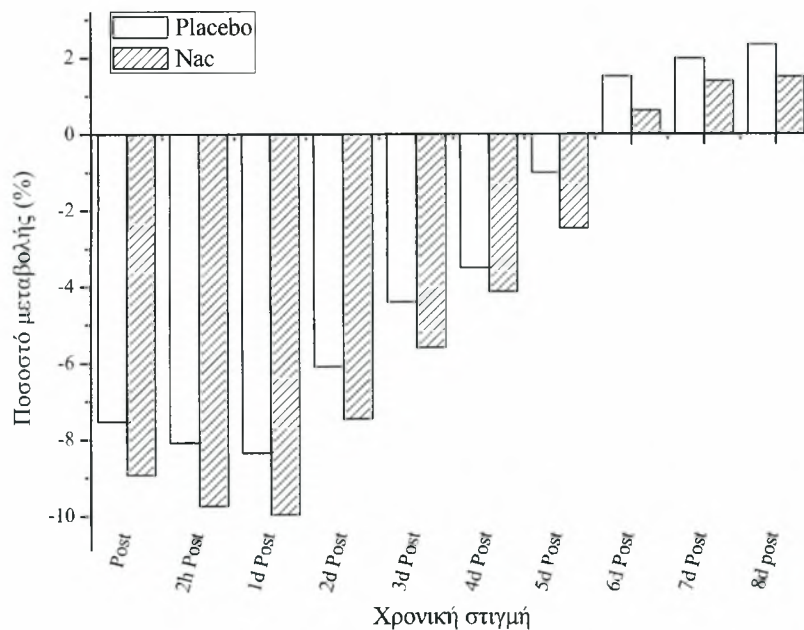
Πίνακας 44. Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για το εύρος κίνησης στην άρθρωση του γόνατος.

Στατιστικοί δείκτες για το εύρος κίνησης στην άρθρωση του γόνατος		
	F	p
Αλληλεπίδραση	0.092	1.000
Κύρια επίδραση συνθήκης	0.006	0.942
Κύρια επίδραση χρόνου	9.326	<0.001



Πίνακας 45. Εύρος κίνησης στην άρθρωση του γόνατος (KJRM). α: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre ( $p < .05$ ).

Εύρος κίνησης στην άρθρωση του γόνατος (°) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	128.20 ± 7.43	129.50 ± 11.69
Post	118.55 ± 8.85 <sup>a</sup>	117.95 ± 12.31
2h Post	117.85 ± 6.74 <sup>a</sup>	116.90 ± 13.78
1d Post	117.50 ± 8.06 <sup>a</sup>	116.60 ± 14.87
2d Post	120.40 ± 7.13	119.85 ± 14.70
3d Post	122.55 ± 7.46	122.25 ± 11.76
4d Post	123.70 ± 8.04	124.15 ± 10.73
5d Post	126.90 ± 7.57	126.30 ± 9.42
6d Post	130.15 ± 7.90	130.30 ± 9.08
7d Post	130.75 ± 8.27	131.30 ± 9.46
8d Post	131.20 ± 8.84	131.45 ± 9.31



Σχήμα 37. Ποσοστιαία μεταβολή του εύρους κίνησης στην άρθρωση του γόνατος.

### Δείκτης μυϊκού τραυματισμού στο αίμα

Κρεατινική κινάση (CK). Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης που έγινε για την κρεατινική κινάση φάνηκε ότι και στις δυο συνθήκες αυξήθηκε σε όλα τα δείγματα μετά την άσκηση ( $p < .05$ ). Η μέγιστη αύξηση και για τις δυο συνθήκες εμφανίστηκε την 3<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση. Στη συνθήκη placebo η CK αυξήθηκε κατά 1758.21%, ενώ στη συνθήκη NAC κατά 2977.21% σε σύγκριση με τα επίπεδα ηρεμίας (πίνακας 48). Από τη στατιστική φάνηκε ότι υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(10,90)}=4.883$ ,  $p < .001$ ) (πίνακας 47). Μετά την εφαρμογή των τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni βρέθηκε ότι διέφεραν μεταξύ τους στις δυο συνθήκες (placebo –NAC) οι μετρήσεις που έγιναν την 1<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p < .001$ ), τη 2<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p = .007$ ), την 3<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p = .014$ ) και την 4<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p = .031$ ). Δεν διέφεραν οι αρχικές μετρήσεις των δυο συνθηκών μεταξύ τους. Οι ποσοστιαίες μεταβολές της CK στις δυο συνθήκες παρουσιάζονται στο σχήμα 38.

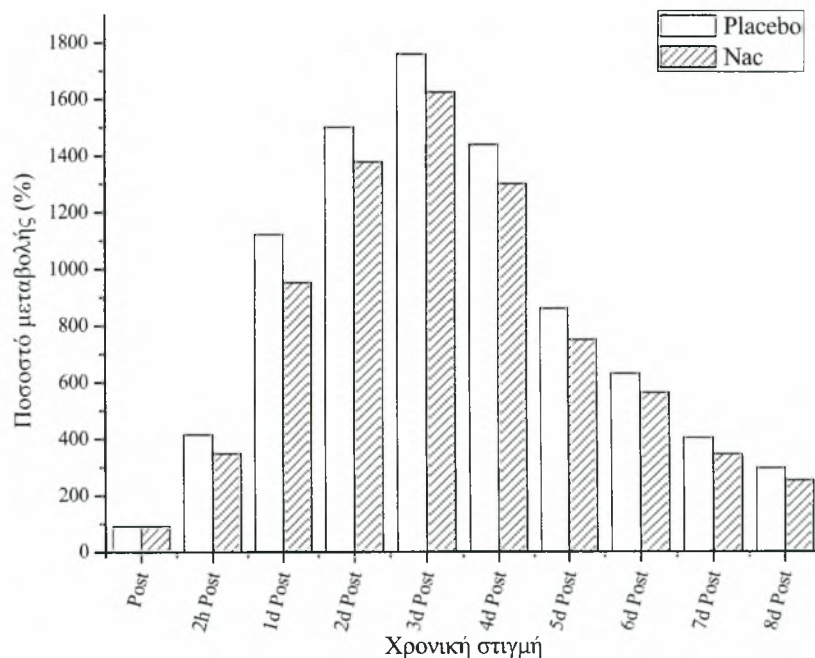
**Πίνακας 46.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για την κρεατινική κινάση (CK).

Στατιστικοί δείκτες για την κρεατινική κινάση (CK)		
	F	p
Αλληλεπίδραση	4.883	<0.001
Κύρια επίδραση συνθήκης	9.538	0.013
Κύρια επίδραση χρόνου	6.687	<0.001

**Πίνακας 47.** Κρεατινική κινάση (CK). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p < .05$ ).

Κρεατινική κινάση (CK) (U/L) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	188.700 ± 130.084	183.400 ± 125.387
Post	359.780 ± 264.934 <sup>a</sup>	351.840 ± 245.968 <sup>a</sup>
2h Post	972.610 ± 1208.690 <sup>a</sup>	822.170 ± 1170.555 <sup>a</sup>
1d Post	2304.240 ± 2524.578 <sup>a</sup>	1928.060 ± 2373.773 <sup>a,b</sup>
2d Post	3018.320 ± 3626.139 <sup>a</sup>	2709.470 ± 3530.547 <sup>a,b</sup>
3d Post	3506.440 ± 3784.396 <sup>a</sup>	3160.610 ± 3553.431 <sup>a,b</sup>

4d Post	2903.620 ± 2918.260 <sup>a</sup>	2566.580 ± 2542.644 <sup>a,b</sup>
5d Post	1810.330 ± 1723.955 <sup>a</sup>	1558.630 ± 1590.286 <sup>a</sup>
6d Post	1378.060 ± 1201.539 <sup>a</sup>	1216.540 ± 1161.474 <sup>a</sup>
7d Post	948.900 ± 592.405 <sup>a</sup>	818.010 ± 520.967 <sup>a</sup>
8d Post	748.120 ± 465.931 <sup>a</sup>	647.480 ± 349.314 <sup>a</sup>



Σχήμα 38. Ποσοστιαία μεταβολή της κρεατινικής κινάσης (CK).

### Δείκτες φλεγμονής

*Λευκά αιμοσφαίρια (WBC).* Από τα αποτελέσματα του στατιστικού ελέγχου που έγινε για τα λευκά αιμοσφαίρια φάνηκε ότι στη συνθήκη placebo ο αριθμός τους αυξήθηκε κατά 113.9% ( $p < .001$ ) αμέσως μετά την άσκηση και κατά 139.8% ( $p < .001$ ) στις 2 ώρες μετά. Επίσης ήταν αυξημένα κατά 65.8% ( $p = .003$ ) μία ημέρα μετά την άσκηση, ενώ από την 3<sup>η</sup> ημέρα μέχρι και την 8<sup>η</sup> η αύξηση περιορίστηκε περίπου στο 20%. Στη συνθήκη NAC αμέσως μετά την άσκηση η αύξηση ήταν στο 55% ( $p = .004$ ), στις 2 ώρες μετά έφτασε στο 83.2% ( $p = .002$ ) και στη μία ημέρα μετά ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων ήταν αυξημένος κατά 48.1% ( $p = .006$ ). Τις επόμενες ημέρες ο αυξημένος αριθμός των λευκών δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά από την αρχική μέτρηση (πίνακας 50). Ακόμη από τη στατιστική φάνηκε ότι υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(10,90)} = 6.991$ ,  $p < .001$ ) (πίνακας 49). Μετά την εφαρμογή των τεστ

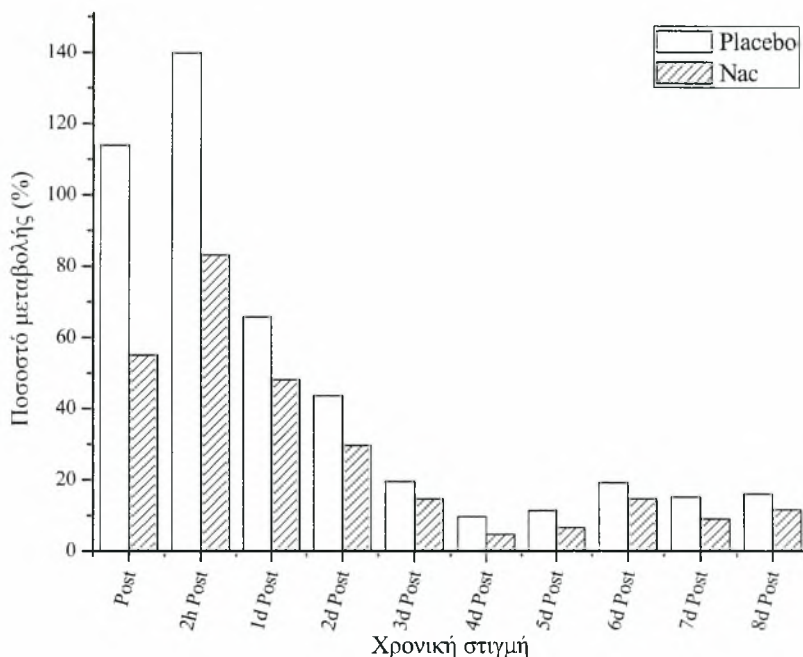
πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni βρέθηκε ότι διέφεραν μεταξύ τους στις δυο συνθήκες (placebo –NAC) οι μετρήσεις που έγιναν αμέσως μετά την άσκηση ( $p=0.005$ ) και στις 2 ώρες μετά ( $p=0.013$ ). Οι ποσοστιαίες μεταβολές των WBC στις δυο συνθήκες παρουσιάζονται στο σχήμα 39.

**Πίνακας 48.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τα λευκά αιμοσφαίρια (WBC).

Στατιστικοί δείκτες για τα λευκά αιμοσφαίρια (WBC)		
	F	p
Αλληλεπίδραση	6.991	<0.001
Κύρια επίδραση συνθήκης	4.200	0.071
Κύρια επίδραση χρόνου	61.640	<0.001

**Πίνακας 49.** Λευκά αιμοσφαίρια (WBC). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p<.05$ ).

Λευκά αιμοσφαίρια (WBC) (K/μL) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	6.110 ± 0.810	6.440 ± 0.707
Post	13.068 ± 2.432 <sup>a</sup>	9.984 ± 1.222 <sup>a,b</sup>
2h Post	14.652 ± 2.418 <sup>a</sup>	11.796 ± 2.046 <sup>a,b</sup>
1d Post	10.128 ± 1.839 <sup>a</sup>	9.540 ± 1.564 <sup>a</sup>
2d Post	8.772 ± 2.015	8.350 ± 1.483
3d Post	7.300 ± 1.090	7.380 ± 1.550
4d Post	6.700 ± 1.301	6.740 ± 1.289
5d Post	6.800 ± 1.377	6.860 ± 1.197
6d Post	7.800 ± 1.297	7.380 ± 0.989
7d Post	7.030 ± 1.127	7.020 ± 0.758
8d Post	7.090 ± 1.577	7.190 ± 1.107



**Σχήμα 39.** Ποσοστιαία μεταβολή των λευκών αιμοσφαιρίων (WBC).

*C αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP).* Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης που έγινε για τη CRP φάνηκε ότι στη συνθήκη placebo στατιστικά σημαντική αύξηση εμφάνισε στις 2 ώρες μετά την άσκηση και την 1<sup>η</sup>, 2<sup>η</sup> και 3<sup>η</sup> ( $p < .05$ ) ημέρα μετά την έκκεντρη άσκηση. Η συγκέντρωση της πρωτεΐνης αυξήθηκε μέχρι και 233.6%. Στη συνθήκη NAC σημαντική αύξηση της CRP εμφανίστηκε στις 2 ώρες και την 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p \leq .005$ ). Στη συνθήκη αυτή η αύξηση έφτασε το 859.7% (πίνακας 52). Ακόμη από τη στατιστική φάνηκε ότι υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(10,90)}=4.920$ ,  $p < .001$ ) (πίνακας 51). Μετά την εφαρμογή των τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni βρέθηκε ότι διέφεραν μεταξύ τους στις δυο συνθήκες (placebo –NAC) οι μετρήσεις που έγιναν την 1<sup>η</sup> ( $p=.038$ ), τη 2<sup>η</sup> ( $p=.041$ ) και την 3<sup>η</sup> ( $p=.004$ ) ημέρα μετά την άσκηση. Οι ποσοστιαίες μεταβολές της CRP στις δυο συνθήκες παρουσιάζονται στο σχήμα 40.

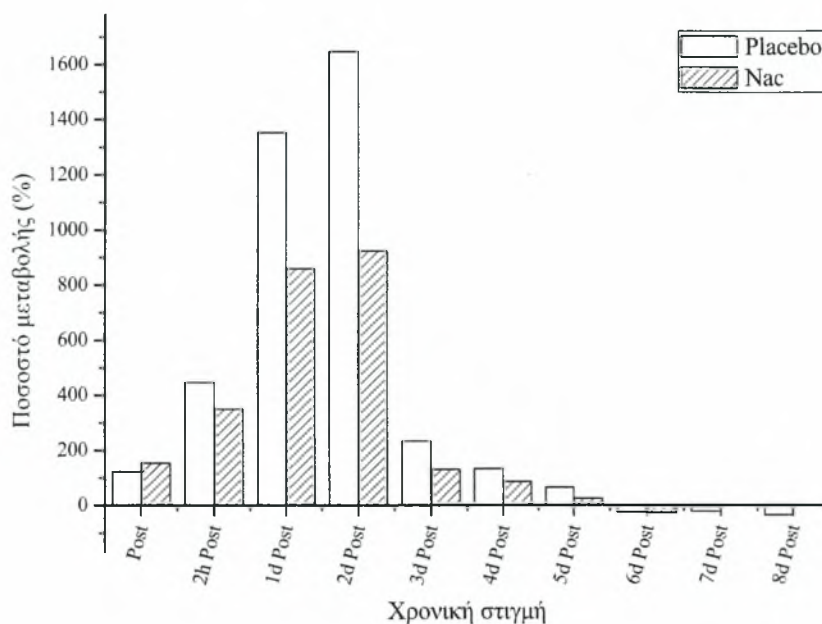


**Πίνακας 50.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη C αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP).

<b>Στατιστικοί δείκτες για τη C αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP)</b>		
	<b>F</b>	<b>p</b>
Αλληλεπίδραση	4.920	<0.001
Κύρια επίδραση συνθήκης	10.485	0.01
Κύρια επίδραση χρόνου	7.126	<0.001

**Πίνακας 51.** C αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) (mg/L). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p < .05$ ).

<b>C αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) (mg/L) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)</b>		
<b>Χρονική στιγμή</b>	<b>Placebo</b>	<b>NAC</b>
Pre	0.280 ± 0.124	0.247 ± 0.072
Post	0.622 ± 0.441	0.628 ± 0.408
2h Post	1.525 ± 1.022 <sup>a</sup>	1.110 ± 0.980 <sup>a</sup>
1d Post	4.059 ± 2.862 <sup>a</sup>	2.370 ± 0.985 <sup>a,b</sup>
2d Post	4.881 ± 6.239 <sup>a</sup>	2.530 ± 3.140 <sup>a,b</sup>
3d Post	0.933 ± 0.392 <sup>a</sup>	0.569 ± 0.161 <sup>b</sup>
4d Post	0.650 ± 0.157	0.459 ± 0.077
5d Post	0.462 ± 0.103	0.308 ± 0.004
6d Post	0.211 ± 0.164	0.180 ± 0.009
7d Post	0.218 ± 0.021	0.241 ± 0.039
8d Post	0.182 ± 0.035	0.241 ± 0.050



**Σχήμα 40.** Ποσοστιαία μεταβολή της C αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP).

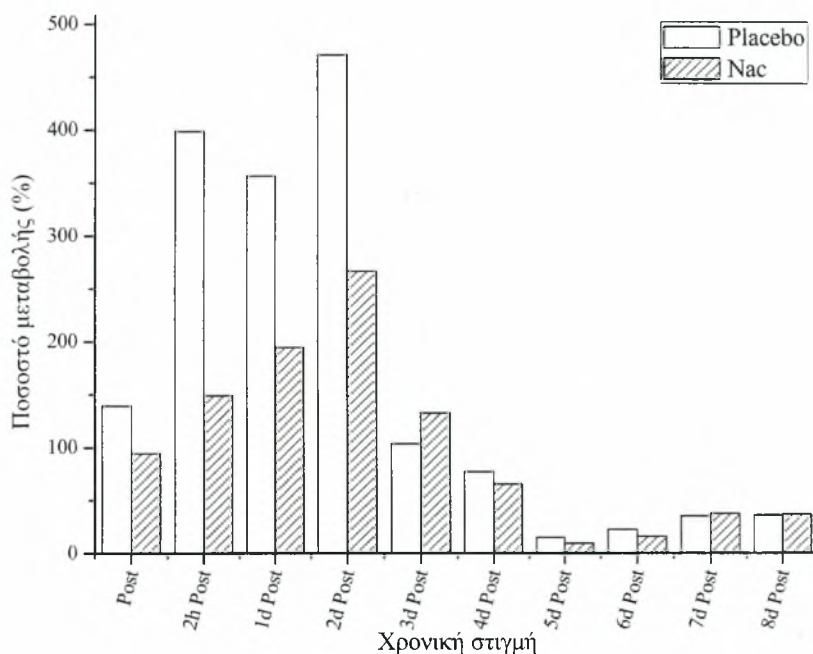
*Ιντερλευκίνη-1β (IL-1β).* Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης φάνηκε ότι στη συνθήκη placebo η IL-1β αυξήθηκε από το δείγμα αμέσως μετά την άσκηση μέχρι και στις 4 ημέρες μετά την άσκηση. Στη συνθήκη αυτή παρατηρήθηκε αύξηση κατά 470.3% ( $p=.044$ ) στις 2 ημέρες μετά την άσκηση. Στη συνθήκη NAC οι διαφορές με το δείγμα πριν την άσκηση εμφανίστηκαν από το δείγμα των 2 ωρών μέχρι και αυτό των 4 ημερών μετά την άσκηση (πίνακας 54). Ακόμη από τη στατιστική φάνηκε ότι υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(10,90)}=9.969$ ,  $p<.001$ ) (πίνακας 53). Μετά την εφαρμογή των τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni βρέθηκε ότι διέφεραν μεταξύ τους στις δυο συνθήκες (placebo – NAC) οι μετρήσεις που έγιναν 2 ώρες μετά την άσκηση ( $p<.001$ ) και 1 ( $p=.013$ ) και 2 ( $p=.009$ ) ημέρες μετά την άσκηση. Στο σχήμα 41 παρουσιάζονται οι ποσοστιαίες μεταβολές της IL-1β στις δυο συνθήκες.

**Πίνακας 52.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για την Ιντερλευκίνη-1β (IL-1β).

<b>Στατιστικοί δείκτες για την Ιντερλευκίνη-1β (IL-1β)</b>		
	<b>F</b>	<b>p</b>
Αλληλεπίδραση	9.969	<0.001
Κύρια επίδραση συνθήκης	21.878	0.001
Κύρια επίδραση χρόνου	6.696	<0.001

**Πίνακας 53.** Ιντερλευκίνη-1β (IL-1β) (pg/mL). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).

<b>Ιντερλευκίνη-1β (IL-1β) (pg/mL) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)</b>		
<b>Χρονική στιγμή</b>	<b>Placebo</b>	<b>NAC</b>
Pre	0.148 ± 0.170	0.139 ± 0.143
Post	0.354 ± 0.221 <sup>a</sup>	0.270 ± 0.234
2h Post	0.738 ± 0.331 <sup>a</sup>	0.346 ± 0.263 <sup>a,b</sup>
1d Post	0.675 ± 0.543 <sup>a</sup>	0.409 ± 0.313 <sup>a,b</sup>
2d Post	0.844 ± 0.719 <sup>a</sup>	0.509 ± 0.436 <sup>a,b</sup>
3d Post	0.301 ± 0.134 <sup>a</sup>	0.323 ± 0.175 <sup>a</sup>
4d Post	0.262 ± 0.064 <sup>a</sup>	0.230 ± 0.042 <sup>a</sup>
5d Post	0.170 ± 0.033	0.152 ± 0.022
6d Post	0.181 ± 0.026	0.161 ± 0.017
7d Post	0.200 ± 0.065	0.191 ± 0.028
8d Post	0.201 ± 0.084	0.190 ± 0.046



**Σχήμα 41.** Ποσοστιαία μεταβολή της Ιντερλευκίνης-1β (IL-1β).

*Ιντερλευκίνη-6 (IL-6).* Από τα αποτελέσματα του στατιστικού ελέγχου που έγινε για την IL-6 φάνηκε ότι η συγκέντρωσή της ήταν αυξημένη σε όλες τις μετρήσεις μετά τις 2 ώρες. Πιο συγκεκριμένα στις 2 ώρες αυξήθηκε κατά 2048% ( $p=.001$ ), στη 1 ημέρα κατά 2110% ( $p<.001$ ), στις 2 ημέρες κατά 2910% ( $p<.001$ ), στις 3 ημέρες κατά 2096% ( $p=.001$ ), στις 4 ημέρες κατά 685% ( $p<.001$ ), στις 5 ημέρες κατά 297% ( $p<.001$ ), στις 6 ημέρες κατά 973% ( $p=.013$ ), στις 7 ημέρες κατά 399% ( $p<.001$ ) και στις 8 ημέρες κατά 258% ( $p<.001$ ). Όμοια και στη συνθήκη NAC εμφανίστηκαν σημαντικές αυξήσεις από το δείγμα των 2 ωρών και μετά. Στις 2 ώρες ήταν αυξημένη κατά 1536% ( $p<.001$ ), στη 1 ημέρα κατά 1646% ( $p<.001$ ), στις 2 ημέρες κατά 1931% ( $p<.001$ ), στις 3 ημέρες κατά 1688% ( $p<.001$ ), στις 4 ημέρες κατά 560% ( $p<.001$ ), στις 5 ημέρες κατά 230% ( $p=.001$ ), στις 6 ημέρες κατά 756% ( $p<.001$ ), στις 7 ημέρες κατά 317% ( $p<.002$ ) και στις 8 ημέρες κατά 176% ( $p<.001$ ) (πίνακας 56). Ακόμη από τη στατιστική φάνηκε ότι υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(10,90)}=7.424$ ,  $p<.001$ ) (πίνακας 55). Μετά την εφαρμογή των τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni βρέθηκε ότι διέφεραν μεταξύ τους στις δυο συνθήκες (placebo –NAC) οι μετρήσεις που έγιναν στις 2 ώρες και 1 ημέρα μετά την άσκηση ( $p<.001$ ), στις 2 ημέρες μετά την άσκηση ( $p=.005$ ), στις 3 ημέρες μετά την άσκηση ( $p=.028$ ), στις 4 και 5 ημέρες μετά την άσκηση ( $p<.001$ ), στις 6 ημέρες μετά την άσκηση ( $p=.006$ ), στις 7 ημέρες μετά την άσκηση ( $p=.007$ ) και στις

8 ημέρες μετά την άσκηση ( $p < .001$ ). Στο σχήμα 42 παρουσιάζονται οι ποσοστιαίες μεταβολές της IL-6 στις δυο συνθήκες.

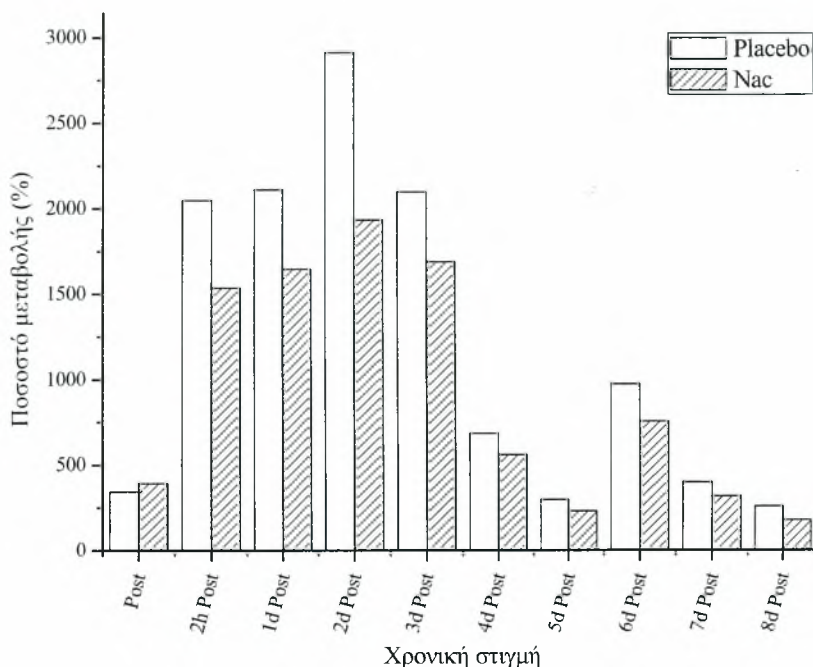
**Πίνακας 54.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για την Ιντερλευκίνη-6 (IL-6).

Στατιστικοί δείκτες για την Ιντερλευκίνη-6 (IL-6)		
	F	p
Αλληλεπίδραση	7.424	<0.001
Κύρια επίδραση συνθήκης	105.447	<0.001
Κύρια επίδραση χρόνου	70.429	<0.001

**Πίνακας 55.** Ιντερλευκίνη-6 (IL-6) (pg/mL). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p < .05$ ).

Ιντερλευκίνη-6 (IL-6) (pg/mL) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	0.205 ± 0.071	0.173 ± 0.044
Post	0.910 ± 0.727	0.852 ± 0.688
2h Post	4.404 ± 1.485 <sup>a</sup>	2.830 ± 0.649 <sup>a,b</sup>
1d Post	4.530 ± 1.141 <sup>a</sup>	3.021 ± 0.490 <sup>a,b</sup>
2d Post	6.170 ± 1.635 <sup>a</sup>	3.514 ± 1.061 <sup>a,b</sup>
3d Post	4.501 ± 1.676 <sup>a</sup>	3.093 ± 0.474 <sup>a,b</sup>
4d Post	1.610 ± 0.093 <sup>a</sup>	1.142 ± 0.029 <sup>a,b</sup>
5d Post	0.813 ± 0.172 <sup>a</sup>	0.571 ± 0.149 <sup>a,b</sup>
6d Post	2.200 ± 1.042 <sup>a</sup>	1.481 ± 0.440 <sup>a,b</sup>
7d Post	1.022 ± 0.161 <sup>a</sup>	0.721 ± 0.208 <sup>a,b</sup>
8d Post	0.733 ± 0.105 <sup>a</sup>	0.477 ± 0.076 <sup>a,b</sup>





Σχήμα 42. Ποσοστιαία μεταβολή της Ιντερλευκίνης-6 (IL-6).

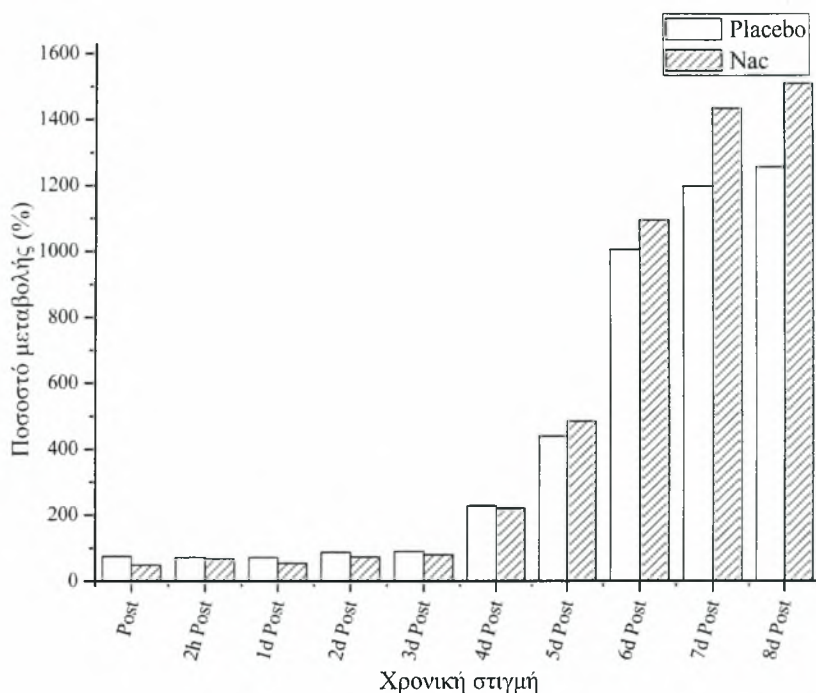
*Ιντερλευκίνη-10 (IL-10).* Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης φάνηκε ότι στη συνθήκη placebo η IL-10 αυξήθηκε σημαντικά μετά την άσκηση από το δείγμα των 2 ωρών και μετά. Πιο συγκεκριμένα την 1<sup>η</sup> ημέρα μετά ήταν αυξημένη κατά 71% ( $p=.036$ ), την 3<sup>η</sup> ημέρα κατά 89% ( $p=.007$ ), την 4<sup>η</sup> ημέρα κατά 229% ( $p<.001$ ), την 5<sup>η</sup> ημέρα κατά 440% ( $p<.001$ ), την 6<sup>η</sup> ημέρα κατά 1006% ( $p<.001$ ), την 7<sup>η</sup> ημέρα κατά 1198% ( $p<.001$ ) και την 8<sup>η</sup> ημέρα κατά 1256% ( $p<.001$ ). Στη συνθήκη NAC η αρχική μέτρηση διέφερε στατιστικά σημαντικά από τη μέτρηση των 2 ωρών και μετά. Τα μεγαλύτερα ποσοστά αύξησης εμφανίστηκαν στη μέτρηση της 4<sup>ης</sup> ημέρας μετά την άσκηση (220%,  $p<.001$ ), της 5<sup>ης</sup> ημέρας (485%,  $p<.001$ ), της 6<sup>ης</sup> ημέρας (1095%,  $p<.001$ ), της 7<sup>ης</sup> ημέρας (1433%,  $p=.003$ ) και της 8<sup>ης</sup> ημέρας (1508%,  $p=.003$ ) (πίνακας 58). Ακόμη από τη στατιστική φάνηκε ότι υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(10,90)}=13.448$ ,  $p<.001$ ) (πίνακας 57). Μετά την εφαρμογή των τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni βρέθηκε ότι διέφεραν μεταξύ τους στις δυο συνθήκες (placebo –NAC) οι μετρήσεις που έγιναν την 5<sup>η</sup> και 6<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p<.001$ ) καθώς και την 7<sup>η</sup> ( $p=.002$ ) και 8<sup>η</sup> ( $p=.003$ ) ημέρα μετά την άσκηση. Οι ποσοστιαίες μεταβολές της IL-10 στις δυο συνθήκες παρουσιάζονται στο σχήμα 43.

**Πίνακας 56.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για την Ιντερλευκίνη-10 (IL-10).

<b>Στατιστικοί δείκτες για την Ιντερλευκίνη-10 (IL-10)</b>		
	<b>F</b>	<b>p</b>
Αλληλεπίδραση	13.448	<0.001
Κύρια επίδραση συνθήκης	35.201	<0.001
Κύρια επίδραση χρόνου	56.113	<0.001

**Πίνακας 57.** Ιντερλευκίνη-10 (IL-10) (pg/mL). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).

<b>Ιντερλευκίνη-10 (IL-10) (pg/mL) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)</b>		
<b>Χρονική στιγμή</b>	<b>Placebo</b>	<b>NAC</b>
Pre	0.490 ± 0.257	0.534 ± 0.296
Post	0.859 ± 0.716	0.791 ± 0.719
2h Post	0.841 ± 0.392 <sup>a</sup>	0.896 ± 0.443 <sup>a</sup>
1d Post	0.840 ± 0.387 <sup>a</sup>	0.820 ± 0.410 <sup>a</sup>
2d Post	0.917 ± 0.486 <sup>a</sup>	0.926 ± 0.474 <sup>a</sup>
3d Post	0.928 ± 0.392 <sup>a</sup>	0.957 ± 0.397 <sup>a</sup>
4d Post	1.613 ± 0.426 <sup>a</sup>	1.710 ± 0.301 <sup>a</sup>
5d Post	2.645 ± 0.751 <sup>a</sup>	3.124 ± 0.764 <sup>a,b</sup>
6d Post	5.417 ± 1.845 <sup>a</sup>	6.379 ± 2.053 <sup>a,b</sup>
7d Post	6.360 ± 2.426 <sup>a</sup>	8.188 ± 3.420 <sup>a,b</sup>
8d Post	6.645 ± 2.465 <sup>a</sup>	8.589 ± 3.693 <sup>a,b</sup>



Σχήμα 43. Ποσοστιαία μεταβολή της Ιντερλευκίνης-10 (IL-10).

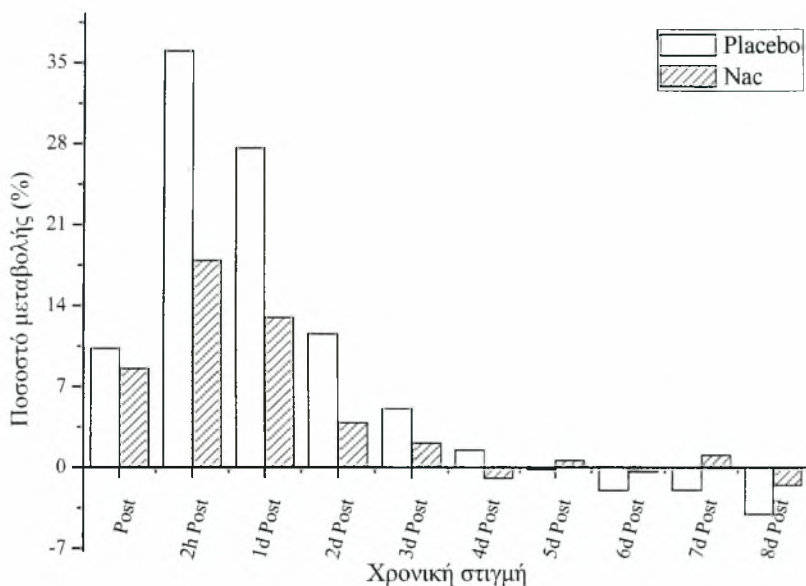
*Ενδοκυττάριο μόριο συγκόλλησης-1 (ICAM-1)*. Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης φάνηκε ότι στη συνθήκη placebo το ICAM-1 αυξήθηκε κατά 36% ( $p=.016$ ) στις 2 ώρες μετά την άσκηση ενώ στη συνέχεια η συγκέντρωσή του μειώθηκε προσεγγίζοντας τα πριν την άσκηση επίπεδα από την 4<sup>η</sup> ημέρα μετά το έκκεντρο πρωτόκολλο άσκησης. Στη συνθήκη NAC οι σημαντικές αυξήσεις στις συγκεντρώσεις του μορίου εμφανίστηκαν στις 2 ώρες ( $p=.005$ ) και στη 1 ημέρα ( $p=.001$ ) μετά την άσκηση όπου εμφανίστηκαν αυξημένες τιμές κατά 17.9% και 13% αντίστοιχα (πίνακας 60). Ακόμη από τη στατιστική φάνηκε ότι υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(10,90)}=3.866$ ,  $p<.001$ ) (πίνακας 59). Μετά την εφαρμογή των τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni βρέθηκε ότι διέφεραν μεταξύ τους στις δυο συνθήκες (placebo –NAC) οι μετρήσεις που έγιναν 2 ώρες ( $p=.019$ ) και 2 ( $p=.009$ ) ημέρες μετά την άσκηση. Οι ποσοστιαίες μεταβολές του ICAM-1 στις δυο συνθήκες παρουσιάζονται στο σχήμα 44.

**Πίνακας 58.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για το ICAM-1.

<b>Στατιστικοί δείκτες για το ICAM-1</b>		
	<b>F</b>	<b>P</b>
<b>Αλληλεπίδραση</b>	3.866	<0.001
<b>Κύρια επίδραση συνθήκης</b>	1.700	0.225
<b>Κύρια επίδραση χρόνου</b>	20.610	<0.001

**Πίνακας 59.** ICAM-1 (ng/mL). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής (p<.05).

<b>ICAM-1 (ng/mL) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)</b>		
<b>Χρονική στιγμή</b>	<b>Placebo</b>	<b>NAC</b>
<b>Pre</b>	124.553 ± 17.160	125.147 ± 19.141
<b>Post</b>	137.385 ± 17.151	135.861 ± 17.744
<b>2h Post</b>	169.434 ± 36.895 <sup>a</sup>	147.553 ± 19.612 <sup>a</sup>
<b>1d Post</b>	158.953 ± 45.185	141.369 ± 20.876 <sup>a,b</sup>
<b>2d Post</b>	138.947 ± 24.518	129.987 ± 21.931
<b>3d Post</b>	130.917 ± 19.126	127.815 ± 18.647 <sup>b</sup>
<b>4d Post</b>	126.436 ± 19.929	123.980 ± 20.125
<b>5d Post</b>	124.382 ± 21.879	125.909 ± 19.136
<b>6d Post</b>	122.096 ± 25.649	124.660 ± 20.405
<b>7d Post</b>	122.106 ± 22.110	126.499 ± 24.252
<b>8d Post</b>	119.511 ± 24.380	123.238 ± 21.538



**Σχήμα 44.** Ποσοστιαία μεταβολή του ICAM-1.

*Αγγειακό μόριο συγκόλλησης (VCAM-1).* Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης φάνηκε ότι στη συνθήκη placebo το VCAM-1 αυξήθηκε αμέσως μετά την άσκηση κατά 81.5% ( $p=.021$ ) ενώ, 2 ώρες αργότερα έφτασε τη μέγιστη συγκέντρωσή του (αύξηση κατά 228.9%,  $p<.001$ ). Την 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση η αύξησή του ήταν 182.3% και 146.9% αντίστοιχα ( $p<.001$  και στις δυο μετρήσεις). Την 3<sup>η</sup> ημέρα παρέμεινε αυξημένη η συγκέντρωσή του κατά 102.3% ( $p=.005$ ) και την 4<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση κατά 78.6% ( $p=.005$ ). Από την 5<sup>η</sup> ημέρα και μετά η συγκέντρωση του μορίου προσέγγισε προοδευτικά τα πριν την άσκηση επίπεδα. Στη συνθήκη NAC οι σημαντικές αυξήσεις εμφανίστηκαν στα ίδια χρονικά σημεία όπως στη συνθήκη placebo, δηλαδή αμέσως μετά την άσκηση, στις 2 ώρες μετά και στις 1, 2, 3 και 4 ημέρες μετά το έκκεντρο πρωτόκολλο άσκησης. Τα ποσοστά των αυξήσεων ήταν 78.3% ( $p=.018$ ), 202.8% ( $p<.001$ ), 147% ( $p<.001$ ), 126.7% ( $p<.001$ ), 89.4% ( $p=.005$ ) και 69.2% ( $p=.038$ ) αντίστοιχα (πίνακας 62). Ακόμη από τη στατιστική φάνηκε ότι δεν υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(10,90)}=1.072$ ,  $p=.392$ ) (πίνακας 61). Μετά την εφαρμογή των τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Bonferroni βρέθηκε ότι διέφεραν μεταξύ τους στις δυο συνθήκες (placebo –NAC) οι μετρήσεις που έγιναν την 1<sup>η</sup> ( $p=.012$ ), 2<sup>η</sup> ( $p=.004$ ), 3<sup>η</sup> ( $p=.03$ ) και 4<sup>η</sup> ( $p=.003$ ) ημέρα μετά την άσκηση. Στο σχήμα 45 παρουσιάζονται οι ποσοστιαίες μεταβολές του VCAM-1 στις δυο συνθήκες.

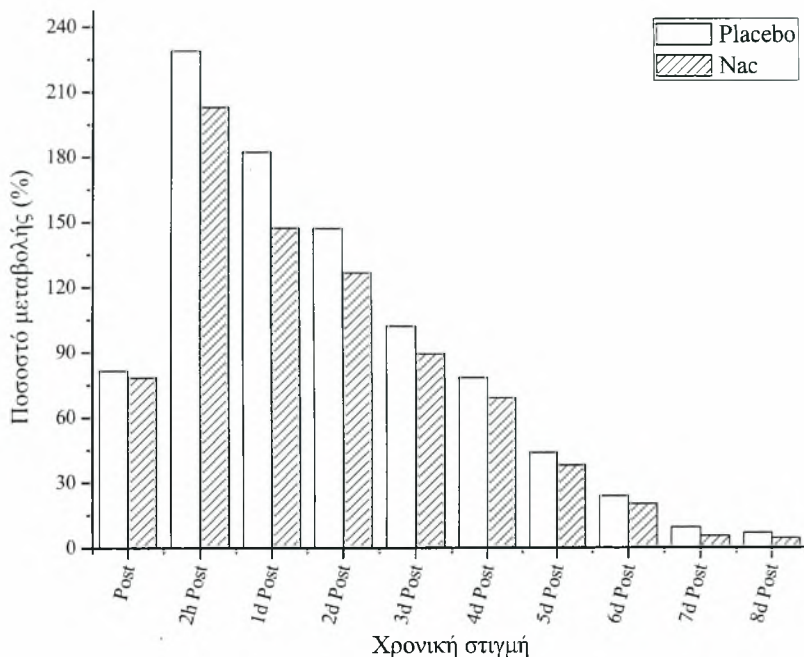


**Πίνακας 60.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για το VCAM-1.

<b>Στατιστικοί δείκτες για τοVCAM-1</b>		
	<b>F</b>	<b>p</b>
Αλληλεπίδραση	1.072	0.392
Κύρια επίδραση συνθήκης	7.700	0.022
Κύρια επίδραση χρόνου	78.998	<0.001

**Πίνακας 61.** VCAM-1 (ng/mL). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, (p<.05).

<b>VCAM-1 (ng/mL) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)</b>		
<b>Χρονική στιγμή</b>	<b>Placebo</b>	<b>NAC</b>
Pre	426.005 ± 195.185	426.756 ± 219.056
Post	773.204 ± 247.011 <sup>a</sup>	760.839 ± 229.153 <sup>a</sup>
2h Post	1401.011 ± 423.420 <sup>a</sup>	1292.010 ± 282.423 <sup>a</sup>
1d Post	1202.446 ± 242.542 <sup>a</sup>	1054.253 ± 110.264 <sup>a</sup>
2d Post	1051.643 ± 774.171 <sup>a</sup>	967.329 ± 76.895 <sup>a</sup>
3d Post	861.660 ± 98.721 <sup>a</sup>	808.200 ± 56.425 <sup>a</sup>
4d Post	761.030 ± 84.271 <sup>a</sup>	722.120 ± 80.109 <sup>a</sup>
5d Post	612.900 ± 117.395	589.190 ± 149.549
6d Post	527.920 ± 127.629	513.220 ± 160.920
7d Post	466.300 ± 154.646	450.610 ± 188.229
8d Post	454.720 ± 179.404	445.670 ± 207.678



Σχήμα 45. Ποσοστιαία μεταβολή του VCAM-1.

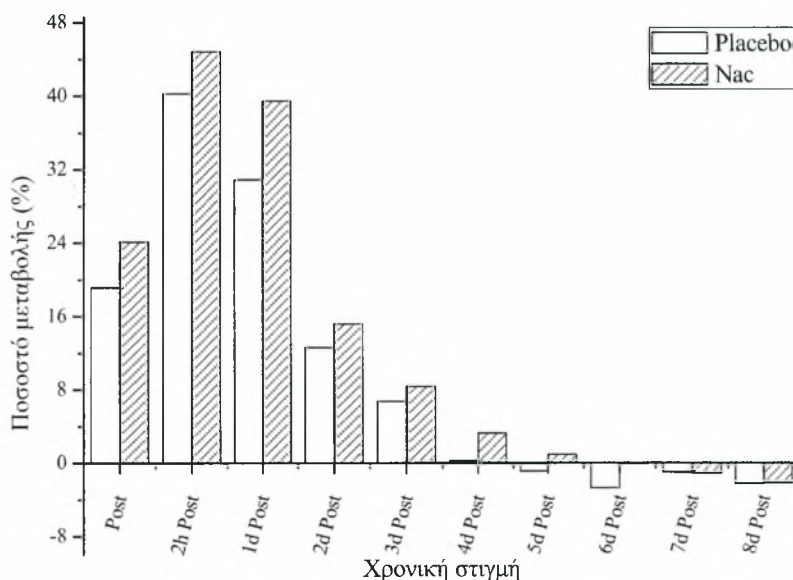
Σελεκτίνη P. Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης φάνηκε ότι στη συνθήκη placebo η συγκέντρωση της Σελεκτίνης P αυξήθηκε κατά 19.1% ( $p=.015$ ) αμέσως μετά την άσκηση και κατά 40.3% ( $p<.001$ ) στις 2 ώρες αργότερα. Μία ημέρα μετά το έκκεντρο πρωτόκολλο άσκησης η συγκέντρωσή της μειώθηκε ωστόσο εξακολουθούσε να είναι σημαντικά αυξημένη κατά 30.9% σε σύγκριση με την αρχική μέτρηση ( $p<.001$ ). Από την επόμενη ημέρα (2<sup>η</sup>) η συγκέντρωση της Σελεκτίνης P πλησίασε τις τιμές ηρεμίας. Στη συνθήκη NAC εμφανίστηκαν όμοιες αυξήσεις. Πιο συγκεκριμένα αυξήθηκε η συγκέντρωσή της αμέσως μετά την άσκηση κατά 24.1% και συνέχισε να αυξάνεται καθώς στις 2 ώρες μετά ήταν αυξημένη κατά 44.8%. Τέλος μια ημέρα μετά την άσκηση ήταν αυξημένη κατά 39.4% σε σχέση με την τιμή ηρεμίας (πίνακας 64). Από τη στατιστική φάνηκε ότι δεν υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(10,90)}=0.673$ ,  $p=.747$ ) (πίνακας 63). Επιπλέον από τη στατιστική φάνηκε ότι στις δυο συνθήκες (placebo –NAC) δεν διέφεραν οι μετρήσεις μεταξύ τους. Οι ποσοστιαίες μεταβολές της Σελεκτίνης P στις δυο συνθήκες παρουσιάζονται στο σχήμα 46.

**Πίνακας 62.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη Σελεκτίνη P.

Στατιστικοί δείκτες για τη Σελεκτίνη P		
	F	P
Αλληλεπίδραση	0.673	0.747
Κύρια επίδραση συνθήκης	0.160	0.699
Κύρια επίδραση χρόνου	55.916	<0.001

**Πίνακας 63.** Σελεκτίνη P (ng/mL). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, ( $p < .05$ ).

Σελεκτίνη P (ng/mL) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	20.526 ± 4.643	19.782 ± 6.078
Post	24.451 ± 4.896 <sup>a</sup>	24.550 ± 5.106 <sup>a</sup>
2h Post	28.793 ± 5.317 <sup>a</sup>	28.652 ± 5.164 <sup>a</sup>
1d Post	26.865 ± 4.707 <sup>a</sup>	27.584 ± 5.190 <sup>a</sup>
2d Post	23.119 ± 4.924	22.784 ± 5.846
3d Post	21.910 ± 4.555	21.439 ± 5.501
4d Post	20.578 ± 4.581	20.431 ± 5.614
5d Post	20.342 ± 4.612	19.966 ± 5.354
6d Post	19.965 ± 4.617	19.770 ± 6.006
7d Post	20.315 ± 5.171	19.565 ± 5.680
8d Post	20.059 ± 5.623	19.346 ± 5.434



Σχήμα 46. Ποσοστιαία μεταβολή της Σελεκτίνης P.

*Σελεκτίνη E.* Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης φάνηκε ότι στη συνθήκη placebo η συγκέντρωση της Σελεκτίνης E αυξήθηκε κατά 11.3% ( $p=.001$ ) αμέσως μετά την άσκηση και κατά 23.5% ( $p<.001$ ) στις 2 ώρες αργότερα. Μία ημέρα μετά το έκκεντρο πρωτόκολλο άσκησης η συγκέντρωσή της μειώθηκε ωστόσο εξακολουθούσε να είναι σημαντικά αυξημένη κατά 14% σε σύγκριση με την αρχική μέτρηση ( $p=.004$ ), ενώ τη 2<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ήταν αυξημένη κατά 3.2% ( $p=.001$ ). Στη συνέχεια η συγκέντρωσή της προσέγγισε τα πριν την άσκηση επίπεδα. Στη συνθήκη NAC αυξήθηκε αμέσως μετά την άσκηση κατά 9.8% ( $p=.005$ ), ενώ στις 2 ώρες μετά ήταν αυξημένη η συγκέντρωση της Σελεκτίνης E κατά 21.3% ( $p<.001$ ). Μια ημέρα μετά το έκκεντρο πρωτόκολλο άσκησης η αύξηση ήταν της τάξεως του 10.7% ( $p=.017$ ) και στη συνέχεια μειώθηκε με αποτέλεσμα την 3<sup>η</sup> μέρα μετά την άσκηση η συγκέντρωσή της να είναι μειωμένη κατά 2.8% ( $p=.032$ ) σε σχέση με τις τιμές ηρεμίας. Τις επόμενες ημέρες επανήλθε στα επίπεδα ηρεμίας (πίνακας 66). Από τη στατιστική φάνηκε ότι δεν υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(10,90)}=1.297$ ,  $p=.244$ ) (πίνακας 65). Επιπλέον από τη στατιστική φάνηκε ότι στις δυο συνθήκες (placebo –NAC) δεν διέφεραν οι μετρήσεις μεταξύ τους. Οι ποσοστιαίες μεταβολές της Σελεκτίνης E στις δυο συνθήκες παρουσιάζονται στο σχήμα 47.

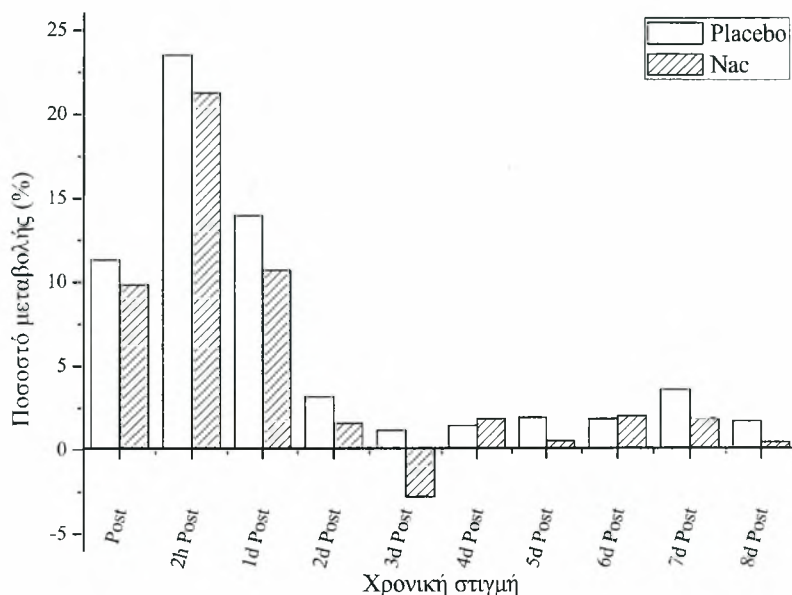
**Πίνακας 64.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη Σελεκτίνη E.

Στατιστικοί δείκτες για τη Σελεκτίνη E		
	F	p
Αλληλεπίδραση	1.297	0.244
Κύρια επίδραση συνθήκης	0.377	0.554
Κύρια επίδραση χρόνου	55.990	<0.001

**Πίνακας 65.** Σελεκτίνη E (ng/mL). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, (p<.05).

Σελεκτίνη E (ng/mL) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	146.620 ± 32.694	151.190 ± 31.224
Post	163.240 ± 31.626 <sup>a</sup>	166.070 ± 31.044 <sup>a</sup>
2h Post	181.110 ± 29.728 <sup>a</sup>	183.330 ± 28.769 <sup>a</sup>
1d Post	167.080 ± 25.071 <sup>a</sup>	167.370 ± 25.230 <sup>a</sup>
2d Post	151.260 ± 32.421 <sup>a</sup>	153.590 ± 29.520
3d Post	148.350 ± 32.388	146.970 ± 31.122 <sup>a</sup>
4d Post	148.760 ± 33.097	153.990 ± 30.805
5d Post	149.460 ± 32.674	151.990 ± 30.797
6d Post	149.320 ± 33.254	154.220 ± 32.310
7d Post	151.860 ± 35.935	154.020 ± 29.272
8d Post	149.120 ± 32.601	151.870 ± 30.555





Σχήμα 47. Ποσοστιαία μεταβολή της Σελεκτίνης E.

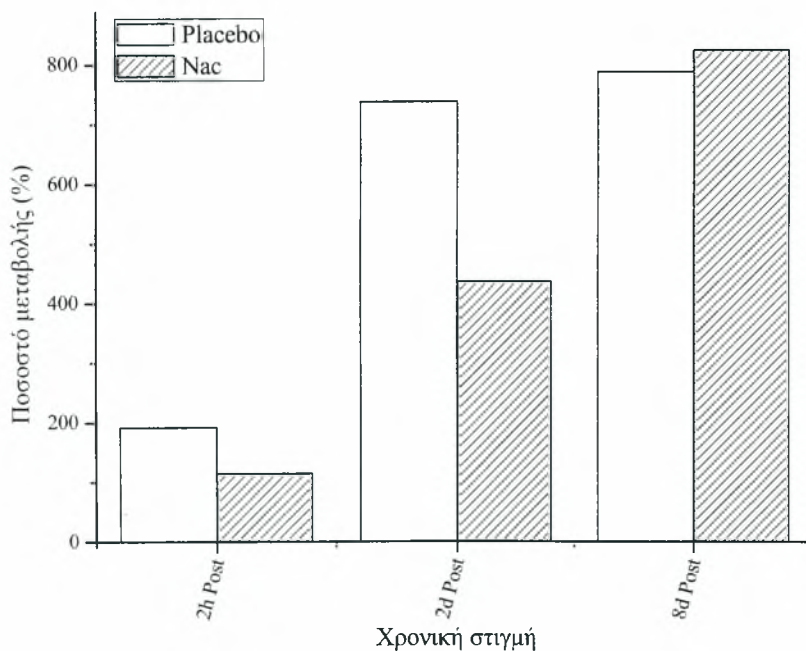
Διείσδυση μακροφάγων στο μυϊκό ιστό. Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης φάνηκε ότι στη συνθήκη placebo ο αριθμός των μακροφάγων που διείσδυσαν στον μυϊκό ιστό ήταν αυξημένος τη 2<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση κατά 739% ( $p=.039$ ) και την 8<sup>η</sup> ημέρα κατά 788% ( $p=.024$ ). Όμοια αυξήθηκε και στη συνθήκη NAC όπου η αύξηση στις 2 ώρες μετά την άσκηση έφτανε το 114% ( $p=.018$ ) και στις 2 ημέρες μετά 436% ( $p=.014$ ). Την 8<sup>η</sup> ημέρα μετά το έκκεντρο πρωτόκολλο άσκησης ο αριθμός των μακροφάγων ήταν αυξημένος κατά 824% ( $p=.007$ ) (πίνακας 68). Από τη στατιστική φάνηκε ότι δεν υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(3,27)}=1.561$ ,  $p=.222$ ) (πίνακας 67). Επιπλέον από τη στατιστική φάνηκε ότι στις δυο συνθήκες (placebo –NAC) δεν διέφεραν οι μετρήσεις μεταξύ τους, ωστόσο οι δυο συνθήκες στο δείγμα των 2 ημερών υπήρχε διαφορά 30% υπέρ της συνθήκης placebo. Στο σχήμα 48 παρουσιάζονται οι ποσοστιαίες μεταβολές της διείσδυσης των μακροφάγων στις δυο συνθήκες.

**Πίνακας 66.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη διείσδυση των μακροφάγων στο μυϊκό ιστό.

Στατιστικοί δείκτες για τη διείσδυση των μακροφάγων στο μυϊκό ιστό		
	F	p
Αλληλεπίδραση	1.561	0.222
Κύρια επίδραση συνθήκης	0.239	0.636
Κύρια επίδραση χρόνου	15.536	<0.001

**Πίνακας 67.** Διείσδυση των μακροφάγων στο μυϊκό ιστό (μακροφάγα/αριθμό μυϊκών ινών). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, ( $p < .05$ ).

Διείσδυση των μακροφάγων στο μυϊκό ιστό (μακροφάγα/αριθμό μυϊκών ινών) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	0.0109 ± 0.00402	0.0118 ± 0.00619
2h Post	0.0318 ± 0.02076	0.0253 ± 0.01104 <sup>a</sup>
2d Post	0.0914 ± 0.07106 <sup>a</sup>	0.0632 ± 0.04018 <sup>a</sup>
8d Post	0.0968 ± 0.07155 <sup>a</sup>	0.1090 ± 0.06847 <sup>a</sup>



**Σχήμα 48.** Ποσοστιαία μεταβολή της διείσδυσης των μακροφάγων στο μυϊκό ιστό.

### Μεταγωγικά μονοπάτια

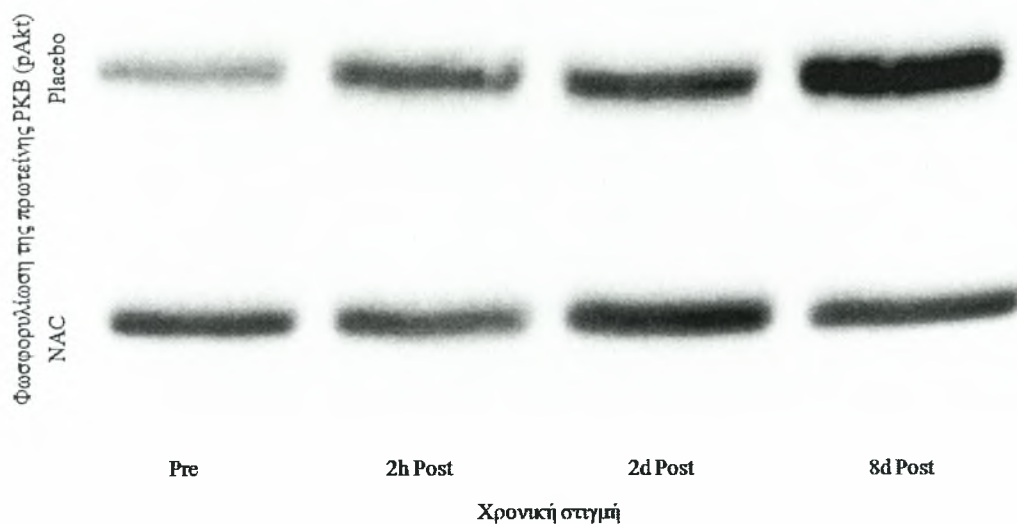
Πρωτεϊνική κινάση B (p-PKB). Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης φάνηκε ότι στη συνθήκη placebo αυξήθηκαν τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της p-PKB από το δείγμα των 2 ημερών μετά την άσκηση μέχρι την 8<sup>η</sup> ημέρα όπου η αύξηση έφτασε το 137%. Στη συνθήκη NAC η αύξηση ήταν πιο περιορισμένη την 8<sup>η</sup> ημέρα και δεν ξεπέρασε το 83% (πίνακας 69), ενώ και στη συνθήκη αυτή οι διαφορές εμφανίστηκαν από το δείγμα των 2 ημερών. Από τη στατιστική φάνηκε ότι υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(3,27)}=1.115$ ,  $p=.036$ ) (πίνακας 70). Επιπλέον από τη στατιστική φάνηκε ότι οι δυο συνθήκες (placebo –NAC) διέφεραν μεταξύ τους στη μέτρηση των 8 ημερών μετά την άσκηση. Στο σχήμα 50 παρουσιάζονται οι ποσοστιαίες μεταβολές της φωσφορυλίωσης της p-PKB στις δυο συνθήκες, ενώ στο σχήμα 49 απεικονίζεται η φωσφορυλίωσή της.

**Πίνακας 68.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη φωσφορυλίωση της p-PKB (pAkt).

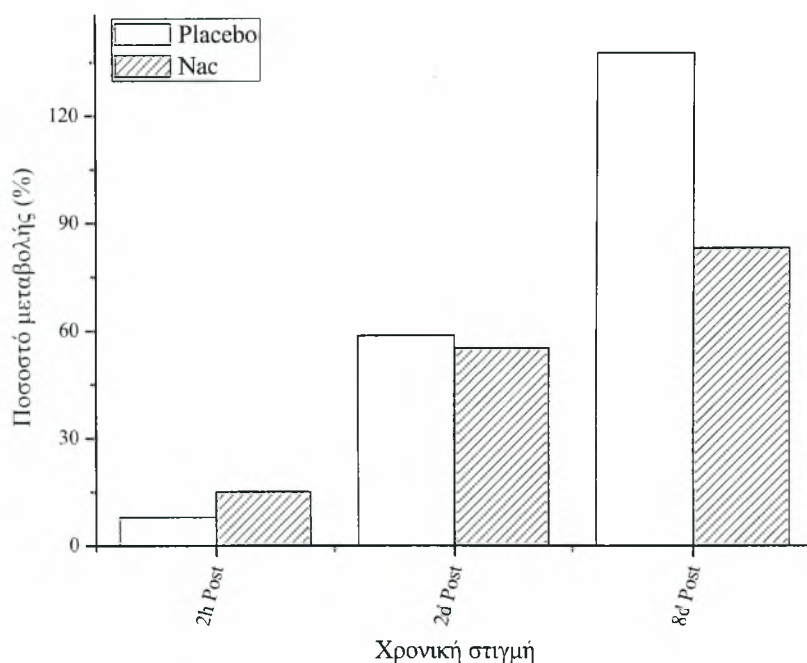
Στατιστικοί δείκτες για τη φωσφορυλίωση της p-PKB (pAkt)		
	F	p
Αλληλεπίδραση	1.115	0.036
Κύρια επίδραση συνθήκης	0.474	0.508
Κύρια επίδραση χρόνου	8.175	<0.001

**Πίνακας 69.** Φωσφορυλίωση της p-PKB (pAkt) (PKB/aTubulin relative to 1). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p<.05$ ).

Φωσφορυλίωση της p-PKB (pAkt) (PKB/aTubulin relative to 1) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	0.8100 ± 0.26123	0.7867 ± 0.48941
2h Post	0.8745 ± 0.59135	0.9053 ± 0.62015
2d Post	1.2853 ± 1.10982 <sup>a</sup>	1.2209 ± 0.43221 <sup>a</sup>
8d Post	1.9221 ± 1.12705 <sup>a</sup>	1.4387 ± 0.75735 <sup>a,b</sup>



Σχήμα 49. Απεικόνιση της φωσφορυλίωση της p-PKB (pAkt).



Σχήμα 50. Ποσοστιαία μεταβολή της φωσφορυλίωση της p-PKB (pAkt).

*Πρωτεϊνική κινάση m-TOR (p-mTOR).* Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης φάνηκε ότι η φωσφορυλίωση της p-mTOR αυξήθηκε σημαντικά αμέσως μετά την άσκηση κατά 95% ( $p=.01$ ) στη συνθήκη placebo. Στις 2 ημέρες μετά την άσκηση τα επίπεδα της φωσφορυλίωσης έφταναν στο 105% ενώ την 8<sup>η</sup> ημέρα στο 61%. Στη συνθήκη

NAC δεν εμφανίστηκαν σημαντικές μεταβολές μέχρι και τις 2 ημέρες μετά την άσκηση, ενώ την 8 ημέρα μειώθηκε κάτω από τα επίπεδα ηρεμίας κατά 34% (πίνακας 72). Από τη στατιστική φάνηκε δεν υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(3,27)}=2.614$ ,  $p=.042$ ) (πίνακας 71). Επιπλέον από τη στατιστική φάνηκε ότι στις δυο συνθήκες (placebo –NAC) διέφερε η μέτρηση που έγινε την 8<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p=.001$ ). Στο σχήμα 52 παρουσιάζονται οι ποσοστιαίες μεταβολές της φωσφορυλίωσης της p-mTOR στις δυο συνθήκες, ενώ στο σχήμα 51 απεικονίζεται η φωσφορυλίωσή της.

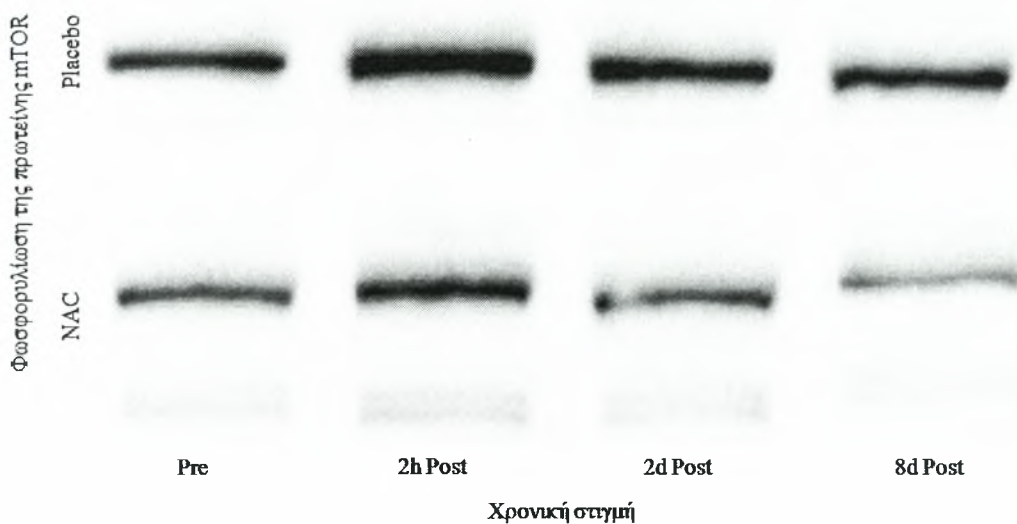
**Πίνακας 70.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη φωσφορυλίωση της p-mTOR.

Στατιστικοί δείκτες για τη φωσφορυλίωση της p-mTOR		
	F	p
Αλληλεπίδραση	2.614	0.042
Κύρια επίδραση συνθήκης	5.619	0.032
Κύρια επίδραση χρόνου	7.205	0.001

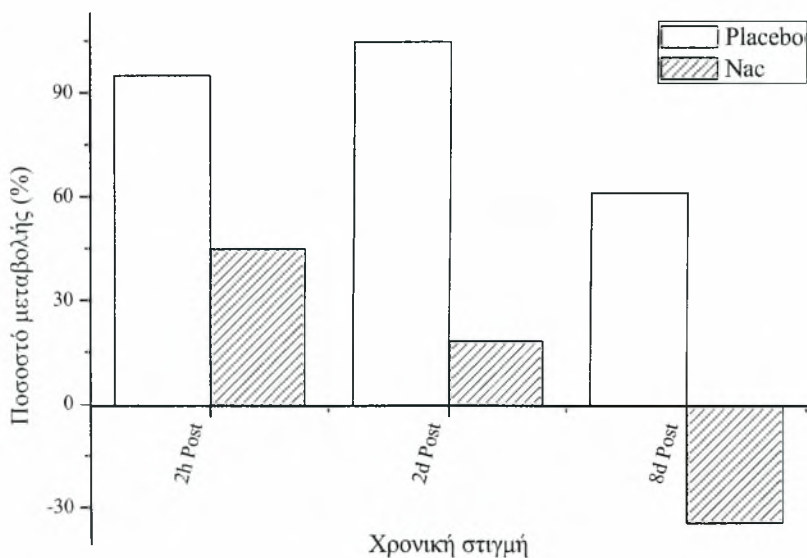
**Πίνακας 71.** Φωσφορυλίωση της p-mTOR (mTOR/aTubulin relative to 1). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p<.05$ ).

Φωσφορυλίωση της p-mTOR (mTOR/aTubulin relative to 1) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	0.6839 ± 0.29253	0.8274 ± 0.43979
2h Post	1.3335 ± 0.45156 <sup>a</sup>	1.1972 ± 0.51996
2d Post	1.3994 ± 0.74820 <sup>a</sup>	0.9768 ± 0.37991
8d Post	1.1001 ± 0.46527 <sup>a</sup>	0.5433 ± 0.20298 <sup>ab</sup>





Σχήμα 51. Απεικόνιση της φωσφορυλίωσης της p-mTOR.



Σχήμα 52. Ποσοστιαία μεταβολή της φωσφορυλίωσης της p-mTOR.

*p70 ριβοσωμική πρωτεϊνική κινάση S6 (p-p70S6K)*. Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης φάνηκε ότι στη συνθήκη placebo τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της p-p70S6K αυξήθηκαν κατά 142% ( $p < .001$ ) στις 2 ώρες μετά την άσκηση. Δυο ημέρες

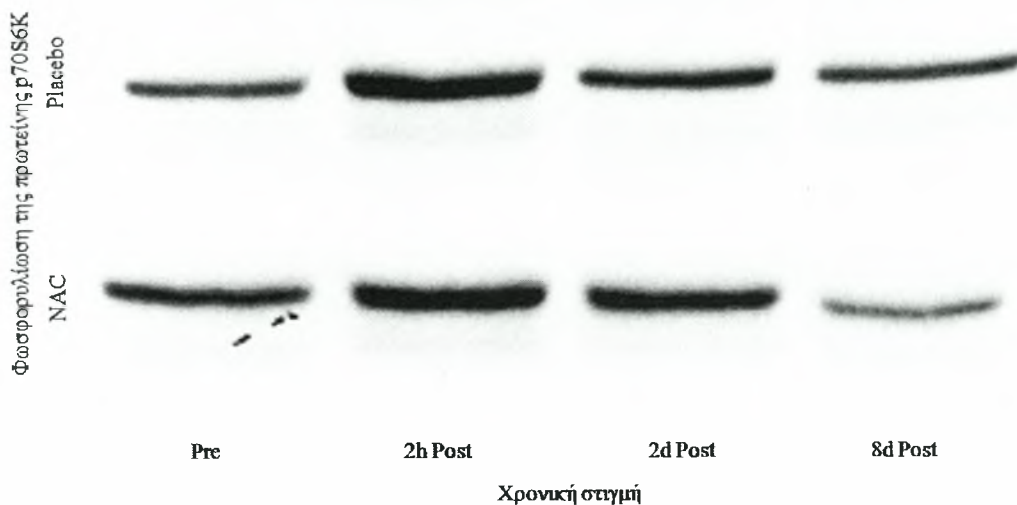
αργότερα εξακολουθούσαν να είναι ανεβασμένα κατά 76% ( $p=.01$ ) σε σύγκριση με τα επίπεδα ηρεμίας, ενώ την 8<sup>η</sup> ημέρα η φωσφορυλίωση ήταν αυξημένη κατά 36%. Στη συνθήκη NAC η φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης αυξήθηκε κατά 112% ( $p=.012$ ) στις 2 ώρες μετά την άσκηση (πίνακας 74). Από τη στατιστική φάνηκε ότι δεν υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(3,27)}=0.637$ ,  $p=.598$ ) (πίνακας 73). Επιπλέον από τη στατιστική φάνηκε ότι στις δυο συνθήκες (placebo –NAC) δεν διέφερε καμία μέτρηση. Στο σχήμα 53 απεικονίζεται η φωσφορυλίωση της p-p70S6K, ενώ στο σχήμα 54 παρουσιάζονται οι ποσοστιαίες μεταβολές της πρωτεΐνης στις δυο συνθήκες.

**Πίνακας 72.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη φωσφορυλίωση της p-p70S6K.

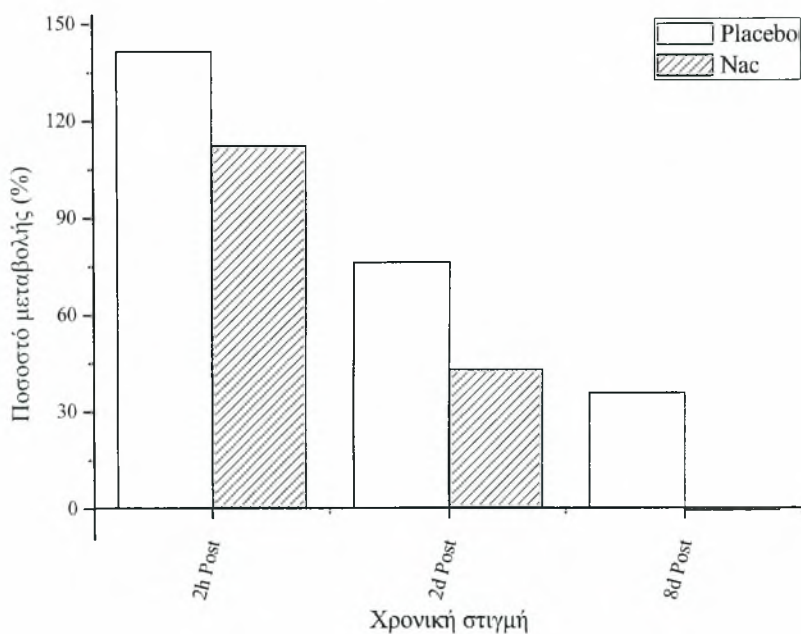
Στατιστικοί δείκτες για τη φωσφορυλίωση της p-p70S6K		
	F	p
Αλληλεπίδραση	0.637	0.598
Κύρια επίδραση συνθήκης	0.808	0.392
Κύρια επίδραση χρόνου	26.181	<0.001

**Πίνακας 73.** Φωσφορυλίωση της p-p70S6K (p70S6K/aTubulin relative to 1). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, ( $p<.05$ ).

Φωσφορυλίωση της p-p70S6K (p70S6K/aTubulin relative to 1) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	0.9133 ± 0.37701	1.0115 ± 0.73324
2h Post	2.2064 ± 0.42948 <sup>a</sup>	2.1480 ± 0.60836 <sup>a</sup>
2d Post	1.6097 ± 0.51171 <sup>a</sup>	1.4472 ± 0.71573
8d Post	1.2405 ± 0.51772 <sup>a</sup>	1.0079 ± 0.32940



Σχήμα 53. Απεικόνιση της φωσφορυλίωσης της p-p70S6K.



Σχήμα 54. Ποσοστιαία μεταβολή της φωσφορυλίωσης της p-p70S6K.

*Πρωτεΐνη MyoD.* Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης φάνηκε ότι στη συνθήκη placebo τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της MyoD αυξήθηκαν στις 2 ώρες κατά 6%, στις 2 ημέρες κατά 11% και στις 8 ημέρες κατά 35% ( $p < .05$ ). Αντίθετα στη συνθήκη NAC η φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης μειώθηκε κατά 18% στις 2 ώρες, κατά 25% στις 2 ημέρες και κατά 39% στις 8 ημέρες ( $p < .05$ ) (πίνακας 76). Από τη στατιστική φάνηκε ότι υπάρχει

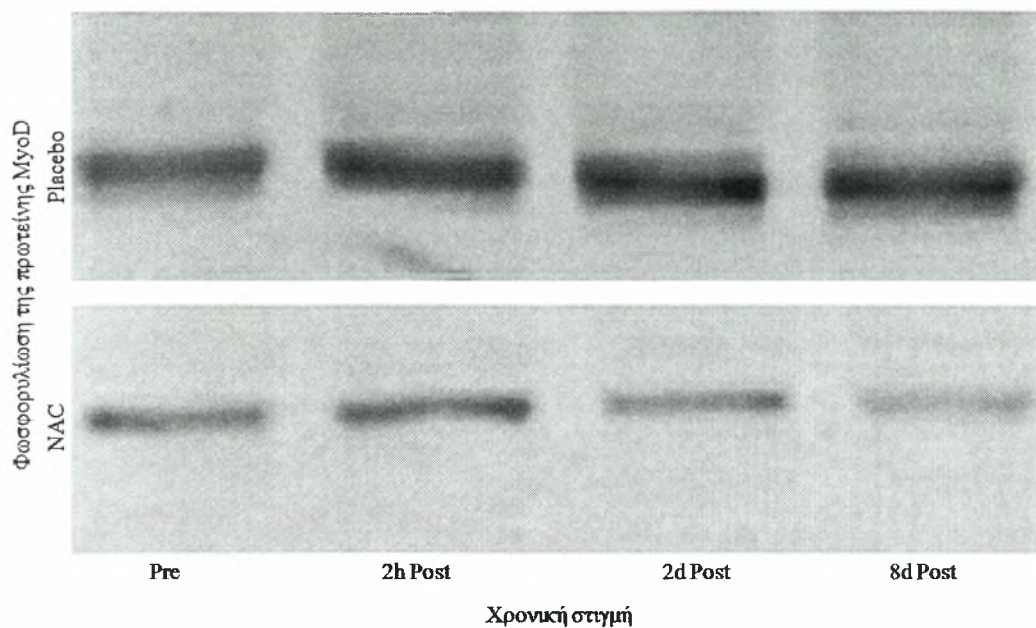
σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(3,27)}=4.863$ ,  $p=.008$ ) (πίνακας 75). Επιπλέον από τη στατιστική φάνηκε ότι στις δυο συνθήκες (placebo –NAC) διέφερε η μέτρηση που έγινε την 8<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p=.002$ ). Στο σχήμα 55 απεικονίζεται η φωσφορυλίωση της p-MyoD, ενώ στο σχήμα 56 παρουσιάζονται οι ποσοστιαίες μεταβολές της πρωτεΐνης στις δυο συνθήκες.

**Πίνακας 74.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη φωσφορυλίωση της MyoD.

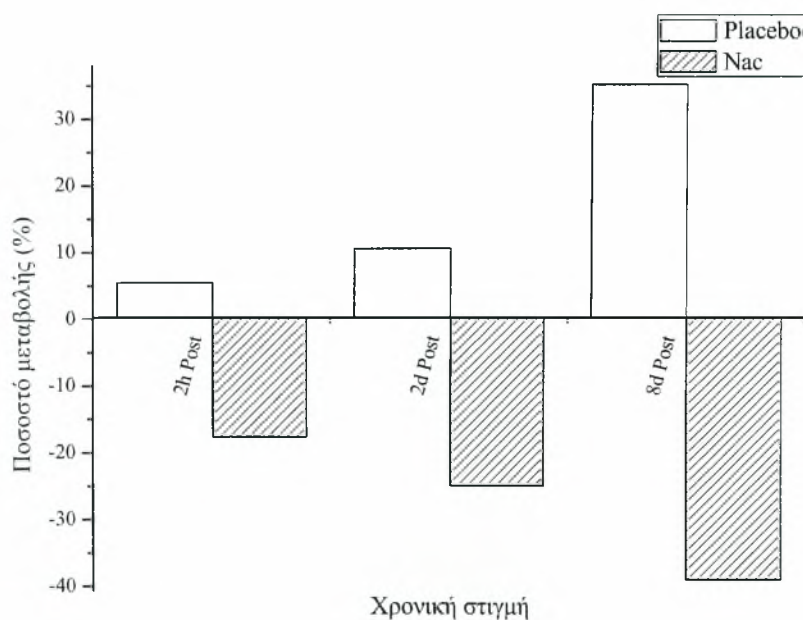
Στατιστικοί δείκτες για τη φωσφορυλίωση της MyoD		
	F	p
Αλληλεπίδραση	4.863	0.008
Κύρια επίδραση συνθήκης	8.363	0.018
Κύρια επίδραση χρόνου	0.444	0.724

**Πίνακας 75.** Φωσφορυλίωση της MyoD (MyoD Normalized to GADPH). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p<.05$ ).

Φωσφορυλίωση της MyoD (MyoD Normalized to GADPH) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	1.3990 ± 0.64435	1.7130 ± 0.78226
2h Post	1.4760 ± 0.60065	1.4110 ± 0.58286
2d Post	1.5470 ± 0.60802	1.2860 ± 0.45446
8d Post	1.8910 ± 0.80383 <sup>a</sup>	1.0460 ± 0.51612 <sup>a,b</sup>



Σχήμα 55. Απεικόνιση της φωσφορυλίωση της p-MyoD.



Σχήμα 56. Ποσοστιαία μεταβολή της φωσφορυλίωσης της p-MyoD.

*Πρωτεΐνη p38/MAPK.* Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι η φωσφορυλίωση της p38 στην συνθήκη placebo αυξήθηκε κατά 527% ( $p=.007$ ) στις 2 ώρες μετά την άσκηση, ενώ στο δείγμα των 2 ημερών προσέγγισε τα επίπεδα ηρεμίας. Όμοια στη συνθήκη NAC 2 ώρες μετά το έκκεντρο πρωτόκολλο αυξήθηκε η φωσφορυλίωση κατά 399% και στις 2



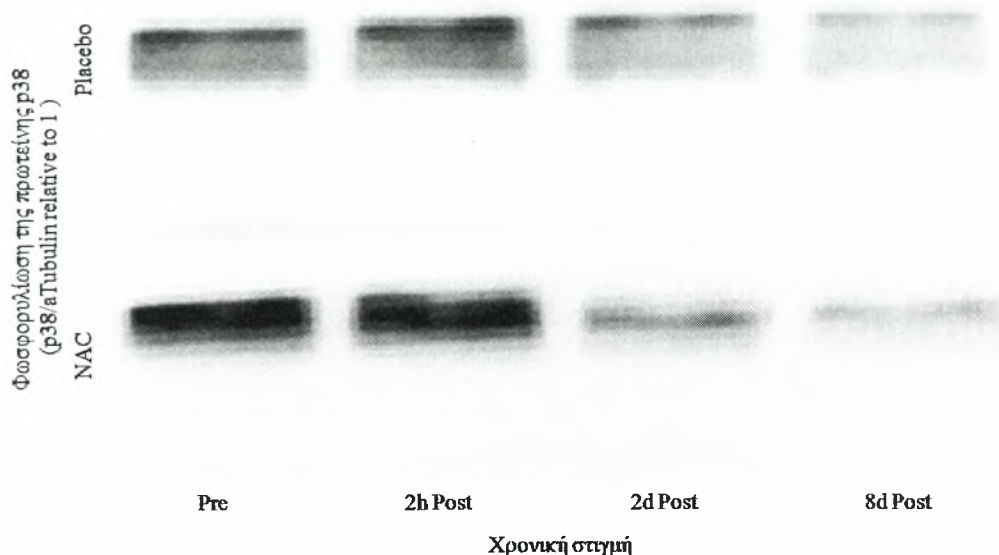
ημέρες ήταν αυξημένη μόνο κατά 10%. Ωστόσο στο δείγμα των 8 ημερών μειώθηκε κάτω από τα επίπεδα ηρεμίας χωρίς ωστόσο να είναι σημαντική η μεταβολή (πίνακας 78). Από τη στατιστική φάνηκε ότι δεν υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(3,27)}=0.882$ ,  $p=.463$ ) (πίνακας 77). Επιπλέον από τη στατιστική φάνηκε ότι στις δυο συνθήκες (placebo –NAC) διέφερε η μέτρηση που έγινε την 8<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p=.008$ ). Στο σχήμα 57 παρουσιάζονται οι ποσοστιαίες μεταβολές της φωσφορυλίωσης της p38 στις δυο συνθήκες, ενώ στο σχήμα 56 απεικονίζεται η φωσφορυλίωσή της.

**Πίνακας 76.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη φωσφορυλίωση της p38.

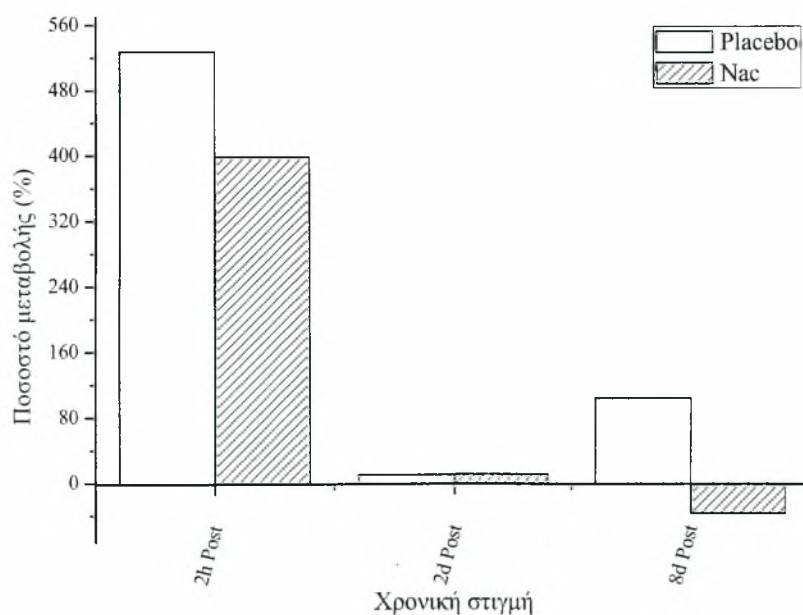
Στατιστικοί δείκτες για τη φωσφορυλίωση της p38		
	F	p
Αλληλεπίδραση	0.882	0.463
Κύρια επίδραση συνθήκης	1.831	0.209
Κύρια επίδραση χρόνου	16.557	<0.001

**Πίνακας 77.** Φωσφορυλίωση της p38 (p38/aTubulin relative to 1). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p<.05$ ).

Φωσφορυλίωση της p38 (p38/aTubulin relative to 1) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	0.9785 ± 0.53862	1.0215 ± 0.61689
2h Post	6.1387 ± 3.35543 <sup>a</sup>	5.0942 ± 4.40714 <sup>a</sup>
2d Post	1.0757 ± 0.75736	1.1277 ± 0.81336
8d Post	1.9904 ± 1.38965	0.6412 ± 0.28247 <sup>b</sup>



Σχήμα 57. Απεικόνιση της φωσφορύλιωσης της p38.



Σχήμα 58. Ποσοστιαία μεταβολή της φωσφορύλιωσης της p38.

*Πυρηνικός παράγοντας kB (p-NF-kB).* Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης φάνηκε ότι στη συνθήκη placebo τα επίπεδα φωσφορύλιωσης της πρωτεΐνης p-NF-kB αυξήθηκαν κατά 18%, 59% και 23% στις 2 ώρες, 2 ημέρες και 8 ημέρες αντίστοιχα

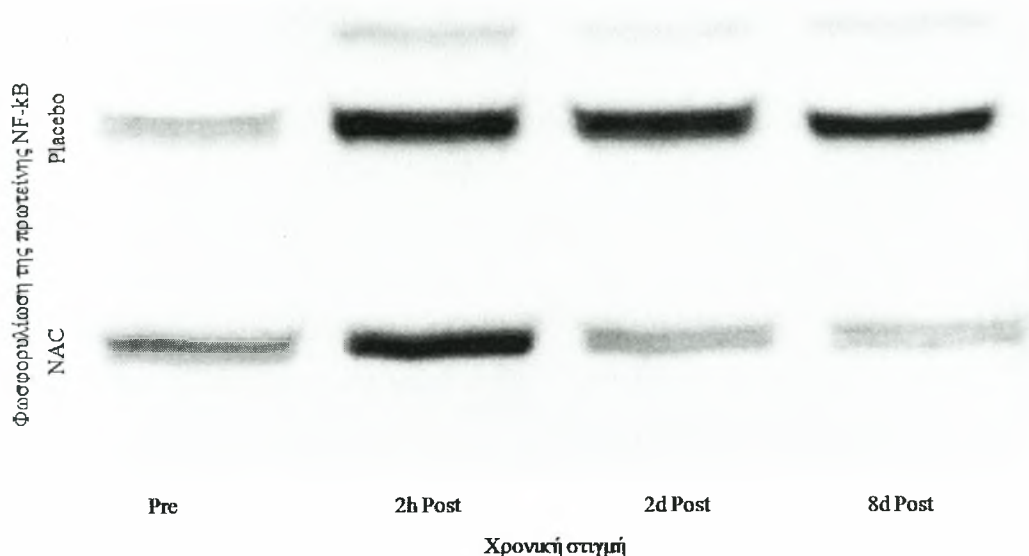
μετά την άσκηση με τη μεταβολή στις 2 ημέρες να είναι σημαντική ( $p=.03$ ). Στη συνθήκη NAC, 2 ώρες μετά την άσκηση η φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης ήταν αυξημένη κατά 29%, ενώ στις 2 ημέρες μειώθηκε στο 24% και στις 8 ημέρες στο 8% (πίνακας 80). Από τη στατιστική φάνηκε ότι υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(3,27)}=3.752$ ,  $p=.023$ ) (πίνακας 79). Επιπλέον από τη στατιστική φάνηκε ότι στις δυο συνθήκες (placebo –NAC) διέφερε η μέτρηση που έγινε τη 2<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p=.027$ ). Στο σχήμα 60 παρουσιάζονται οι ποσοστιαίες μεταβολές της φωσφορυλίωσης της πρωτεΐνης p-NF-kB στις δυο συνθήκες, ενώ στο σχήμα 59 απεικονίζεται η φωσφορυλίωσή της.

**Πίνακας 78.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης p-NF-kB.

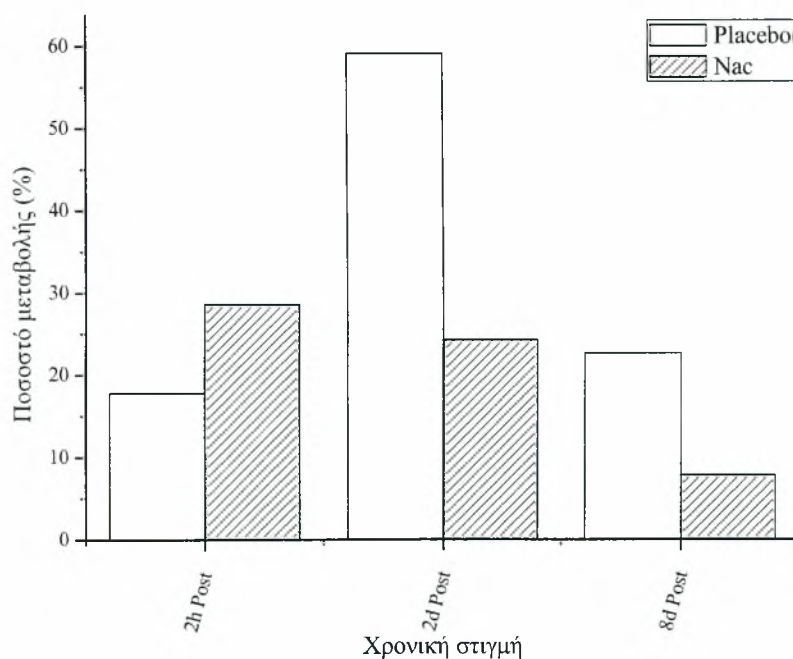
Στατιστικοί δείκτες για την πρωτεΐνη p-NF-kB		
	F	p
Αλληλεπίδραση	3.752	0.023
Κύρια επίδραση συνθήκης	3.314	0.102
Κύρια επίδραση χρόνου	2.274	0.103

**Πίνακας 79.** Φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης p-NF-kB (NFkB/aTubulin relative to 1). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p<.05$ ).

Φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης p-NF-kB (NFkB/aTubulin relative to 1) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	1.0609 ± 0.48709	0.9392 ± 0.49058
2h Post	1.2496 ± 0.42554	1.2076 ± 0.67181
2d Post	1.6874 ± 0.72507 <sup>a</sup>	1.1665 ± 0.31807 <sup>b</sup>
8d Post	1.3004 ± 0.77416	1.0125 ± 0.39341



Σχήμα 59. Απεικόνιση της φωσφορυλίωση της p-NF-kB.



Σχήμα 60. Ποσοστιαία μεταβολή της φωσφορυλίωσης της p-NF-kB.

Ριβοσωμική πρωτεΐνη S6 (*p-rpS6*). Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι η φωσφορυλίωση της p-rpS6 στη συνθήκη placebo αυξήθηκε σημαντικά σε όλα τα δείγματα μετά την άσκηση με την κορύφωση να εμφανίζεται στις 2 ώρες μετά (1690%,  $p < .001$ ). Στις 2 ημέρες εξακολουθούσε να είναι αυξημένη κατά 551% και στις 8 ημέρες κατά 260%. Στη συνθήκη NAC η φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης στις 2 ώρες μετά το έκκεντρο

πρωτόκολλο άσκησης αυξήθηκε κατά 1531% ( $p=.001$ ), ενώ 2 ημέρες αργότερα η αύξηση ήταν μόλις στο 57% και στις 8 ημέρες στο 13% (πίνακας 82). Από τη στατιστική φάνηκε ότι δεν υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(3,27)}=1.292$ ,  $p=.297$ ) (πίνακας 81). Επιπλέον από τη στατιστική φάνηκε ότι στις δυο συνθήκες (placebo –NAC) διέφερε η μέτρηση που έγινε τη 2<sup>η</sup> και την 8<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p=.018$  και  $p=.022$ , αντίστοιχα). Στο σχήμα 62 παρουσιάζονται οι ποσοστιαίες μεταβολές της φωσφορυλίωσης της p-rpS6 στις δυο συνθήκες, ενώ στο σχήμα 61 απεικονίζεται η φωσφορυλίωσή της.

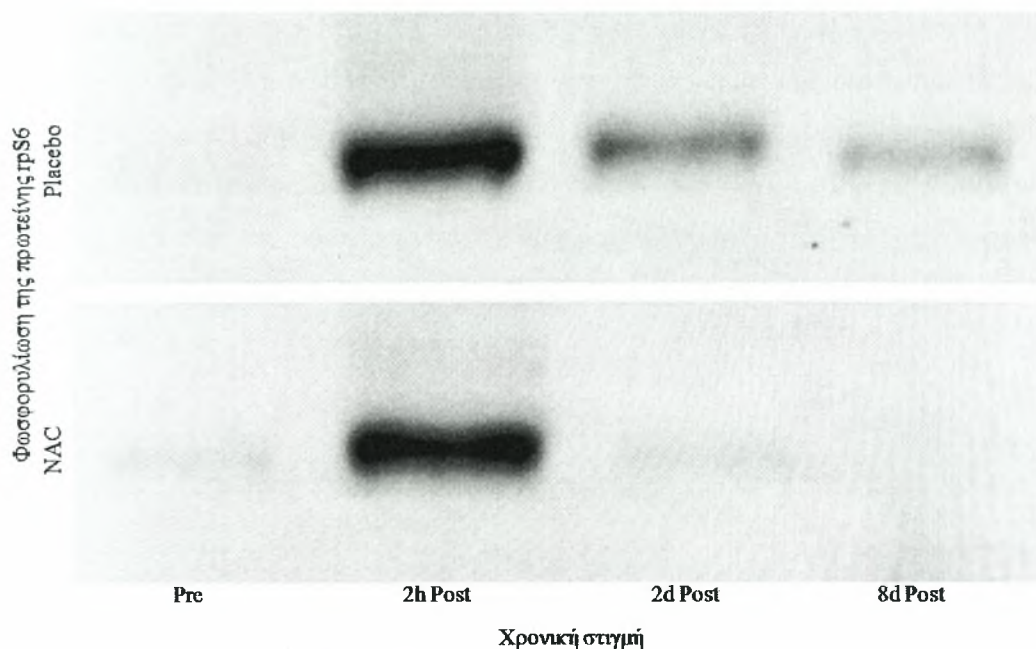
**Πίνακας 80.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη φωσφορυλίωση της p-rpS6.

Στατιστικοί δείκτες για την p-rpS6		
	F	p
Αλληλεπίδραση	1.292	0.297
Κύρια επίδραση συνθήκης	5.443	0.045
Κύρια επίδραση χρόνου	61.875	<0.001

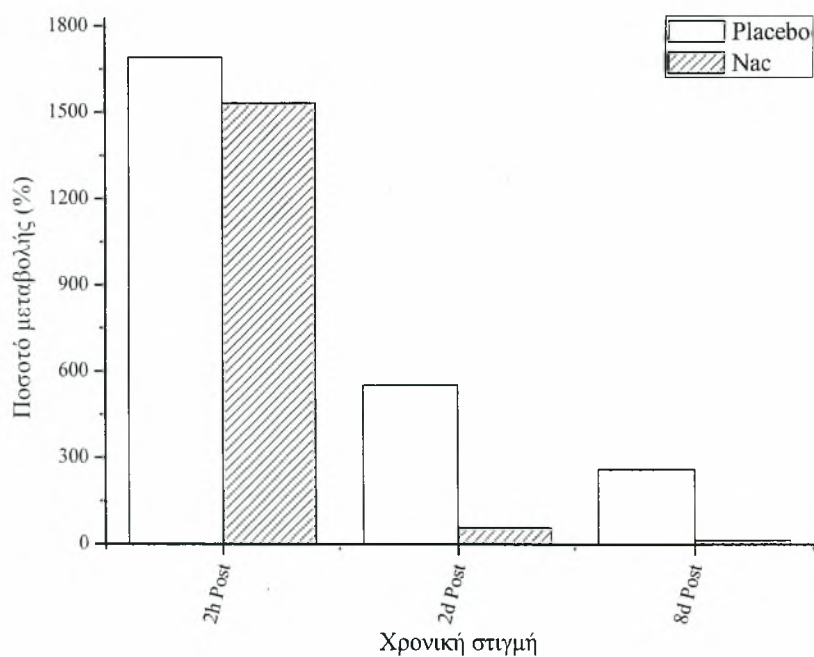
**Πίνακας 81.** Φωσφορυλίωση της p-rpS6 (rpS6/aTubulin relative to 1). a: στατιστικά σημαντικές διαφορές με τη μέτρηση Pre, b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p<.05$ ).

Φωσφορυλίωση της p-rpS6 (rpS6/aTubulin relative to 1) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	0.9788 ± 0.58339	0.9615 ± 0.72391
2h Post	17.5210 ± 5.96744 <sup>a</sup>	15.6819 ± 7.69358 <sup>a</sup>
2d Post	6.3727 ± 5.44476 <sup>a</sup>	1.5100 ± 1.14150 <sup>b</sup>
8d Post	3.5202 ± 3.38015 <sup>a</sup>	1.0908 ± 0.65118 <sup>b</sup>





Σχήμα 61. Απεικόνιση της φωσφορυλίωση της p-rS6.



Σχήμα 62. Ποσοστιαία μεταβολή της φωσφορυλίωση της p-rS6.

Ιστικός παράγοντας νέκρωσης- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Από τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης φάνηκε ότι στη συνθήκη placebo μια σχετική αύξηση της φωσφορυλίωσης του TNF- $\alpha$  φάνηκε στο δείγμα στις 8 ημέρες (8%). Αντίθετα στη συνθήκη NAC στις 2 ώρες μετά την άσκηση η φωσφορυλίωση του παράγοντα αυτού ήταν αυξημένη κατά 23%, στο

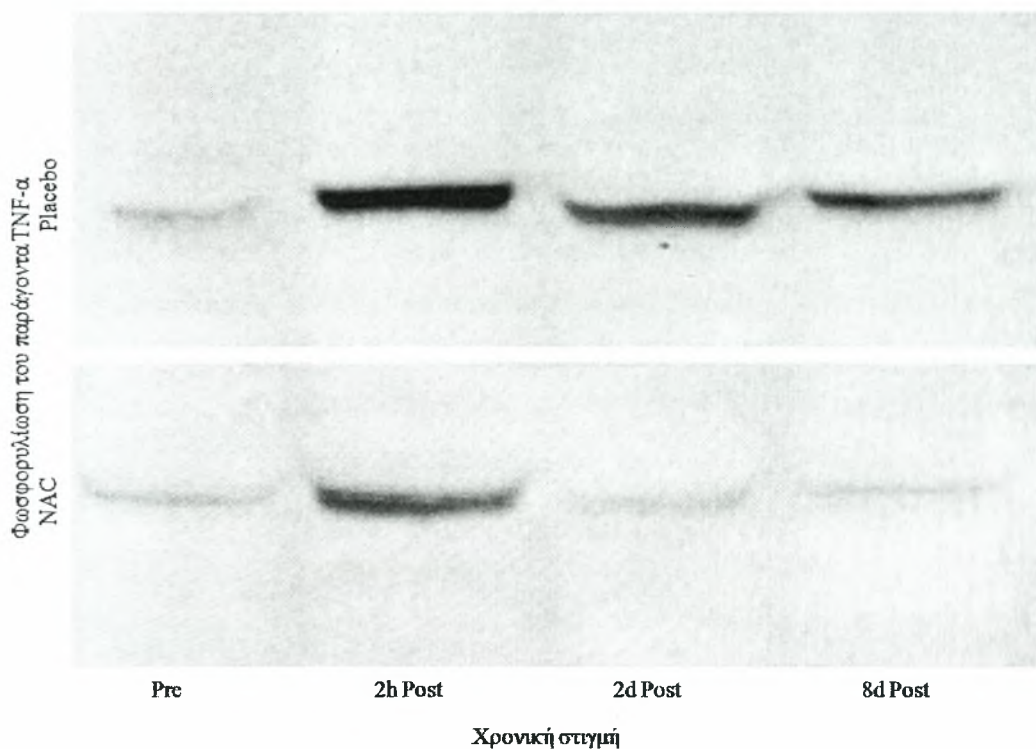
επόμενο δείγμα μειώθηκε στο 15% και στις 8 ημέρες έπεσε κάτω από τα επίπεδα ηρεμίας κατά 7% (πίνακας 84). Από τη στατιστική φάνηκε ότι υπάρχει σημαντική αλληλεπίδραση των παραγόντων συνθήκη και χρόνος ( $F_{(3,27)}=4.087$ ,  $p=.016$ ) (πίνακας 83). Επιπλέον από τη στατιστική φάνηκε ότι στις δυο συνθήκες (placebo –NAC) διέφερε η μέτρηση που έγινε την 8<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση ( $p=.006$ ). Στο σχήμα 63 απεικονίζεται η φωσφορυλίωση του TNF-a, ενώ στο σχήμα 64 παρουσιάζονται οι ποσοστιαίες μεταβολές της πρωτεΐνης στις δυο συνθήκες.

**Πίνακας 82.** Αποτελέσματα της ανάλυσης διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες για τη φωσφορυλίωση του TNF-a.

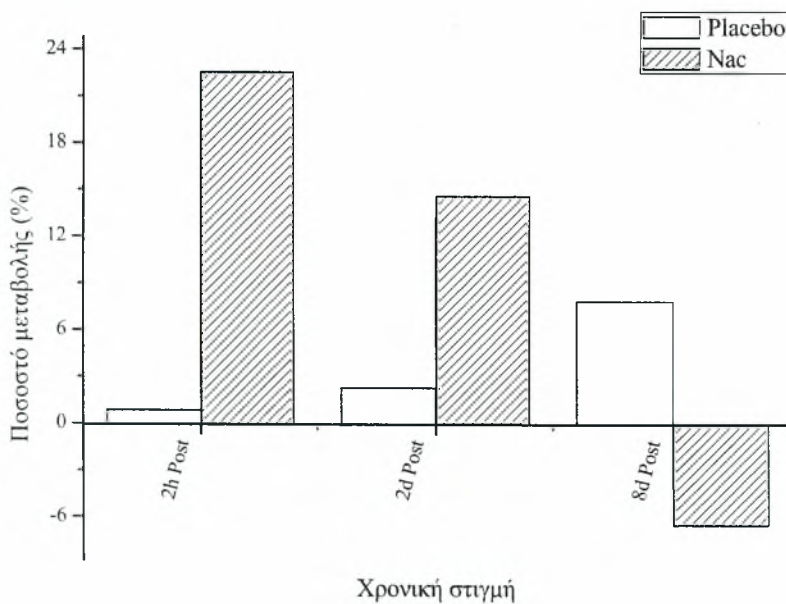
Στατιστικοί δείκτες για τη φωσφορυλίωση του TNF-a		
	F	P
Αλληλεπίδραση	4.087	0.016
Κύρια επίδραση συνθήκης	16.114	0.003
Κύρια επίδραση χρόνου	0.658	0.585

**Πίνακας 83.** Φωσφορυλίωση του TNF-a (TNFa/aTubulin relative to 1). b: στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών (placebo – NAC) για το δείγμα της ίδιας χρονικής στιγμής ( $p<.05$ ).

Φωσφορυλίωση του TNF-a (TNFa/aTubulin relative to 1) (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)		
Χρονική στιγμή	Placebo	NAC
Pre	1.0672 ± 0.36293	0.9328 ± 0.27394
2h Post	1.0762 ± 0.17340	1.1427 ± 0.17013
2d Post	1.0913 ± 0.21059	1.0682 ± 0.16415
8d Post	1.1503 ± 0.24280	0.8720 ± 0.11097 <sup>b</sup>



Σχήμα 63. Απεικόνιση της φωσφορυλίωση του TNF-α.



Σχήμα 64. Ποσοστιαία μεταβολή της φωσφορυλίωση του TNF-α.

## V. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Όπως προαναφέρθηκε στην παρούσα μελέτη εφαρμόστηκε ένα έκκεντρο πρωτόκολλο άσκησης με στόχο να προκληθεί ασκησιογενής μυϊκός τραυματισμός. Στη συνέχεια μεταβλήθηκε η οξειδοαναγωγική κατάσταση του μυ μέσω της χορήγησης Ν-ακετυλοκυστεΐνης (20 mg/Kg σωματικού βάρους) και μελετήθηκαν οι επιδράσεις της μεταβολής αυτής στις διάφορες φάσεις που ακολουθούν τον ασκησιογενή μυϊκό τραυματισμό. Από τα ευρήματα διαπιστώθηκε ότι η ενίσχυση του αναγωγικού συστήματος του οργανισμού είχε ως αποτέλεσμα τον περιορισμό της μείωσης της απόδοσης των σκελετικών μυών τις πρώτες ημέρες μετά την άσκηση, αλλά ταυτόχρονα την καθυστερημένη επανάκτηση της λειτουργικότητάς τους. Επίσης μετά τη λήψη της NAC οι σκελετικοί μύες επηρεάστηκαν σε μικρότερο βαθμό από το οξειδωτικό στρες και κάποιοι από τους δείκτες της φλεγμονής εμφάνισαν μικρότερες τιμές.

### *Συνθήκες πραγματοποίησης της μελέτης*

Όπως έχει αναφερθεί στην μεθοδολογία η συμμετοχή των εθελοντών στις δυο συνθήκες έγινε με τυχαία επιλογή έτσι ώστε να αντισταθμιστεί η επίδραση της σειράς πραγματοποίησης των συνθηκών και επιπλέον μεταξύ των δυο συνθηκών μεσολάβησε διάστημα 6 εβδομάδων έτσι ώστε να εξαλείφουν πιθανές επιδράσεις της πρώτης συνθήκης στη δεύτερη. Ακόμη οι δυο συνθήκες πραγματοποιήθηκαν σε διαφορετικό πόδι.

Θα πρέπει να αναφερθεί ότι η Ν-ακετυλοκυστεΐνη που χρησιμοποιήθηκε ως αντιοξειδωτικό μετά από στοματική λήψη μπορεί να φτάσει τη μέγιστη συγκέντρωσή της στο πλάσμα του αίματος περίπου σε 2 ώρες και να απομακρυνθεί από τον οργανισμό μέσα σε 12 ώρες (Borgstorm, Kagedal & Paulsen, 1986). Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι δεν μπορούν να υπάρξουν επιδράσεις του αντιοξειδωτικού αυτού από τη μια συνθήκη στην άλλη.

Όπως φάνηκε από τα αποτελέσματα το σωματικό βάρος, αλλά και ο δείκτης σωματικής μάζας παρέμειναν σταθερά για όλο το διάστημα που οι εθελοντές συμμετείχαν στη μελέτη. Επίσης το ποσοστό σωματικού λίπους, η άλιπη σωματική μάζα αλλά και η μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά στο διάστημα αυτό. Από τα

παραπάνω ευρήματα γίνεται σαφές ότι δεν μεταβλήθηκε η φυσική κατάσταση των συμμετεχόντων κατά τη διάρκεια των δυο συνθηκών (NAC- Placebo) (πίνακας 4).

Όσο αφορά το πρωτόκολλο άσκησης που περιλάμβανε τα 20 σετ των 15 μέγιστων έκκεντρων συσπάσεων διαπιστώθηκε ότι και στις δυο συνθήκες οι εθελοντές εμφάνισαν παρόμοιες διακυμάνσεις. Πιο συγκεκριμένα οι αρχικές τιμές της μέσης ροπής ήταν σχεδόν ίδιες, περίπου στα 275 Nm και στη συνέχεια μειώθηκαν προοδευτικά μέχρι το 20<sup>ο</sup> σετ, όπου η μείωση έφτασε και για τις δυο συνθήκες περίπου στο 35% (σχήμα 18). Όμοια μεταβολή εμφανίστηκε και για τη μεταβλητή της σχετικής μέσης ροπής (σχήμα 19). Επίσης από τα αποτελέσματα του γαλακτικού οξέος φάνηκε ότι ήταν εξίσου επίπονη η άσκηση και στις δυο συνθήκες, με μια αύξηση κατά 1000% περίπου αμέσως μετά την άσκηση (σχήμα 20).

Από τα αποτελέσματα των μυϊκών βιοψιών φάνηκε ότι και στις δυο πειραματικές συνθήκες δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στα ποσοστά των οξειδωτικών, οξειδογλυκολυτικών και γλυκολυτικών μυϊκών ινών (σχήμα 21). Ακόμη οι παρακάτω μεταβλητές όπως το μέγεθος της εγκάρσιας επιφάνειας των τριών τύπων των μυϊκών ινών (σχήμα 22), το ποσοστό συμμετοχής της εγκάρσιας επιφάνειας κάθε τύπου μυϊκών ινών στη συνολική εγκάρσια επιφάνεια του μυ (σχήμα 24), όπως και η μέση εγκάρσια επιφάνεια των μυϊκών ινών (σχήμα 23) ήταν παρόμοιες στις δυο συνθήκες διαφέροντας λιγότερο από 1%. Τέλος ο συνολικός αριθμός των μυϊκών ινών (σχήμα 25) και των τριχοειδών αγγείων (σχήμα 26) δεν διέφεραν σημαντικά στις δυο πειραματικές διαδικασίες. Από τα αποτελέσματα αυτά περιορίζεται το ενδεχόμενο διαφοροποίησης κάποιων μεταβλητών λόγω διαφορετικής κατανομής των μυϊκών ινών. Για παράδειγμα έχει αναφερθεί ότι μετά από έκκεντρη άσκηση οι μυϊκές ίνες τύπου I παράγουν περισσότερες ελεύθερες ρίζες (νιτρικό οξείδιο) σε σύγκριση με τις μυϊκές ίνες τύπου II (Θεοδώρου, Σακελλαρίου, Νικολαΐδης, Πασχάλης, Φατούρος & Τζιαμούρτας, 2007). Έτσι σε περίπτωση που υπήρχαν διαφορές στα ποσοστά των τριών τύπων μυϊκών ινών, ενδεχομένως θα επηρεάζονταν και οι μετρήσεις του οξειδωτικού στρες στο μυ.

Όσο αφορά τα τεστ απόδοσης εφαρμόστηκαν κάτω από τις ίδιες συνθήκες σε όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας. Δόθηκε προσοχή στην ακριβή χρονική διάρκεια της προθέρμανσης καθώς και στις ασκήσεις που περιλάμβανε. Για τη φλεγμονή οι αρχικές μετρήσεις των δεικτών που μελετήθηκαν (WBC, CRP κ.ά.) έδειξαν ότι οι εθελοντές ξεκίνησαν και τις δυο συνθήκες χωρίς να έχουν κάποια φλεγμονή στον οργανισμό τους. Το γεγονός αυτό αποτελούσε αναγκαία συνθήκη για τη συμμετοχή στη μελέτη έτσι ώστε



με την εφαρμογή της έκκεντρης άσκησης σε έναν “καθαρό” οργανισμό να προκληθεί στον οργανισμό η ασκησιογενής φλεγμονή που θα μελετηθεί.

Οι μετρήσεις ηρεμίας των δεικτών μυϊκού τραυματισμού που χρησιμοποιήθηκαν (DOMS, KJRM, CK) έδειξαν ότι οι συμμετέχοντες δεν εμφάνιζαν κάποιον μυϊκό τραυματισμό πριν από τη συμμετοχή τους στην κάθε συνθήκη. Επίσης από τα μεταγωγικά μονοπάτια που μελετήθηκαν φάνηκε ότι οι οργανισμοί των εθελοντών βρίσκονταν σε συνθήκες φυσιολογικής πρωτεινοσύνθεσης και πρωτεϊνόλυσης. Τέλος εδώ πρέπει να αναφερθεί ότι και στις δυο συνθήκες η διατροφική πρόσληψη των συμμετεχόντων πριν την εκτέλεση του έκκεντρου πρωτόκολλου άσκησης, αλλά και κατά τη διάρκεια των οκτώ ημερών μετά την άσκηση δεν διέφερε σημαντικά. Επειδή στη μελέτη πραγματοποιήθηκε χορήγηση αντιοξειδωτικού θα πρέπει να επισημανθεί ιδιαίτερα ότι η λήψη όλων των αντιοξειδωτικών μέσω της τροφής δεν ξεπερνούσαν τις συνιστώμενες ημερήσιες δοσολογίες και ταυτόχρονα μεταξύ των δυο συνθηκών δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές.

#### ***Οξειδοαναγωγική κατάσταση του μυ***

Μια βασική προϋπόθεση για τη δόμηση της μελέτης αυτής ήταν η ικανότητά μας να επηρεάσουμε την οξειδοαναγωγική κατάσταση του μυ. Όπως έχει προαναφερθεί στη μεθοδολογία η N-ακετυλοκυστεΐνη αποτελεί ένα πρόδρομο μόριο παραγωγής της GSH με σκοπό να ενισχυθεί ο αντιοξειδωτικός μηχανισμός της. Στη συγκεκριμένη μελέτη χρησιμοποιήθηκε μια δόση των 20 mg/Kg σωματικού βάρους για κάθε εθελοντή, η οποία διαιρέθηκε σε τρεις ισόποσες δόσεις που δίνονταν με μορφή διαλυμάτων ανά οκτάωρο στη διάρκεια της ημέρας (η ακριβής διαδικασία περιγράφεται στη μεθοδολογία). Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι η χορήγηση αυτή είχε ως αποτέλεσμα τη συγκράτηση της πτώσης της συγκέντρωσης της GSH μετά την άσκηση και την πιο γρήγορη επαναφορά της στα επίπεδα ηρεμίας. Ταυτόχρονα περιορίστηκε ο σχηματισμός της GSSG μετά την άσκηση (σχήματα 27, 28, 29). Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας είναι εμφανές ότι δεν υπάρχουν μελέτες που να χορήγησαν NAC από το στόμα και στη συνέχεια να εξέτασαν την μεταβολή των συγκεντρώσεων των γλουταθειονών στα μυϊκά κύτταρα. Ωστόσο υπάρχουν κάποιες έρευνες που εξέτασαν την μεταβολή της οξειδοαναγωγικής κατάστασης σε κύτταρα του αίματος. Πιο συγκεκριμένα οι Pendyala και Creaven (1995) μελέτησαν την φαρμακοκινητική της N-ακετυλοκυστεΐνης δημιουργώντας ομάδες εθελοντών που λάμβαναν αρχικές δόσεις των 400, 800, 1600 και 3200 mg/m<sup>2</sup>/ημέρα. Στο τέλος κάθε μήνα διπλασίαζαν τη δόση. Από τα αποτελέσματα μεταξύ άλλων φάνηκε ότι οι

δόσεις που ήταν μεγαλύτερες των 800 mg/m<sup>2</sup>/ημέρα αύξησαν τα επίπεδα της GSH στο πλάσμα του αίματος αλλά και στα λεμφοκύτταρα. Σε μια άλλη μελέτη οι Behr, Maier, Degenkolb, Krombach και Vogelmeier (1997) μελέτησαν την αντιοξειδωτική δράση υψηλών δόσεων N-ακετυλοκυστεΐνης σε ασθενείς με ινωμάτωση. Η έρευνα είχε διάρκεια 12 εβδομάδες και λάμβαναν κάθε ημέρα τρεις δόσεις των 600 mg. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι αυξήθηκε η ολική και η ανηγμένη γλουταθειόνη στα επιθηλιακά κύτταρα. Επίσης μετά από ενδοφλέβια χορήγηση της NAC (Medved et al., 2004) βρέθηκε μεταβολή στην οξειδοαναγωγική κατάσταση των σκελετικών μυών.

Επίσης στην παρούσα μελέτη βρέθηκε ότι η ενίσχυση του αντιοξειδωτικού μηχανισμού της GSH με τη λήψη της NAC είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση των δεικτών οξειδωτικού στρες στο μυ. Πιο συγκεκριμένα οι συγκεντρώσεις των TBARS στο μυ αυξήθηκαν σε μικρότερο βαθμό όπως έγινε και με τις συγκεντρώσεις των PC (σχήματα 30 και 31 αντίστοιχα). Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας φαίνεται ότι δεν υπάρχουν μελέτες σε ανθρώπους που να εκτίμησαν δείκτες οξειδωτικού στρες στους σκελετικούς μύες μετά από έκκεντρη άσκηση και μετά από χορήγηση N-ακετυλοκυστεΐνης. Παρόλα αυτά υπάρχουν έρευνες που χορήγησαν άλλα αντιοξειδωτικά ή ασχολήθηκαν με δείκτες οξειδωτικού στρες στο αίμα. Η πλειονότητα από αυτές εμφανίζει παρόμοια ευρήματα με αυτά της παρούσας μελέτης στο μυ. Οι Sen, Rankinen, Vaisanen και Rauramaa, (1994) μελέτησαν τη σχέση μεταξύ της έντασης της άσκησης και του οξειδωτικού στρες που παράγεται ταυτόχρονα με την χορήγηση της NAC. Η δόση που χρησιμοποίησαν ήταν 4X200 mg/ημέρα για 2 ημέρες και 800 mg NAC την ημέρα της άσκησης. Οι δυο συνθήκες άσκησης περιλάμβαναν ποδηλασία στο αερόβιο και στο αναερόβιο κατώφλι. Από τα αποτελέσματα μεταξύ άλλων φάνηκε ότι αυξήθηκε η συνολική αντιοξειδωτική ικανότητα στο πλάσμα. Σε μια άλλη μελέτη οι Medved και συν. (2002) ερεύνησαν την δράση της NAC μετά από ενδοφλέβια χορήγηση στην οξειδοαναγωγική κατάσταση του αίματος και στην κόπωση. Η άσκηση που πραγματοποίησαν οι εθελοντές ήταν 3 σετ των 45 δευτερολέπτων ποδηλασία και στη συνέχεια άλλο ένα σετ μέχρι την εξάντληση. Η δόση του αντιοξειδωτικού ήταν 125 mg/Kg/h για 15 λεπτά πριν την άσκηση και κατά τη διάρκεια αυτής 25 mg/Kg/h. Από τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής φάνηκε ότι ενισχύθηκε το αντιοξειδωτικό σύστημα της GSH. Σε έρευνα που έγινε σε ασθενείς με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (Koechlin et al., 2004) βρέθηκε ότι μετά την άσκηση μυϊκής αντοχής που εφαρμόστηκε στους τετρακέφαλους μύες περιορίστηκε η υπεροξείδωση των λιπιδίων. Η δόση που έλαβαν οι εθελοντές ήταν 1800 mg NAC για 4

ημέρες και 600 mg την ημέρα της μέτρησης. Οι Matuszczak et al., (2005) μελέτησαν την επίδραση της NAC στην οξειδωση της GSH και στην κόπωση κατά την άσκηση με “χειρολαβές”. Η δόση που χρησιμοποίησαν ήταν 150 mg NAC για κάθε Kg σωματικού βάρους και από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι αυξήθηκε η συγκέντρωση της NAC και της κυστεΐνης στο αίμα. Το 2010 οι Ferreira, Campbell και Reid μελέτησαν την επίδραση της NAC στις θειόλες του πλάσματος μετά από άσκηση με “χειρολαβές”. Στους εθελοντές δόθηκαν αρκετές διαφορετικές δοσολογίες και από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι δόσεις από 70 mg/Kg μετέβαλαν σημαντικά τις γλουταθειόνες του πλάσματος. Τέλος οι Leelarungrayub, Khansuwan, Pothongsunun και Klaphajone (2011), μελέτησαν την επίδραση της NAC στην αντιοξειδωτική ικανότητα και σε άλλους δείκτες του αίματος. Οι εθελοντές πραγματοποίησαν ένα αυξανόμενης έντασης τεστ σε διάδρομο πριν την χορήγηση και μετά από αυτήν. Η δοσολογία περιλάμβανε 1200 mg NAC για 7 ημέρες. Στα ευρήματα τους μεταξύ άλλων αναφέρουν ενίσχυση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος (TAC).

Εκτός όμως από τις μελέτες που βρήκαν θετικές επιδράσεις μετά από τη λήψη NAC υπάρχουν και αυτές που αναφέρουν μη σημαντικές επιδράσεις του αντιοξειδωτικού ή ακόμη και αρνητικές επιδράσεις. Οι Silva και συν. (2008) μελέτησαν την επίδραση της λήψης NAC στην οξειδωτική βλάβη και στην φλεγμονή μετά από έκκεντρη άσκηση στα χέρια. Υπήρχαν τρία γκρουπ το placebo και αυτά που λάμβαναν NAC για 14 και 21 ημέρες. Η δόση ήταν ορισμένη στα 10 mg/Kg. Από τα αποτελέσματα δεν βρέθηκαν διαφορές μεταξύ των τριών γκρουπ στην υπεροξείδωση των λιπιδίων, αλλά ούτε και στην παραγωγή των πρωτεϊνικών καρβονυλίων. Οι Childs, Jacobs, Kaminski, Halliwell & Leeuwenburgh, (2001) ερεύνησαν την επίδραση της βιταμίνης C σε συνδυασμό με τη NAC στο οξειδωτικό στρες για 7 ημέρες μετά από έκκεντρη άσκηση στα χέρια. Η δόση περιλάμβανε 12.5 mg/Kg βιταμίνης C και 10 mg/Kg NAC. Από τα αποτελέσματά τους φάνηκε ότι στη συνθήκη όπου οι συμμετέχοντες λάμβαναν τα αντιοξειδωτικά τη 2<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση είχαν υψηλότερα επίπεδα υπεροξειδίων των λιπιδίων.

Από τις παραπάνω μελέτες που αναφέρονται γίνεται φανερό ότι έχουν χρησιμοποιηθεί ποικίλες δοσολογίες και με διαφορετικούς τρόπους, γεγονός που καθιστά δύσκολη τη σύγκριση των ευρημάτων τους. Επιπλέον σε σχέση με τη δική μας μελέτη στις παραπάνω έχει δοθεί περισσότερη έμφαση στην “φόρτωση” του αντιοξειδωτικού μηχανισμού πριν την άσκηση και όχι κατά τη διάρκεια της αποκατάστασης (Childs et al., 2001).

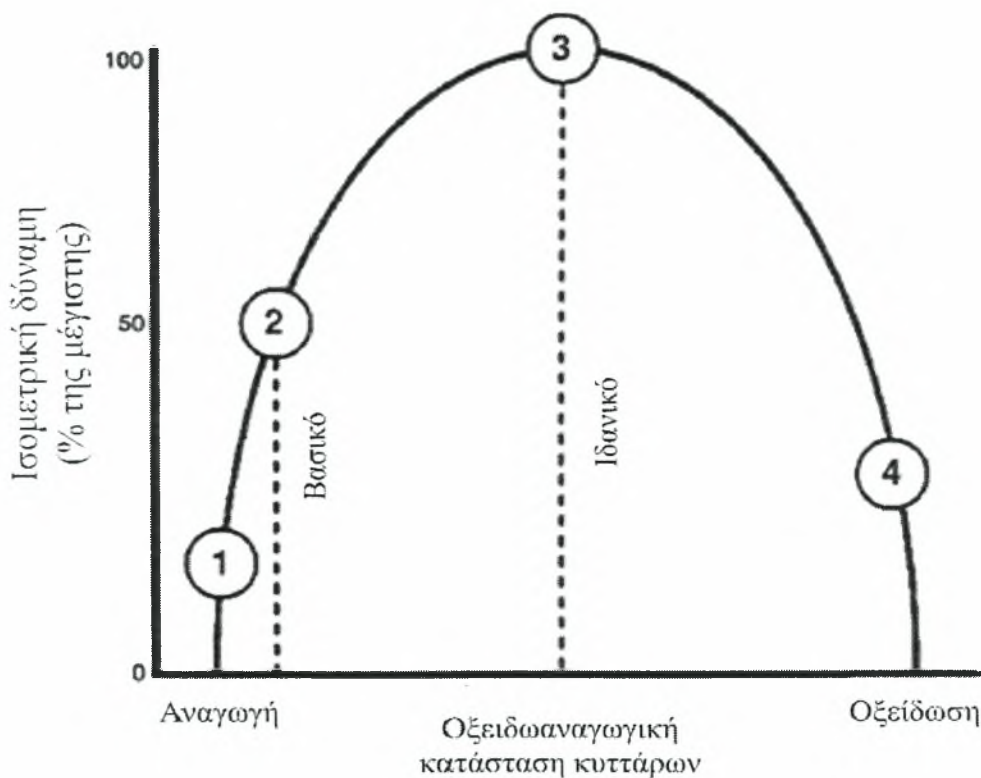
### *Απόδοση*

Στο κεφάλαιο των αποτελεσμάτων έχει παρουσιαστεί ότι στον δείκτη της μέγιστης ροπής στις 60°/sec έκκεντρης μυϊκής σύσπασης η λήψη της NAC οδήγησε σε μικρότερη πτώση της ροπής τις πρώτες δυο ημέρες μετά την άσκηση (σχήμα 32). Ωστόσο τις επόμενες ημέρες οι εθελοντές όταν λάμβαναν το αντιοξειδωτικό εμφάνισαν καθυστερημένη αποκατάσταση. Πιο συγκεκριμένα την 8<sup>η</sup> ημέρα μετά το πρωτόκολλο άσκησης στη συνθήκη placebo υστερούσαν της αρχικής μέτρησης μόνο κατά 3.5%, ενώ στη συνθήκη NAC κατά 11%. Όμοια διακύμανση εμφάνισαν και οι άλλοι δείκτες μυϊκής απόδοσης όπως η σχετική μέγιστη ροπή (σχήμα 33), η μέση ροπή (σχήμα 34) και η σχετική μέση ροπή (σχήμα 35).

Από τη βιβλιογραφία είναι φανερό ότι η χορήγηση αντιοξειδωτικών έχει ποικίλες επιδράσεις στην απόδοση κατά τη διάρκεια της αποκατάστασης μετά από άσκηση. Υπάρχουν μελέτες που αναφέρουν θετική επίδραση των αντιοξειδωτικών στη μυϊκή λειτουργία (Jakeman & Maxwell, 1993; Medved et al., 2004; Shafat et al., 2004), άλλες δεν αναφέρουν διαφορές (Bailey, Williams, Betts, Thompson & Hurst, 2010; Beaton, Allan, Tarnopolsky, Tiidus & Phillips, 2002; Bloomer, 2004; Bryer & Goldfarb, 2006; Theodorou et al., 2011), ενώ υπάρχουν και αυτές οι έρευνες που παρουσιάζουν αρνητικές επιδράσεις των αντιοξειδωτικών (Gomez-Cabrera et al., 2008; Malm, Svensson, Ekblom & Sjodin, 1997; Power & Jackson, 2008; Reid, 2008; Ristow et al., 2009; Sharman, Down & Sen, 1971). Θα πρέπει να παρατηρήσουμε ότι οι παραπάνω έρευνες είχαν διαφορετικό σχεδιασμό που διέφερε τόσο στο είδος και την ποσότητα των αντιοξειδωτικών όσο και στα πρωτόκολλα άσκησης και δειγματοληψίας που ακολουθήθηκαν. Από το γεγονός αυτό συμπεραίνουμε ότι είναι δύσκολη η σύγκριση των ευρημάτων τους.

Έχει αναφερθεί ότι οι ελεύθερες ρίζες έχουν σημαντική επίδραση στη μυϊκή συστολή. Η παρουσία τους σε χαμηλά επίπεδα απαιτείται για μια φυσιολογική παραγωγή δύναμης (Reid, 2001; Reid, Kobzik, Bredt & Stamler, 1998; Supinski & Callahan, 2007). Επίσης μελέτες αναφέρουν ότι η εξουδετέρωση των ROS με αντιοξειδωτικά έχει ως αποτέλεσμα την μείωση της παραγόμενης μυϊκής δύναμης (Coombes et al., 2002; Reid, Khawli & Moody 1993; Reid et al., 1998; Reid & Moody, 1994). Σε αντίθεση η μέτρια αύξηση της συγκέντρωσής τους στον σκελετικό μυ αυξάνει την μυϊκή δύναμη (Reid et al., 1993). Ο Reid (2001) ήταν ο πρώτος που παρουσίασε ένα σχήμα (σχήμα 65) για τον τρόπο που οι ελεύθερες ρίζες επηρεάζουν την μυϊκή λειτουργία όσο αφορά την απόδοση.

Σύμφωνα με αυτό η οξειδωαναγωγική κατάσταση του μυ είναι ένας παράγοντας που ρυθμίζεται από την παραγωγή των ROS και την αντιοξειδωτική ικανότητα. Υπάρχει μια ευνοϊκή ενδοκυτταρική οξειδωαναγωγική κατάσταση όπου είναι ιδανική για την παραγωγή δύναμης. Οποιαδήποτε απόκλιση προς τα πάνω ή προς τα κάτω οδηγεί σε απώλεια της παραγόμενης δύναμης. Πιθανότατα οι ελεύθερες ρίζες μειώνουν την ευαισθησία των μυϊκών ινών στα ιόντα ασβεστίου άμεσα ή έμμεσα. Ωστόσο ο ακριβής μοριακός στόχος τους παραμένει αδιευκρίνιστος. Έτσι μια πιθανή ερμηνεία των ευρημάτων μας είναι ότι τα αντιοξειδωτικά τις πρώτες ημέρες μετά την άσκηση περιορίσαν την πολύ μεγάλη παραγωγή ελεύθερων ριζών με αποτέλεσμα οι εθελοντές να εμφανίσουν μικρότερη πτώση στα τεστ απόδοσης. Ωστόσο στη συνέχεια τα αντιοξειδωτικά μείωσαν τα επίπεδα των ROS σε μεγαλύτερο βαθμό από αυτόν που είναι αναγκαίος για την παραγωγή της δύναμης με αποτέλεσμα την 8<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση η απόδοση των εθελοντών όταν λάμβαναν την NAC να είναι χειρότερη από αυτήν που εμφάνισαν με το placebo.



**Σχήμα 65.** Θεωρητικό μοντέλο της λειτουργίας των ROS στην παραγόμενη δύναμη από τους σκελετικούς μύες (Από Reid, 2001) Σημείο 1 περιγράφει τη δύναμη που παράγεται από τους μύες όταν σε αυτούς επικρατούν αναγωγικές συνθήκες (πληθώρα αντιοξειδωτικών). Σημείο 2 περιγράφει τη δύναμη που παράγεται σε φυσιολογικές συνθήκες (χωρίς την προσθήκη οξειδωτικών ή αντιοξειδωτικών). Σημείο 3 περιγράφει την δύναμη που παράγεται στους μύες



όταν εκτίθενται σε χαμηλά επίπεδα οξειδωτικών και αποτελεί την ιδανική οξειδοαναγωγική κατάσταση για την παραγωγή δύναμης. Σημείο 4 περιγράφει τις αρνητικές επιδράσεις των αυξημένων ROS στην παραγωγή δύναμης.

### *Μυϊκός τραυματισμός*

Στα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης φάνηκε ότι ο καθυστερημένος μυϊκός πόνος (DOMS) δεν διαφοροποιήθηκε στις δυο συνθήκες. Πιο συγκεκριμένα στη συνθήκη NAC εμφάνισαν ελαφρώς μικρότερες τιμές ωστόσο είχαν τις ίδιες μεταβολές, δηλαδή προοδευτική αύξηση μέχρι και τη 2<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση και στη συνέχεια προοδευτική μείωση έως την 7<sup>η</sup> ημέρα όπου οι τιμές προσέγγισαν τα πριν την άσκηση επίπεδα (σχήμα 36). Μη σημαντικές διαφορές μεταξύ της συνθήκης ελέγχου και της συνθήκης όπου χορηγήθηκαν τα αντιοξειδωτικά αναφέρονται και από άλλους ερευνητές (Bailey et al., 2010; Shafat et al., 2004; Thompson et al., 2003).

Μετά το έκκεντρο πρωτόκολλο άσκησης το εύρος κίνησης στην άρθρωση του γόνατος μειώθηκε και για τις δυο συνθήκες. Η μέγιστη μείωση εμφανίστηκε μια ημέρα μετά την άσκηση, ενώ στη συνέχεια η κινητικότητα επανήλθε προοδευτικά μέχρι την 5<sup>η</sup> ημέρα όπου και σχεδόν έφτασε στα πριν την άσκηση επίπεδα (σχήμα 37). Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας φαίνεται ότι παρόμοια ευρήματα εμφανίζουν αρκετές μελέτες (Bailey et al., 2010; Bloomer, 2004; Bryer & Goldfarb, 2006; Theodorou et al., 2011).

Όσο αφορά τα DOMS υπάρχει μια διχογνωμία στη βιβλιογραφία για τη σχέση τους με τις ελεύθερες ρίζες. Υπάρχουν μελέτες που αναφέρουν ότι υπάρχει αλληλένδετη σχέση μεταξύ τους (Kaminski & Boal, 1992; Thompson et al., 2001b) και άλλες που δεν υποστηρίζουν τη σχέση αυτή (Close et al., 2004 a). Σε μια μελέτη οι Nosaka και συν. (2002) αναφέρουν ότι η αίσθηση των DOMS δεν αναπαριστά με ακρίβεια την μυϊκή βλάβη. Επιπλέον η αύξηση στις ελεύθερες ρίζες μετά από έκκεντρη άσκηση εμφανίζεται 24-48 ώρες μετά από την κορύφωση των DOMS (Close, Ashton, Cable, Doran & MacLaren, 2004b; Lee et al., 2002). Οι αναφορές αυτές δείχνουν την πιθανή έλλειψη σχέσης μεταξύ των ελεύθερων ριζών και των DOMS. Στηριζόμενοι στις ενδείξεις αυτών των ερευνών μπορούμε να δικαιολογήσουμε τα ευρήματα της παρούσας μελέτης καθώς εφόσον δεν υπάρχει σχέση μεταξύ των ROS και των DOMS η χρήση του αντιοξειδωτικού που έχει ως στόχο τις ελεύθερες ρίζες δεν επηρέασε τον καθυστερημένο μυϊκό πόνο και έτσι οι εθελοντές εμφάνισαν παρόμοιες μεταβολές στις δυο συνθήκες.

Ένας άλλος δείκτης μυϊκού τραυματισμού που χρησιμοποιήθηκε ήταν η CK. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι άρχισε να αυξάνεται μετά την έκκεντρη άσκηση και κορυφώθηκε τρεις ημέρες αργότερα. Στη συνέχεια η δραστηριότητά της μειώθηκε προοδευτικά χωρίς ωστόσο την 8<sup>η</sup> ημέρα μετά το πρωτόκολλο να έχει φτάσει τα πριν την άσκηση επίπεδα. Οι μεταβολές της παραμέτρου ήταν παρόμοιες στις δυο συνθήκες με τις τιμές ωστόσο στη συνθήκη NAC να είναι χαμηλότερες. Οι διαφορές μεταξύ των συνθηκών εμφανίστηκαν από το δείγμα της 1 ημέρας μέχρι και αυτό της 4<sup>ης</sup> ημέρας μετά την άσκηση (σχήμα 38). Θετική επίδραση των αντιοξειδωτικών στη διακύμανση της CK μετά από άσκηση αναφέρεται και από άλλους συγγραφείς (Bloomer, 2004; Sackeck, Milbury, Cannon, Roubenoff & Blumberg, 2003; Tokmakidis, Kokkinidis, Smilios & Doua, 2003). Ωστόσο υπάρχουν μελέτες που δεν βρήκαν διαφοροποίηση στη μεταβολή της κρεατινικής κινάσης μετά τη χρήση αντιοξειδωτικών (Bailey et al., 2010; Beaton et al., 2002; Bryer & Goldfarb, 2006; Childs et al., 2001; Theodorou et al., 2011).

Η αύξηση της CK μετά την άσκηση μπορεί να οφείλεται είτε στην άμεση μηχανική βλάβη του μυ, είτε σε μεταγενέστερες βλάβες των μεμβρανών που προκαλούνται από το αυξημένο ασβέστιο στον ενδοκυττάριο χώρο (Allen, Whitehead & Yeung, 2005), είτε λόγω των ελεύθερων ριζών οι οποίες οξειδώνουν τα λιπίδια των μεμβρανών και το γεγονός αυτό μπορεί να οδηγήσει στην αύξηση της διαπερατότητας των τελευταίων (Dawson et al., 2002). Από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης φαίνεται ότι στη συνθήκη NAC τα TBARS στο μυ, που αποτελούν δείκτη της οξείδωσης των λιπιδίων, διέφεραν σημαντικά μετά την άσκηση καθώς εμφάνιζαν μικρότερες συγκεντρώσεις σε σύγκριση με τη συνθήκη placebo. Συνδέοντας τα ευρήματα αυτά με τα παραπάνω συμπεραίνουμε ότι η NAC μέσω της δράσης της προστάτεψε τις μεμβράνες των ιστών από βλάβες κατά την αποκατάσταση με πιθανό αποτέλεσμα την εμφάνιση μικρότερης δραστηριότητας της CK του ορού.

### **Φλεγμονή**

Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων αυξήθηκε και στις δυο συνθήκες στα τρία πρώτα δείγματα μετά την άσκηση (post, 2h, 1d) εμφανίζοντας τη μέγιστη τιμή του στο δείγμα των 2 ωρών. Στη συνθήκη NAC η αύξηση του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων στις δυο πρώτες δειγματοληψίες ήταν σημαντικά μικρότερη από αυτή στη συνθήκη placebo (σχήμα 39). Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας φαίνεται ότι υπάρχουν έρευνες που αναφέρουν έλλειψη διαφορών στον

αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων και των υποκατηγοριών τους μετά τη λήψη αντιοξειδωτικών (Nakhostin-Roohi, Babaei, Rahmani-Nia & Bohlooli, 2008; Nielsen, Secher, Kappel & Pedersen 1998), αλλά και κάποιες που αναφέρουν θετικές επιδράσεις (Davison & Gleeson, 2006).

Σε μια από τις κατηγορίες των λευκών αιμοσφαιρίων ανήκουν τα μακροφάγα. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι δεν υπήρχαν διαφορές μεταξύ των δυο συνθηκών (placebo και NAC). Ο αριθμός των κυττάρων αυτών ήταν αυξημένος από το δείγμα των 2 ωρών μετά την άσκηση και συνέχισε να αυξάνεται καθώς την 8<sup>η</sup> ημέρα η αύξηση ξεπερνούσε σε ποσοστό το 700% (σχήμα 48). Εδώ πρέπει να αναφερθεί ότι στο δείγμα των 2 ημερών μετά την άσκηση ο αριθμός των μακροφάγων στη συνθήκη placebo ήταν κατά 30% μεγαλύτερος από αυτόν στη συνθήκη NAC και παρόλο που δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές, η διαφορά αυτή αποτελεί μια αξιοπρόσεκτη βιοχημική μεταβολή. Παρόμοιες αυξήσεις των μακροφάγων μετά από άσκηση και λήψη αντιοξειδωτικών αναφέρονται και από τους Beaton και συν. (2002).

Από τα αποτελέσματα για τη C αντιδρώσα πρωτεΐνη C (CRP) φάνηκε ότι η λήψη της NAC είχε ως αποτέλεσμα τη μικρότερη αύξηση της πρωτεΐνης αυτής σε σύγκριση με τη συνθήκη placebo μετά το έκκεντρο πρωτόκολλο άσκησης. Διαφορές μεταξύ των δυο συνθηκών παρατηρήθηκαν από το δείγμα της μιας ημέρας μέχρι και αυτό των 3 ημερών μετά την άσκηση (σχήμα 40). Παρόμοιες θετικές επιδράσεις των αντιοξειδωτικών αναφέρονται και από τους Phillips, Childs, Dreon, Phinney και Leeuwenburgh (2003). Αντίθετα οι Mastaloudis, Morrow, Hopkins, Devaraj και Traber (2004), δεν βρήκαν διαφορές μετά τη χορήγηση βιταμινών C και E.

Από τις κυτοκίνες η IL-1β επηρεάστηκε από τη λήψη της NAC καθώς εμφάνισε μικρότερες αυξήσεις στις συγκεντρώσεις της με τις διαφορές αυτές μεταξύ των συνθηκών να είναι σημαντικές από το δείγμα των 2 ωρών μέχρι και αυτό των 2 ημερών. Επίσης μπορούμε να επισημάνουμε ότι σε σύγκριση με τη συνθήκη placebo, στη συνθήκη NAC η αύξηση της συγκέντρωσης της IL-1β ήταν πιο προοδευτική όπως και η μείωσή της (σχήμα 41). Παρόμοιες επιδράσεις στην μεταβολή της IL-1β μετά από πολυμαραθώνιο και λήψη βιταμίνης C (1500 mg/ημέρα) αναφέρουν και οι Nieman, Peters, Henson, Nevines και Thompson (2000). Ωστόσο οι ίδιοι ερευνητές δεν βρήκαν διαφορές με τη χρήση μικρότερης δόσης της βιταμίνης (500 mg/ημέρα). Η IL-6 εμφάνισε όμοια μεταβολή με την IL-1β, δηλαδή με τη λήψη της NAC αυξήθηκε σε μικρότερο βαθμό η συγκέντρωσή της, με σημαντικές διαφορές μεταξύ των συνθηκών από το δείγμα των 2 ωρών και μετά (σχήμα

42). Από τη βιβλιογραφία διαπιστώνουμε ότι υπάρχουν μελέτες που αναφέρουν περιορισμό της αύξησης της συγκέντρωσής της (Nieman et al., 2000; Phillips et al., 2003) με τη χρήση αντιοξειδωτικών, αλλά και μελέτες που δεν έχουν βρει διαφορές (Davison & Gleeson, 2006; Mastaloudis et al., 2004; Nakhostin-Roohi et al., 2008). Η IL-10 αυξήθηκε και στις δυο συνθήκες από τις 2 ώρες και μετά. Σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο συνθηκών παρουσιάστηκαν στα δείγματα των 5, 6, 7 και 8 ημερών μετά το έκκεντρο πρωτόκολλο, με τη συγκέντρωση της IL-10 να είναι υψηλότερη στη συνθήκη NAC (σχήμα 43). Τα ευρήματα αυτά είναι σε συμφωνία με αναφορές προηγούμενων ερευνών (Nieman et al., 2000; Peters, Anderson, Nieman, Fickl & Jogessar 2001; Silva et al., 2008). Ωστόσο στη βιβλιογραφία υπάρχουν μελέτες που δεν βρήκαν διαφορές στην μεταβολή της μεταβλητής αυτής μετά από τη χορήγηση αντιοξειδωτικών (Peters et al., 2001; Silva et al., 2010).

Όσο αφορά τα μόρια συγκόλλησης από τα αποτελέσματα διαπιστώνουμε ότι το ICAM-1 αυξήθηκε σε μικρότερο ποσοστό στη συνθήκη NAC σε σύγκριση με τη συνθήκη placebo. Οι διαφορές αυτές ήταν σημαντικές στα δείγματα της μιας και των τριών ημερών μετά την άσκηση. Ωστόσο και στις δυο συνθήκες οι συγκεντρώσεις του μορίου συγκόλλησης επανήλθαν στα επίπεδα ηρεμίας από την 4<sup>η</sup> ημέρα (σχήμα 44).

Το VCAM-1 αυξήθηκε και στις δυο συνθήκες εμφανίζοντας παρόμοιες μεταβολές. Πιο συγκεκριμένα στο δείγμα των 2 ωρών μετά την άσκηση εμφανίστηκε η μέγιστη συγκέντρωσή του και στα επόμενα δείγματα μειώθηκε προοδευτικά προσεγγίζοντας από την 7<sup>η</sup> ημέρα τα πριν την άσκηση επίπεδα. Η λήψη της NAC δεν είχε κάποια σημαντική επίδραση παρόλο που εμφάνιζε μια τάση για μικρότερη αύξηση στη συγκέντρωσή του (σχήμα 45).

Για τη Σελεκτίνη P βρέθηκε ότι δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο συνθηκών (placebo-NAC) καθώς εμφάνισαν παρόμοιες μεταβολές. Η συγκέντρωσή της αυξήθηκε αμέσως μετά την άσκηση, συνέχισε να αυξάνεται στις 2 ώρες μετά όπου και εμφάνισε τη μέγιστη τιμή της και στη συνέχεια προοδευτικά μειώθηκε έτσι που από την 3 ημέρα μετά την άσκηση οι τιμές της πλησίασαν τα πριν την άσκηση επίπεδα (σχήμα 46).

Τέλος ανάλογη διακύμανση εμφάνισε και η Σελεκτίνη E όπου και στις δυο συνθήκες αυξήθηκε η συγκέντρωσή της χωρίς να εμφανίζονται διαφορές μεταξύ των δυο συνθηκών. Η αύξηση ήταν εντονότερη στα πρώτα δείγματα μέχρι αυτό της μιας ημέρας μετά την άσκηση, ενώ στη συνέχεια εμφάνισε πτώση και προσέγγισε τις τιμές ηρεμίας (σχήμα 47). Αύξηση στα μόρια συγκόλλησης μετά από άσκηση αναφέρεται και από

άλλους ερευνητές (Akimoto et al., 2002; Nielsen & Lyberg, 2004). Ωστόσο δεν υπάρχουν μελέτες που να ερευνήσαν την επίδραση των αντιοξειδωτικών στα μόρια συγκόλλησης μετά από άσκηση.

Όπως έχει προαναφερθεί στη μεθοδολογία όλες οι παραπάνω μεταβλητές είναι αλληλοεξαρτώμενες. Εν συντομία μπορούμε να πούμε για το μηχανισμό της φλεγμονής ότι μετά τις έκκεντρες συστολές κάποιες μυϊκές ίνες τραυματίζονται. Στο σημείο θα συγκεντρωθούν άμεσα τα αιμοπετάλια που μεταξύ άλλων εκλύουν παράγοντες που οδηγούν σε αγγειοδιαστολή. Ταυτόχρονα τα μακροφάγα που βρίσκονται στο σημείο τραυματισμού ενεργοποιούνται. Ακολουθεί τοπική απελευθέρωση κυτοκινών (IL-1β και TNF-α) και χημειοελκτικών παραγόντων που ενεργοποιούν τα μόρια συγκόλλησης. Τα τελευταία συγκεντρώνουν λευκοκύτταρα του κυκλοφορικού συστήματος στο σημείο τραυματισμού. Οι κυτοκίνες και οι διεγερτικοί παράγοντες αποικιών που απελευθερώνονται προκαλούν την δημιουργία λευκοκυττάρων, από τον μυελό των οστών και πρωτεϊνών άμεσης δράσης, από το ήπαρ. Οι κυτοκίνες επιπλέον διεγείρουν την έκκριση κορτικοστεροειδών ορμονών. Τέλος ακολουθεί η λήξη της φλεγμονής που είναι αποτέλεσμα συνδυασμού πολλών παραγόντων (αυξημένη συγκέντρωση κορτικοστεροειδών, δραστηριότητα των πρωτεϊνών άμεσης δράσης, αναστολή προφλεγμονωδών παραγόντων όπως οι κυτοκίνες IL-4, IL-10, IL-1ra).

Οι ελεύθερες ρίζες στην παραπάνω διαδικασία εμφανίζονται όταν αρχίζουν να συγκεντρώνονται τα λευκοκύτταρα στο σημείο τραυματισμού. Στο πρώτο διάστημα των 2 ημερών περίπου παράγονται από τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα, ενώ στη συνέχεια από τα μακροφάγα που συγκεντρώνονται στο σημείο (Bejma & Ji, 1999). Επίσης πολλές από τις κυτοκίνες που αποτελούν τους βασικότερους ρυθμιστές της φλεγμονής παράγονται μέσω της ενεργοποίησης σηματοδοτικών μονοπατιών όπως αυτό του NF-kB (Peake et al., 2007) που διεγείρεται από τις ελεύθερες ρίζες. Με τη σειρά τους οι κυτοκίνες προκαλούν την αύξηση των μορίων συγκόλλησης (μέσω αντιδράσεων φωσφορυλίωσης της πρωτεΐνης τυροσίνης) (Poulsen et al., 1996), τα οποία διευκολύνουν τη διαπήδηση των λευκοκυττάρων. Η αύξηση του αριθμού των κυττάρων αυτών έχει ως αποτέλεσμα να ενισχύεται η οξειδωτική βλάβη από τα ROS που παράγουν (Aoi et al., 2004). Επίσης ελεύθερες ρίζες παράγονται και από ορισμένες κυτοκίνες (Li, Schwartz, Waddell, Holloway & Reid, 1998).

Οι θετικές επιδράσεις που φάνηκε να υπάρχουν από την λήψη του αντιοξειδωτικού όσο αφορά τους περισσότερους δείκτες φλεγμονής, πιθανότατα ξεκινάνε από την έκταση



της μυϊκής βλάβης. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι στη συνθήκη NAC οι τιμές της CK ήταν χαμηλότερες σε σύγκριση με τη συνθήκη placebo γεγονός από το οποίο μπορεί να υποστηριχθεί ότι προκλήθηκε μικρότερη μυϊκή βλάβη. Αυτό θα είχε ως αποτέλεσμα την έλλειψη έντονων μεταβολών στους δείκτες φλεγμονής. Επίσης αλλάζοντας την οξειδοαναγωγική κατάσταση στα κύτταρα μπορούν να επηρεαστούν αρκετοί από τους παραπάνω μηχανισμούς της φλεγμονής όπως είναι η ρύθμιση των κυτοκινών και των μορίων συγκόλλησης (Sen, 1998; Sen, 1997; Sen & Packer, 1996). Η ενεργοποίηση του μηχανισμού του NF-kB, μέσω του οποίου παράγονται οι κυτοκίνες και τα μόρια συγκόλλησης, αναστέλλεται με τη χρήση της NAC (Weber et al., 1994). Οι κυτοκίνες όπως προαναφέρθηκε αποτελούν τους ρυθμιστές της διαδικασίας της φλεγμονής (Philippou, Maridaki, Theos & Koutsilieris, 2012).

### *Μεταγωγικά μονοπάτια*

Από τα αποτελέσματα για το μονοπάτι της Akt/mTOR φάνηκε ότι κάποιες πρωτεΐνες επηρεάστηκαν από τη χρήση του αντιοξειδωτικού και κάποιες όχι. Πιο συγκεκριμένα για την πρωτεΐνη PKB φάνηκε ότι οι δυο συνθήκες διέφεραν μεταξύ τους στο δείγμα των 8 ημερών. Η φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης αυξήθηκε μετά την άσκηση προοδευτικά και στην 8<sup>η</sup> ημέρα φάνηκε να έχει την υψηλότερη τιμή (σχήμα 50). Η πρωτεΐνη p70S6k αυξήθηκε και στις δυο συνθήκες στο δείγμα των 2 ωρών μετά το έκκεντρο πρωτόκολλο άσκησης και στα επόμενα δυο δείγματα μειώθηκε προοδευτικά έτσι που στη συνθήκη NAC την 8<sup>η</sup> ημέρα οι τιμές της είχαν επανέλθει στα επίπεδα ηρεμίας (σχήμα 54). Για την πρωτεΐνη mTOR φάνηκε ότι στη συνθήκη placebo είχε αυξητική πορεία μέχρι το δείγμα των δυο ημερών μετά την άσκηση και στη συνέχεια στο δείγμα της 8<sup>ης</sup> ημέρας μειώθηκε. Στη συνθήκη NAC μειώθηκε και στις 8 ημέρες ήταν κάτω από τα επίπεδα ηρεμίας. Οι σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν στο δείγμα της 8<sup>ης</sup> ημέρας (σχήμα 52). Τέλος για την πρωτεΐνη MyoD φάνηκαν διαφορές μεταξύ των δυο συνθηκών στο δείγμα της 8<sup>ης</sup> ημέρας. Στη συνθήκη placebo εμφάνισε προοδευτική αύξηση, ενώ στη συνθήκη NAC προοδευτική μείωση (σχήμα 56). Από την ανασκόπηση τη βιβλιογραφίας διαπιστώνουμε ότι η παρούσα μελέτη είναι η μοναδική που μελέτησε την επίδραση ενός του αντιοξειδωτικού NAC μετά από έκκεντρη άσκηση στα επίπεδα φωσφορυλίωσης των παραπάνω πρωτεϊνών στον σκελετικό μυ. Σε διαφορετικά είδη ιστών μετά τη χορήγηση NAC έχει αναφερθεί μείωση της φωσφορυλίωσης της PKB (Daou & Srivastava, 2004), αναστολή της ενεργοποίησης του μονοπατιού της Akt (Huo et al., 2009; Iiyama, Kakihana,

Kurosu & Miura, 2005), ενεργοποίηση του μονοπατιού mTOR/p70S6K (Gutierrez-Uzquiza, Arechederra, Bragado, Aguirre-Ghiso & Porrás, 2011).

Από το μεταγωγικό μονοπάτι της MAPK μελετήθηκε η πρωτεΐνη p38. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι η φωσφορυλίωσή της αυξήθηκε στο δείγμα των 2 ωρών και στις δυο συνθήκες. Οι διαφορές στις δυο συνθήκες παρατηρήθηκαν στο δείγμα των 8 ημερών (σχήμα 58). Σε μια πρόσφατη μελέτη οι Petersen και συν. (2011) διαπίστωσαν ότι μετά από ενδοφλέβια χορήγηση NAC η φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης p38 αυξήθηκε κατά τη διάρκεια και αμέσως μετά την άσκηση όπως και στην συνθήκη ελέγχου. Τα ευρήματα αυτά συμπίπτουν με αυτά της παρούσας μελέτης όσο αφορά το δείγμα των 2 ωρών μετά την άσκηση. Ωστόσο στις προαναφερθείσες μελέτες δεν έχουν γίνει δειγματοληψίες κατά την αποκατάσταση και δεν μπορούν να γίνουν περαιτέρω συγκρίσεις.

Η πρωτεΐνη NF-kB φάνηκε από τα αποτελέσματα ότι διέφερε στις δυο συνθήκες. Πιο συγκεκριμένα στη συνθήκη placebo η φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης ήταν αυξημένη στις 2 ημέρες μετά την άσκηση και στη συνέχεια μειώθηκε. Οι σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο συνθηκών παρατηρήθηκαν στο δείγμα των 2 ημερών (σχήμα 60). Μείωση της φωσφορυλίωσης της NF-kB έχει αναφερθεί και από προηγούμενες μελέτες σε ποικίλους ιστούς μετά από τη λήψη αντιοξειδωτικών (Meyer et al., 1992; Scharffetter-Kochanek, Wlaschek, Briviba & Sies, 1993). Σε μελέτη παρόμοια με την παρούσα οι Petersen και συν. (2011) ανέφεραν περιορισμό της φωσφορυλίωσης της πρωτεΐνης NF-kB τη χρονική στιγμή της εξάντλησης. Ωστόσο η δειγματοληψία τους σταματά μετά την εξάντληση με αποτέλεσμα να μην είναι δυνατή η περαιτέρω σύγκριση με την παρούσα μελέτη.

Ο ιστικός παράγοντας νέκρωσης άλφα (TNF-a) στη συνθήκη placebo εμφάνισε σχετική αύξηση στο δείγμα των 8 ημερών μετά την άσκηση. Αντίθετα στη συνθήκη NAC αυξήθηκε στο δείγμα των 2 ωρών μετά το έκκεντρο πρωτόκολλο άσκησης, ενώ στα επόμενα δείγματα μειώθηκε έτσι που στο δείγμα της 8<sup>ης</sup> ημέρας εμφάνιζε τιμές κάτω από τα επίπεδα ηρεμίας. Στο δείγμα αυτό παρατηρήθηκαν και οι σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο συνθηκών (σχήμα 64). Οι Silva και συν. (2008) χορήγησαν NAC σε δυο διαφορετικά πρωτόκολλα και διαπίστωσαν την ύπαρξη διαφορών με τη συνθήκη placebo στις 2, αλλά και στις 4 ημέρες μετά την άσκηση. Ωστόσο από τη βιβλιογραφία φαίνεται ότι υπάρχουν αρκετές μελέτες που αναφέρουν έλλειψη διαφορών από την λήψη των αντιοξειδωτικών (Leelarungrayub et al., 2011; Nieman et al., 2000; Silva et al., 2010;). Ο TNF-a παρόλο που ανήκει στην κατηγορία των ιντερλευκινών αναφέρεται στο

συγκεκριμένο κεφάλαιο καθώς αποτελεί έναν από τους βασικότερους ενεργοποιητές του μεταγωγικού μονοπατιού του NF-kB (Ji, 2007).

Τέλος η πρωτεΐνη pS6 αυξήθηκε και στις δυο συνθήκες στις 2 ώρες μετά την άσκηση και ακολούθησε μείωση στα επόμενα δυο δείγματα. Ωστόσο στη συνθήκη NAC η μείωση αυτή ήταν απότομή έτσι που στο δείγμα των 2 ημερών είχε προσεγγίσει τα πριν την άσκηση επίπεδα. Οι διαφορές μεταξύ των δυο συνθηκών εντοπίστηκαν στα δείγματα των 2 και 8 ημερών μετά την άσκηση (σχήμα 62). Δυστυχώς δεν μπορούν να συγκριθούν τα ευρήματα της παρούσας μελέτης καθώς δεν υπάρχουν δεδομένα για την ανταπόκριση της πρωτεΐνης αυτής μετά από άσκηση και λήψη αντιοξειδωτικών. Εδώ θα πρέπει να ξαναειπωθεί ότι η πρωτεΐνη αυτή σχετίζεται με το μηχανισμό της μετάφρασης στα κύτταρα και παρόλο που η ακριβής λειτουργία της είναι υπό μελέτη, υπάρχουν έρευνες που δείχνουν να εμπλέκεται στη ρύθμιση του κυτταρικού μεγέθους και του κυτταρικού πολλαπλασιασμού (Magnuson, Ekim & Fingar, 2012).

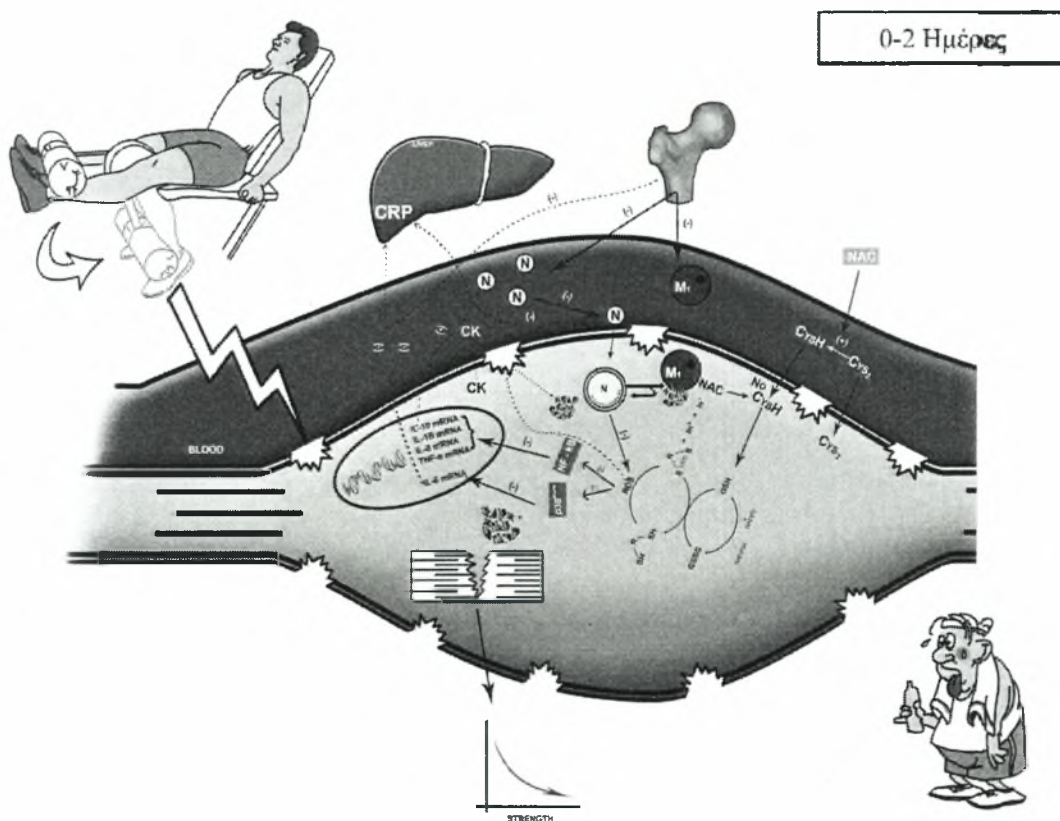
Συμπερασματικά μπορούμε να αναφέρουμε ότι το μονοπάτι Akt/mTOR αποτελεί βασικό ρυθμιστή της υπερτροφίας των μυών και έχει φανεί ότι στις περιπτώσεις που έχει περιοριστεί η ενεργοποίησή του, περιορίζεται και η ανάπτυξη των μυών (Bodine et al., 2001). Επίσης το μονοπάτι της MAPK σχετίζεται με την ανάπτυξη, τη μεταγραφή και τον ανασχηματισμό των ιστών. Αντίθετα ο NF-kB είναι βασικά υπεύθυνος για παράγοντες (π.χ. ιντερλευκίνες) που οδηγούν στη φλεγμονή, την απόπτωση και την προσαρμογή (Ji 2008). Ωστόσο υπάρχουν σχέσεις μεταξύ των μονοπατιών. Έτσι για παράδειγμα έχει βρεθεί σε λείους μύες ότι η πρωτεΐνη p38 παίζει σημαντικό ρόλο στην προσωρινή ενεργοποίηση του NF-kB (Jiang et al., 2004; Kefaloyianni, Gaitanaki & Beis, 2006). Από τη βιβλιογραφία φαίνεται ότι οι ελεύθερες ρίζες διαδραματίζουν έναν σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση ή/και εξέλιξη των μονοπατιών αυτών και για αυτό το λόγο η λήψη των αντιοξειδωτικών επηρεάζει τη φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών τους και κατ' επέκταση τις μυϊκές προσαρμογές. Στην παρούσα μελέτη η λήψη της NAC φάνηκε να περιορίζει την επούλωση-ανασχηματισμό του μυ.

#### ***Συνοπτικά η επίδραση της NAC κατά τη φάση ανάπτυξης της φλεγμονής και κατά τη φάση επούλωσης του μυϊκού ιστού***

Στη συνέχεια θα αναφερθεί συνοπτικά η δράση της NAC κατά τη φάση της ανάπτυξης της φλεγμονής μετά το μυϊκό τραυματισμό (0-2 ημέρες), αλλά και κατά τη φάση της επούλωσης και ανάπτυξης του μυϊκού ιστού (4-8 ημέρες).

Όπως προαναφέρθηκε η έκκεντρη άσκηση προκάλεσε μυϊκή βλάβη που είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της λειτουργικής ικανότητας του μυ. Η λήψη της NAC οδήγησε στην ενίσχυση του αντιοξειδωτικού μηχανισμού της GSH περιορίζοντας τις συγκεντρώσεις των ελεύθερων ριζών στο μυ. Το γεγονός αυτό μείωσε την ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NF-kB που με τη σειρά του περιορίσει την παραγωγή των παρακάτω ιντερλευκινών 10, 1β και 8, TNF-a (IL-10, IL-1β, IL-8, TNF-a). Η μειωμένη συγκέντρωση των μορίων αυτών είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της συγκέντρωσης των λευκοκυττάρων (ουδετερόφιλα, μακροφάγα M1) στον τραυματισμένο μυϊκό ιστό, αλλά και τον περιορισμό της ενεργοποίησής τους, παράγοντας λιγότερες ελεύθερες ρίζες (μειωμένη φαγοκυττάρωση).

Επίσης ο μειωμένος αριθμός ελεύθερων ριζών μείωσε τη φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης p38<sup>MAPK</sup> που με τη σειρά της μείωσε την έκφραση της προφλεγμονώδους ιντερλευκίνης-6 (IL-6). Ο περιορισμός της έκκρισης της κυτοκίνης αυτής οδήγησε στην μειωμένη παραγωγή της CRP από το ήπαρ και των υποκατηγοριών των λευκών αιμοσφαιρίων από τα οστά (ουδετερόφιλα και μακροφάγα) (σχήμα 66).



Σχήμα 66. Θεωρητικό μοντέλο της επίδρασης της NAC κατά τη διάρκεια της φάσης ανάπτυξης της φλεγμονής στο μυϊκό ιστό.

Με βάση τα ευρήματα της παρούσας μελέτης αυτή ήταν η δράση της NAC κατά τη διάρκεια ανάπτυξης της φλεγμονής στο μυϊκό ιστό. Το αντιοξειδωτικό περιορίσει την ενεργοποίηση κυτταρικών μονοπατιών που σχετίζονται με την ανάπτυξη της φλεγμονής.

Παρακάτω παρουσιάζεται το θεωρητικό μοντέλο δράσης της NAC κατά τη φάση της επούλωσης του μυ. Όπως προαναφέρθηκε μειώθηκαν οι ελεύθερες ρίζες καθώς ενισχύσαμε το μηχανισμό της GSH. Η μείωση των ελεύθερων ριζών είχε ως αποτέλεσμα να μειώσει την ενεργοποίηση του κυτταρικού μονοπατιού της p38<sup>MAPK</sup>. Με τον τρόπο αυτό όμως περιορίστηκε η έκφραση της πρωτεΐνης MyoD που σχετίζεται θετικά με τον πολλαπλασιασμό των μυοβλαστών που είναι απαραίτητοι για την επούλωση και την ανάπτυξη του μυϊκού ιστού. Ακόμη οι μικρές συγκεντρώσεις ελεύθερων ριζών περιόρισαν την ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB μειώνοντας την παραγωγή των κυτοκινών IL-6 και TNF-α. Οι κυτοκίνες αυτές όμως μεταξύ άλλων σχετίζονται θετικά με την ενεργοποίηση των δορυφόρων κυττάρων. Επίσης η μειωμένη έκκριση των μορίων αυτών οδήγησε σε περιορισμό της φαγοκυττάρωσης από τα λευκοκύτταρα (ουδετερόφιλα, μακροφάγα M1), αλλά και τον περιορισμό της μετατροπής των προφλεγμονωδών μακροφάγων M1, στα αντιφλεγμονώδη μακροφάγα M2. Ακόμη ο περιορισμός των συγκεντρώσεων των ελεύθερων ριζών κατά τη φάση της αποκατάστασης του μυ μείωσε και την ενεργοποίηση του μονοπατιού Akt/mTOR περιορίζοντας την έκφραση της πρωτεΐνης pS6K που σχετίζεται με την ανάπτυξη του μυϊκού ιστού (σχήμα 67).

Αυτή η περιοριστική δράση της NAC στα κυτταρικά μονοπάτια που σχετίζονται με την αναγέννηση του μυϊκού ιστού είχε ως αποτέλεσμα την καθυστέρηση της επούλωσής του.





## VI. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ- ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Στην παρούσα διατριβή μελετήθηκε η μεταβολή της οξειδοαναγωγικής κατάστασης στο αίμα και στο μυϊκό κύτταρο μέσω της χορήγησης NAC (Leff et al., 1993), μετά από ασκησιογενή μυϊκό τραυματισμό και εξετάστηκε η επίπτωση αυτής της μεταβολής στη λειτουργική κατάσταση του μυ (παραγωγή δύναμης), τη γονιδιακή και τέλος την πρωτεϊνική έκφραση των βασικότερων πρωτεϊνών που χαρακτηρίζουν τον κύκλο της ασκησιογενούς φλεγμονής του μυϊκού κυττάρου. Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν και τη σύγκρισή τους με τη σύγχρονη βιβλιογραφία καταλήγουμε στα παρακάτω συμπεράσματα:

Η λήψη της NAC μπορεί να περιορίσει τον μυϊκό τραυματισμό μετά από έκκεντρη άσκηση.

Η λήψη της NAC μπορεί να περιορίσει τη φλεγμονή μετά από έκκεντρη άσκηση.

Η λήψη της NAC μπορεί να καθυστερήσει τη λειτουργική αποκατάσταση των μυών μετά από έκκεντρη άσκηση.

Η λήψη της NAC μπορεί να περιορίσει την ενεργοποίηση του μεταγωγικού μονοπατιού Akt/mTOR μετά από έκκεντρη άσκηση.

Η λήψη της NAC μπορεί να περιορίσει την ενεργοποίηση του μεταγωγικού μονοπατιού MAPK/p38 μετά από έκκεντρη άσκηση.

Η λήψη της NAC μπορεί να περιορίσει την ενεργοποίηση του μεταγωγικού μονοπατιού NF-kB μετά από έκκεντρη άσκηση.

Συμπερασματικά η λήψη της NAC μετά από έκκεντρη άσκηση μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη μικρότερης φλεγμονής στο μυ, αλλά ταυτόχρονα να καθυστερήσει την επαναφορά της λειτουργικότητας του μυ και τους μηχανισμούς ανασύνθεσής του.

### ***Προτάσεις***

Η λήψη του αντιοξειδωτικού NAC μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να περιορίσει τη φλεγμονή σε άτομα που θα πραγματοποιήσουν έκκεντρες συσπάσεις. Ωστόσο η χρήση της σε αθλητές θα μπορούσε να έχει ως αποτέλεσμα την καθυστέρηση της επαναφοράς της απόδοσής τους. Τα παρόντα ευρήματα δίνουν πληροφορίες για ασκούμενους αναψυχής.

Θα παρουσίαζε ενδιαφέρον να εξεταζόταν η επίδραση του αντιοξειδωτικού σε αθλητές ατομικών ή ομαδικών αθλημάτων.

Στην παρούσα μελέτη εφαρμόστηκαν έκκεντρες συσπάσεις. Χρήσιμο θα ήταν σε μελλοντικές έρευνες η χρήση αγωνιστικών μορφών άσκησης όπως για παράδειγμα συνεχόμενοι αγώνες ποδοσφαίρου (π.χ. τουρνουά).

Επίσης στην παρούσα μελέτη χορηγήθηκε η NAC μέχρι και την 8<sup>η</sup> ημέρα μετά την άσκηση. Σε μελλοντικές έρευνες θα μπορούσε να συνεχιστεί η λήψη του αντιοξειδωτικού για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα έτσι ώστε να εκτιμηθεί η επίδρασή του μέχρι την τελική επούλωση του μυ.

## VII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abe, M. K., Kartha, S., Karpova, A.Y., Li, J., Liu, P.T., Kuo, W.L. & Hershenson, M.B. (1998). Hydrogen peroxide activates extracellular signalregulated kinase via protein kinase C, Raf-1, and MEK1. *American Journal of respiratory Cell & Molecular Biology*, 18, 562–569.
- Abernethy, P., Wilson, G. & Logan, P. (1995). Strength and power assessment: Issues, controversies and challenges. *Sports Medicine*, 19, 401–417.
- Abraham, R.Z., Kobzik, L., Moody, M.R., Reid, M.B. & Stamler, J.S. (1998). Cyclic GMP is a second messenger by which nitric oxide inhibits diaphragm contraction. *Comparative Biochemistry & Physiology*, 119A, 177–183.
- Abraham, W.M. (1977). Factors in delayed muscle soreness. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 9(1), 11–20.
- Afford, S.G., Pongracy, J., Stockley, R.A., Crocker, J. & Burnett, D. (1992). The induction by human interleukin-6 of apoptosis in the promonocytic cell line U937 and human neutrophils. *Journal of Biological Chemistry*, 267, 21612–21616.
- Aghdasi, B., Zhang, J.Z., Wu, Y., Reid, M.B. & Hamilton, S.L. (1997). Multiple classes of sulfhydryls modulate the skeletal muscle Ca<sup>2+</sup> release channel. *Journal of Biological Chemistry*, 272, 3739–3748.
- Akimoto, T., Furudate, M., Saitoh, M., Sugiura, K., Waku, T., Akama, T. & Kono, I. (2002). Increased plasma concentrations of intercellular adhesion molecule-1 after strenuous exercise associated with muscle damage. *European Journal of Applied Physiology*, 86, 185–190.
- Akira, S., Hirano, T., Taga, T. & Kishimoto, T. (1990). Biology of multifunctional cytokines: IL 6 and related molecules (IL 1 and TNF). *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 4, 2860–2867.

- Albertini, M., Lafortuna, C. & Aguggini, G. (1997). Effects of nitric oxide on diaphragmatic muscle endurance and strength in pigs. *Experimental Physiology*, 82, 99–106.
- Alessio, H.M. (1993). Exercise-induced oxidative stress. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 25, 218–224.
- Alessio, H.M., Goldfarb, A.H. & Cao, G. (1997). Exercise induced oxidative stress before and after vitamin C supplementation. *International Journal of Sports Nutrition*, 7, 1-9.
- Allen, D.G., Whitehead, N.P. & Yeung, E.W. (2005). Mechanisms of stretch-induced muscle damage in normal and dystrophic muscle: role of ionic changes. *Journal of Physiology*, 567, 3, 723–735.
- Allen, R. G. & Tresini, M. (2000). Oxidative stress and gene regulation. *Free. Radical Biology & Medicine*, 28, 463–499.
- Allen, R.E. & Boxhorn, L.K. (1989). Regulation of skeletal muscle myogenic satellite cell proliferation and differentiation by transforming growth factor-beta, insulin-like growth factor I, and fibroblast growth factor. *Journal of Cellular Physiology*, 138, 311-315.
- Allen, R.E., Dodson, M.V. & Luiten, L.S. (1984). Regulation of skeletal muscle satellite cell proliferation by bovine pituitary fibroblast growth factor. *Experimental Cell Research*, 152, 154–160.
- Allen, R.E., Dodson, M.V., Boxhorn, L.K., Davis, S.L. & Hossner, K.L. (1986). Satellite cell proliferation in response to pituitary hormones. *Journal of Animal Science*, 62, 1596–1601.
- Allen, R.E., Sheehan, S.M., Taylor, R.G., Kendall, T.L. & Rice, G.M. (1995). Hepatocyte growth factor activates quiescent skeletal muscle satellite cells *in vitro*. *Journal of Cellular Physiology*, 165, 307–312.
- Alstaedt, J., Kirchner, H. & Rink, L. (1996). Cytokine production of neutrophils is limited to interleukin-8. *Immunology*, 89, 563–568.



- American College of Sports Medicine (2002). Guidelines for exercise testing and prescription. 6<sup>th</sup> edition. Maryland, USA: Lippincott Williams & Wilkins.
- American College of Sports Medicine (2006). Guidelines for exercise testing and prescription. 7<sup>th</sup> edition. Maryland, USA: Lippincott Williams & Wilkins.
- Ames, B.N., Catchcart, R., Schwiers, E. & Hochstein, P. (1981). Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant and radical caused aging and cancer: a hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 78, (11), 6858-6862.
- Anastasi, S., Giordano, S., Sthandier, O., Gambaroota, G., Malone, R., Comoglio, P. & Amati, P. (1997). A natural hepatocyte growth factor/scatter factor autocrine loop in myoblast cells and the effect of the constitutive Met Kinase activation on myogenic differentiation. *Journal of Cell Biology*, 137, 1057–1068.
- Andersson, U., Leighton, B., Young, M.E., Blomstrand, E. & Newsholme, E.A. (1998). Inactivation of aconitase and oxoglutarate dehydrogenase in skeletal muscle in vitro by superoxide anions and/or nitric oxide. *Biochemical & Biophysical Research Communication*, 249, 512– 516.
- Andrade, F.H., Moody, M.R., Stamler, J.S. & Reid, M.B. (1996). Cytochrome c reduction assay detects nitric oxide release by rat diaphragm. In: *The Biology of Nitric Oxide*, Part 5, S. Moncada, J. Stamler, S. Gross, and E. Higgs (Eds.). London: Portland Press, 1996, pp. 45.
- Andrade, F.H., Reid, M.B., Allen, D.G. & Westerblad, H. (1998). Effect of hydrogen peroxide and dithiothreitol on contractile function of single skeletal muscle fibres from the mouse. *Journal of Physiology*, 509, (2), 565-75.
- Antunes, F., Derick, H. & Cadenas, E. (2002). Relative contributions of heart mitochondria glutathione peroxidase and catalase to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> detoxification in vivo conditions. *Free Radical Biology & Medicine*, 33, (9), 1260-1267.

- Aoi, W., Naito, Y., Takanami, Y., Kawai, Y., Sakuma, K., Ichikawa, H., Yoshida, N. & Yoshikawa, T. (2004). Oxidative stress and delayed-onset muscle damage after exercise. *Free Radical Biology & Medicine*, 37, 480–487.
- Armstrong, R. (1990). Initial events in exercise-induced muscular injury. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 22(4), 429-435.
- Armstrong, R. (1984). Mechanisms of exercise-induced delayed onset muscular soreness: a brief review. *Medicine Science in Sports & Exercise*, 16(6), 529-538.
- Armstrong, R.B. & Warren, G.L. (1993). Strain-induced skeletal muscle fibre injury. In: Macleod, D. (Editor). *Intermittent high intensity exercise: preparation, stresses and damage limitation*. (pp.275-285). London: E& FN Spon.
- Armstrong, R.B., Ogilvie, R.W. & Schwane, J.A. (1983). Eccentric exercise-induced injury to rat skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 54, 80-93.
- Arnaout, M.A. (1990). Structure and function of the leukocyte adhesion molecules CD11/CD18. *Blood*, 75, (5), 1037-1050.
- Arosio, P. & Levi, S. (2002). Ferritin, iron homeostasis, and oxidative damage. *Free Radical Biology & Medicine*, 33, (4), 457-463.
- Aruoma, O.I. (1999). Free radicals, antioxidants and international nutrition. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 8, (1), 53-63.
- Aruoma, O.I., Halliwell, B., Hoey, B.M. & Butler, J. (1989). The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. *Free Radical Biology & Medicine*, 6, 593-597.
- Ashton, T., Rowlands, C.C., Jones, E., Young, I.S., Jackson, S.K., Davies, B. & Peters J.R. (1998). Electron spin resonancespectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 77, (6), 498-502.

- Ashton, T., Young, I.S., Peters, J.R., Jones, E., Jackson, S.K., Davies, B. & Rowlands, C.C. (1999). Electron spin resonance spectroscopy, exercise, and oxidative stress: an ascorbic acid intervention study. *Journal of Applied Physiology*, 87, (6), 2032-2036.
- Asmussen, E. (1956). Observations on experimental muscle soreness. *Acta Rheumatologica Scandinavica*, 2, 109-116.
- Atanasiu, R.L., Stea, D., Mateescu, M.A., Vergely, C., Dalloz, F., Briot, F., Maupoil, V., Nadeau, R. & Rochette, L. (1998). Direct evidence of caeruloplasmin antioxidant properties. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 189, 127-135.
- Austin, L. & Burgess, A. (1991). Stimulation of myoblast proliferation in culture by leukemia inhibitory factor and other cytokines. *Journal of the Neurological Sciences*, 101, 193-197.
- Austin, L., Bower, J., Kurek, J. & Vakakis, N. (1992). Effects of leukaemia inhibitory factor and other cytokines on murine and human myoblast proliferation. *Journal of the Neurological Sciences*, 112, 185-191.
- Avery, N.G., Kaiser, J.L., Sharman, M.J., Scheett, T.P., Barnes, D.M., Gomez, A.L., Kraemer, W.J. & Volek, J.S. (2003). Effects of vitamin E supplementation on recovery from repeated bouts of resistance exercise. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 17, (4), 801-809.
- Aw, T.Y. (2003). Cellular Redox: A Modulator of Intestinal Epithelial Cell. *Proliferation News in Physiological Sciences*, 18, (5), 201-204.
- Babul, S., Rhodes, E.C., Taunton J.E. & Lepawsky, M. (2003). Effects of intermittent exposure to hyperbaric oxygen for the treatment of an acute soft tissue injury. *Clinical Journal of Sport Medicine*, 13, 138-147.
- Baeuerle, P. A. & Baltimore, D. (1988). Activation of DNA-binding activity in an apparently cytoplasmic precursor of the NF $\kappa$ B transcription factor. *Cell*, 53, 211-217.
- Bai, Y., Zhang, S., Kim, K.S., Lee, J.K. & Kim, K.H., (1996). Obese gene expression alters the ability of 30A5 preadipocytes to respond to lipogenic hormones. *Journal of Biological Chemistry*, 271(13), 939-942.

- Bailey, D.M., Williams, C., Betts, J.A., Thompson, D. & Hurst, T.L. (2011). Oxidative stress, inflammation and recovery of muscle function after damaging exercise: effect of 6-week mixed antioxidant supplementation. *European Journal of Applied Physiology*, 111, 925–936.
- Baker, K.G., Robertson, V.J. & Duck, F.A. (2001). A review of therapeutic ultrasound: Biophysical effects. *Physical Therapy*, 81(7), 1351-1358.
- Balnave, C.D. & Allen, D.G. (1995). Intracellular calcium and force in single mouse muscle fibres following repeated contractions with stretch. *Journal of Physiology (London)*, 488, 25-36.
- Balnave, C.D. & Thompson, M.W. (1993). Effect of training on eccentric exercise-induced muscle damage. *Journal of Applied Physiology*, 75, 1545-1551.
- Barbero, A., Benelli, R., Minghelli, S., Tosetti, F., Dorcaratto, A., Ponzetto, C., Wernig, A., Cullen, M.J., Albini, A. & Noonan, D.M. (2001). Growth factor supplemented matrigel improves ectopic skeletal muscle formation-a cell therapy approach. *Journal of Cellular Physiology*, 186, 183–192.
- Barja, G. (2004). Free radicals and aging. *Trends in Neurosciences*, 27, 595-598,
- Barnard, W., Bower, J., Brown, M., Murphy, M. & Austin, L. (1994). Leukaemia Inhibitory Factor (LIF) infusion stimulates skeletal muscle regeneration after injury: injured muscle expresses LIF mRNA. *Journal of the Neurological Sciences*, 123, 108–113.
- Bartoccioni, E., Michaelis, D. & Hohlfeld, R. (1994). Constitutive and cytokine-induced production of interleukin-6 by human myoblasts. *Immunology Letters*, 42, 135–138.
- Baumann, H. & Gauldie, J. (1994). The acute phase response. *Immunology Today*, 15, 74-80.
- Beaton, L.J., Allan, D.A., Tarnopolsky, M.A., Tiidus, P.M. & Phillips, S.M. (2002). Contraction-induced muscle damage is unaffected by vitamin E supplementation. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 34, (5), 798–805.

- Beauchamp, J.R., Abraham, D.J., Bou-Gharios, G., Partridge, T.A. & Olsen, I. (1992). Expression and function of heterotypic adhesion molecules during differentiation of human skeletal muscle in culture. *American Journal of Pathology*, 140, 387–410.
- Beckman, K.B. & Ames, B.N. (1997). Oxidative decay of DNA. *Journal of Biological Chemistry*, 272, (32), 19633-19636.
- Beckman, K.B. & Ames, B.N.(1998). The free radical theory of aging matures. *Physiology Review*, 78, 547-581.
- Behr, J., Maier, K., Dekencolb, B., Krombach, F. & Vogelmeier, C. (1997). Antioxidative and Clinical Effects of High-dose *N*-Acetylcysteine in Fibrosing Alveolitis. Adjunctive Therapy to Maintenance Immunosuppression. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine*, 156, 1897–1901.
- Bejma, J. & Ji, L.L. (1999). Aging and acute exercise enhance free radical generation in rat skeletal muscle. *Journal Applied Physiology*, 87, (1), 465-470.
- Bergelson, S., Pinkus, R. & Daniel, V. (1994). Induction of AP-1 (Fos/Jun) by chemical agents mediates activation of glutathione S-transferase and quinone reductase gene expression. *Oncogene*, 9, 565–571.
- Bergstrom, R.A. (1962). Brain and muscle potentials from the in-uterine foetus in unnarcotized, conscious animals. *Nature*, 8, (195), 1004-1005.
- Berlett, B.S. & Stadtman, E.R. (1997). Protein oxidation in aging disease and oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, 272, (33), 20313-20316.
- Berlin, C., Bargatze, R.F., Campbell, J.J., von Andrian, U.H., Szabo, M.C., Hasslen, S.R., Nelson, R.D., Berg, E.L., Erlandsen, S.L. & Butcher, E.C. (1995). Alpha 4 integrins mediate lymphocyte attachment and rolling under physiologic flow. *Cell*, 80(3), 413-422.
- Berrahmoune, H., Lamont, J.V., Herbeth, B., FitzGerald, P.S. & Visvikis-Siest, S. (2006). Biological determinants of and reference values for plasma interleukin-8, monocyte chemoattractant protein-1, epidermal growth factor, and vascular endothelial growth factor: Results from the STANISLAS cohort. *Clinical Chemistry*, 52:504–510.



- Berti, L., Kellerer, M., Capp, E. & Harin, H.U. (1997). Leptin stimulates glucose transport and glycogen synthesis in C2C12 myotubes: evidence for a P13-Kinase mediated effect. *Diabetologia*, 40, 606–609.
- Best, T.M., Fiebig, R., Corr, D.T., Brickson, S. & Ji, L. (1999). Free radical activity and the response of antioxidant enzymes and glutathione following acute muscle stretch injury in rabbits. *Journal of Applied Physiology*, 87, 74–82.
- Bhagavan, H.N. & Chopra, R.K. (2006). Coenzyme Q10: absorption, tissue uptake, metabolism and pharmacokinetics. *Free Radical Research*, 40, 445–453.
- Bigard, A.X. (2001). Le'sions musculaires induites par l'exercice et surentrainement. *Science in Sports*, 16: 204-215.
- Billiard, T.R., Curran, R.D., Williams, D.L. & Kispert, P.O. (1992). Liver nonparenchymal cells are stimulated to provide interleukin-6 for induction of the hepatic acute phase response in endotoxemia but not in remote localized inflammation. *Archives of Surgery*, 127, 31-36.
- Bischoff, R. (1989). Analysis of muscle regeneration using single myofibers in culture. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 21, S164–S172.
- Bischoff, R. (1997). Chemotaxis of skeletal muscle satellite cells. *Development Dynamics*, 208, 505–515.
- Bloomer, R.J., Goldfarb, A.H. & McKenzie, M.J. (2006). Oxidative stress response to aerobic exercise: Comparison of antioxidant supplements. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 38, (6), 1098-1105.
- Bloomer, R.J., Goldfarb, A.H., Mckenzie, M.J., You, T. & Nguyen, L. (2004). Effects of antioxidant therapy in women exposed to eccentric exercise. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 14, 377-388.
- Bobbert, M.F., Hollander, A.P. & Huijing, P.A. (1986). Factors in delayed onset muscular soreness of man. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 18(1), 75-81.

- Bodine, S.C., Stitt, T.N., Gonzalez, M., Kline, W.O., Stover, G.L., Bauerlein, R., Zlotchenko, E., Scrimgeour, A., Lawrence, J.C., Glass, D.J. & Yancopoulos, G.D. (2001). Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy *in vivo*. *Nature Cell Biology*, 3 (11), 1014-1119.
- Bonanomi, L. & Gazzaniga, A. (1980). Toxicological, Pharmacokinetic and Metabolic Studies on Acetylcysteine. *European Journal of Respiratory Diseases*, 61, 45-51.
- Bondesen, B.A., Mills, S.T., Kegley, K.M. & Pavlath G.K. (2004). The COX-2 pathway is essential during early stages of skeletal muscle regeneration. *American Journal of Physiology*, 287, C475-C483.
- Borgstrom, L., Kagedal, B. & Paulsen, O. (1986). Pharmacokinetics of N-acetylcysteine in Man. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 31, 217-222.
- Borzone, G., Zhao, B., Merola, A.J., Berliner, L. & Clanton, T.L. (1994). Detection of free radicals by electron spin resonance in rat diaphragm after resistive loading. *Journal of Applied Physiology*, 77, 812– 818.
- Boveris, A. & Chance B. (1973). The mitochondrial generation of hydrogen peroxide: general properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochemistry Journal*, 134, 707-716.
- Boyer, B.T., Goldfarb, A.H. & Jamurtas, A.Z. (1996). Relationship of prostaglandin E, leukotriene B, Creatine kinase, lactic acid and DOMS. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 28, S154.
- Brameld, J.M., Buttery, P.J., Dawson, J.M. & Harper, J.M. (1998). Nutritional and hormonal control of skeletal-muscle cell growth and differentiation. *Proceedings of the Nutrition Society*, 57, 207–217.
- Brancaccio, P., Lippi, G. & Maffulli, N. (2010). Biochemical markers of muscular damage. *Clinical Chemistry & Laboratory Medicine*, 48(6), 757–767.
- Braun, B., Clarkson, P.M., Freedson, P.S. & Kohl, R.L. (1991). Effects of coenzyme Q10 supplementation on exercise performance, VO<sub>2</sub> max and lipid peroxidation in trained cyclists. *International Journal of Sports Nutrition*, 1, 353-365.

- Bridgeman, M.M.E., Marsden, M., MacNee, W., Flenley, D.C. & Ryle, A.P. (1991). Cysteine and glutathione concentrations in plasma and bronchoalveolar lavage fluid after treatment with Nacetylcysteine. *Thorax*, 46, 39-42.
- Brooke, M. & Kaiser K (1970a). Muscle fiber types. How many and what kind. *Archives of Neurology*, 23, 369-379
- Brooke, M. & Kaiser K (1970b). Three "myosin adenosine-triphosphatase" systems: the nature of their pH lability and sulfhydryl dependence. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 18, 670-672
- Brooks, S.V. & Faulkner, J.A. (1990). Contraction-induced injury: recovery of skeletal muscles in young and old mice. *American Journal of Physiology*, 258, C436-C442.
- Brooks, S.V., Zerba, E. & Faulkner, J.A. (1995). Injury to muscle fibres after single stretches of passive and maximally stimulated muscles in mice. *Journal of Physiology, (London)*, 488, 459-469
- Brown, S., Child, R.B., Day, S. & Donnelly, A. (1997). Exercise-induced skeletal muscle damage and adaptation following repeated bouts of eccentric muscle contraction. *Journal of Sports Science*, 15, 215-222.
- Brozinick, J.T. & Birnbaum, M.J. (1998). Insulin, but not contraction, activates Akt/PKB in isolated rat skeletal muscle. *Journal of Biological Chemistry*, 273, 14679-14682.
- Bruch, M.A., de Vos, S., Gruss, H.J. & Hermann, F. (1992). Prolongation of survival of human polymorphonuclear neutrophils by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor is caused by inhibition of programmed cell death. *Blood*, 80, 2920-2924.
- Brunnsgaard, H., Galbo, H., Halkjr-Kristensen, J., Johansen, T.L., MacLean, D.A. & Pedersen, B.K. (1997). Exercise-induced increase in serum interleukin-6 in humans is related to muscle damage. *Journal of Physiology*, 499, 833-841.
- Bryer, S.C. & Goldfarb, A.H. (2006). Effect of high dose vitamin C supplementation on muscle soreness, damage, function and oxidative stress to eccentric exercise. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 16, (3), 270-280.

- Burgunder, J.M., Varriale, A. & Lauterburg, B.H. (1989). Effect of N-acetylcysteine on plasma cysteine and glutathione following paracetamol administration. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 36, 127-131.
- Burkholder., T.J. & Lieber, R.L. (2001). Sarcomere length operating range of vertebrate muscles during movement. *Journal of Experimental Biology*, 204, 1529-1536.
- Butcher, E.C. (1990). Leukocyte endothelial cell recognition. *Cell*, 67, 1033-1036.
- Cakatay, U., Kayal, R., Sivas, A. & Tekeli, F. (2005). Prooxidant activities of alpha lipoic acid on oxidative protein damage in the aging rat heart muscle. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 40, 231-240.
- Campfield, L.A., Smith, F.J., Guisez, Y., Devos, R. & Burn, P. (1995). Recombinant mouse OB Protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science*, 269, 546-548.
- Cannon, J.G. & Blumberg, J.B. (2000). Acute phase immune responses in exercise. In: *handbook of oxidants and antioxidants in exercise*, ed. Sen, C.K., Packer, L. & Hanninen, O., 177-193. Amsterdam: Elsevier.
- Cannon, J.G. & St Pierre, B.A. (1998). Cytokines in exertion-induced skeletal muscle injury. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 179(1-2), 159-167.
- Cannon, J.G., Fielding, R.A., Fiatarone, M.A., Orencole, S.F., Dinarello, C.A. & Evans, W.J. (1989). Increased interleukin-1 $\beta$  in human skeletal muscle after exercise. *American Journal of Physiology*, 257, R451-R455.
- Cannon, J.G., Orencole, S.F., Fielding, R.A., Meydani, M., Meydani, S.N., Fiatarone, M.A., Blumberg, J.B. & Evans, W.J. (1990). Acute phase response in exercise: interaction of age and vitamin E on neutrophils and muscle enzyme release. *American Journal of Physiology*, 259, R1214-R1219.
- Cantini, M. & Carraro, U. (1995). Macrophage-released factor stimulates selectively myogenic cells in primary muscle cultures. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 54, 121-128.

- Cantini, M. & Carraro, U. (1996). Control of cell proliferation by macrophage-myoblast interactions. *Basic and Applied Myology*, 6, 485–489.
- Cantini, M., Giurisato, E., Radu, C., Tiozzo, S., Pampinella, F., Senigaglia, D., Zaniolo, G., Mazzoleni, F. & Vitiello, L. (2002). Macrophage secreted myogenic factors: A promising tool for greatly enhancing the proliferative capacity of myoblast in vitro and in vivo. *Neurological Science*, 23, 189-194.
- Cantini, M., Masimino, M.L., Rapizzi, E., Rossini, K., Cantani, C., Libera, L.D. & Carraro, U. (1995). Human satellite cells proliferation in vitro is regulated by autocrine secretion of IL-6 stimulated by a soluble factor(s) released by activated monocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 16, 49–53.
- Cao, G. & Prior, R.L. (2000). Postprandial increases in serum antioxidant capacity in older women. *Journal Applied Physiology*, 89, 877-883.
- Carroll, M.P. & May, W.S. (1994). Protein kinase C-mediated serine phosphorylation directly activates Raf-1 in murine hematopoietic cells. *Journal of Biological Chemistry*, 269, 1249–1256.
- Carter, G.T., Kikuchi, N., Abresch, R.T., Walsh, S.A., Horasek, S.J. & Fowler, W.M. (1994). Effects of exhaustive concentric and eccentric exercise on murine skeletal muscle. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 75, 555-559.
- Cassatella, M.A. (1999). Neutrophil derived proteins: Selling cytokines by the pound. *Advances in Immunology*, 73, 369-509.
- Castedo, M., Hirsch, T., Susin, S.A., Zamzami, N., Marchetti, P., Macho, A. & Kroemer, G. (1996). Sequential acquisition of mitochondrial and plasma membrane alterations during early lymphocyte apoptosis. *Journal of Immunology*, 157, 512–521.
- Catani, M. V., Savini, I., Duranti, G., Caporossi, D., Ceci, R., Sabatini, S. & Avigliano, L. (2004). Nuclear factor kappaB and activating protein 1 are involved in differentiation-related resistance to oxidative stress in skeletal muscle cells. *Free. Radical Biology & Medicine*, 37, 1024–1036.



- Cazola, G., Petibois, C., Bosquet, L. & Leger, L. (2001). Lactate et exercice: mythes et realites. *Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives*, 22, (54), 63-76.
- Celotti, F. & Cesi, P.N. (1992). Anabolic steroids: A review of their effects on the muscles, of their possible mechanisms of action and of their use in athletics. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 43, 469-477.
- Chan, E.C., Jiang, F., Peshavariya, H.M. & Dusting, G.J. (2009). Regulation of cell proliferation by NADPH oxidase-mediated signaling: Potential roles in tissue repair, regenerative medicine and tissue engineering. *Pharmacology & Therapeutics*, 122, 97-108.
- Chan, J.Y. & Kwong, M. (2000). Impaired expression of glutathione synthetic enzyme genes in mice with targeted deletion of the Nrf2 basic-leucine zipper protein. *Biochimica et Biophysica. Acta*, 1517, 19-26.
- Chandler, R.M., Byrne, H.K., Patterson, J.G. & Ivy, J.L. (1994). Dietary supplements affect the anabolic hormones after weight-training exercise. *Journal of Applied Physiology*, 76, 839-845.
- Chang, H.Y., Ward, M.E. & Hussain, S.N. (1993). Regulation of diaphragmatic oxygen uptake by endothelium-derived relaxing factor. *American Journal of Physiology*, 265, H123-H130.
- Cheeseman, K.H. & Slater, T.F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 49, (3), 481-493.
- Chen, C. & Bakhiet, R.M. (1998). The effect of acute strenuous exercise on the activities of antioxidant enzymes and plasma genistein concentration in rats fed a genistein supplemented diet. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 12, (5), A560 (Abstract).
- Chen, S.S., Chang, L.S. & Wie, Y.H. (2001). Oxidative damage to proteins and decrease of antioxidant capacity in patients with varicocele. *Free Radical Biology & Medicine*, 30, (11), 1328-1334.

- Chen, Y.W., Hubal, M.J., Hoffman, E.P., Thompson, P.D. & Clarkson, P.M. (2003). Molecular responses of human muscle to eccentric exercise. *Journal of Applied Physiology*, 95, 2485-2494.
- Childs, A., Jacobs, C., Kaminski, T., Halliwell, B. & Leeuwenburgh, C. (2001). Supplementation with vitamin C and N-acetyl-cysteine increases oxidative stress in humans after acute muscle injury induced by eccentric exercise. *Free Radical Biology and Medicine*, 15, 31, (6), 745-753.
- Cho, H., Mu, J., Kim, J.K., Thorvaldsen, J.L., Chu, Q., Crenshaw, E.B., Kaestner, K.H., Bartolomei, M.S., Shulman, G.I. & Birnbaum, M.J. (2001). Insulin resistance and a diabetes mellitus-like syndrome in mice lacking the protein kinase Akt2 (PKB). *Science*, 292, 1728-1731.
- Christov, C., Chretien, F., Abou-Khalil, R., Bassez, G., Vallet, G., Authier, F.J., Bassaglia, Y., Shinin, V., Tajbakhsh, S., Chazaud, B. & Gherardi, R.K. (2007). Muscle satellite cells and endothelial cells: close neighbors and privileged partners. *Molecular Biology of the Cell*, 18(4), 1397-1409.
- Circu, M.L. & Aw, T.Y. (2010). Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. *Free Radical Biology and Medicine*. [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com).
- Clarkson, P.M. & Dedrick, M.E. (1988). Exercise-induced muscle damage, repair, and adaptation in old and young subjects. *Journal of Gerontology*, 43, M91-M96.
- Clarkson, P.M. & Ebbeling, C. (1988). Investigation of serum creatine kinase variability after muscle-damaging exercise. *Clinical Science*, 75, 257-261.
- Clarkson, P.M. & Thompson, H.S. (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *American Journal Clinical Nutrition*, 72, (S), 637-646.
- Clarkson, P.M. (1995). Antioxidants and physical performance. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, 131-141.
- Clarkson, P.M., Byrnes, W.C., McCormick, K.M., Turcotte, L.P. & White, J.S. (1986). Muscle soreness and serum creatine kinase activity following isometric, eccentric, and concentric exercise. *International Journal of Sports Medicine*, 7, 152-155.

- Cleak, M.J. & Eston, R.G. (1992). Delayed onset muscle soreness: mechanism and management. *Journal of Sports Science*, 10, (4), 325-341.
- Cleeter, M.W., Cooper, J.M., Darley-USmar, V.M., Moncada, S. & Schapira, A.H. (1994). Reversible inhibition of cytochrome c oxidase, the terminal enzyme of the mitochondrial respiratory chain, by nitric oxide: implications for neurodegenerative diseases. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 345, 50–54.
- Close, G.L., Ashton, T., Cable, N.T., Doran, D.A., Holloway, C., McArdle, F. & MacLaren, D.P.M. (2004a). Prolonged ascorbic acid supplementation attenuates post-exercise lipid peroxidation but has no effect on delayed onset muscle soreness following downhill running in man. *Journal of Physiology*, 555P, PC95.
- 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. *European Journal of Applied Physiology*, 91, 615-621.
- Close, G.L., Ashton, T., McArdle, A. & MacLaren, D.P. (2005). The emerging role of free radical in delayed onset soreness and contraction-induced muscle injury. *Comparative Biochemistry & Physiology A Molecular & Integrative Physiology*, 142, (3), 257-266
- Close, G.L., Kayani, A., Vasilaki, A. & McArdle, A. (2005). Skeletal muscle damage with exercise and aging. *Sports Medicine*, 35, 413-427.
- Cohen, G.M. Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochemical Journal*, 326, 1–16.
- Cohen, J.J. (1993). Apoptosis. *Immunology Today*, 14, 126-130.
- Collins, T. (1995). Adhesion molecules in leukocyte emigration. *Scientific American Science and Medicine*, 12, 28-37.
- Coombes, J.S., Powers, S.K., Rowell, B., Hamilton, K.L, Dodd, S.L., Shanely, R.A., Sen, C.K. & Packer, L. (2001). Effects of vitamin E and  $\alpha$ -lipoic acid on skeletal muscle contractile properties. *Journal of Applied Physiology*, 90, 1424-30.

- Coombes, J.S., Rowell, B., Dodd, S.L., Demirel, H.A., Naito, H., Shanely, R.A. & Powers, S.K. (2002). Effects of vitamin E deficiency on fatigue and muscle contractile properties. *European Journal of Applied Physiology*, 87, 272–277.
- Cooper, C.E., Vollaard, N.B.J., Choueiri, T. & Wilson M.T. (2002). Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 30, 280-285.
- Cornelison, D.D., Olwin, B.B., Rudnicki, M.A. & Wold. B.J. (2000). MyoD(-/0) satellite cells in single-fibre culture are differentiation defective and MRFa deficient. *Developmental Biology*, 224, 122-137.
- Cotgreave, I.A. (1997). N-acetylcysteine: Pharmacological considerations and experimental and clinical applications. *Advances in Pharmacology*, 38, 205-227.
- Crane, F.L. (2001). Biochemical functions of coenzyme Q10. *Journal of the American College of Nutrition*, 20, (6), 591-598.
- Crul, T., Spruit, M.A., Gayan-Ramirez, G., Quarck, R., Gosselink, R., Troosters, T., Pitta, F. & Decramer, M. (2007). Markers of inflammation and disuse in vastus lateralis of chronic obstructive pulmonary disease patients. *European Journal of Clinical Investigation*, 37, 897–904.
- Daou, G.B. & Srivastava, A.K. (2004). Reactive oxygen species mediate Endothelin-1-induced activation of ERK1/2, PKB, and Pyk2 signaling, as well as protein synthesis, in vascular smooth muscle cells. *Free Radical Biology & Medicine*, 37, (2), 208 – 215.
- Davies, K.J., Quintanilha, A.T., Brooks, G.A. & Packer, L. (1982). Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 107, 1198 –1205.
- Davies, K.J.A., Sevanian, A., Muakkassah-Kelly, S.F. & Hochstein, P. (1986). Uric acid-iron ion complexes: a new aspect of the antioxidant functions of uric acid. *Biochemical Journal*, 235, 747-754.
- Davison, G. & Gleeson, Z.M. (2006). The effect of 2 weeks vitamin C supplementation on immunoendocrine responses to 2.5 h cycling exercise in man. *European Journal of Applied Physiology*, 97, 454–461.

- Dawson, B., Henry, G.J., Goodman, C., Gillam, I., Beilby, J.R., Ching, S., Fabian, V., Dasig, D., Morling, P. & Kakulus, B.A. (2002). Effect of Vitamin C and E Supplementation on Biochemical and Ultrastructural Indices of Muscle Damage after a 21 km Run. *International Journal of Sports Medicine*, 23, 10-15.
- De Palo, E.F., Antonelli, G., Gatti, R., Chiappin, S., Spinella, P. & Cappellin, E. (2008). Effects of two different types of exercise on GH/IGF axis in athletes. Is the free/total IGF-I ratio a new investigative approach? *Clinica Chimica Acta*, 387, 71-74.
- De Vries, H.A. & Quantitative. (1966). EMG investigation of the spasm theory of muscle pain. *American Journal of Physical Medicine*, 45, 119-134.
- De Vries, H.A. (1961). Electromyographic observations of the effects of static stretching upon muscular distress. *Res Q*, 32, 468-479.
- Dekkers, J.C., Van Doornen, L.J. & Kemper, H.C. (1996). The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise induced muscle damage. *Sports Medicine*, 21, (3), 213-238.
- Delany, A.M., Pash, J.M. & Canalis, E. (1994). Cellular and clinical perspectives on skeletal insulin-like growth factor I. *Journal of Cellular Biochemistry*, 55, 328-333.
- DeRijk, R., Michelson, D., Karp, B., Petrides, J., Galliven, E., Deuster, P., Paciotti, G., Gold, P.W. & Sternberg, E.M. (1997). Exercise and circadian rhythm-induced variations in plasma cortisol differentially regulate interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6 and tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) production in humans: high sensitivity of TNF-a and resistance of IL-6. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 82, 2182-2191.
- Desmouliere, A., Badid, C., Bochaton-Piallat, M. & Gabbiani, G. (1997). Apoptosis during wound healing, fibrocontractive diseases and vascular wall injury. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 29, 19-30.
- Di Meo, S. & Venditti, P. (2001). Mitochondria in exercise-induced oxidative stress. *Biological Signals and Receptorst*, 10, 125-140.



- Dickens, M. & Tavaré, J.M. (1992). Analysis of the order of autophosphorylation of human insulin receptor tyrosines 1158, 1162 and 1163. *Biochemical Biophysical Research Communication*, 186, 244–250.
- Dinareello, C.A. (1991). Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood*, 77, 1627-1652.
- Dincer, Y., Telci, A., Kayali, R., Yilmaz, I.A., Cakatay, U. & Akcay, T. (2002). Effect of alpha-lipoic acid on lipid peroxidation and anti-oxidant enzyme activities in diabetic rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 29, 281-284.
- Dizdaroglu, M., Jaruga, P., Birincioglu, M. & Rodriguez, H. (2002). Free radical induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Radical Biology & Medicine*, 32, (11), 1102-1115.
- Djanani, A., Mosheimer, B., Kaneider, N.C., Ross, C.R., Ricevuti, G., Patsch, J.R. & Wiedermann, C.J. (2006). Heparan sulfate proteoglycan-dependent neutrophil chemotaxis toward PR-39 cathelicidin. *Journal of Inflammation*, 3(14), 1-5.
- Dodson, M.V., Allen, R.E. & Hossner, K.L. (1985). Ovine somatomedin, multiplication-stimulating activity and insulin promote skeletal muscle satellite cell proliferation *in vitro*. *Endocrinology*, 117, 2357–2363.
- Dodson, M.V., Mathison, B.A., Brannon, M.A., Martin, E.L., Wheeler, B.A. & MacFarland, D.C. (1988). Comparison of ovine and rat muscle-derived satellite cells, Response to insulin. *Tissue and Cell*, 20, 909–918.
- Dolan, M.G., Mychaskiw, A.M. & Mendel, F.C. (2003). Coolwater immersion and high-voltage electric stimulation curb edema formation in rats. *Journal of Athletic Training*, 38, 225-230.
- Doumit, M.E. & Merkel, R.A. (1991). Influence of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and insulin on proliferation and differentiation of porcine satellite cells. *Journal of Animal Science*, 69, 316.
- Doumit, M.E., Cook, D.R. & Merkel, R.A. (1996). Testosterone up-regulates androgen receptors and decreases differentiation of porcine myogenic satellite cells *in vitro*. *Endocrinology*, 137, 1385–1394.

- Dreherd, D. & Junod, A.F. (1996). Role of oxygen free radicals in cancer development. *European Journal of Cancer*, 32A, 30–38.
- Droge, W., Schulze-Osthoff, K., Mihm, S., Galter, D., Schenk, H., Eck, H.P., Roth, S. & Gmunder, H. (1994). Functions of glutathione and glutathione disulfide in immunology and immunopathology. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 8, 1131–1138.
- Duan, C., Delp, M.D., Hayes, D.A., Delp, P.D. & Armstrong, R.B. (1990). Rat skeletal muscle mitochondrial (Ca<sup>2+</sup>) and injury from downhill walking. *Journal of Applied Physiology*, 68, 1241-1251.
- Duarte, J.A., magalhaes, J.F., Monteiro, L., Almeida-Dias, A., Soares, J.M. & Appell, H.J. (1999). Exercise-induced signs of muscle overuse in children. *International Journal of Sports Medicine*, 20, 103-108.
- Dubravec, D.B., Spriggs, D.R., Mannick, J.A. & Rodrick, M.L. (1990). Circulating human peripheral blood granulocytes synthesize and secret tumor necrosis factor  $\alpha$ . *The Proceedings of the National Academy of Sciences Online USA*, 87, 6758–6761.
- Dufaux, B., Hoffken, K. & Hollman, W. (1983). Acute phase protein and immune complexes during several days of severe physical exercise. In: Knuttgen, G.H., Vogel, J.A. & Poortsmans, J.(Eds.) *Biochemistry of exercise. International series on sport sciences* (pp. 356-362). Champaign, IL: Human Kinetics.
- Dumont, A., Hehner, S.P., Hofmann, T.G., Ueffing, M., Dröge, W. & Schmitz, M.L. (1999). Hydrogen peroxide-induced apoptosis is CD95-independent, requires the release of mitochondria-derived reactive oxygen species and the activation of NF- $\kappa$ B. *Oncogene*, 18, 747–757.
- Dunzendorfer, S., Kaneider, N., Rabensteiner, A., Meierhofer, C., Reinisch, C., Römisch, J. & Wiedermann, C.J. (2001). Cell surface heparan sulfate proteoglycan-mediated regulation of human neutrophil migration by the serpin antithrombin III. *Blood*, 97(4), 1079-1085.

- Duthie, G.G. (1999). Determination of activity of antioxidants in human subjects. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 58, (4), 1015-1024.
- Elangbam, C.S., Qualls, C.W. & Dahlgren, R.R. (1997). Cell adhesion molecules update. *Veterinary Pathology*, 34, 61-73.
- Elices, M.J., Osborn, L., Takada, Y., Crouse, C., Luhowskyj, S., Hemler, M.E. & Lobb, R.R. (1990). VCAM-1 on activated endothelium interacts with the leukocyte integrin VLA-4 at a site distinct from the VLA-4/fibronectin binding site. *Cell*, 60(4), 577-584.
- Essig, D.A. & Nosek, T.M. (1997). Muscle fatigue and induction of stress protein genes: A dual function of reactive oxygen species? *Canadian Journal of Applied Physiology*, 22, 409-428.
- Evans, W.J. & Cannon, J.G. (1991). The metabolic effects of exercise induced muscle damage. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 19, 99-125.
- Evans, W.J. (2000). Vitamin E, vitamin C and exercise. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72, (S), 647-652.
- Evans, W.J., Phinney, S.D. & Young, V.R. (1982). Suction applied to a muscle biopsy maximizes sample size. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 14, (1), 101-102.
- Faff, J. & Frankiewicz-Jozko, A. (1997). Effect of ubiquinone on exercise-induced lipid peroxidation in rat tissues. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 75, 413-417.
- Farges, M.C., Balcerzak, D., Fisher, B.D., Attaix, D., Bechet, D., Ferrara, M. & Baracos, V.E. (2002). Increased muscle proteolysis after local trauma mainly reflects macrophage-associated lysosomal proteolysis. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 282, (2), E326-335.
- Fatouros, I.G., Chatzinikolaou, A., Tournis, S., Nikolaidis, M.G., Jamurtas, A.Z., Douroudos, I.I., Papassotiriou, I., Thomakos, P.M., Taxildaris, K., Mastorakos, G. & Mitrakou, A. (2009). The intensity of resistance exercise determines adipokine and resting energy expenditure responses in overweight elderly. *Diabetes Care*, 32, 2161-2167.

- Faulkner, J.A., Brooks, A.V. & Opiteck, J.A. (1993). Injury to skeletal muscle fibers during contractions: Conditions of occurrence and prevention. *Physical Therapy*, 73, 911-921.
- Faulkner, J.A., Jones, D.A. & Roubd, J.M. (1989). Injury to skeletal muscles of mice by forced lengthening during contractions. *Quarterly Journal of Experimental Physiology*, 74, 661-670.
- Feasson, L., Stockholm, D., Freyssenet, D., Duguez, R.S., Beckmann, J.S. & Denis, C. (2002). Molecular adaptations of neuromuscular disease-associated proteins in response to eccentric exercise in human skeletal muscle. *Journal of Physiology*, 543, 297-306.
- Fehrenbach, E. & Northoff, H. (2001). Free radicals, exercise, apoptosis, and heat shock proteins. *Exercise Immunology Review*, 7, 66-89.
- Fehrenbach, E. & Schneider, M.E.(2006). Trauma-induced systemic inflammatory response versus exercise-induced immunomodulatory effects. *Sports Medicine*, 36, 373-384.
- Ferreira, L.F., Campbell, K.S. & Reid, M.B. (2011). N-Acetylcysteine in Handgrip Exercise: Plasma Thiols and Adverse Reactions *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 2011, 146-154.
- Fielding, R.A., Manfredi, T.J., Ding, W., Fiatarone, M.A., Evans, W.J. & Cannon, J.G. (1993). Acute phase response in exercise III. Neutrophil and IL-1 $\beta$  accumulation in skeletal muscle. *American Journal of Physiology*, 265, R166-R172.
- Finaud, J., Lac, G. & Filaire, E. (2006). Oxidative Stress Relationship with Exercise and Training. *Sports Medicine*, 36, (4), 327-358
- Fitts, R.H. (1994). Cellular mechanisms of fatigue. *Physiology Reviews*, 74, 49-94.
- Flanagan, R.J. & Meredith, T.J. (1991). Use of N-acetylcysteine in clinical toxicology. *American Journal of Medicine*, 91, 131s-139s.
- Fleck, C.M., Colley, A.W., Goode, A.W., Muller, B.R. & Myers, A.P.P. (1983). Early time course of the acute phase protein in man. *Journal of Clinical Pathology*, 36, 203-207.

- Flohe, L., Brigelius-Flohe, R., Saliou, C., Traber, M. & Packer, L. (1997). Redox regulation of NF-KappaB activation. *Free Radical Biology & Medicine*, 22, 1115–1126.
- Florini, J.R. (1987). Hormonal control of muscle growth. *Muscle and Nerve*, 10, 577–598.
- Florini, J.R., Ewton, D.Z. & Roof, S.L. (1991). Insulin-like growth factor I stimulates terminal myogenic differentiation by induction of myogenin gene expression. *Molecular Endocrinology*, 5, 718–724.
- Flyburg, D.A., Jahn, L.A., Hill, S.A., Oliveras, D.M. & Barrett, E.J. (1995). Insulin and insulin like growth factor-I enhance human skeletal protein anabolism during hyperaminoacidemia by different mechanism. *Journal of Clinical Investigation*, 96, 1722–1729.
- Foley, T.P., Nissley, S.P. Stevens, R.L., King, G.L., Hascall, V.C., Humbel, R.E., Short, P.A., & Rechler, M.M. (1982). Demonstration of receptors for insulin and insulin-like growth factors on Swarm rat chondrosarcoma chondrocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 257, 663–679.
- Force, T. & Bonventre, J.V. (1998). Growth factors and mitogenactivated protein kinases. *Hypertension*, 31, 152–161.
- Francis, K.T. & Hoobler, T. (1987). Effects of aspirin on delayed muscle soreness. *Journal of Sports Medicine & Physical Fitness*, 27, (3), 333-337.
- Frank, J., Pompella, A. & Biesalski, H.K. (2000). Histochemical visualization of oxidant stress. *Free Radical Biology & Medicine*, 29, (11), 1096-1105.
- Frantz, S., Vincent, K.A., Feron, O. & Kelly, R.A. (2005). Innate immunity and angiogenesis. *Circulation Research*, 96, (1), 15-26.
- Frederiks, W.M. & Bosch, K.S. (1995). The role of xanthine oxidase in ischemia/reperfusion damage of rat liver. *Histology and Histopathology*, 10, 111-116.
- Frei, B., England, L. & Ames, B.N. (1989). Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 86, 6377-6381.



- Friden, J., Seger, J. & Ekblom, B. (1988). Sublethal muscle fibre injuries after high-tension anaerobic exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 57, 360-368.
- Friden, J., Sfakianos, P.N. & Hargens, A.R. (1986). Muscle soreness and intramuscular fluid pressure: comparison between eccentric and concentric load. *Journal of Applied Physiology*, 61, (6), 2175-2179.
- Friden, J.M., Sjoström, M. & Ekblom, B. (1983). Myofibrillar damage following intense eccentric exercise in man. *International Journal of Sports Medicine*, 4, 170-176.
- Fry, A.D. & Kraemer, W.J. (1997). Resistance exercise overtraining and overreaching: Neuroendocrine responses. *Sports Medicine*, 23, 106-129.
- Gajdosik, R.L. & Bohannon, R.W. (1987). Clinical measurement of range of motion: review of goniometry emphasizing reliability and validity.
- Gao, J.X. & Issekutz, A.C. (1996). Mac-1 (CD11b/CD18) is the predominant beta 2 (CD18) integrin mediating human neutrophil migration through synovial and dermal fibroblast barriers. *Immunology*, 88, (3), 463-470.
- Garrett, J. (1996). Muscle strain injuries. *American Journal of Sports Medicine*, 24, (6), S2-S8.
- Gibala, M.J., MacDougall, J.D., Tarnopolsky, M.A., Stauber, W.T. & Elorriaga, A. (1995). Changes in human skeletal muscle ultrastructure and force production after acute resistance exercise. *Journal of Applied Physiology*, 78, 702-708.
- Gleeson, M., Almey, J., Brooks, S., Cave, R., Lewis, A. & Griffiths, H. (1995) Haematological and acute-phase responses associated with delayed-onset muscle soreness in humans. *European Journal of Applied Physiology*, 71, 137-142.
- Go, E.K., Jung, K.J., Kim, J.Y., Yu, B.P. & Chung, H.Y. (2005). Betaine suppresses proinflammatory signaling during aging: the involvement of nuclear factor-kappaB via nuclear factor-inducing kinase/IkappaB kinase and mitogen-activated protein kinases. *Journal of Gerontology: Biological Sciences & Medicine Sciences*, 60, 1252-1264.

- Golden, T.R., Hinerfeld, D.A. & Melov, S. (2002). Oxidative stress and aging: beyond correlation. *Aging Cell*, 1, 117-123.
- Goldfarb, A.H. (1999). Nutritional antioxidants as therapeutic and preventive modalities in exercise induced muscle damage. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 24, (3), 249-266.
- Goldfarb, A.H., Bloomer, R.J. & McKenzie, M.J. (2005). Combined antioxidant treatment effects on blood oxidative stress after eccentric exercise. *Medicine & Science in Sports and Exercise*, 37, 234-239.
- Goldfarb, A.H., McIntosh, M.K., Boyer, B.T. & Fatouros, J. (1994). Vitamin E effects on indexes of lipid peroxidation in muscle from DHEA treated and exercised rats. *Journal of Applied Physiology*, 76, (4), 1630-1635.
- Goldfarb, A.H., Patrick, S.W., Bryer, S.C. & You, T. (2005). Vitamin C supplementation affects oxidative stress blood markers in response to a thirty minute run at 75% VO<sub>2</sub> max. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 15, 279-290.
- Goldspink, D.F., Cox, V.M., Smith, S.K., Eaves, L.A., Osbaldeston, N.J., Lee, D.M. & Mantle, D. (1995). Muscle growth in response to mechanical stimuli. *American Journal of Physiology*, 268, E288-E297.
- Gomez-Cabrera, M.C., Domenech, E., Romagnoli, M., Arduini, A., Borrás, C., Pallardo, F.V., Sastre, J. & Vina, J. (2008). Oral administration of vitamin C decreases muscle mitochondrial biogenesis and hampers training-induced adaptations in endurance performance. *American Journal of Clinical Nutrition*, 87, (1), 142-149.
- Goodyear, L.J., Giorgino, F., Balon, T.W., Condorelli, G. & Smith, R.J. (1995). Effects of contractile activity on tyrosine phosphoproteins and PI 3-kinase activity in rat skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Endocrinology & Metabolism*, 268, E987-E995.
- Gotte, M. (2003). Syndecans in inflammation. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 17, (6), 575-591.
- Gould, S.J. (1994). The evolution of life on earth. [www.brembs.net/evolution](http://www.brembs.net/evolution).

- Grabstein, K.H., Eisenmann, J., Shanebeck, K., Rauch, C., Srinivasan, S., Fung, V., Beers, C., Richardson, J., Schoenborn, M.A., Ahdieh, M., Johnson, L., Alderson, M.R., James, M.R., Watson, D., Anderson, D.M. & Giri, J.G (1994). Cloning of a T cell growth factor that interacts with the beta chain of the interleukin-2 receptor. *Science*, 264, 965–968.
- Grassi, C. & Morandini, G.C. (1976). A controlled trial of intermittent oral acetylcysteine in the longterm treatment of chronic bronchitis. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 9, 393-396.
- Griendling, K. K., Sorescu, D. & Ushio-Fukai, M. (2000). NAD(P)H oxidase role in cardiovascular biology and disease. *Circulation Research*, 86, 494–501.
- Grootveld, M. & Halliwell, B. (1987). Measurement of allantoin and uric acid in human body fluids: a potential index of free-radical reactions in vivo. *Biochemical Journal*, 243, 803-808.
- Gross, W.L., Bak, M.I., Ingwall, J.S., Arstall, M.A., Smith, T.W., Balligand, J.L. & Kelly, R.A. (1996). Nitric oxide inhibits creatine kinase and regulates rat heart contractile reserve. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U S A*, 28,(93), 5604 – 5609.
- Grounds, M.D. & Davies, M. (1996). Chemotaxis in Myogenesis. *Basic and Applied Myology*, 6, 469–483.
- Grounds, M.D. (1987). Phagocytosis of necrotic muscle in muscle isografts is influenced by the strain, age, and sex of host mice. *Journal of Pathology*, 87, (153), 71–82.
- Grounds, M.D. (1998). Age-associated changes in the response of skeletal muscle cells to exercise and regeneration. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 854, 78–91.
- Grounds, M.D., McGreachie, J.K., Davies, M.J., Sorokin, L.M. & Malley, M.A. (1998). The expression of extracellular matrix during adult skeletal muscle regeneration: How the basement membrane, interstitium and myogenic cells collaborate. *Basic and Applied Myology*, 8, 129–141.

- Groussard, C., Rannou-Bekono, F., Machefer, G., Chevanne, M., Vincent, S., Sergent, O., Cillard, J. & Gratas-Delamarche, A. (2003). Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. *European Journal Applied Physiology*, 89, 14-20.
- Grover, A.K. Samson, S.E. & Misquitta, C.M. (1997). Sarco(endo-)plasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> pump isoform SERCA3 is more resistant than SERCA2b to peroxide. *American Journal of Physiology*, 273, C420–C425.
- Guilland, J.C., Penaranda, T., Gallet, C., Boggio, V., Fuchs, F. & Klepping, J. (1989). Vitamin status of young athletes including the effects of supplementation. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 21, (4), 441-449.
- Gulick., D.T. & Kimura., I.F. (1996). Delayed onset muscle soreness: what is it and how do we treat it? *Journal of Sports and Rehabilitations*, 5, 234-243.
- Gutierrez-Uzquiza, A., Arechederra, M., Bragado, P., Aguirre-Ghiso, J.A. & Porras, A. (2011). p38mediates cell survival in response to oxidative stress via induction of antioxidant genes. effect on the p70S6K pathway. *Journal of Biological Chemistry*, Papers in Press.
- Guttridge, D.C., Mayo, M.W., Madrid, L.V., Wang, C.Y. & Baldwin, A.S. (2000). NF-kappaB-induced loss of MyoD messenger RNA: possible role in muscle decay and cachexia. *Science*, 289, 2363–2366.
- Hajduch, E., Alessi, D.R., Hemmings, B.A. & Hundal, H.S. (1998). Constitutive activation of protein kinase B  $\beta$  by membrane targeting promotes glucose and system A amino acid transport, protein synthesis, and inactivation of glycogen synthase kinase 3 in L6 muscle cells. *Diabetes*, 47, 1006–1013.
- Hallbrucker, C., Ritter, M., Lang, F., Gerok, W. & Haussinger, D. (1993). Hydroperoxide metabolism in rat liver. K1 channel activation, cell volume changes and eicosanoid formation. *European Journal of Biochemistry*, 211, 449–458.

- Halliwell, B. & Cross, E.C., (1994). Oxygen-derived Species: Their Relation to Human Disease and Environmental Stress. *Environmental Health Perspectives*, 102(Suppl 10), 5-12.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J.M.C. (1985). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford: Clarendon Press Oxford.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J.M.C. (1998). *Free radicals in biology and chemistry*, Oxford Science Publications.
- Hamer, P.W., McGeachie, J.M., Davies, M.J. & Grounds, M.D. (2002). Evans Blue Dye as an in vivo marker of myofibre damage: Optimising parameters for detecting initial myofibre membrane permeability. *Journal of Anatomy*, 200, 69-79.
- Hamilton, K.L., Staib, J.L., Phillips, T., Hess, A., Lennon, S.L. & Powers, S.K. (2003). Exercise, antioxidants, and HSP72: protection against myocardial ischemia/reperfusion. *Free Radical Biology & Medicine*, 34, (7), 800-809.
- Hampton, M.B., Kettle, A.J. & Winterbourn, C.C. (1998). Inside the neutrophil intakes phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing. *Blood*, 92, 3007-3017.
- Han, D., Handelman, G.J. & Packer, L. (1995). Analysis of reduced and oxidized lipoic acid in biological samples by high-performance liquid chromatography. *Methods in Enzymology*, 251, 315-325.
- Hannon, K., Kudla, A.J., McAvoy, M.J., Clase, K.L. & Olwin, B.B. (1996). Differentially expressed fibroblast growth factors regulate skeletal muscle development through autocrine and paracrine mechanisms. *Journal of Cell Biology*, 132, 1151-1159.
- Harper, J.M., Soar, J.B. & Buttery, P.J. (1987). Changes in protein metabolism of ovine primary muscle cultures on treatment with growth hormone, insulin, insulin-like growth factor I or epidermal growth factor. *Journal of Endocrinology*, 112, 87-96.
- Harris, J.B. (2003). Myotoxic phospholipases A2 and the regeneration of skeletal muscles. *Toxicon*, 42, 933-945.



- Hartman, M.L., Veldhuis, J.D & Thorner, M.O. (1993). Normal control of growth hormone secretion. *Hormone Research*, 40, 37-47.
- Haslett, C. (1992). Resolution of acute inflammation and the role of apoptosis in the tissue fate of granulocytes. *Clinical Science*, 83, 639-648.
- Hasson, S.M., Daniels, J.C., Divine, J.G., Niebuhr, B.R., Richmond, S., Stein, P.G. & Williams, J.H. (1993). Effect of ibuprofen use on muscle soreness, damage, and performance: a preliminary investigation. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 25, (1), 9-17.
- Hastry, P., Bradley, A., Morris, J.H., Edmondson, D.G., Venuti, J.M., Olson, E.N. & Klein, W.H. (1993). Muscle deficiency and neonatal death in mice with a targeted mutation in the myogenin gene. *Nature*, 364, 501-506.
- Haugk, K.L., Roeder, R.A., Garber, M.J. & Quinn, L.S. (1996). Crushed muscle extracts: A model system to investigate growth factors regulation of satellite cell activities in meat animals. *Basic and Applied Myology*, 6, 163-173.
- Hawke, T. & Garry, D.J. (2001). Myogenic satellite cells: Physiology to molecular biology. *Journal of Applied Physiology*, 9, 534-551.
- Hawke, T.J., Meeson, A.P., Jiang, N., Graham, S., Hutcheson, K., DiMaio, J.M. & Garry, D.J. (2003). p21 is essential for normal myogenic progenitor cell function in regenerating skeletal muscle. *American Journal of Physiology*, 285, C1019-1027.
- Hayashit, T., Ueono, Y. & Okamoto, T. (1993). Oxidoreductive regulation of nuclear factor kB. Involvement of a cellular reducing catalyst thioredoxin. *Journal of Biological Chemistry*, 268, 11380-11388.
- Hayes, G.R. & Lockwood, D.H. (1987). Role of insulin receptor phosphorylation in the insulinomimetic effects of hydrogen peroxide. *Archive of Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 84, 8115-8119.
- Heffetz, D., Bushkin, I., Dror, R. & Zick, Y. (1990). The insulinomimetic agents H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and vanadate stimulate protein tyrosine phosphorylation in intact cells. *Journal of Biological Chemistry*, 265, 2896-2902.

- Hegner, S.P., Breikreutz, R., Shubinsky, G., Unsoeld, H., Schulze-Osthoff, K., Schmitz, M.L. & Dröge, W. (2000). Enhancement of T cell receptor signaling by a mild oxidative shift in the intracellular thiol pool. *Journal of Immunology*, 165, 4319–4328.
- Hellsten, Y., Frandsen, U., Orthenblad, N., Sjodin, B. & Richter, E. (1997). Xanthine oxidase in human skeletal muscle following eccentric exercise. *Journal of Physiology (Lond)*, 498, 239–248.
- Hellsten, Y., Hansson, H.A., Johnson, L., Frandsen, U. & Sjodin, B. (1996). Increased expression of xanthine oxidase and insulin like growth factor I (IGF-I) immunoreactivity in skeletal muscle after strenuous exercise in humans. *Acta Physiologica Scandinavica*, 157, 191-197.
- Hellsten, Y., Tullson, P.C., Richter, E.A. & Bangsbo, J. (1997). Oxidation of urate in human skeletal muscle during exercise. *Free Radical Biology & Medicine*, 22, (1-2), 169-174.
- Hemler, M.E. (1990). VLA proteins in the integrin family: structures, functions, and their role on leukocytes. *Annual Review of Immunology*, 8, 365-400.
- Hentze, M.W., Muckenthaler, M.U. & Andrews, N.C. (2004). Balancing acts: molecular control of mammalian Fe metabolism. *Cell*, 117, 285-297.
- Herzenberg, L.A., De Rosa, S.C., Dubs, J.G., Roederer, M., Anderson, M.T., Ela, S.W., Deresinski, S.C. & Herzenberg, L.A. (1997). Glutathione deficiency is associated with impaired survival in HIV disease. *The Proceedings of the National Academy of Sciences Online (U.S.)*, 94, 1967-1972.
- Hickey, M.S., Considine, R.V., Israel, R.C., Mahar, T.L., McCammon, M.R., Tyndall, G.L., Houmard, J.A. & Caro, J.F. (1996). Leptin is related to body fat content in male distance runners. *American Journal of Physiology*, 271, E938–E940.
- Hikida, R.S., Staron, R.S., Hagerman, F.C., Leonardi, M., Gilders, R., Falkel, J., Murray, T. & Appell, K. (1991). Serum creatine kinase activity and its changes after a muscle biopsy. *Clinical Physiology*, 11, 51-59.

- Hodkinson, C.F., O'Connor, J.M., Alexander, H.D., Bradbury, I., Bonham, M.P., Hannigan, B.M., Gilmore, W.S., Strain, J.J. & Wallace, J.M. (2006). Whole blood analysis of phagocytosis, apoptosis, cytokine production, and leukocyte subsets in healthy older men and women: the ZENITH study. *Journal of Gerontology: Biological and Medicine Sciences*, 61, (9), 907-917.
- Hofer, T. & Moller, L. (2002). Optimization of the workup procedure for the analysis of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine with electrochemical detection. *Chemical Research in Toxicology*, 15, 426-432.
- Hoffmann, E., Thiefes, A., Buhrow, D., Dittrich-Breiholz, O., Schneider, H., Resch, K. & Kracht, M. (2005). MEK1-dependent delayed expression of Fos-related antigen-1 counteracts c-Fos and p65 NF-kappaB-mediated interleukin-8 transcription in response to cytokines or growth factors. *Journal of Biological Chemistry*, 280, 9706-9718.
- Holdiness, M.R. (1991). Clinical pharmacokinetics of N-acetylcysteine. *Clinical Pharmacokinetics*, 20, 123-134.
- Honda, H., Kimura, H. & Rosrami, A. (1992). Isolation and characterization of macrophages from rat embryonic muscle culture. *Journal of Leukocyte Biology*, 52, 537-544.
- Honda, H., Kimura, H. & Rostami, A. (1990). Demonstration and phenotypic characterization of resident macrophages in rat skeletal muscle. *Immunology*, 70, (2), 272-277.
- Hooper, D.C., Scott, G.S., Zborek, A., Mikheeva, T., Kean, R.B., Koprowski, H. & Spitsin, S.V. (2000). Uric acid, a peroxynitrite scavenger, inhibits CNS inflammation, blood-CNS barrier permeability changes and tissue damage in a mouse model of multiple sclerosis. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 14, 691-698.
- Hooper, D.C., Spitsin, S., Kean, R.B., Champion, J.M., Dickson, G.M., Chaudhry, I. & Koprowski, H. (1998). Uric acid, a natural scavenger of peroxynitrite, in experimental allergic encephalomyelitis and multiple sclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U S A*, 95, 675-680.

- Hopper, D.C., Conneely, M., Chromiak, F., Canini, E., Berggren, J. & Briffa, K. (2005). Evaluating the effect of two massage techniques on hamstring muscle length in competitive female hockey players. *Physical Therapy in Sport*, 6, 137-145.
- Hossner, K.L., McCusker, R.H. & Dodson, M.V. (1997). Insulinlike growth factors and their binding proteins in domestic animals. *Journal of Animal Science*, 64, 1-15.
- Hough, T. (1902). Ergographic studies in muscular soreness. *American Journal of Physiology*, 7, 76-92.
- Howell, J.N., Chleboun, G. & Conatser, R. (1993). Muscle stiffness, strength loss, swelling and soreness following exercise-induced injury in humans. *Journal of Physiology*, 464, 183-196.
- Hubbard, S.R. (1997). Crystal structure of the activated insulin receptor tyrosine kinase in complex with peptide substrate and ATP analog. *EMBO Journal*, 16, 5572-5581.
- Hug, H., Enari, M. & Nagata, S. (1994). No requirement of reactive oxygen intermediates in Fas-mediated apoptosis. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 351, 311-313.
- Huo, Y., Qiu, W.Y., Pan, Q., Yao, Y.F., Xing, K. & Lou, M.F. (2009). Reactive oxygen species (ROS) are essential mediators in epidermal growth factor (EGF)-stimulated corneal epithelial cell proliferation, adhesion, migration, and wound healing. *Experimental Eye Research*, 89, 876-886.
- Hurme, T. & Kalimo, H. (1992). Activation of myogenic precursor cells after muscle injury. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 24, (2), 197-205.
- Hurme, T., Kalimo, H., Lehto, M. & Järvinen, M. (1991). Healing of skeletal muscle injury: an ultrastructural and immunohistochemical study. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 23, (7), 801-810.
- Hutchins, M.O., Skjonsby, H.S., Brazeau, G.A., Parikh, U.K. & Jenkins, R.M. (1995). Weakness in mouse masticatory muscles by repetitive contractions with forced lengthening. *Journal of Dental Research*, 74, 642-648.

- Θεοδώρου, Α., Σακελλαρίου, Γ., Νικολαΐδης, Μ., Πασχάλης, Β., Φατούρος, Ι. & Τζιαμούρτας, Α. (2007). Η Επίδραση της Ασκησιογενούς Μυϊκής Καταστροφής σε Δείκτες Οξειδωτικού Στρες στο Αίμα και στο Μυ. *Αναζητήσεις στη Φυσική Αγωγή και τον Αθλητισμό*, 5, (2), 294-301.
- Iiyama, M., Kakihana, K., Kurosu, T. & Miura, O. (2006). Reactive oxygen species generated by hematopoietic cytokines play roles in activation of receptor-mediated signaling and in cell cycle progression. *Cellular Signalling*, 18, 174 – 182.
- Iles, K.E. & Liu, R.M. (2005). Mechanisms of glutamate cysteine ligase (GCL) induction by 4-hydroxynonenal. *Free Radical Biology and Medicine*, 38, (5), 547-556.
- Ingalls, C.P., Warren, G.L., Williams, J.H., Ward, C.W. & Armstrong, R.B. (1998). E-C coupling failure in mouse EDL muscle after in vivo eccentric contractions. *Journal of Applied Physiology*, 85, 58-67.
- Ispiridis, I., Fatouros, J.G., Jamurtas, A.Z., Nikolaidis, M.G. Michailidis, I., Douroudos, I., Margonis, K., Chatzinikolaou, A., Kalistratos, E., Katrabasas, I., Alexiou, V., Taxildaris, K. (2008). Time-course of changes in performance and inflammatory responses following a soccer game. *Clinical Journal of Sports Medicine*, 18, 423-431.
- Jackson, A.H., Jones, D.A. & Edwards, R.H. (1983). Vitamin E and skeletal muscle. *Ciba Found Symposium*, 101, 224-239.
- Jackson, M.J. & O'Farrell, S. (1993). Free radicals and muscle damage. *British Medical Bulletin*, 49, (3), 630-641.
- Jackson, M.J. (2009). Redox regulation of adaptive responses in skeletal muscle to contractile activity. *Free Radical Biology & Medicine*, 47, 1267–1275.
- Jacobson, G.M., Dourron, H.M., Liu, J., Carretero, O.A., Reddy, D.J., Andrzejewski, T. & Pagano, P.J. (2003). Novel NAD(P)H oxidase inhibitor suppresses angioplasty-induced superoxide and neointimal hyperplasia of rat carotid artery. *Circulation Research*, 92, 637–643.
- Jacobson, M.D., Burne, J.F. & Raff, M.C. (1994). Programmed cell death and Bcl-2 protection in the absence of a nucleus. *EMBO Journal*, 13, 1899–1910.



- Jakeman, P. & Maxwell, S. (1993). Effect of antioxidant vitamin supplementation on muscle function after eccentric exercise. *European Journal of Applied Physiology & Occupational Physiology*, 67, (5), 426-430.
- Jamurtas, A.Z., Theocharis, V., Tofas, T., Tsiokanos, A., Yfanti, C., Paschalis, V., Koitedakis, Y. & Nosaka, K. (2005). Comparison between leg and arm eccentric exercises of the same relative intensity on indices of muscle damage. *European Journal of Applied Physiology*, 95, 179-185.
- Jarvinen, T.A., Jarvinen, T.L., Kaariainen, M. & Jarvinen, M. (2005). Muscle injuries: biology and treatment. *American Journal of Sports Medicine*, 33,(5), 745-764.
- Jarvinen, T.A., Kaariainen, M., Jarvinen, M. & Kalimo, H. (2000). Muscle strain injuries. *Current Opinion in Rheumatology*, 12, 155-161.
- Jefferson, L. (1980). Role of insulin in the regulation of protein synthesis. *Diabetes*, 29, 487-496.
- Jenkins, R.R. & Goldfarb, A. (1993). Introduction: oxidant stress, aging and exercise. *Medicine Science Sports & Exercise*, 25, (2), 210-212.
- Jenkins, R.R. (1988). Free radical chemistry: relationship to exercise. *Sports Medicine*, 5, 156-170.
- Jenkins, R.R. (2000). Exercise and oxidative stress methodology: a critique. *American Journal Clinical Nutrition*, 72, (2- Suppl.), 670-674.
- Jennische, E., Ekberg, S. & Matejka, G.L. (1993). Expression of hepatocyte growth factor in growing and regenerating rat skeletal muscle. *American Journal of Physiology*, 265, C122-C128.
- Ji, L.L. (1995). Oxidative stress during exercise: implication of antioxidant nutrients. *Free Radical Biology & Medicine*, 18, (6), 1079-1086
- Ji, L.L. (2007). Antioxidant signaling in skeletal muscle: A brief review. *Experimental Gerontology*, 42, 582-593.

- Ji, L.L. (2008). Modulation of skeletal muscle antioxidant defense by exercise: Role of redox signaling. *Free Radical Biology & Medicine*, 44, 142-152.
- Jiang, B., Xu, S., Hou, X., Pimentel, D.R., Brecher, P. & Cohen, R.A. (2004). Temporal control of NF-kappaB activation by ERK differentially regulates interleukin-1beta-induced gene expression. *Journal of Biological Chemistry*, 279, 1323-1329.
- Jiang, W.G. & Hiscox, S. (1997). Hepatocyte growth factor/scatter factor, a cytokine playing multiple and converse roles. *Histology Histopathology*, 12, 537-555.
- Johnson, T.M., Yu, Z.X., Ferrans, V.J., Lowenstein, R.A. & Finkel, T. (1996). Reactive oxygen species are downstream mediators of p53-dependent apoptosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 93, 11848-11852.
- Jolly, S.R., Kane, W.J., Hook, B.G., Abrams, G.D., Kunkel, S.L. & Lucchesi, B.R. (1986). Reduction of myocardial infarct size by neutrophil depletion: effect of duration of occlusion. *American Heart Journal*, 112(4), 682-690.
- Jones, D.A., Newham, D.J., Round, J.M. & Tolfree, S.E. (1986). Experimental human muscle damage: morphological changes in relation to other indices of damage. *Journal of Physiology*, 375, 435-448.
- Joubert, Y. & Tobin, C. (1995). Testosterone treatment results in quiescent satellite cells being activated and recruited into cell cycle in rat Latissimus muscle. *Developmental Biology*, 169, 286-294.
- Judge, A.R. & Dodd, S.L. (2004). Xanthine oxidase and activated neutrophils cause oxidative damage to skeletal muscle after contractile claudication. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 286, H252-H256.
- Kadi, F., Johansson, F., Johansson, R., Sjostrom, M. & Henriksson, J. (2004). Effects of one bout of endurance exercise on the expression of myogenin in human quadriceps muscle. *Histochemistry and Cell Biology*, 121, 329-334.
- Kahn, R.C. & Goldfine, A.B. (1993). Molecular determinants of insulin action. *Journal of Diabetes and its Complications*, 7, 92-105.

- Kaikkonen, J., Kosonen, L., Nyysönen, K., Porkkala-Saratho, E., Salonen, R., Korpela, H. & Salonen, J.T. (1998). Effect of combined coenzyme Q10 and d-alpha-tocopheryl acetate supplementation on exercise-induced lipid peroxidation and muscular damage: A placebo controlled double blind study in marathon runners. *Free Radical Research*, 29, 85-92.
- Kalva, J., Mantha, S.V. & Prasad, K., (1994). Oxygen-Free Radicals: Key factors in clinical diseases. *LabMedica International*, 11, (2), 16-21.
- Kaminski, M. & Boal, R. (1992). An effect of ascorbic acid on delayed-onset muscle soreness. *Pain*, 50, 317-321.
- Kamzalov, S., Sumien, N., Forster, M.J. & Sohal, R.S. (2003). Coenzyme Q intake elevates the mitochondrial and tissue levels of coenzyme Q and alpha tocopherol in young mice. *Journal of Nutrition*, 133, 3175-3180.
- Kanter, M.M., Nolte, L.A. & Holloszy, J.O. (1993). Effects of an antioxidant vitamin mixture on lipid peroxidation at rest and postexercise. *Journal of Applied Physiology*, 74, 965-969.
- Kasai, H. (2002). Chemistry based studies on oxidative DNA damage: formation, repair and mutagenesis. *Free Radical Biology & Medicine*, 33, (4), 450-456.
- Katz, A. (2007). Modulation of glucose transport in skeletal muscle by reactive oxygen species. *Journal of Applied Physiology*, 102, 1671-1676.
- Katz, A., Broberg, S., Sahlin, K. & Wahren, J. (1986). Leg glucose uptake during maximal dynamic exercise in humans. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, 251, E65-E70.
- Kaur, H. & Halliwell, B. (1994). Evidence for nitric oxide – mediated oxidative damage in chronic inflammation. Nitrotyrosine in serum and synovial fluid from rheumatoid patients. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 350, 9-12,
- Kean, R.B., Spitsin, S.V., Mikheeva, T., Scott, G.S. & Hooper, D.C. (2000). The peroxynitrite scavenger uric acid prevents inflammatory cell invasion into the central

- nervous system in experimental allergic encephalomyelitis through maintenance of blood-central nervous system barrier integrity. *Journal of Immunology*, 165, 6511-6518.
- Kefaloyianni, E., Gaitanaki, C. & Beis, I. (2006). ERK1/2 and p38-MAPK signalling pathways, through MSK1, are involved in NF-kappaB transactivation during oxidative stress in skeletal myoblasts. *Cellular Signaling*, 18, 2238-2251.
- Keles, M.S., Taysi, S., Sen, N., Aksoy, H. & Akcay, F. (2001). Effect of corticosteroid therapy on serum and CSF malondialdehyde and antioxidant proteins in multiple sclerosis. *The Canadian Journal of Neurological Sciences*, 28, 141-143 (με κοκκίνο αφορού'ν βιβλιογραφία για οξειδωτικό στρες στο αίμα).
- Kellis, E. & Baltzopoulos, V. (1995). Isokinetic eccentric exercise. *Sports Medicine*, 19, 202-222.
- Kelly, M.K., Wicker, R.J., Barstow, T.J. & Harms, C.A. (2009). Effects of N-acetylcysteine on respiratory muscle fatigue during heavy exercise. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 165, 67-72.
- Kerksick, C.M., Kreider, R.M. & Willoughby, D.S. (2010). Intramuscular adaptations to eccentric exercise and antioxidant supplementation. *Amino Acids*, 39 (1), 219-232.
- Kern., D.S., Semmler., J.G. & Enoka, R.M. (2001). Long-term activity in upper- and lower-limb muscles of humans. *Journal of Applied Physiology*, 91, 2224-2232.
- Kevil, C.G., Pruitt H, Kavanagh TJ, Wilkerson, J., Farin, F., Moellering, D., Darley-Usmar, V.M., Bullard, D.C. & Patel, R.P. (2004). Regulation of endothelial glutathione by ICAM-1: implications for inflammation. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 18, 1321-1323.
- Khanna, S., Atalay, M., Laaksonen, D.E., Gul, M., Roy, S. & Sen, C.K. (1999). A-lipoic acid supplementation: Tissue glutathione homeostasis at rest and after exercise. *Journal of Applied Physiology*, 86, 1191-1196.
- Khawli, F.A. & Reid, M.B. (1994). N-acetylcysteine depresses contractility and inhibits fatigue of diaphragm in vitro. *Journal of Applied Physiology*, 77, 317-324.



- Kibble, M.W. & Ross, M.B. (1987). Adverse effects of anabolic steroids in athletes. *Clinical Pharmacology*, 6, 686–692.
- Kim, D.H., Kim, C.H., Kim, M.S., Kim, J.Y., Jung, K.J., Chung, J.H., An, W.G., Lee, J.W., Yu, B.P. & Chung, H.Y. (2007). Suppression of aged-related inflammatory NF- $\kappa$ B activation by cinnamaldehyde. *Biogerontology*, 8, 545–554.
- Kim, Y.M., Talanian, R.V. & Billiar, T.R. (1997). Nitric oxide inhibits apoptosis by preventing increases in caspase-3-like activity via two distinct mechanisms. *Journal of Biological Chemistry*, 272, 31138–31148.
- Kimura, F., Miyazaki, M. & Suwa, S. (1996). Increased levels of human hepatocyte growth factor in serum and peritoneal fluid after partial hepatectomy. *American Journal of Gastroenterology*, 91, 116–121.
- Kinashi, T. (2007). Integrin regulation of lymphocyte trafficking: lessons from structural and signaling studies. *Advances in Immunology*, 93, 185–227.
- Kingsley, R.E. (2002). *Concise text of neuroscience*. Baltimore: Lippincott, Williams & Wilkins.
- Kirlin, W.G., Cai, J., Thompson, S.A., Diaz, D., Kavanagh, T.J. & Jones, D.P. (1999). Glutathione redox potential in response to differentiation and enzyme inducers. *Free Radical Biology & Medicine*, 27, (11-12), 1208–1218.
- Kivisakk, P., Matusевич, D., Soderstrom, M., Fredrikson, S. & Link, H. (1998). IL-15 mRNA expression is up-regulated in blood and cerebrospinal fluid mononuclear cells in multiple sclerosis (MS). *Clinical & Experimental Immunology*, 111, 193–197.
- Klebanoff, S.J. (1982). Oxygen dependent cytotoxic mechanisms of phagocytes. In: *Advances in host defense mechanisms*, ed. J.I. Gallin & Fauci, A.S., 1, 111–162. New York: Raven Press
- Klebanoff, S.J., Vadas, M.A., Harlan, J.M., Sparks, L.H., Gamble, J.R., Agosti, J.M. & Waltersdorff, A.M. (1986). Stimulation of neutrophils by tumor necrosis factor. *Journal of Immunology*, 136, 4220–4225.



- Kobzik, L., Reid, M.B., Bredt, D.S. & Stamler, J.S. (1994). Nitric oxide in skeletal muscle. *Nature*, 372, 546–548.
- Kobzik, L., Stringer, B., Balligand, J.L., Reid, M.B. & Stamler, J.S. (1995). Endothelial type nitric oxide synthase in skeletal muscle fibers: mitochondrial relationships. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 211, 375–381.
- Koechlin, C., Couillard, A., Simar, D., Cristol, J.P., Bellet, H., Hayot, M. & Prefaut C. (2004). Does Oxidative Stress Alter Quadriceps Endurance in Chronic Obstructive Pulmonary Disease? *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine*, 169, 1022–1027.
- Koh T.J. Physiology and mechanisms of skeletal muscle damage. In: Tiidus, PM (ed): *Skeletal Muscle Damage and Repair*. Champaign, IL, Human Kinetics, pp. 3-4, 2008
- Koh, T.J. & Escobedo, J. (2004). Cytoskeletal disruption and small heat shock protein translocation immediately after lengthening contractions. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 286, C713-C722.
- Koh, T.J. (2002). Do small heat shock proteins protect skeletal muscle from injury. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 30, 117-121.
- Koh, T.J. (2008). Physiology and Mechanisms of Skeletal Muscle Damage. In: Tiidus, P.M. *Skeletal Muscle Damage and Repair* (pp. 3-12). London:Human Kinetics.
- Kohen, R., Vellaichamy, E., Hrbac, J., Gati, I. & Tirosh, O. (2000). Quantification of the overall reactive oxygen species scavenging capacity of biological fluids and tissues. *Free Radical Biology & Medicine*, 28, (6), 871-879.
- Koj, A. & Guzdek, A. (1995). Modified proteins as possible signals in the acute phase response. *Annals of N.Y. Academy of Science*, 762, 108-119.
- Koller, A., Mair, J., Schobersberger, W., Wohlfarter, T., Haid, C., Mayr, M., Villiger, B., Frey, W. & Puschendorf, B. (1998). Effects of prolonged strenuous endurance exercise on plasma myosin heavy chain fragments and other muscular proteins. Cycling vs running. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 38, 10-17.

- Komi, P.V. & Viitasalo, J.T. (1977). Changes in motor unit activity and metabolism in human skeletal muscle during and after repeated eccentric and concentric contractions. *Acta Physiologica Scandinavica*, 100, 246-256.
- Komulainen, J. & Vihko, V. (1994). Exercise-induced necrotic muscle damage and enzyme release in the four days following prolonged submaximal running in rats. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*, 428, 346-351.
- Koren, A., Sauber, C., Sentjurc, M. & Schara, M. (1983). Free radicals in tetanic activity of isolated skeletal muscle. *Comparative Biochemistry Physiology*, 74B, 633-635.
- Korsmeyer, S.J. Regulators of cell death. (1995). *Trends in Genetics*, 11, 101-105.
- Kostin, S., Pool, L., Elsasser, A., Hein, S., Drexler, H.C., Armon, E., Hayakawa, Y., Zimmermann, R., Bauer, E., Klövekorn, W.P. & Schaper, J. (2003) Myocytes die by multiple mechanisms in failing human hearts. *Circulation Research*, 92, 715-724.
- Koyama, K., Chen, G., Lee, Y. & Unger, R.H. (1997). Tissue triglycerides, insulin, resistance, and insulin production: implications for hyperinsulinemia of obesity. *American Journal of Physiology*, 273, E708-E713.
- Kraemer, W.J., Hakkinen, K., Newton, R.U., Nindl, B.C., Volek, J.S., McCormick, M., Gotshalk, L.A., Gordon, S.E., Fleck, S.J., Campbell, W.W., Putukian, M. & Evans, W.J. (1999). Effects of heavy-resistance training on hormonal response patterns in younger vs. older men. *Journal of Applied Physiology*, 87, 982-992.
- Krieger-Brauer, H.I., Medda, P.K. & Kather, H. (1997). Insulin-induced activation of NADPH-dependent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation in human adipocyte plasma membranes is mediated by Gai2. *Journal of Biological Chemistry*, 272, 10135- 10143.
- Kurek, J.B., Kannourakis, N., Murphy, M. & Austin, L. (1996b). Leukemia Inhibitory Factor and Interleukin-6 are produced by diseased and regenerating skeletal muscle. *Muscle and Nerve*, 19, 1291-1301.
- Kyriakides, C., Austen, W.Jr, Wang, Y., Favuzza, J., Kobzik, L., Moore, F.D.Jr. & Hechtman, H.B. (1999). Skeletal muscle reperfusion injury is mediated by neutrophils

- and the complement membrane attack complex. *American Journal of Physiology*, 277(6), C1263-C1268.
- Kyriakis, J.M. & Avruch, J. (2001). Mammalian mitogen-activated protein kinase signal transduction pathways activated by stress and inflammation. *Physiological Reviews*, 81, 807–869.
- Laaksonen, D.E., Atalay, M., Niskanen, L., Uusitupa, M., Hänninen, O. & Sen, C.K. (1996). Increased resting and exercise-induced oxidative stress in young IDDM men. *Diabetes Care*, 19, 569-574
- Laaksonen, R., Fogelholm, M., Himberg, J.J., Laako, J. & Salorinne, Y. (1995). Ubiquinone supplementation and exercise capacity in trained young and older men. *European Journal of Applied Physiology*, 72, 95-100.
- Lambert, M.I., Marcus, P., Burgess, T. & Noakes, T.D. (2002). Electro-membrane microcurrent therapy reduces signs and symptoms of muscle damage. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 34, 602-607.
- Lambeth, J. D. (2007). Nox enzymes, ROS, and chronic disease: an example of antagonistic pleiotropy. *Free Radical Biology & Medicine*, 43, 332–347.
- Langen, R.C., Schols, A.M., Kedlers, M.C., Van der Velden, E.F., Wouters, E.F. & Janssen-Heininger, Y.M. (2002). Tumor necrosis factor alpha inhibits myogenesis through redox dependent and independent pathways. *American Journal of Physiology: cell Physiology*, 283, C714-C721.
- Larsson, R. & Cerutti, P. (1989). Translocation and enhancement of phosphotransferase activity of protein kinase C following exposure in mouse epidermal cells to oxidants. *Cancer Research*, 49, 5627–5632.
- Lassègue, B. & Clempus, R. E. (2003). Vascular NAD(P)H oxidases: specific features, expression, and regulation. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative & Comparative Physiology*, 285, R277–R297.

- Lastayo, P.C., Reich, T.E., Urquhart, M., Hoppeler, H. & Lindstedt, S.L. (1999). Chronic eccentric exercise: improvements in muscle strength can occur with little demand for oxygen. *American Journal of Physiology*, 276, R611-R615.
- Laursen, P.B. (2001). Free radicals and antioxidant vitamins: optimizing the health of the athlete. *Strength Conditioning Journal*, 23, (2), 17-25.
- Lauterburg, B., Corcoran, G. & Mitchell, J. (1983). Mechanism of action of N-acetylcysteine in the protection against the hepatotoxicity of acetaminophen in rats in vivo. *Journal of Clinical Investigation*, 71, 980- 981.
- Lazarovaa, M., Stejskalb, D., Lačňaka, B., Vaclavika, J., Adamovskab, S., Ochmanovaa,, R., Hanaka, V. & Skacelovaa, M. (2004). The antioxidant acetylcysteine reduces oxidative stress by decreasing level of AOPPS. *Biomedical Papers*, 148, (2), 131–133.
- Lee, J., Goldfarb, A.H., Rescino, M.H., Hegde, S., Patrick, S. & Apperson, K. (2002). Eccentric exercise effect on blood oxidative-stress markers and delayed onset of muscle soreness. *Medicine & Science in Sports & Exercise.*, 34, (3), 443–448.
- Leelarungrayub, D., Khansuwan, R., Pothongsunun, P. & Klaphajone, J. (2011). N-Acetylcysteine Supplementation Controls Total Antioxidant Capacity, Creatine Kinase, Lactate, and Tumor Necrotic Factor-Alpha against Oxidative Stress Induced by Graded Exercise in Sedentary Men. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. [www.hindawi.com](http://www.hindawi.com).
- Leenen, P.J.M., Melis, M., Kraal, G., Hoogeveen, A.T. & Van Ewijk, W. (1992). The monoclonal antibody ER-BMDM1 recognizes a macrophage and dendritic cell differentiation antigen with aminopeptidase activity. *European Journal of Immunology*, 22, 1567–1572.
- Leeuwenburgh, C. & Heinecke, J.W. (2001). Oxidative stress and antioxidants in exercise. *Current Medicine Chemistry*, 8, (7), 829-838.
- Leeuwenburgh, C., Hansen, P.A., Holloszy, J.O. & Heinecke, J.W. (1999). Hydroxyl radical generation during exercise increases mitochondrial protein oxidation and levels of urinary dityrosine. *Free Radical Biology & Medicine*, 27, (1-2), 186-192.

- Leff, J.A., Wilke, C.P., Hybertson, B.M., Shanley, P.F., Beehler, C.J., Repine, J.E. (1993). Post insult treatment with *N*-acetyl-L-cysteine decreases IL-1-induced neutrophil influx and lung leak in rats. *American Journal of Physiology*, 265, L501-L506.
- LeRoith, D., McGuinness, M., Shermer, J., Stannard, B., Landau, F., Faria, T.N., Kato, H., Werner, H., Adamo, M. & Roberts, C.T. (1992). Insulin-like growth factors. *Biological Signals*, 1, 173-181.
- Lescaudron, L., Peltekian, E., Fontaine-Perus, J., Paulin, D., Zampieri, M., Garsia, L. & Parrish, E. (1999). Blood borne macrophages are essential for the triggering of muscle regeneration following muscle transplant. *Neuromuscular Disorders*, 9, 72-80.
- Levine, J.A., Abboud, L., Barry, M., Reed, J.E., Sheedy, P.F. & Jensen, M.D. (2000). Measuring leg muscle and fat mass in humans: comparison of CT and dual-energy X-ray absorptiometry. *Journal of Applied Physiology*, 88, (2), 452-456.
- Levine, R.L. (2002). Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging and disease. *Free Radical Biology & Medicine*, 32, (9), 790-796
- Li, Y., Cummins, J. & Huard, J. (2001). Muscle injury and repair. *Current Opinion in Orthopedics*, 12, 409-415.
- Li, Y., Schwartz, R.J., Waddell, I.D., Holloway, B.R. & Reid, M.B. (1998). Skeletal muscle myocytes undergo protein loss and reactive oxygen-mediated NF- $\kappa$ B activation in response to tumor necrosis factor  $\alpha$ . *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 12, 871-880.
- Liao, J., Keiser, J.A., Scales, W.E., Kunkel, S.L. & Kluger, M.J. (1995). Role of epinephrine in TNF and IL-6 production from isolated perfused rat liver. *American Journal of Physiology*, 68, R869-R901.
- Lieber, R.L., Thornell, L.E. & Friden, J. (1996). Muscle cytoskeletal disruption occurs within the first 15 min of cyclic eccentric contraction. *Journal of Applied Physiology*, 80, 278-284.
- Lieber, R.L., Woodburn, T.M. & Friden, J. (1991). Muscle damage induced by eccentric contractions of 25% strain. *Journal of Applied Physiology*, 70, 2498-2507.



- Lightfoot, J.T., Char, D., McDermott, J & Goya, C. (1997). Immediate post-exercise massage does not attenuate delayed onset muscle soreness. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 11, (2), 119-124.
- Lille, S.T., Lefler, S.R., Mowlavi, A., Suchy, H., Boyle, E.M., Farr, A.L., Su, C.Y., Frank, N. & Mulligan, D.C. (2001). Inhibition of the initial wave of NF-kappaB activity in rat muscle reduces ischemia/reperfusion injury. *Muscle Nerve*, 24, 534-541.
- Linnane, A.W., Zhang, C., Yarovaya, N., Kopsidas, G., Kovalenko, S., Papakostopoulos, P., Eastwood, H., Graves, S. & Richardson, M. (2002). Human aging and global function of coenzyme Q10. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 959, 396-411.
- Liu, M.L., Bergholm, R., Mäkimattila, S., Lahdenperä, S., Valkonen, M., Hilden, H., Yki-Järvinen, H. & Taskinen, M.R.(1999). A marathon run increases the susceptibility of LDL to oxidation in vitro and modifies plasma antioxidants. *American Journal of Physiology*, 276, (6), E1083-E1091.
- Liu, M.Y., Xydakis, A.M., Hoogeveen, R.C., Jones, P.H., Smith, E.O., Nelson, K.W. & Ballantyne, C.M. (2005). Multiplexed analysis of biomarkers related to obesity and the metabolic syndrome in human plasma, using the Luminex-100 system, *Clinical Chemistry*, 51, 1102-1109.
- López-Collazo, E., Mateo, J., Miras-Portugal, M.T. & Bosca, L. (1997). Requirement of nitric oxide and calcium mobilization for the induction of apoptosis in adrenal vascular endothelial cells. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 413, 124-128.
- Lovering, R.M. & DeDeyne, P.G. (2004). Contractile function, sarcolemma integrity, and the loss of dystrophin after skeletal muscle eccentric contraction-induced injury. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 286, C230-C238.
- Lu, S.C. (2000). Regulation of glutathione synthesis. *Current topics in cellular regulation*, 36, 95-116.
- Lund, S., Pryor, P.R., Ostergaard, S., Schmitz, O., Pedersen, O. & Holman, G.D. (1998). Evidence against protein kinase B as a mediator of contraction-induced glucose

- transport and GLUT4 translocation in rat skeletal muscle. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 425, 472–474.
- Luo, B.H., Carman, C.V. & Springer, T.A. (2007). Structural basis of integrin regulation and signaling. *Annual Review of Immunology*, 25, 619-647.
- Luo, G., Hershko, D.D., Robb, B.W., Wray, C.J. & Hasselgren, P.O. (2003). IL-1beta stimulates IL-6 production in cultured skeletal muscle cells through activation of MAP kinase signaling pathway and NF-kappa B. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 284, R1249–R1254.
- Ma, Y.S., Stone, W.L. & Leclair, I.O. (1994). The effects of vitamin C and urate on the oxidation kinetics of human low-density lipoprotein. *Proceedings of the Society for Experimental Biology & Medicine*, 206, 53-59.
- MacIntyre, D.L., Reid, W.D. & McKenzie, D.C. (1995). Delayed muscle soreness. The inflammatory response to muscle injury and its clinical implications. *Sports Medicine*, 20, 24-40.
- Madani, S., Prost, J. & Belleville, J. (2000). Dietary protein level and origin (casein and highly purified soybean protein) affect hepatic storage, plasma lipid transport, and antioxidative defense status in the rat. *Nutrition*, 16, 368-375
- Maddock, J. (1980). Biological properties of acetylcysteine: assay development and pharmacokinetic studies. *European Journal of Respiratory Diseases*, 61, 52-58.
- Magnuson, B., Ekim, B. & Fingar, D.C. (2012). Regulation and function of ribosomal protein S6 kinase (S6K) within mTOR signalling networks. *Biochemistry Journal*, 441, 1–21.
- Maki, A., Berezsky, I.K., Fargnoli, J., Holbrook, N.J. & Trump, B.F. (1992). Role of Ca<sup>2+</sup> in induction of *c-fos*, *c-jun*, and *c-myc* mRNA in rat PTE after oxidative stress. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 6, 919–924.
- Malm, C. (2001). Exercise induced muscle damage and inflammation: fact or friction. *Acta Physiologica Scandinavica*, 171, 233-239.

- Malm, C., Sjodin, L.B., Sjoberg, B., Lenkei, R., Renstrom, P., Lundberg, I.E. & Ekblom, B. (2004). Leukocytes, cytokines, growth factors and hormones in human skeletal muscle and blood after uphill or downhill running. *Journal of Physiology*, 556, (3), 983-1000.
- Malm, C., Svensson, M., Ekblom, B. & Sjodin, B. (1997). Effects of ubiquinone 10 supplementation and high intensity training on physical performance in humans. *Acta Physiologica Scandinavica*, 161, 379-384.
- Manea, A., Manea, S. A., Gafencu, A. V., Raicu, M. & Simionescu, M. (2008). AP-1-dependent transcriptional regulation of NADPH oxidase in human aortic smooth muscle cells. Role of p22phox subunit. *Arteriosclerosis Thrombosis & Vascular Biology*, 28, (5), 878-885.
- Mant, T.G., Tempowski, J.H., Volans, G.N. & Talbot, J.C. (1984). Adverse reactions to acetylcysteine and effects of overdose. *British Medical Journal (Clinical Research Ed)*, 289, 217-219.
- Manta, P., Mamali, I., Zambelis, T., Aquaviva, T., Kararizou, E. & Kalfakis, N. (2006). Immunocytochemical study of cytoskeletal proteins in centronuclear myopathies. *Acta Histochemica*, 108, 271-276.
- Mantle, D. & Preedy, V.R. (2002). Adverse and beneficial functions of proteolytic enzymes in skeletal muscle: An overview. *Adverse Drug Reactions & Toxicological Reviews*, 21, 31-49.
- Marder, S.R., Chenoweth, D.E., Goldstein, I.M. & Perez, H.D. (1985). Chemotactic responses of human peripheral blood monocytes to the complement-derived peptides C5a and C5a des Arg. *Journal of Immunology*, 134, (5), 3325-3331.
- Marklund, N., Ostman, B., Nalmo, L., Persson, L. & Hillered, L. (2000). Hypoxanthine, uric acid and allantoin as indicators of in vivo free radical reactions: description of a HPLC method and human brain microdialysis data. *Acta Neurochirurgica (Wien)*, 142, 1135-1142.

- Martin, J.B. (1978). Neural regulation of growth hormone secretion. *Medical Clinics of North America*, 62, 327–336.
- Marzatico, F., Pansarasa, O., Bertorelli, L., Somenzini, L. & Della Valle, G. (1997). Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 37, 235-239.
- Mastaloudis, A., Morrow, J.D., Hopkins, D.W., Devaraj, S. & Traber, M.G. (2004). Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation, but not inflammation, in ultramarathon runners. *Free Radical Biology & Medicine*, 36, (10), 1329 – 1341.
- Mastorakos, G., Chrousos, G.P. & Weber, J.S. (1993). Recombinant interleukin-6 activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in humans. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 77, 1690-1694.
- Matuszczak Y, Farid M, Jones J, Lansdowne S, Smith MA, Taylor AA, Reid MB. (2005). Effects of N-acetylcysteine on glutathione oxidation and fatigue during handgrip exercise. *Muscle Nerve*, 32, 633–638.
- Mauro, A. (1961). Satellite cell of skeletal muscle fibres. *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*, 9, 493-498.
- May, J.M., Qu, Z., Whitesell, R.R. & Cobb, C.E. (1996). Ascorbate recycling in human erythrocytes: role of GSH in reducing dehydroascorbate. *Free Radical Biology & Medicine*, 20, (4), 543-551.
- McArdle, A., Edwards, R.H.T. & Jackson, M.J. (1991). Effects of contractile activity on muscle damage in the dystrophin deficient mouse. *Clinical Science*, 80, 367-371.
- McArdle, A., Edwards, R.H.T. & Jackson, M.J. (1992). Accumulation of calcium by normal and dystrophin deficient mouse muscle during contractile activity in vitro. *Clinical Science*, 82, 455-459.
- McArdle, A., Van Der Meulen, J.H., Catapano, M., Symons, M.C., Faulkner, J.A. & Jackson, M.J. (1999). Free radical activity following contraction-induced injury to the

- extensor digitorum longus muscles of rats. *Free radical Research Community*, 19, (3), 191-202.
- McCroskery, S., Thomas, M., Maxwell, L., Sharma, M. & Kambadur, R. (2003). Myostatin negatively regulates satellite cell activation and self-renewal. *Journal of Cell Biology*, 162, 1135-1147.
- McCully., K.K. & Faulkner, J.A. (1985). Injury to skeletal muscle fibers of mice following lengthening contractions. *Journal of Applied Physiology*, 59, 119-126.
- McCully., K.K. & Faulkner, J.A. (1986). Characteristics of lengthening contractions associated with injury to skeletal muscle fibers. *Journal of Applied Physiology*, 61, 293-299.
- McFarland, D.C., Pesall, J.E., Gilkerson, K.K., Walker, W.V. Ye.J.S. & Wellenreiter, R. (1995). Comparison of in vitro properties of satellite cells derived from the pectorialis major and biceps femoris muscles of growing turkeys. *Basic and Applied Myology*, 5, 27-32.
- McHugh, M.P. & Pasiakos, S. (2004). The role of exercising muscle length in the protective adaptation to a single bout of eccentric exercise. *European Journal of Physiology*, 93, 286-293.
- McHugh, M.P. (2003). Recent advances in the understanding of the repeated bout effect: The protective effect against muscle damage from a single out of eccentric exercise. *Scandinavian Journal of medicine and Science in Sports*, 13, 88-97.
- McKenna, M.J., Medved, I., Goodman, C.A., Brown, M.J., Bjorksten, A.R., Murphy, K.T., Petersen, A.C., Sostaric, S. & Gong, X. (2006). N-acetylcysteine attenuates the decline in muscle Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-pump activity and delays fatigue during prolonged exercise in humans. *Journal of Physiology*, 576, 279-288.
- Mckoy, G., Ashley, W., Mander, J., Yang, S.Y., Williams, N., Russell, B. & Goldspink, G. (1999). Expression of insulin growth factor-1 splice variants and structural genes in rabbit skeletal muscle induced by stretch and stimulation. *Journal of Physiology*, 516, 583-592.



- McLennan, I.S. (1993). Resident macrophages (ED2- and ED3- positive) do not phagocytose degenerating rat skeletal muscle fibres. *Cell and Tissue Research*, 272, (1), 193-196.
- McLoughlin, T.J., Mylona, E., Hornberger, T.A., Esser, K.A. & Pizza, F.X. (2003). Inflammatory cells in rat skeletal muscle are elevated after electrically stimulated contractions. *Journal of Applied Physiology*, 94, 876-882.
- McNeil, P.L. & Khakee, R. (1992). Disruptions of muscle fiber plasma membranes. Role in exercise-induced damage. *American Journal of Pathology*, 140, 1097-1109.
- Medved, I., Brown, M.J., Bjorksten, A.R. & McKenna, M.J. (2004). Effects of intravenous *N*-acetylcysteine infusion on time to fatigue and potassium regulation during prolonged cycling exercise. *Journal of Applied Physiology*, 96, 211-217.
- Medved, I., Brown, M.J., Bjorksten, A.R., Leppik, J.A., Sostaric, S. & McKenna, M.J. (2003). *N*-acetylcysteine infusion alters blood redox status but not time to fatigue during intense exercise in humans. *Journal of Applied Physiology*, 94, 1572-1582.
- Medved, I., Brown, M.J., Bjorksten, A.R., Murphy, K.T., Petersen, A.C., Sostaric, S., Gong, X. & McKenna, M.J. (2004). *N*-acetylcysteine enhances muscle cysteine and glutathione availability and attenuates fatigue during prolonged exercise in endurance-trained individuals. *Journal of Applied Physiology*, 97, 1477-1485.
- Meier, B., Radeke, H.H., Selle, S., Younes, M., Sies, H., Resch, K. & Habermehl, G.G. (1989). Human fibroblasts release reactive oxygen species in response to interleukin-1 or tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Biochemical Journal*, 263, 539-545.
- Melzack, R. (1982). Recent concept of pain. *Journal of Medicine*, 13, 147-160.
- Meneghini, R. (1997). Iron homeostasis, oxidative stress, and DNA damage. *Free Radical Biology & Medicine*, 23, (5), 783-792.
- Menger, M.D. & Vollmar, B. (1996). Adhesion molecules as determinants of disease: from molecular biology to surgical research. *British Journal of Surgery*, 83, (5), 588-601.

- Merrick, M.A. (2002). Secondary injury after musculoskeletal trauma: a review and update. *Journal of Athletic Training*, 37(2), 209-217.
- Merskey, H. & Bogduk, N. (1994). *Definition of chronic pain syndromes and definition of pain terms*. Seattle: International Association for the Study of Pain.
- Meydani, M., Evans, W.J., Handelman, G., Biddle, I., Fielding, R.A., Meydani, S.N., Burrill, J., Fiarone, M.A., Blumberg, J.B. & Cannon, J.G. (1993). Protective effect of vitamin E on exercise induced oxidative damage in young and older adults. *American Journal of Physiology*, 33, R992-R998.
- Meyer, M., Caselmann, W.H., Schluter, V., Schreck, R., Hofschneider, P.H. & Baeuerle, P.A. (1992). Hepatitis B virus transactivator MHBst: activation of NF-kappa B, selective inhibition by antioxidants and integral membrane localization. *EMBO Journal*, 11, 2991-3001.
- Michalopoulos, G. (1992). Liver regeneration and growth factors: old puzzles and new perspectives. *Laboratory Investigation*, 67, 413-415.
- Millan, M.J. (1999). The induction of pain: An integrative review. *Progress in Neurobiology*, 57, 1-164.
- Miyazaki, H., Oh-ishi, S., Ookawara, T., Kizaki, T., Toshinai, K., Ha, S., Haga, S., Ji, L.L. & Ohno, H. (2001). Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhaustive exercise. *European Journal Applied Physiology*, 84, 1-6.
- Moe, K.T., Aulia, S., Jiang, F., Chua, Y.L., Koh, T.H., Wong, M.C. & Dusting, G.J. (2006). Differential upregulation of Nox homologues of NADPH oxidase by tumor necrosis factor-alpha in human aortic smoothmuscle and embryonic kidney cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 10, 231-239.
- Mohr, S., Stamler, J.S. & Brüne, B. (1996). Posttranslational modification of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase by S-nitrosylation and subsequent NADH attachment. *Journal of Biological Chemistry*, 271, 4209-4214.
- Monaco, C., Andreakos, E., Kiriakidis, S., Feldmann, M. & Paleolog, E. (2004). T-cell-mediated signalling in immune, inflammatory and angiogenic processes: the cascade of

- events leading to inflammatory diseases. *Current Drug Targets Inflammation & Allergy*, 3, (1), 35-42.
- Morand, C., Crespy, V., Manach, C., Besson, C., Demigne, C. & Remecy, C. (1998). Plasma metabolites of quercetin and their antioxidant properties. *American Journal of Physiology*, 275, (44), R212-R219.
- More, D.W., Hessler, J.R. & Chisolm, G.M. (1983). Low density lipoprotein cytotoxicity induced by free radical peroxidation of lipid. *Journal of Lipid Research*, 24, 1970-1976.
- Mukherjee, S.P., Attaway, E.J. & Mukerjee, C. (1982). Insulin-like stimulation by hydrogen peroxide production in adipocyte by insulin receptor antibodies. *Biochemistry International*, 4, 305.
- Muoio, D.M., Dohm, G.L., Fiedorek, F.T., Tapscott, E.B. & Coleman, R.A. (1997). Leptin directly alters lipid partitioning in skeletal muscle. *Diabetes*, 46, 1360-1363.
- Murhy, P.M. (1995). Blood, sweat, and chemotactic cytokines. *Journal of Leukocytes Biology*, 57, 438-439.
- Nakamura, K., Hori, T., Sato, N., Sugie, K., Kawakami, T. & Yodoi, J. (1993). Redox regulation of a Src family protein tyrosine kinase p56lck in T cells. *Oncogene*, 8, 3133-3139.
- Nakhostin-Roohi, B., Babaei, P., Rahmani-Nia, F., Bohlooli, S. (2008). Effect of vitamin C supplementation on lipid peroxidation, muscle damage and inflammation after 30 min exercise at 75%  $\text{VO}_2\text{max}$ . *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 48, (2), 217-224.
- Nashawati, E., Dimarco, A. & Supinski, G. (1993). Effects produced by infusion of a free radical-generating solution into the diaphragm. *American Review of Respiratory Disease*, 147, 60-65.
- Nathan, C.F. (1987). Secretory products of macrophages. *Journal of Clinical Investigation*, 79, 319-326.

- Nehlsen-Cannarella, S.L., Fagoaga, O.R., Nieman, D.C., Henson, D.A., Butterworth, D.E., Schmitt, R.L., Bailey, E.M., Warren, B.J., Utter, A. & Davis, J.M. (1997). Carbohydrate and the cytokine response to 2.5h of running. *Journal of applied Physiology*, 82, 1662-1667.
- Newham, D.J., Jones, D.A. & Clarkson, P.M. (1987). Repeated high-force eccentric exercise: effects on muscle pain and damage. *Journal of Applied Physiology*, 63, 1381-1386.
- Newham, D.J., Jones, D.A. & Edwards, R.H.T. (1986). Plasma creatine kinase changes after eccentric and concentric contractions. *Muscle Nerve*, 9, 59-63.
- Newham, D.J., McPhail, G., Mills, K.R. & Edwards, R.H. (1983). Ultrastructural changes after concentric and eccentric contractions of human muscle. *Journal of the Neurological Sciences*, 61, 109-122.
- Newham, D.J., Mills, K.R. & Edwards, R.H.T. (1983). Large delayed plasma creatine kinase changes after stepping exercise. *Muscle Nerve*, 6, 380-385.
- Newham, D.J., Mills, K.R., Quigley, B.M. & Edwards, R.H. (1983). Pain and fatigue after concentric and eccentric muscle contractions. *Clinical Science (London)*, 64, 55-62.
- Newham, D.J., Mills, K.R., Quigley, R. & Edwards, R.H.T. (1982). Muscle pain and tenderness after exercise. *Australian Journal of Sports Medicine Exercise & Science*, 14, 129-131.
- Nguyen, H.X., Lusic, A.J. & Tidball, J.G. (2005). Null mutation of myeloperoxidase in mice prevents mechanical activation of neutrophil lysis of muscle cell membranes in vitro and in vivo. *Journal of Physiology*, 565, 403-413.
- Nielsen, H.B., Secher, N.H., Kappel, M. & Pedersen, B.K. (1998). *N*-acetylcysteine does not affect the lymphocyte proliferation and natural killer cell activity responses to exercise. *American Journal of Physiology*, 275, (4), R1227-R1231.
- Nielsen, H.G. & Lyberg, T. (2004). Long-Distance Running Modulates the Expression of Leucocyte and Endothelial Adhesion Molecules. *Scandinavian Journal of Immunology*, 60, 356-362.

- Nieman, D.C., Henson, D.A., Davis, J.M., Dumke, C.L., Utter, A.C., Murphy, E.A., Pearce, S., Gojanovich, G., McAnulty, S.R. & McAnulty, L.S. (2006). Blood leukocyte mRNA expression for IL-10, IL-1Ra, and IL-8, but not IL-6, increases after exercise. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 26(9), 668-674.
- Nieman, D.C., Henson, D.A., Davis, J.M., Murphy, E.A., Jenkins, D.P., Gross, S.J., Carmichael, M.D., Quindry, J.C., Dumke, C.L., Utter, A.C., McAnulty, S.R., McAnulty, L.S., Triplett, N.T. & Mayer, E.P. (2007). Quercetin's influence on exercise-induced changes in plasma cytokines and muscle and leukocyte cytokine mRNA. *Journal of Applied Physiology*, 103, 1728-1735.
- Nieman, D.C., Peters, E.M., Henson, D.A., Nevines, E.I. & Thompson, M.M. (2000). Influence of vitamin C supplementation on cytokine changes following an ultramarathon. *Journal of Interferon & Cytokine Responses*, 20, (11), 1029-1035.
- Nikawa, T., Ikemoto, M., Sakai, T., Kano, M., Kitano, T., Kawahara, T., Teshima, S., Rokutan, K. & Kishi, K. (2002). Effects of a soy protein diet on exercise induced muscle protein catabolism in rats. *Nutrition*, 18, 490-495.
- Niki, E., Saito, T., Kawakami, A. & Kamiya, Y. (1984). Inhibition of oxidation of methyl linoleate in solution by vitamin E and vitamin C. *Journal of Biological Chemistry*, 259, 4177-4182.
- Nikolaidis, G.M., Jamurtas, A.Z., Paschalis, V., Fatouros, I.G., Koutedakis, Y. & Kouretas, D. (2008). The effect of muscle damaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress. *Sports Medicine*, 38, (7), 579-606.
- Nikolaidis, M.G., Jamurtas, A.Z., Paschalis, V., Kostaropoulos, A.I., Kladi-Skandali, A., Balamitsi, V., Koutedakis, Y. & Kouretas, D. (2006). Exercise-induced oxidative stress in G6PD-deficient individuals. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 38, (8), 1443-1450.
- Nishizawa, J., Nakai, A., Matsuda, K., Komeda, M., Ban, T. & Nagata, K. (1999). Reactive oxygen species play an important role in the activation of heat shock factor 1 in ischemic-reperfused heart. *Circulation*, 99, 934-941.



- Noakes, T.D., Kotzenberg, G., McArthur, P.S. Dykman, J. (1983). Elevated serum creatine kinase MB and creatine kinase BB-isoenzyme fractions after ultra-marathon running. *European Journal of Applied Physiology*, 52, 75-79.
- Norkin, C.C. & White, D.J. (1985). *Measurement of Joint Motion: A Guide to Goniometry*. Philadelphia: F. A. Davis Company
- Nosaka, K. & Sakamoto, K. (2001). Effect of elbow joint angle on the magnitude of muscle damage to the elbow flexors. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 33, 22-29.
- Nosaka, K., Clarkson, P.M. & Apple, F.S. (1992). Time course of serum protein changes after strenuous exercise of the forearm flexors. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 119, 183-188.
- Nosaka, K., Newton, M. & Sacco, P. (2002). Delayed-onset muscle soreness does not reflect the magnitude of eccentric exercise-induced muscle damage. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 12, 337– 346.
- Nosaka, K., Newton, M.J. & Sacco, P. (2005). Attenuation of protective effect against eccentric exercise-induced muscle damage. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 30, 529-542.
- Nosaka, K., Sakamoto, K., Newton, M. & Sacco, P. (2001). The repeated bout effect of reduced-load eccentric exercise on elbow flexor muscle damage. *European journal of Applied Physiology*, 85, 34-40.
- O'Connor, P.J. & Cook, D.B. (1999). Exercise and pain: The neurobiology, measurement, and laboratory study of pain in relation to exercise in humans. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 27, 119-166.
- Oba, T., Koshita, M. & Yamaguchi, M. (1996). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> modulates twitch tension and increases Po of Ca<sup>2+</sup> release channel in frog skeletal muscle. *American journal of Physiology*, 63, 460–468.
- O'Donnell, V.B., Spycher, S. & Azzi, A. (1995). Involvement of oxidants and oxidant-generating enzyme(s) in tumor necrosis factor- $\alpha$ -mediated apoptosis: role for

- lipoygenase pathway but not mitochondrial respiratory chain. *Biochemical journal*, 310, 133–141.
- Ogilvie., R.W., Armstrong., R.B., Baird., K.E. & Bottoms, C.L. (1988). Lesions in the rat soleus muscle following eccentrically biased exercise. *American Journal of Anatomy*, 182, 335-346.
- Ohnhaus, E.E. & Adler, R. (1975). Methodological problems in the measurement of pain: A comparison between the verbal rating scale and the visual analogue scale. *Pain*, 1, 379-384.
- Okabe, E., Kuse, K., Sekishita, T., Suyama, N., Tanaka, K. & Ito, H. (1991). The effect of ryanodine on oxygen free radical-induced dysfunction of cardiac sarcoplasmic reticulum. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 256, 868– 875.
- Olguin, H.C. & Olwin, B.B. (2004). Pax-7 up-regulation inhibits myogenesis and cell cycle progression in satellite cells: A potential mechanism for self-renewal. *Developmental Biology*, 275, 375-388.
- Olsson, B., Johansson, M., Gabrielsson, J. & Bolme, P. (1988). Pharmacokinetics and bioavailability of reduced and oxidized N-acetylcysteine. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 34, 77-82.
- Orino, K., Lehman, L., Tsuji, Y., Ayaki, H., Torti, S.V. & Torti, F.M. (2001). Ferritin and the response to oxidative stress. *Biochemical Journal*, 357, 241-247.
- Ortenblad, N., Madsen, K. & Djurhuus, M.S. (1997). Antioxidant status and lipid peroxidation after short term maximal exercise in trained and untrained humans. *American Journal of Physiology*, 272, (4), R1258-R1263.
- Ouchi, N., Shibata, R. & Walsh, K. (2005). AMP-activated protein kinase signaling stimulates VEGF expression and angiogenesis in skeletal muscle. *Circulation Research*, 96, (8), 838-846.
- Ozhogina, O.A. & Kasaikina, O.T. (1995).  $\beta$ -carotene as an interceptor of free radicals. *Free Radical Biology & Medicine*, 19, (5), 575-581.

- P'erusse, L., Collier, J., Gagnon, J.H., Leon, A.S., Rao, D.C., Skinner, J.S., Wilmore, J.H., Nadeau, A., Zimmet, P.Z. & Bouchard, C. (1997). Acute and chronic effects of exercise on leptin levels of humans. *Journal of Applied Physiology*, 83, 5-10.
- Packer, L. (1997). Oxidants, antioxidant nutrients and the athlete. *Journal of Sports Science*, 15, (3), 353-363.
- Packer, L., Witt, E.H. & Tritschler, H.J. (1995). Alpha lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radical Biology and Medicine*, 19, 227-250.
- Papanikolaou, D.A., Petrides, G.S., Tsigos, C., Bina, S., Kalogeras, K.T., Wilder, R., Gold, P.W., Deuster, P.A. & Chrousos, G.P. (1996). Exercise stimulates interleukin 6 secretion: inhibition by glucocorticoids and correlation with catecholamines. *American Journal of Physiology*, 271, E601-E605.
- Paschalis, V., Koutedakis, Y., Baltzopoulos, V., Mougios, V., Jamurtas, A.Z. & Theoharis, V. (2005). The effect of muscle damage on running economy in healthy males. *International Journal of Sports Medicine*, 26, 827-831.
- Patapoutian, A., Yoon, J.K., Miner, J.H., Wang, S., Stark, K. & Wold, B. (1995). Disruption of the mouse MRF4 gene identifies multiple waves of myogenesis in the myotome. *Development*, 121, 3347-3358.
- Patsoukis, N., Zervoudakis, G., Panagopoulos, N.T., Georgiou, C.D., Angelatou, F. & Matsokis, N.A. (2004). Thiol redox state (TRS) and oxidative stress in the mouse hippocampus after pentylenetetrazol-induced epileptic seizure. *Neuroscience Letters*, 357, 83-86.
- Peake, J., Nosaka, K. & Suzuki, K. (2005). Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. *Exercise Immunology Review*, 11, 64-85.
- Peake, J., Suzuki, K. & Coombes, J.S. (2007). The influence of antioxidant supplementation on markers of inflammation and the relationship to oxidative stress after exercise. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 18, 357-371.

- Pedersen, B.K., Ostrowski, K., Rohde, T. & Bruunsgaard, H. (1998). The cytokine response to strenuous exercise. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 76, (5), 505-511.
- Pelleymounter, M.A., Cullen, M.J., Baker, M.B., Hecht, R., Winter, D., Boone, T. & Collins, F. (1995). Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science*, 269, 540-546.
- Pendyala, L. & Creaven, P.J. (1995). Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Studies of N-Acetylcysteine, a Potential Chemopreventive Agent during a Phase I Trial". *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 4, 245-251.
- Peters, E.M., Anderson, R., Nieman, D.C., Fickl, H. & Jogessar, V. (2001). Vitamin C supplementation attenuates the increases in circulating cortisol, adrenaline and anti-inflammatory polypeptides following ultramarathon running. *International Journal of Sports Medicine*, 22, (7), 537-543.
- Petersen, A.C., McKenna, M.J., Medved, I., Murphy, K.T., Brown, M.J., Gatta, P.D. & Cameron-Smith, D. (2011). Infusion with the antioxidant N-acetylcysteine attenuates early adaptive responses to exercise in human skeletal muscle *Acta Physiologica*, 9, 1748-1756.
- Petibois, C., Cazorla, G., Poortmans, J.R. & Deleris, G. (2002). Biochemical aspects of overtraining in endurance sports. *Sports Medicine*, 32, (13), 867-878.
- Petrella, J.K., Kim, J.S., Mayhew, D.L., Cross, J.M. & Bamman M.M. (2008). Potent myofiber hypertrophy during resistance training in humans is associated with satellite cell-mediated myonuclear addition: a cluster analysis. *Journal of Applied Physiology*, 104, 1736-1742.
- Petridou, A., Chatzinikolaou, A., Fatouros, I., Mastorakos, G., Mitrakou, A., Chandrinou, H., Papassotiriou, I. & Mougios, V. (2007). Resistance exercise does not affect the serum concentrations of cell adhesion molecules. *British Journal of Sports Medicine*, 41, (2), 76-79.

- Philippou, A., Maridaki, M., Theos, A. & Koutsili;eris, M. (2012). Cytokines in muscle damage. *Advances in Clinical Chemistry*, 58, 49-87.
- Phillips, T., Childs, A.C., Dreon, D.M., Phinney, S. & Leeuwenburgh, C. (2003). A Dietary Supplement Attenuates IL-6 and CRP after Eccentric Exercise in Untrained Males. *Medicine & Science in Sports & Exercise.*, 35, (12), 2032–2037.
- Pierce, A.P., de Waal, E., McManus, L.M., Shireman, P.K. & Chaudhuri, A.R. (2007). Oxidation and structural perturbation of redox-sensitive enzymes in injured skeletal muscle. *Free Radical Biology & Medicine*, 43, 1584–1593.
- Pietta, P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63, 1035-1042.
- Pimorady-Esfahani, A., Grounds, M.D. & McMenamin, P.G. (1997). Macrophages and dendritic cells in normal and regenerating murine skeletal muscle. *Muscle Nerve*, 20, 158–166.
- Pincemail, J., Lecomte, J., Castiau, J., Collard, E., Vasankari, T., Cheramy-Bien, J-P, Limet, R. & Defraigne, J-O. (2000). Evaluation of autoantibodies against oxidized LDL and antioxidant status in top soccer and basketball players after 4 months of competition. *Free Radical Biology & Medicine*, 28, (4), 559-565.
- Pinheiro, C.H., Vitzel, K.F. & Curi, R. (2010). Effect of N-acetylcysteine on markers of skeletal muscle injury after fatiguing contractile activity. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*. <http://onlinelibrary.wiley.com>.
- Pisters, P.W. & Pearlstone, D.B. (1993). Protein and amino acid metabolism in cancer cachexia: investigative techniques and therapeutic interventions. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 30, 223–272.
- Pizza, F.X., Peterson, J.M., Baas, J.H. & Koh, T.J. (2005). Neutrophils contribute to muscle injury and impair its resolution after lengthening contractions in mice. *Journal of Physiology*, 562, 899–913.
- Pober, J. (1990). Cytokines and endothelial cell biology. *Physiological Reviews*, 70, 427-451.



- Portanova, J.P., Zhang, Y., Anderson, G.O., Hauser, S.D., Masferrer, J.L., Seibert, K., Gregory, S.A. & Isakson, P.C. (1996). Selective neutralization of prostaglandin E2 blocks inflammation, hyperalgesia and interleukin 6 production in vivo. *Journal of Experimental Medicine*, 184, 883-891.
- Poulsen, H.E., Loft, S. & Vistisen, K. (1996). Extreme exercise and oxidative DNA modification. *Journal of Sports Sciences*, 14, 343-346.
- Powers, S.K. & Jackson, M.J. (2008). Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiological Reviews*, 88, 1243-1276.
- Powers, S.K. & Lennon, S.L. (1999). Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 58, 1025-1033
- Prescott, L.F., Donovan, J.W., Jarvie, D.R. & Proudfoot, A.T. (1989). The disposition and kinetics of intravenous N-acetylcysteine in patients with paracetamol overdose. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 37, 501-506.
- Prior, R.L. & Cao, G. (1999). In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology & Medicine*, 27, (11-12), 1173-1181.
- Proske, U. & Allen, T.J. (2005). Damage to skeletal muscle from eccentric exercise. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 33, 98-104.
- Proske, U. & Morgan, D.L. (2001). Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. *The Journal of Physiology*, 537, 333-345.
- Pyne, D. B. (1994). Regulation of neutrophil function during exercise. *Sports Medicine*, 17, 245-258.
- Quadrilatero, J. & Hoffman-Goetz, L. (2004). N-Acetyl-L-cysteine prevents exercise-induced intestinal lymphocyte apoptosis by maintaining intracellular glutathione levels and reducing mitochondrial membrane depolarization. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 319, 894-901.

- Quadrilatero, J. & Hoffman-Goetz, L. (2005). Mouse thymocyte apoptosis and cell loss in response to exercise and antioxidant administration. *Brain, Behavior, and Immunity*, 19, 436–444.
- Quinn, L.S., Haugk, K.L. & Grabstein, K.H. (1995). Interleukin-15: a novel anabolic cytokine for skeletal muscle. *Endocrinology*, 136, 3669–3672.
- Quinn, L.S., Steinmetz, B., Maas, A., Ong, L. & Kaleko, M. (1994). Type-1 insulin-like growth factor receptor overexpression produces dual effects on myoblast proliferation and differentiation. *Journal of Cellular Physiology*, 159, 387–398.
- Racette, S.B., Coppack, S.W., Landt, M. & Klein, S. (1997). Leptin production during moderate-intensity aerobic exercise. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 82, 2275–2277.
- Radak, Z. (2000). *Free radicals in exercise and aging*. In: Human Kinetics, eds. Versa Press.
- Radák, Z., Kaneko, T., Tahara, S., Nakamoto, H., Ohno, H., Sasvári, M., Nyakas, C. & Goto, S. (1999). The effect of exercise training on oxidative damage of lipids proteins and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. *Free Radical Biology & Medicine*, 27, (1-2), 69-74.
- Radak, Z., Pucsok, J., Mecseki, S., Csont, T & Ferdinandy, P. (1999). Muscle soreness-induced reduction in force generation is accompanied by increased nitric oxide content and DNA damage in human skeletal muscle. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, (7-8), 1059-1063.
- Rahman, I. & MacNee, W. (2000). Oxidative stress and regulation of glutathione in lung inflammation. *European Respiratory Journal*, 16, 534–554
- Ramey, D.W. & Tiidus, P.M. (2002). Massage therapy in horses: Assessing its effectiveness from empirical data in humans and animals. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 24, 418-423.

- Ramires, P., Ji, L.L. (2001). Glutathione supplementation and training increases myocardial resistance to ischemia-reperfusion in vivo. *American Journal of Physiology*, 281, H679–H688
- Rawls, A., Morris, J.H., Rudnicki, M., Braun, T., Arnold, H.H., Klein, W.H. & Olso, E.N. (1995). Myogenin's functions do not overlap with those of MyoD or Myf-5 during mouse embryogenesis. *Development Biology*, 172, 37-50.
- Ray, S., Watkins, D.N., Misso, N.L. & Thompson, P.J. (2002). Oxidant stress induces gamma-glutamylcysteine synthetase and glutathione synthesis in human bronchial epithelial NCI-H292 cells. *Clinical & Experimental Allergy*, 32, 571–577.
- Reddy, Y.N., Murthy, S.V., Krishna, D.R. & Prabhakar, M.C. (2004). Role of free radicals and antioxidants in tuberculosis patients. *Indian Journal of Tuberculosis*, 51, 213-218.
- Regnier, M., Lorenz, R.R. & Sieck, G.C. (1992). Effects of oxygen radical scavengers on force production in single living frog skeletal muscle fibers (Abstract). *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 6, A1819.
- Reid, M. B. (1998). Role of nitric oxide in skeletal muscle: synthesis, distribution, and functional importance. *Acta Physiologica Scandinavica*, 162, 401–409.
- Reid, M.B. & Moody, M.R. (1994). Dimethyl sulfoxide depresses skeletal muscle contractility. *Journal of Applied Physiology*, 76, (5), 2186-2190.
- Reid, M.B. (1996). Cytochrome c reduction assay detects nitric oxide release by rat diaphragm. In: *The Biology of Nitric Oxide*, Part 5, S. Moncada, J. Stamler, S. Gross, and E. Higgs (Eds.). London: Portland Press, 1996, pp. 45.
- Reid, M.B. (1998). Muscle fatigue: mechanisms and regulation. In: *Exercise and Oxygen Toxicity*, Sen, C.K., Packer, L. & Hanninen, O. (Eds.). Amsterdam: Elsevier Science B.V., 1998, pp. 599–630.
- Reid, M.B. (2001). *Plasticity in Skeletal, Cardiac, and Smooth Muscle* Invited Review: Redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't. *Journal of Applied Physiology*, 90, 724–731.

- Reid, M.B.(2008). Free radicals and muscle fatigue: Of ROS, canaries, and the IOC. *Free Radical Biology & Medicine*, 44, 169–179.
- Reid, M.B., Haack, K.E., Franchek, K.M., Valberg, P.A., Kobzik, L. & West, M.S. (1992). Reactive oxygen in skeletal muscle: I. Intracellular oxidant kinetics and fatigue in vitro. *Journal of Applied Physiology* 73:1797–1804.
- Reid, M.B., Khawli, F.A. & Moody, M.R. (1993). Reactive oxygen in skeletal muscle: III. Contractility of unfatigued muscle. *Journal of Applied Physiology*, 75, 1081–1087.
- Reid, M.B., Kobzik, L., Bredt, D.S. & Stamler, J.S. (1998). Nitric Oxide Modulates Excitation-Contraction Coupling in the Diaphragm. *Comparative Biochemistry & Physiology*, 119A, (1), 211–218.
- Reid, M.B., Shoji, T., Moody, M.R. & Entman, M.L. (1992). Reactive oxygen in skeletal muscle: II. Extracellular release of free radicals. *Journal of Applied Physiology*, 73, 1805–1809.
- Reid, M.B., Stokic, D.S., Koch, S.M., Khawli, F.A. & Leis, A.A. (1994). N-Acetylcysteine inhibits muscle fatigue in humans. *Journal of Clinical Investigation*, 94, 2468-2474.
- Ren, Y. & Savill, J. (1995). Proinflammatory cytokines potentiate thrombospondin-mediated phagocytosis on neutrophils undergoing apoptosis. *Journal of Immunology*, 154, 2366-2374.
- Renke J, Popadiuk S, Korzon M, Bugajczyk B, Wozniak M. (2000). Protein carbonyl groups' content as a useful clinical marker of antioxidant barrier impairment in plasma of children with juvenile chronic arthritis. *Free Radical Biology & Medicine*, 29, (2), 101-104.
- Resnick, A.Z., Witt, E., Matsumoto, M. & Packer, L. (1992). Vitamin E inhibits protein oxidation in skeletal muscle of resting and exercised rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 189, 801-806.
- Rhind, S.G., Shek, P.N. & Shephard, R.J. (1995). The impact of exercise on cytokines and receptor expression. *Experimental Immunology Review*, 1, 97-148.

- Rimbach, G., Hohler, D., Fischer, A., Roy, S., Virgili, F., Pallauf, J. & Packer, L. (1999). Methods to assess free radicals and oxidative stress in biological systems. *Archiv fur Tierernahrung*, 52, (3), 203-222.
- Ristow, M., Zarse, K., Oberbach, A., Kloting, N., Birringer, M., Kiehntopf, M., Stumvoll, M., Kahne, C.R. & Bluher, M. (2009). Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. *PNAS*, 106, (21), 8665-8670.
- Roberts, C.K., Barnard, R.J., Scheck, S.H. & Balon, T.W. (1997). Exercise-stimulated glucose transport in skeletal muscle is nitric oxide dependent. *American Journal Physiology*, 273, E220–E225.
- Roberts, C.K., Won, D. Pruthi, S., Lin, S.S. & Barnard, R.J. (2006). Effect of a diet and exercise intervention on oxidative stress, inflammation and monocyte adhesion in diabetic men. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 73, 249-259.
- Rodenburg, J.B., Bär, P.R. & Deboer, R.W. (1993). Relations between muscle soreness and biochemical and functional outcomes of eccentric. *Journal of Applied Physiology*, 74(6), 2976-2983.
- Rodenburg, J.B., Steenbeek, D., Schiereck, P. & Bar, P.R. (1994). Warm-up, stretching and massage diminish harmful effects of eccentric exercise. *International Journal of Sports Medicine*, 15, 414-419.
- Rogers, M.A., Stull, G.A. & Apple, F.S. (1985). Creatine kinase isoenzyme activities in men and women following a marathon race. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 17, 679-682.
- Rohde, T., MacLean, D.A., Richter, E.A., Kiens, B. & Pedersen, B.K. (1997). Prolonged submaximal eccentric exercise is associated with increased levels of plasma IL-6. *American Journal of Physiology*, 273, E85-E91.
- Rokitski, L., Logemann, E., Sagredos, A.N., Murphy, M., Wetzel-Roth, W. & Keul, J. (1994). Lipid peroxidation and antioxidative vitamins under extreme endurance stress. *Acta Physiologica Scandinavia*, 151, 149-158.



- Rose, A.J. & Hargreaves, M. (2003). Exercise increases Ca<sub>2+</sub>-calmodulin-dependent protein kinase II activity in human skeletal muscle. *Journal of Physiology*, 553, 303–309.
- Rose, A.J., Kiens, B. & Richter, E.A. (2006). Ca<sub>2+</sub>-calmodulin-dependent protein kinase expression and signalling in skeletal muscle during exercise. *Journal of Physiology*, 574, 889–903.
- Rosenberg, H.F. & Gallin, J.I. (1993). Neutrophil-specific granule deficiency includes eosinophils. *Blood*, 82(1), 268-273.
- Rothstein, J.M., Miller, P.J. & Roettger, R.F. (1983). Goniometry reliability in a clinical setting: elbow and knee measurements. *Physical Therapy*, 63, 1611-1615.
- Roys, S., Sen, C.K., Gozin, A., Andrieu, V. & Pasquier, C. (2000). Redox regulation of cell adhesion processes. In: *Antioxidants and Redox Regulation of Genes*, edited by Sen, K., Sies, H. & Baeuerle, P. San Diego, CA: Academic, p. 265–295.
- Rudnicki, M.A., Schnegelsberg, P.N., Stead, R.H., Braun, T., Arnold, H.H. & Jaenisch, R. (1993). myoD or Myf-5 is required for the formation of skeletal muscle. *Cell*, 75, 1351-1359.
- Ryan, G.B. (1977). Acute inflammation. *American Journal of Pathology*, 86, 185-284.
- Saadi, S., Wrenshall, L.E. & Platt, J.L. (2002). Regional manifestations and control of the immune system. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 16, (8), 849-856.
- Sable, C.L., Filippa, N., Hemmings, B. & Van Obberghen, E. (1997). cAMP stimulates protein kinase B in a wortmannin-insensitive manner. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 409, 253–257.
- 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 Radical Biology and Medicine*, 34, 1575-1588.

- Saengsirisuwan, V., Kinnick, T.R., Schmit, M.B. & Henriksen, E.J. (2001). Interactions of exercise training and lipoic acid on skeletal muscle glucose transport in obese Zucker rats. *Journal of Applied Physiology*, 91, 145-153.
- Saengsirisuwan, V., Perez, F.R., Sloniger, J.A., Maier, T. & Henriksen, E.J. (2004). Interactions of exercise training and alpha lipoic acid on insulin signaling in skeletal muscle of obese Zucker rats. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*, 287, E529-E536.
- Safran., M.R., Seaber., A.V. & Garrett., J.W.E. (1989). Warm-up and muscular injury prevention, an update. *Sports Medicine*, 8, (4), 239-249.
- Saito, Y., Geisen, P., Uppal, A. & Hartnett, M.E. (2007). Inhibition of NAD(P)H oxidase reduces apoptosis and avascular retina in an animal model of retinopathy of prematurity. *Molecular Vision*, 13, 840-853.
- Sakamoto, K. & Goodyear, L.J. (2002). Invited review: intracellular signaling in contracting skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 93, 369– 383.
- Sakamoto, K., Hirshman, M.F., Aschenbach, W.G. & Goodyear, L.J. (2002). Contraction regulation of Akt in rat skeletal muscle. *Journal of Biological Chemistry*, 277, 11910–11917.
- Sakaue, H., Ogawa, W., Takata, M., Kuroda, S., Kotani, K., Matsumoto, M., Sakaue, M., Nishio, S., Ueno, H. & Kasuga, M. (1997). Phosphoinositide 3-kinase is required for insulin-induced but not for growth hormone- or hyperosmolarity-induced glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes. *Molecular Endocrinology*, 11, 1552– 1562.
- Sale, D.G. (1987). Influence of exercise and training on motor unit activation. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 15, 95-151.
- Saxton, J.M., Clarkson, P.M., James, R., Miles, M., Westerfer, M., Clark, S. & Donnelly, A.E. Neuromuscular dysfunction following eccentric exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 27, 1185-1193.

- Schafer, F.Q. & Buettner, G.R. (2001). Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radical Biology & Medicine*, 30, (11), 1191-1212.
- Scharffetter-Kochanek, K., Wlaschek, M., Briviba, K. & Sies, H. (1993). Singlet oxygen induces collagenase expression in human skin fibroblasts. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 331, 304-306.
- Schieven, G.L., Kiriwara, J.M., Myers, D.E., Ledbetter, J.A. & Uckun, F.M. (1993). Reactive oxygen intermediates activate NF-kappa B in a tyrosine kinase-dependent mechanism and in combination with vanadate activate the p56lck and p59fyn tyrosine kinases in human lymphocytes. *Blood*, 82, 1212-1220.
- Schieven, G.L., Mittler, R.S., Nadler, S.G., Kiriwara, J.M., Bolen, J.B., Kanner, S.B. & Ledbetter, J.A. (1994). ZAP-70 tyrosine kinase, CD45, and T cell receptor involvement in UV- and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced T cell signal transduction. *Journal of Biological Chemistry*, 269, 20718-20726.
- Schmid, E., El Benna, J., Galter, D., Klein, G. & Dröge, W. (1998). Redox priming of the insulin receptor b-chain associated with altered tyrosine kinase activity and insulin responsiveness in the absence of tyrosine autophosphorylation. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 12, 863-870.
- Schoonbroodt, S., Legrand-Poels, S., Best-Belpomme, M. & Piette, J. (1997). Activation of the NF-kB transcription factor in a T-lymphocytic cell line by hypochlorous acid. *Biochemical Journal*, 321, 777-785.
- Schulze-Osthoff, K., Bakker, A.C., Vanhaesebroeck, B., Beyaert, R., Jacob, W.A. & Fiers, W. (1992). Cytotoxic activity of tumor necrosis factor is mediated by early damage of mitochondrial functions. Evidence for the involvement of mitochondrial radical generation. *Journal of Biological Chemistry*, 267, 5317-5323.
- Schwane, J.A., Watrous, B.G., Johnson, S.R. & Armstrong, R.B. (1983). Is lactic acid related to delayed-onset muscle soreness? *Physician and Sportsmedicine*, 11, (3), 124-131.

- Schwartz, M.W., Baskin, D.G., Bukowski, T.R., Kuijper, J.L., Foster, D., Lasser, G., Prunkard, D.E., Porte, D.Jr., Woods, S.C., Seeley, R.J. & Weigle, D.S. (1996). Specificity of leptin action on elevated blood glucose levels and hypothalamic neuropeptide Y gene expression in ob/ob mice. *Diabetes*, 45, 531–535.
- Sekhar, K. R., Meredith, M. J. & Kerr, L. D., Soltaninassab, S. R., Spitz, D. R., Xu, Z. Q. & Freeman, M. L. (1997). Expression of glutathione and gammaglutamylcysteine synthetase mRNA is Jun dependent. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 234, 588–593.
- Sen, C. K. & Packer, L. (1996). Antioxidant and redox regulation of gene transcription. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 10, 709–720.
- Sen, C. K. (2003). The general case for redox control of wound repair. *Wound Repair & Regeneration*, 11, 431–438
- Sen, C. K., Ataly, M., Agren, J., Laaksonen, D.E., Roy, S. Hanninen, O. (1997). Fish oil and vitamin E supplementation in oxidative stress at rest and after physical exercise. *Journal of Applied Physiology*, 83, (1), 189-195.
- Sen, C. K., Khanna, S., Babior, B. M., Hunt, T. K., Ellison, E. C. & Roy, S. (2002). Oxidant induced vascular endothelial growth factor expression in human keratinocytes and cutaneous wound healing. *Journal of Biological Chemistry*, 277, 33284–33290.
- Sen, C.K. & Packer, L. (2000). Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *American Journal Clinical Nutrition*, 72, 653S-669S.
- Sen, C.K. (1995). Oxidants and antioxidants in exercise. *Journal of Applied Physiology*, 79, 675–686.
- Sen, C.K. (1997). Nutritional biochemistry of cellular glutathione. *Journal of Nutritional & Biochemistry*, 8, 660–672.
- Sen, C.K. (1998). Redox signaling and the emerging therapeutic potential of thiol antioxidants. *Biochemical Pharmacology*, 55, 1747–1758.

- Sen, C.K. (2001). Antioxidant and redox regulation of cellular signaling: introduction. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 33, (3), 368-370.
- Sen, C.K., Kolosova, I., Hänninen, O. & Orlov, S.N. (1995). Inward potassium transport systems in skeletal muscle derived cells are highly sensitive to oxidant exposure. *Free Radic Biology & Medicine*, 18, (4), 795-800.
- Sen, C.K., Rankinen, T., Vaisanen, S. & Rauramaa R. (1994). Oxidative stress after human exercise: effect of N-acetylcysteine supplementation. *Journal of Applied Physiology*, 76, (6), 2570-2577.
- Serhan CN, Savill J. (2005). Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nature Immunology*, 6, 1191-1197.
- Servais, S., Couturier, K., Koubi, H., Rouanet, J.L., Desplanches, D., Sornay-Mayet, M.H., Sempore, B., Lavoie, J.M. & Favier, R. (2003). Effect of voluntary exercise on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> release by subsarcolemmal and intermyofibrillar mitochondria. *Free Radical Biology & Medicine*, 35, (1), 25-32
- Sevanian, A., Davies, K.J.A. & Hochstein, P. (1991). Serum urate as an antioxidant for ascorbic acid. *American Journal Clinical Nutrition*, 54, 1129S-1134S.
- Severs, Y., Brenner, I., Shek, P.N. & Shephard, R.J. (1996). Effects of heat and intermittent exercise on leukocyte and sub-population cell counts. *European Journal of Applied Physiology*, 74, 234-245.
- Shafat, A., Butler, P., Jensen, R.L. & Donnelly, A.E. (2004). Effects of dietary supplementation with vitamins C and E on muscle function during and after eccentric contractions in humans. *European Journal of Applied Physiology*, 93, 196-202.
- Sharman, I.M., Down, M.G. & Sen, R.N. (1971). The effects of vitamin E and training on physiological function and athletic performance in adolescent swimmers. *Journal of Nutrition*, 26, 265-276.
- Shearer, J.D., Coulter, C.F., Engeland, W.C., Roth, R.A. & Caldwell, M.D. (1997). Insulin is degraded extracellularly in wounds by insulin-degrading enzyme (EC 3.4.24.56). *American Journal of Physiology*, 273, E657-E664.



- Sheehan, S.M. & Allen, R.E. (1999). Skeletal muscle myogenic satellite cell proliferation in response to members of the fibroblast growth factor family and hepatocyte growth factor. *Journal of Cellular Physiology*, 181, 499-506.
- Shephard, R.J., Rhind, S. & Shek, P.N. (1994). Exercise and training: influences on cytotoxicity, interleukin-1, interleukin-2 and receptor structures. *International Journal of Sports Medicine*, 15(suppt), S154-S166.
- Sherwood, L. (2007). Body defenses. In: Adams, P. (Eds.), *Human physiology: from cells to systems*. (pp. 410-413) Belmont (CA): Thomson Brooks/Cole.
- Sheu, M.L., Chiang, C.K., Tsai, K.S., Ho, F.M., Weng, T.I., Wu, H.Y. & Liu, S.H. (2008). Inhibition of NADPH oxidase-related oxidative stress-triggered signaling by honokiol 3 suppresses high glucose-induced human endothelial cell apoptosis. *Free Radical Biology & Medicine*. <http://www.sciencedirect.com>
- Shibanuma, M., Kuroki, T. & Nose, K. (1988). Induction of DNA replication and expression of proto-oncogene *c-myc* and *c-fos* in quiescent Balb/3T3 cells by xanthine/xanthine oxidase. *Oncogene*, 3, 17-21.
- Shimomura, Y., Suzuki, M., Sugiyama, S., Hanaki, Y. & Ozawa, T. (1991). Protective effect of coenzyme Q10 on exercise induced muscular injury. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 176, 349-355.
- Sies, H. (1997). *Antioxidants in disease mechanisms and therapeutic strategies*. San Diego (CA): Academic Press.
- Silva, L.A., Pinho, C.A., Silveira, P.C.L., Tuon, T., De Souza, C.T., Dal-Pizzol, F. & Pinho, R.A. (2010). Vitamin E supplementation decreases muscular and oxidative damage but not inflammatory response induced by eccentric contraction *Journal of Physiology & Science*, 60, 51-57.
- Silva, L.A., Silveira, P.C.L., Pinho, C.A., Tuon, T., Pizzol, F.D. & Pinho, R.A. (2008). N-Acetylcysteine Supplementation and Oxidative Damage and Inflammatory Response After Eccentric Exercise. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 18, 379-388.

- Sjödin, K., Nilsson, E., Hallberg, A. & Tunek, A. (1989). Metabolism of N-acetylcysteine. Some structural requirements for the deacetylation and consequences for the oral bioavailability. *Biochemical Pharmacology*, 38, 3981-3985.
- Slater, A.F., Stefan, C., Nobel, I., van den Dobbelsteen, D.J. & Orrenius, S. (1995). Signalling mechanisms and oxidative stress in apoptosis. *Toxicology Letters*, 82-83, 149-153.
- Smith, C., Kruger, M.J., Smith, R.M. & Myburgh, K.H. (2008). The inflammatory response to skeletal muscle injury: illuminating complexities. *Sports Medicine*, 38, 947-969.
- Smith, J.A., Telford, R.D., Baker, M.S., Hapel, A.J. & Weidemann, M.J. (1992). Cytokine immunoreactivity in plasma does not change after moderate endurance exercise. *Journal of Applied Physiology*, 73, 1396-1401.
- Smith, L.L. (1991). Acute inflammation: the underlying mechanism in delayed onset muscle soreness? *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 23, 542-551.
- Smith, L.L., Anwar, A., Fragen, M., Rananto, C., Johnson, R. & Holbert, D. (2000). Cytokines and cell adhesion molecules associated with high-intensity eccentric exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 82, (1-2), 61-67.
- Smith, L.L., McCammon, M., Smith, S., Chamness, M., Israel, R.G. & O'Brien, K.F. (1989). White blood cell response to uphill walking and downhill jogging at similar metabolic loads. *European Journal of Applied Physiology*, 58, 833-837.
- Smith, L.L., Wells, J.M., Houmard, J.A., Smith, S.T., Israel, R.G., Chenier, T.C. & Pennington, S.N. (1993). Increases in plasma prostaglandin E2 after eccentric exercise. *Hormone and Metabolism Research*, 25, 451-452.
- Smith, N.C., Dunnett, M. & Mills, P.C. (1995). Simultaneous quantitation of oxidised and reduced glutathione in equine biological fluids by reversed-phase high-performance liquid chromatography using electrochemical detection. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 673, (1), 35-41.

- Smith., H.K., Plyley., M.J., Rodgers., C.D. & McKee, N.H. (1997). Skeletal muscle damage in the rat hindlimb following single or repeated daily bouts of downhill exercise. *International Journal of Sports Medicine*, 18, 94-100.
- Sonnet, C., Lafuste, P., Arnold, L., Brigitte, M., Poron, F., Authier, F.J., Chrétien, F., Gherardi, R.K. & Chazaud, B. (2006). Human macrophages rescue myoblasts and myotubes from apoptosis through a set of adhesion molecular systems. *Journal of Cell Science*, 119, (12), 2497-2507.
- Spiegelman, B.M. & Hotamisligil, G.S. (1993). Through thick and thin: Wasting, obesity, and TNF alpha. *Cell*, 73, 625-627.
- Squier, M.K., Sehnert, A.J. & Cohen, J.J. (1995). Apoptosis in leukocytes. *Journal of Leukocyte Biology*, 57, 2-10.
- St Pierre, B.A. & Tidball, J.G. (1994). Differential response of macrophage subpopulations to soleus muscle reloading after rat hindlimb suspension. *Journal of Applied Physiology*, 77, 290-297.
- Stadtman, E.R. & Levine, R.L. (2000). Protein oxidation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 899, 191-208.
- Staron, R.S., Hikida, R.S., Murray, T.F., Nelson, M.M., Johnson, P. & Hagerman, F. (1992). Assessment of skeletal muscle damage in successive biopsies from strength-trained and untrained men and women. *European Journal of Applied Physiology*, 65, 258-264.
- Stauber, W.T. (1989). Eccentric action of muscles: physiology injury and adaptation. In: Pandolf, K.P., *Exercise and sport science reviews* (pp.157-186). Baltimore (MD): William & Wilkins.
- Steghens, J.P., Flourie, F., Arab, K. & Collombel, C. (2003). Fast liquid chromatography-mass spectrometry glutathione measurement in whole blood: micromolar GSSG is a sample preparation artifact. *Journal of Chromatography B*, 798, (2), 343-349.
- Stephans, T.W., Basinki, M., Bristow, P.K., Bue-Valleskey, J.M., Burgett, S.G, Craft, L., Hale, J., Hoffmann, J., Hsiung, H.M., Kriauciunas, A., MacKellar, W., Rosteck, Jr.,

- P.R., Schoner, B., Smith, D., Tinsley, F.C., Zhang, X.Y. & Heiman, M. (1995). The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. *Nature*, 377, 530–532.
- St-Pierre, J., Drori, S., Uldry, M., Silvaggi, J.M., Rhee, J., Jager, S., Handschin, C., Zheng, K., Lin, J., Yang, W., Simon, K., Bachoo, R. & Spiegelman, B.M. (2006). Suppression of reactive oxygen species and neurodegeneration by the PGC-1 transcriptional coactivators. *Cell*, 127, 397–408.
- Strachan, A.F., Noakes, T.D., Kotzenberg, G., Nel, A.E. & deBeer, F.C. (1984). C-reactive protein concentrations during long distance running. *British Medicine Journal*, 289, 1249-1251.
- Strassmann, G., Fong, M., Kenney, J.S. & Jacob, C.O. (1992). Evidence for the involvement of interleukin 6 in experimental cancer cachexia. *Journal of Clinical Investigation*, 89, 1681–1684.
- Stupka, N., Tarnopolsky, M.A., Yardley, N.J. & Phillips S.M. (2001). Cellular adaptation to repeated eccentric exercise-induced muscle damage. *Journal of applied Physiology*, 91, 1669-1678.
- Suh, J.H., Shigeno, E.T., Morrow, J.D., Cox, B., Rocha, A.E., Frei, B. & Hagen, T.M. (2001). Oxidative stress in the aging rat hearts is reversed by dietary supplementation with (R)  $\alpha$ -lipoic acid. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 15, 700-706.
- Sumida, S., Tanaka, K., Kitao, H. & Nakadomo, F. (1989). Exercise induced lipid peroxidation and leakage of enzymes before and after vitamin E supplementation. *International Journal of Biochemistry*, 21, (8), 835-838.
- Supinski, G.S. & Callahan, L.A. (2007). Free radical-mediated skeletal muscle dysfunction in inflammatory conditions. *Journal of Applied Physiology*, 102, 2056–2063.
- Svanberg, E., Moller-Loswick, A., Mathews, D., Korner, U., Andersson, M. & Lundholm, K. (1996). Effects of amino acids on synthesis and degradation of skeletal muscle proteins in humans. *American Journal of Physiology*, 271, E718–E724.

- Svensson, M., Ekblom, B., Cotgreave, I., Norman, B., Sjoberg, B., Ekblom, O., Sjodin, B. & Sjodin, A. (2002). Adaptative stress response of glutathione and acid uric metabolism in man following controlled exercise and diet. *Acta Physiologica Scandinavica*, 176, 43-56.
- Svensson, M., Malm, C., tonkonori, M., Ekblom, B., Sjodin, B. & Sahlin, K. (1999). Effect of Q10 supplementation on tissue Q10 levels and adenine nucleotide catabolism during high intensity exercise. *International Journal of Sports Nutrition*, 9, 166-180.
- Sweeney, G., Somwar, R., Ramlal, T., Volchuk, A., Ueyama, A. & Klip, A. (1999). An inhibitor of p38 mitogen-activated protein kinase prevents insulin-stimulated glucose transport but not glucose transporter translocation in 3T3-L1 adipocytes and L6 myotubes. *The Journal of Biological Chemistry*, 274, 10071-10078.
- Szweda, P.A., Friguet, B. & Szweda, L.I. (2002). Proteolysis, free radicals and aging. *Free Radical Biology & Medicine*, 33, (1), 29-36.
- Takahashi, Y., Okimura, Y., Mizuno, I., Iida, K., Takahashi, T., Kaji, H., Abe, H. & Chihara, K. (1997). Leptin induces mitogen-activated protein kinase-dependent proliferation of C3H10t1/2 cells. *Journal of Biological Chemistry*, 272, (12), 897-900.
- Takekura, H., Fujinamy, N., Nishizawa, T., Ogasawara, H. & Kasuga, N. (2001). Eccentric exercise-induced morphological changes in the membrane systems involved in excitation-contraction coupling in rat skeletal muscle. *Journal of Physiology*, 533, 571-583.
- Tamura, S., Brown, T.A., Whipple, J.H., Fujita-Yamaguchi, Y., Dubler, R.E., Cheng, K. & Lerner, J. (1984). A novel mechanism for the insulin-like effect of vanadate on glycogen synthase in rat adipocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 259, 6650-6658.
- Tatsumi, R., Hattori, A., Ikeuchi, Y., Anderson, J.E. & Allen, R.E. (2002). Release of hepatocyte growth factor from mechanically stretched skeletal muscle myogenic satellite cells and role of ph in nitric oxide. *Molecular Biology of the Cell*, 13, 2090-2098.



- Tavazzi, B., Di Pierro, D., Amorini, A.M., Fazzina, G., Tuttobene, M., Giardina, B. & Lazzarino, G. (2000). Energy metabolism and lipid peroxidation of human erythrocytes as a function of increased oxidative stress. *European Journal of Biochemistry*, 267, 684-689.
- Taylor, C., Rogers, G., Goodman, C., Baynes R.D., Bothwell, T.H., Bezwoda, W.R., Kramer, F. & Hattingh, J. (1987). Hematologic, iron-related and acute-phase protein responses to sustained strenuous exercise. *Journal of Applied Physiology*, 62, 464-469.
- Taylor, R.P. & Starnes, J.W., (2003). Age, cell signalling and cardioprotection. *Acta Physiologica Scandinavica*, 178, 107-116.
- Teixeira, C.F., Zamuner, S.R., Zuliani, J.P., Fernandes, C.M., Cruz-Hofling, M.A., Fernandes, I., Chaves, F. & Gutiérrez, J.M. (2003). Neutrophils do not contribute to local tissue damage, but play a key role in skeletal muscle regeneration, in mice injected with *Bothrops asper* snake venom. *Muscle and Nerve*, 28, 449-459.
- Telford, R.D., Catchpole, E.A., Deakin, V., McLeay, A.C. & Plank, A.W. (1992). The effect of 7-8 months of vitamin/mineral supplementation on the vitamin and mineral status of athletes. *International Journal of Sports Nutrition*, 2, 132-134.
- Terentis, A.C., Thomas, S.R., Burr, J.A., Liebler, D.C. & Stocker, R. (2002). Vitamin E oxidation in human atherosclerotic lesions. *Circulation Research*, 90, (3), 333-339.
- Tesch, P.A., Dudley, G.A., Duvoisin, M.R., Hather, B.M. & Harris, R.T. (1990). Force and EMG signal patterns during repeated bouts of concentric or eccentric muscle actions. *Acta Physiologica Scandinavica*, 138, 263-271.
- Tessier, F., Margaritis, I., Richard, M.J., Moynot, C. & Marconnet, P. (1995). Selenium and training effects on the glutathione system and aerobic performance. *Medicine Science Sports & Exercise*, 27, (3), 390-396.
- Theodorou, A., Nikolaidis, M.G., Paschalis, V., Koutsias, S., Panayiotou, G., Fatouros, I.G., Koutedakis, Y. & Jamurtas, A.Z. (2011). No effect of antioxidant supplementation on muscle performance and blood redox status adaptations to eccentric training. *American Journal of Clinical Nutrition*, 93, 1373-1183.

- Thomas, M.J. (2000). The role of free radicals and antioxidants. *Nutrition*, 16, (7-8), 716-718.
- Thompson, D., Bailey, D.M., Hill, J., Hurst, T., Powell, J.R. & Williams, C. (2004). Prolonged vitamin C supplementation and recovery from eccentric exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 92, 133-138.
- Thompson, D., Williams, C., Garsia-Roves, P., McGregor, S.J., McArdle, F. & Jackson, M.J. (2003). Post-exercise vitamin C supplementation and recovery from demanding exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 89, 393-400.
- Thompson, D., Williams, C., Kingsley, M., Nicholas, C., Lakomy, H., McArdle, F. & Jackson, M.J. (2001). Muscle soreness and damage parameters after prolonged intermittent shuttle-running following acute vitamin C supplementation. *International Journal of Sports Medicine*, 22, 68-75.
- Thompson, D., Williams, C., McGregor, S.J., Nicholas, C.W., McArdle, F., Jackson, M.J. & Powell, J.R. (2001). Prolonged vitamin C supplementation and recovery from demanding exercise. *International journal of Sports Nutrition & Exercise Metabolism*, 11, (4), 466-481.
- Thompson-Gorman, S.L. & Zweier, J.L. (1990). Evaluation of the role of xanthine oxidase in myocardial reperfusion injury. *Journal of Biological Chemistry*, 265, (12), 6656-6663.
- Thor, H., Moldeus, P. & Orrenius, S. (1979). Metabolic activation and hepatotoxicity. Effect of cysteine, N-acetylcysteine, and methionine on glutathione biosynthesis and bromobenzene toxicity in isolated rat hepatocytes. *Archives of Biochemistry & Biophysics*, 192, 405-413.
- Thorell, A., Hirshman, M.F., Nygren, J., Jorfeldt, L., Wojtaszewski, J.F.P., Dufresne, S.D., Horton, E.S., Ljungqvist, O. & Goodyear, L.J. (1999). Exercise and insulin cause GLUT-4 translocation in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Endocrinology & Metabolism*, 277, E733-E741.

- Thorsson, O., Lilja, B., Nilsson, P. & Westlin, N. (1997). Immediate external compression in the management of an acute muscle injury. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, 7, (3), 182-190.
- Tidball J.G. (1995). Inflammatory cell response to acute muscle injury. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 27, (7), 1022-1032.
- Tidball, J.G. (2005). Inflammatory processes in muscle injury and repair. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative, and Comparative Physiology*, 288, (2), R345-353.
- Tidball, J.G., Berchenko, E. & Frenette, J. (1991). Macrophage invasion does not contribute to muscle membrane injury during inflammation. *Journal of Leukocyte Biology*, 65, 492-498.
- Tietze, F. (1969). Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Analytical Biochemistry*, 27, 502-522.
- Tiidus, P.M. (1997). Manual massage and recovery of muscle function following exercise: A literature review. *Journal of Orthopaedic and Sports Physical Therapy*, 25, 107-112.
- Tiidus, P.M. (1998). Radical species in inflammation and overtraining. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 76, (5), 533-538.
- Tobe, K., Burgering, B.M.T., Coffey, P.J., Komuro, I., Akanuma, Y., Yazaki, Y. & Kadowaki, T. (1998). Potential role of protein kinase B in insulin-induced glucose transport, glycogen synthesis, and protein synthesis. *Journal of Biological Chemistry*, 273, 5315-5322.
- Tokmakidis, S.P., Kokkinidis, E.A., Smilios, I., & Douda, H. (2003). The effects of ibuprofen on delayed muscle soreness and muscular performance after eccentric exercise. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 17, (1), 53-59.
- Toumi, H. & Best, T.M. (2003). The inflammatory response: friend or enemy for muscle injury? *British Journal of Sports Medicine*, 37, 284-286.

- Toumi, H., F'Guyer, S. & Best, T.M. (2006). The role of neutrophils in injury and repair following muscle stretch. *Journal of Anatomy*, 208, (4), 459-470.
- Tracey, K.J. & Cerami, A. (1993). Tumor necrosis factor, other cytokines and disease. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 9, 317-343.
- Tsivitse, S.K., McLoughlin, T.J., Peterson, J.M., Mylona, E., McGregor, S.J. & Pizza, F.X. (2003). Downhill running in rats: Influence on neutrophils macrophages and MyoD+ cells in skeletal muscle. *European Journal of Applied Physiology*, 90, 633-638.
- Turnbull, A.V., Dow, R.C., Hopkins, S.J., White, A., Fink, G. & Rothwell, N.J. (1994). Mechanisms of activation of the pituitary-adrenal axis by tissue injury in the rat. *Psychoneuroendocrinology*, 19, 165-178.
- Ueki, K., Yamamoto-Honda, R., Kaburagi, Y., Yamauchi, T., Tobe, K., Burgering, B.M.T., Coffey, P.J., Komuro, I., Akanuma, Y., Yazaki, Y. & Kadowaki, T. (1998). Potential role of protein kinase B in insulin-induced glucose transport, glycogen synthesis, and protein synthesis. *The Journal of Biological Chemistry*, 273, 5315-5322.
- Umansky, V., Rocha, M., Breitzkreutz, R., Hehner, S., Bucur, M., Erbe, N., Dröge, W. & Ushmorov, A. (2000). Glutathione is a factor of resistance of Jurkat leukemia cells to nitric oxide-mediated apoptosis. *Journal Cell Biochemistry*, 78, 578-587.
- Unruh, A.M., Strong, J. & Wright, A. (2002). Introduction to pain. In: Strong, A., Unruh, M. Wright, A. & Baxter, G.D. *Pain: A textbook for therapists* (pp.3-11). London, UK: Churchill Livingstone.
- Ushmorov, A., Ratter, F., Lehmann, V., Dröge, W., Schirmacher, V. & Umansky, V. (1999). Nitric oxide-induced apoptosis in human leukemic lines requires mitochondrial lipid degradation and cytochrome *c* release. *Blood*, 93, 2342-2352.
- Valdez, M.R., Richardson, J.A., Klein, W.H. & Olson, E.N. (2000). Failure of Myf5 to support myogenic differentiation without myogenin, MyoD, and MRF4. *Developmental Biology*, 219, 287-298.

- Van der Meulen, J.H., McArdel, A., Jackson, M.J. & Faulkner, J.A. (1997). Contraction induced injury to the extensor digitorum longus muscle of rats: the role of vitamin E. *Journal of Applied Physiology*, 83, 817-823.
- Van der Voort, R., Keehnen, R.M., Beuling, E.A., Spaargaren, M. & Pals, S.T. (2000). Regulation of cytokine signaling by B cell antigen receptor and CD40-controlled expression of heparan sulfate proteoglycans. *Journal of Experimental Medicine*, 192(8), 1115-1124.
- Vanhaesebroeck, B. & Alessi, D.R. (2000). The PI3K-PDK1 connection: more than just a road to PKB. *Biochemical Journal*, 346, 561-576.
- Vasankari, T.J., Kujala, U., Sarna, S. & Ahotupa, M. (1998). Effects of ascorbic acid and carbohydrate ingestion on exercise induced oxidative stress. *Journal of Sports medicine and Physical Fitness*, 38, 281-285.
- Vasankari, T.J., Kujala, U., Vasankari, T.M., Vuorimaa, T. & Ahotupa, M. (1997). Effects of acute prolonged exercise on serum and LDL oxidation and antioxidants defences. *Free Radical Biology & Medicine*, 22, (3), 509-513.
- Vierck, J., O'Reilly, B., Hossner, K., Antonio, J., Byrne, K., Bucci, L. & Dodson, M. (2000). Satellite cell regulation following myotrauma caused by resistance exercise. *Cell Biology International*, 24, 263-272.
- Vigue, C., Packer, L. & Brooks, G.A. (1989). Antioxidant supplementation affects indices of muscle trauma and oxidant stress in human blood during exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 21, S16.
- Walsh, B., Tonkonogi, M., Malm, C., Ekblom, B. & Sahlin, K. (2001). Effect of eccentric exercise on muscle oxidative metabolism in humans. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 33, (3), 436-441.
- Wang, W.Z., Fang, X.H., Stepheson, L.L., Khiabani, K.T. & Zamboni, W.A. (2005). Acute microvascular action of vascular endothelial growth factor in skeletal muscle ischemia/reperfusion injury. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 115, (5), 1355-1365.



- Warren, G.L. & Palubinskas, L.E. (2008). Human and Animal Experimental Muscle Injury Models. In: Tiidus, P.M. *Skeletal Muscle Damage and Repair* (pp. 13-33). London:Human Kinetics.
- Warren, G.L., Hayes, D.A., Lowe, D.A. & Armstrong, R.B. (1993). Mechanical factors in the initiation of eccentric contraction-induced injury in rat soleus muscle. *Journal of Physiology*, 464, 457–475.
- Warren, G.L., Lowe, D.A., Hayes, D.A., Karwoski, C.J. Prior, B.M. & Armstrong, R.B. (1993). Excitation failure in eccentric contraction-induced injury of mouse soleus muscle. *Journal of Physiology*, 468, 487-499.
- Warren, J.A., Jenkins, R.R., Packer, L., Witt, E.H. & Armstrong, R.B. (1992). Elevated muscle vitamin E does not attenuate eccentric exercise induced muscle injury. *Journal of Applied Physiology*, 72, 2168-2175.
- Warren, G.L., Lowe, D.A & Armstrong, R.B. (1999). Measurement Tools Used in the Study of Eccentric Contraction–Induced Injury. *Sports Medicine*, 27, (1), 43-59.
- Warren., G.L., Williams., J.H., Ward., C.W., Matoba., H., Ingalls., C.P., Hermann., K.M. & Armstrong, R.B. (1996). Decreased contraction economy in mouse EDL muscle injured by eccentric contractions. *Journal of Applied Physiology*, 81, 2555-2564.
- Wayner, D.D.M., Burton, G.W., Ingold, K.U., Barclay, L.R. & Locke, S.J. (1987). The relative contributions of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total peroxyl radical-trapping antioxidant activity of human blood plasma. *Biochimica et Biophysica Acta*, 924, 408-419.
- Weber, C., Erl, W., Pietsch, A., Strobel, M., Zieglerheitbrock H.W. & Weber, P.C. (1994). Antioxidants inhibit monocyte adhesion by suppressing nuclear factor-kappa B mobilization and induction of vascular cell adhesion molecule-1 in endothelial cells stimulated to generate radicals. *Arteriosclerosis Thrombosis*, 14, 1665–1673.
- Wedworth, S.M. & Lynch, S. (1995). Dietary flavonoids in atherosclerosis prevention. *Annals of Pharmacotherapy*, 29, 627-628.

- Weicker, H. & Werle, E. (1991). Interaction between hormone and the immune system. *International Journal of Sports Medicine*, 12, S30-S37.
- Weinstock, C., Konig, D., Harnischmacher, R., Keul, J., Berg, A. & Northoff, H. (1997). Effect of exhaustive exercise stress on the cytokine response. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 29, 345–354.
- Weiss, S.J. (1989). Tissue destruction by neutrophils. *New England Journal of Medicine*, 320, 365-376.
- Willcox, J.K., Catignani, G.L. & Roberts, L.J. (2002). Dietary flavonoids fail to suppress F2-isoprostane formation in-vivo. *Free Radical Biology & Medicine*, 34, (7), 795-799.
- Willoughby, D.S. (2004). Effects of heavy resistance training on myostatin mrna and protein expression. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 36, 574–582.
- Witt, E.H., Reznick, A.Z., Viguie, C.A., Starke-Reed, P. & Packer, L. (1992). Exercise, oxidative damage and effects of antioxidant manipulation. *Journal of Nutrition*, 122, (3 Suppl.), 766-773.
- Wojtaszewski, J.F., Higaki, Y., Hirshman, M.F., Michael, M.D., Dufresne, S.D., Kahn, C.R. & Goodyear, L.J. (1999). Exercise modulates postreceptor insulin signaling and glucose transport in muscle-specific insulin receptor knockout mice. *Journal of Clinical Investigation*, 104, 1257–1264.
- Wright, D.C., Hucker, K.A., Holloszy, J.O. & Han, D.H. (2004). Ca<sub>2</sub> and AMPK both mediate stimulation of glucose transport by muscle contractions. *Diabetes*, 53, 330–335.
- Wu, F., Schuster, P. D., Tyml, K. & Wilson, J. X. (2007). Ascorbate inhibits NADPH oxidase subunit p47phox expression in microvascular endothelial cells. *Free Radical Biology & Medicine*, 42, 124–131.
- Wu, G., Fang, Y.Z., Yang, S., Lupton, J.R. & Turner, N.D. (2004). Glutathione Metabolism and Its Implications for Health. *Journal of Nutrition*, 134, 489–492.

- Xu, K.Y., Zweier, J.L. & Becker, L.C. (1997). Hydroxyl radical inhibits sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase function by direct attack on the ATP binding site. *Circulation Research*, 80, 76–81.
- Yamada, S., Buffinger, N. & Strohman, R. (1988). Heparin binding growth factors and muscle hypertrophy. *Journal of Cell Biology*, 107, 594.
- Yan, Z., Biggs, R.B. & Booth, F.W. (1993). Insulin-like growth factor immunoreactivity increases in muscle after acute eccentric contraction. *Journal of Applied Physiology*, 74, 410–414.
- Yang, S., Alnaqeeb, M., Simpson, H. & Goldspink, G. (1996). Cloning and characterization of an IGF-I isoform expressed in skeletal muscle subjected to stretch. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 17, 487-495.
- Yeung, E.W., Balnave, C.D., Ballard, H.J., Bourreau, J.P. & Allen, D.G. (2002). Development of T-tubular vacuoles in eccentrically damaged mouse muscle fibres. *Journal of Physiology*, 540, 581-592.
- You, T., Goldfarb, A.H., Bloomer, R.J., Nguyen, L., Sha, X. & McKenzie, M.J. (2005). Oxidative stress response in normal and antioxidant supplement rats to a downhill run: Changes in blood and skeletal muscle. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 30, (6), 677-689.
- Young, I.S. & McEney, J. (2001). Lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *Biochemical Society Transactions*, 29, (2), 358-362.
- Young, M.E. & Leighton, B. (1998). Fuel oxidation in skeletal muscle is increased by nitric oxide/cGMP: evidence for involvement of cGMP-dependent protein kinase. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 424, 79 – 83.
- Yu, B.P. & Chung, H.Y. (2006). Adaptive mechanisms to oxidative stress during aging. *Mechanisms of Ageing and Development*, 127, 436–443.
- Zamzami, N., Marchetti, P., Castedo, M., Decaudin, D., Macho, A., Hirsch, T., Susin, S.A., Petit, P.X., Mignotte, B. & Kroemer, G. (1995). Sequential reduction of

mitochondrial transmembrane potential and generation of reactive oxygen species in early programmed cell death. *Journal of Experimental Medicine*, 182, 367–377.

Zaph, J.E., Schoenle, E. & Froesch, E.R. (1978). Insulin-like growth factors I and II: Some biological actions and receptors binding characteristics of 2 purified constituents of nonsuppressive insulin-like activity of human serum. *European Journal of Biochemistry*, 87, 285–296.

Zerba, E., Komorowski, T.E. & Faulkner, J.A. (1990). Free radical injury to skeletal muscles of young, adult and old mice. *American Journal of Physiology*, 258, C429–C435.

Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L. & Friedman, J.M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372, 425–431.

Zhu, P., Oe, T. & Blair, I.A. (2008). Determination of cellular redox status by stable isotope dilution liquid chromatography/mass spectrometry analysis of glutathione and glutathione disulfide. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 22, 432–440.