

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ-ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

**ΜΕΤΡΗΣΗ ΔΕΙΚΤΩΝ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΣΤΟ ΑΙΜΑ
ΥΔΑΤΟΣΦΑΙΡΙΣΤΡΙΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΕΝΟΣ ΕΤΟΥΣ**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΚΑΛΑΜΠΟΚΑ ΣΤΑΥΡΟΥΛΑ

Επιβλέπων: Δημήτριος Κουρέτας

ΛΑΡΙΣΑ 2010

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΚΟΥΡΕΤΑΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ (Επιβλέπων)

Καθηγητής Φυσιολογίας Ζώων του Τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΚΥΠΑΡΟΣ ΑΝΤΩΝΙΟΣ

Λέκτορας Φυσιολογίας της Άσκησης του Τμήματος Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού Σερρών

ΣΤΑΓΚΟΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ

Διδάσκων ΠΔ 407/80 του Τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κο.Κουρέτα για την επίβλεψη του στην παρούσα εργασία. Με την ενθάρρυνση του και την προσωπική του συμμετοχή στην αξιολόγηση της, καθώς και με την παροχή του υλικού των αθλητών στο οποίο έγιναν όλες οι μετρήσεις που περιγράφονται, κατέστησε δυνατή την εκπόνηση της. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς επιτροπής τον κο.Κυπάρο Αντώνιο και τον κο. Στάγκο Δημητριο.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ.Γερμενή Αναστάσιο, ο οποίος μου επέτρεψε την ανάλυση όλων των δειγμάτων στο Τμήμα Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και την κα. Θεοδωρίδου Κατερίνα που με βοήθησε σε όλη την διαδικασία. Τέλος, ευχαριστώ τον σύζυγό μου Χρήστο Χατζημελετίου και τους γονείς μου, για την αμέριστη συμπαράσταση, αγάπη και παρότρυνση όλα αυτά τα χρόνια.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	- 6 -
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	- 7 -
1.1. ΥΔΑΤΟΣΦΑΙΡΙΣΗ	- 7 -
1.2. ΦΥΣΙΚΕΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΤΗΣ ΥΔΑΤΟΣΦΑΙΡΙΣΗΣ- 8 -	
1.3. ΑΕΡΟΒΙΑ ΔΥΝΑΜΗ ΚΑΙ ΑΝΤΟΧΗ ΣΤΗΝ ΥΔΑΤΟΣΦΑΙΡΙΣΗ	- 9 -
1.4. ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΔΥΝΑΜΗ ΣΤΗΝ ΥΔΑΤΟΣΦΑΙΡΙΣΗ.....	- 10 -
1.5. ΑΣΚΗΣΗ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ	- 10 -
1.6. ΜΥΙΚΟΣ ΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΦΛΕΓΜΟΝΗ	- 11 -
1.7. ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΥΠΕΡΠΡΟΠΟΝΗΣΗΣ	- 12 -
1.7.1. ΘΕΩΡΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΠΕΡΠΡΟΠΟΝΗΣΗ.....	- 13 -
1.7.2. ΔΙΑΘΕΣΗ, ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΚΑΙ ΓΝΩΣΙΑΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΜΕ ΟΤΣ.....	- 13 -
1.7.3. ΓΛΟΥΤΑΜΙΝΗ, ΥΠΕΡΚΑΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΟΤΣ	- 14 -
1.7.4. ΓΛΥΚΟΓΟΝΟ ΜΥΩΝ, ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ ΑΙΜΑΤΟΣ, ΑΝΟΧΗ ΣΤΗΝ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ ΚΑΙ ΟΤΣ.....	- 15 -
1.7.5. ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΟΤΣ	- 15 -
1.8. ΚΑΚΩΣΗ, ΦΛΕΓΜΟΝΗ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ.....	- 15 -
1.9. ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ ΣΤΗΝ ΥΔΑΤΟΣΦΑΙΡΙΣΗ	- 17 -
1.10. ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗ-10.....	- 19 -
1.11. ΧΗΜΕΙΟΤΑΚΤΙΚΗ ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΤΩΝ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ.....	- 20 -
1.12. ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ.....	- 21 -
1.13. ΕΝΔΟΓΛΙΝΗ.....	- 23 -
1.14. ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΥΠΟΘΕΣΗ	- 25 -
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	- 26 -
2.1. ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	- 26 -
2.2. ΑΝΟΣΟΠΡΟΣΦΡΟΦΗΤΙΚΗ ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ (ELISA)	- 27 -
2.2.1. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗΣ-10	- 27 -
2.2.2. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ MCP-1.....	- 28 -
2.2.3. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΝΔΟΓΛΙΝΗΣ	- 29 -
2.2.4. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ.....	- 30 -
2.3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	- 30 -
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	- 31 -
3.1. ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗ-10.....	- 31 -
3.2. MCP-1	- 31 -
3.3. ΕΝΔΟΓΛΙΝΗ.....	- 32 -
3.4. ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ	- 33 -
4.ΣΥΖΗΤΗΣΗ	- 34 -
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	- 37 -

ΕΙΚΟΝΕΣ

ΣΕΛΙΔΑ

Εικόνα 1: Η υδατοσφαίριση.....	7
Εικόνα 2: Η επίδραση της άσκησης στην φλεγμονή.....	11
Εικόνα 3: Σχηματική απεικόνιση των προτεινόμενων γεγονότων που συνδέονται με την άσκηση και οδηγούν στη συστηματική ανοσία και φλεγμονή.....	12
Εικόνα 4: Η επίδραση του μυϊκού τραύματος στη συστηματική φλεγμονή.....	17
Εικόνα 5: Το μόριο της ιντερλευκίνης-10.....	19
Εικόνα 6: Το μόριο της MCP-1.....	20
Εικόνα 7: Το μόριο της αντιπονεκτίνης.....	22
Εικόνα 8: Το μόριο της ενδογλίνης.....	24
Εικόνα 9: Η αρχή της μεθόδου.....	27
Εικόνα 10: Το αυτοματοποιημένο μηχάνημα της ELISA στο οποίο έγιναν οι μετρήσεις.....	28
Εικόνα 11: Η μικροπλάκα με τα βοθρία στα οποία γίνονται οι αντιδράσεις...28	

ΠΙΝΑΚΕΣ

ΣΕΛΙΔΑ

Πίνακας 1: Η επίδραση της άσκησης σε κυτταροκίνες και αυξητικούς παράγοντες.....	18
---	----

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ

ΣΕΛΙΔΑ

Διάγραμμα 1: Απεικόνιση των συγκεντρώσεων της IL-10 ανά περίοδο.....	32
Διάγραμμα 2: Απεικόνιση των συγκεντρώσεων της MCP-1 ανά περίοδο.....	33
Διάγραμμα 3: Απεικόνιση των συγκεντρώσεων της ενδογλίνης ανά περίοδο.....	33
Διάγραμμα 4: Απεικόνιση των συγκεντρώσεων της αντιπονεκτίνης Ανά Περίοδο.....	34

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η υδατοσφαίριση ανήκει στην κατηγορία των ομαδικών αθλημάτων του νερού με κύρια χαρακτηριστικά τη δύναμη, την ταχύτητα και την αντοχή. Οι υψηλής έντασης και μικρής διάρκειας προσπάθειες εναλλάσσονται με άλλες χαμηλής έντασης και μακράς διάρκειας, με αποτέλεσμα την εναλλαγή ενεργοποίησης αναερόβιων και αερόβιων μηχανισμών, αντίστοιχα. Παρά τα οφέλη που έχει η άσκηση, ο οργανισμός των υδατοσφαιριστριών που κάνουν πρωταθλητισμό καταπονείται κατά τη διάρκεια ενός έτους. Αυτό είναι αποτέλεσμα του μεγάλου όγκου και της υψηλής έντασης προπόνησης και των συνεχόμενων αγώνων στο πρωτάθλημα. Έτσι, είναι συχνό φαινόμενο σε ομαδικά αθλήματα και μάλιστα σε υψηλό επίπεδο να εμφανίζεται φλεγμονή ή σύνδρομο υπερπροπόνησης μειώνοντας την απόδοση των αθλητών. Σκοπός, λοιπόν, της εργασίας ήταν να ερευνηθεί η πιθανή παρουσία φλεγμονής σε 6 αθλήτριες ομάδας πόλο της ελληνικής A1 κατηγορίας, που κάνει πρωταθλητισμό. Μετρήθηκε η μεταβολή της συγκέντρωσης 4 βασικών κυτταροκινών, της χημειοτακτικής πρωτεΐνης των μονοκυττάρων (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1), της ιντερλευκίνης-10 (IL-10), της ενδογλίνης και της αντιπονεκτίνης στον ορό του αίματος σε 4 χρονικές περιόδους και ειδικότερα στην έναρξη της προετοιμασίας, του πρωταθλήματος, του δεύτερου γύρου του πρωταθλήματος και τέλος στην έναρξη των play-offs. Παρατηρήθηκε ότι την περίοδο έναρξης του πρωταθλήματος η φλεγμονή είναι αυξημένη, όπως φαίνεται από την αυξημένη συγκέντρωση της MCP-1. Επιπλέον, η μειωμένη συγκέντρωση της IL-10 την ίδια περίοδο φανερώνει την αδυναμία του οργανισμού να αντιμετωπίσει τη φλεγμονή. Η συγκέντρωση των άλλων δύο δεικτών δεν παρουσίασε σημαντική μεταβολή. Η περίοδος έναρξης του πρωταθλήματος ακολουθεί την περίοδο της προετοιμασίας, όπου η καταπόνηση των αθλητριών είναι μεγάλη λόγω της έντονης προπόνησης. Τότε, λοιπόν, πιθανόν να είναι η κατάλληλη περίοδος ώστε με κάποια διατροφική παρέμβαση να βοηθηθούν οι αθλήτριες να αναστρέψουν τις δυσμενείς επιδράσεις της προπονητικής καταπόνησης για να είναι η απόδοσή τους η καλύτερη δυνατή στη διάρκεια του έτους.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. ΥΔΑΤΟΣΦΑΙΡΙΣΗ

Η υδατοσφαίριση (πόλο) ανήκει στην κατηγορία των αθλημάτων του νερού. Είναι έντονη άσκηση, στην οποία συμμετέχουν όλοι οι μύες του σώματος με αποτέλεσμα να γίνεται πολύ κουραστική για τον αθλητή. Το πόλο είναι ένα ομαδικό άθλημα επαφής με κύρια χαρακτηριστικά τη δύναμη, την ταχύτητα και την αντοχή. Η ικανότητα χειρισμού της μπάλας μαζί με την κολυμβητική ικανότητα είναι σημαντικά στοιχεία του αθλήματος. Ο τυπικός αθλητής του πόλο είναι αρκετά ψηλός, δυνατός, έχει αντοχή και ταχύτητα ενώ το άθλημα συνοδεύεται από θετικές επιδράσεις στον οργανισμό όπως μεταφορά περισσότερου οξυγόνου από τους πνεύμονες στους ιστούς, βελτίωση της καρδιακής λειτουργίας και αύξηση της αντοχής.



Εικόνα 1: Η υδατοσφαίριση

Σχετικά με τα χαρακτηριστικά του αθλήματος, ένας αγώνας υδατοσφαίρισης διαρκεί περίπου 52-60 λεπτά. Κάθε περίοδος από τις συνολικά τέσσερις διαρκεί 12 λεπτά ενώ ο ενδιάμεσος χρόνος μεταξύ τους είναι κατά μέσο όρο 2,5 λεπτά [1,2]. Εντούτοις, όταν απαιτείται επιπλέον χρόνος η διάρκεια του αγώνα μπορεί να ξεπεράσει τα 70 λεπτά. Το παιχνίδι από τη φύση του περιέχει διαλείμματα αλλά και έντονες «εκρήξεις» δραστηριότητας, κάθε μια από τις οποίες διαρκεί λιγότερο από 15 sec [1,3]. Οι υψηλής έντασης δραστηριότητες διακόπτονται από άλλες χαμηλής έντασης και διάρκειας ενώ περιστασιακά υπάρχουν μακρύτερες περιόδους ανάκαμψης όπως τα διαλείμματα μεταξύ των περιόδων του αγώνα. Υπάρχουν, επίσης, κάποιοι περιορισμοί όσον αφορά την κίνηση των αθλητών με αποτέλεσμα να παραμένουν μη ενεργοί σε μικρά χρονικά διαστήματα κατά τη διάρκεια ενός αγώνα.

1.2. ΦΥΣΙΚΕΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΤΗΣ ΥΔΑΤΟΣΦΑΙΡΙΣΗΣ

Οι φυσικές δραστηριότητες κατά τη διάρκεια του παιχνιδιού είναι ποικίλες και μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ανάλογα με τις ικανότητες, τους κανόνες που τις οριοθετούν και την ταχύτητα [1,4]. Μετρήσεις που αφορούν τη φυσιολογία των αθλητών όπως ο καρδιακός ρυθμός [4,5] και η συγκέντρωση γαλακτικού οξέος στα τριχοειδή του αίματος [5,6] παρέχουν ενδείξεις για τις καρδιαγγειακές και μεταβολικές απαιτήσεις των δραστηριοτήτων των αθλητών. Οι περισσότερες δραστηριότητες στο παιχνίδι διαρκούν λιγότερο από 20 δευτερόλεπτα με έντονες κινήσεις και επιταχύνσεις διάρκειας 7-14 δευτερολέπτων [1,3]. Η εκτέλεση μιας δραστηριότητας τέτοιας έντασης και διάρκειας είναι πολύ πιθανό να εξαρτάται από αναερόβιες μεταβολικές διεργασίες και τη μυϊκή δύναμη. Εντούτοις, αυτές οι δραστηριότητες που εκτελούνται σε σειρά έχουν ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση περιόδων προσπάθειας μεγαλύτερης διάρκειας, μεσαίας και υψηλής έντασης, οι οποίες αναλογούν περίπου στα δύο τρίτα του παιχνιδιού [1]. Έλεγχος του καρδιακού ρυθμού των αθλητών κατά τη διάρκεια του παιχνιδιού έχει δείξει ότι στα δύο τρίτα του αγώνα ο αθλητής έχει καρδιακό ρυθμό που αντιστοιχεί >80% της μέγιστης αεροβικής δύναμης (VO_{2max}) [4,5] ενώ για όση ώρα βρίσκεται στο νερό οι καρδιακοί παλμοί ξεπερνούν το 80% του μέγιστου [4,5,7] προτείνοντας έτσι ότι οι ενδιάμεσες, χαμηλότερης έντασης δραστηριότητες είναι ανεπαρκείς για την επανάκαμψη εξασφαλίζοντας έτσι υψηλές απαιτήσεις αερόβιου μεταβολισμού.

Παρατηρήσεις σε αθλητές σε διεθνή παιχνίδια έχουν δείξει ότι στο 85% της διάρκειας ενός αγώνα υπάρχουν υψηλές απαιτήσεις αναερόβιου μεταβολισμού, καθώς ο γλυκολυτικός μεταβολισμός επιταχύνεται σημαντικά κατά την έναρξη της μέγιστης δραστηριότητας [8] και το γαλακτικό οξύ μπορεί να συσσωρευτεί στους μύες και το αίμα 6-10 δευτερόλεπτα μετά τη μέγιστης έντασης δραστηριότητα [9,10,11]. Επίσης, μετρήσεις σε δείγματα αίματος κατά τη διάρκεια ενός αγώνα πόλο έχουν δείξει ότι τα επίπεδα γαλακτικού οξέος κυμαίνονται από 2-12 mmol/L σε άνδρες Ισπανούς [6] και Ιταλούς αθλητές [3] υψηλού επιπέδου. Παρόμοια αποτελέσματα όσον αφορά τη συγκέντρωση γαλακτικού οξέος στο περιφερικό αίμα με τιμές που κυμαίνονται από 2-10mmol/L έχουν παρατηρηθεί σε Ολλανδές αθλήτριες [5].

Τα υψηλά επίπεδα του γαλακτικού οξέος στο αίμα σε συνδυασμό με τους υψηλούς καρδιακούς ρυθμούς υποδεικνύουν ένα μετρίων απαιτήσεων

αναερόβιο γλυκολυτικό (γαλακτικό) σύστημα. Μάλιστα, είναι πιθανό η ταχύτητα οριζόντιας μετακίνησης των αθλητών να μην αντιπροσωπεύει απαραίτητα την ένταση των δραστηριοτήτων που πραγματοποιούνται κατά την επιτάχυνση και την επιβράδυνση όπως π.χ της επαφής με έναν αντίπαλο ή της κατακόρυφης κίνησης. Για τους αθλητές, το σύστημα αυτό ίσως να μην είναι θετικό παρά το γεγονός ότι μπορεί να είναι μεγάλης σημασίας κατά τη διάρκεια των προπονήσεων [5] γι' αυτό και συμπεριλαμβάνεται στο πρόγραμμά τους. Επιπλέον, ο χρόνος ημιζωής του γαλακτικού οξέος έπεται από έντονη κολυμβητική δραστηριότητα έχει υπολογιστεί περίπου στα 12-20 λεπτά και ποικίλει ανάλογα με την ένταση της δραστηριότητας κατά τη διάρκεια της ανάκαμψης [12]. Αυτό προτείνει ότι οι παίκτες, που συγκεντρώνουν υψηλά επίπεδα γαλακτικού οξέος νωρίς στο παιχνίδι δε θα έχουν τη δυνατότητα να επανακάμψουν πλήρως και αυτό ίσως επηρεάσει αρνητικά την απόδοσή τους.

Η κολύμβηση για τις βασικές ανάγκες μετακίνησης των αθλητών αποτελεί περίπου το 20% του συνολικού χρόνου του παιχνιδιού (11-13 λεπτά). Επίσης, το 33% της διάρκειας του αγώνα ένας παίκτης είναι ενεργός στο νερό (το 50% του χρόνου αυτού κινείται με υψηλή ταχύτητα) [1,3]. Κατά τη διάρκεια ενός παιχνιδιού ένας παίκτης κολυμπά κατά μέσο όρο 60 λεπτά [1,2]. Υπολογισμοί της συνολικής απόστασης που πρέπει να διανύσουν άνδρες αθλητές κατά τη διάρκεια ενός ολοκληρωμένου παιχνιδιού έχουν δείξει ότι αυτή κυμαίνεται κατά μέσο όρο από 500-1000 μέτρα ενώ μπορεί να φτάσει τα 1500-1800 μέτρα [3,13].

1.3. ΑΕΡΟΒΙΑ ΔΥΝΑΜΗ ΚΑΙ ΑΝΤΟΧΗ ΣΤΗΝ ΥΔΑΤΟΣΦΑΙΡΙΣΗ

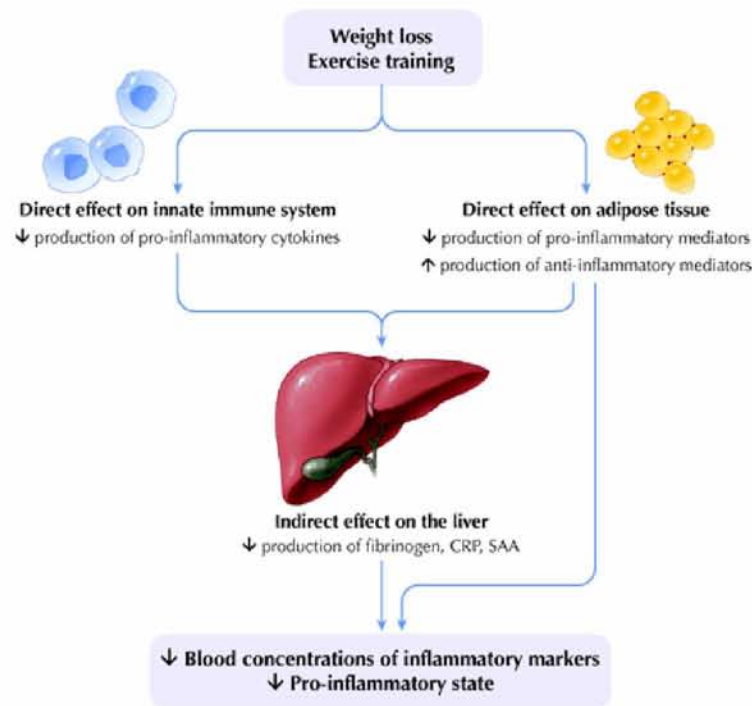
Από τα μεγάλα ποσοστά μέτριας και υψηλής έντασης δραστηριότητας [1] καθώς και τη συνεχή άνοδο των καρδιακών ρυθμών που παρατηρούνται κατά τη διάρκεια του παιχνιδιού [4,5,7], ο αερόβιος μεταβολισμός πιθανόν παράγει το μεγαλύτερο μέρος της ενέργειας που απαιτείται για το παιχνίδι. Η μέγιστη κατανάλωση οξυγόνου (VO_{2max}) ανδρών αθλητών κυμαίνεται από 4.5-4.7 L/min ή 58-61 ml/kg/min ενώ παρόμοια αποτελέσματα προκύπτουν από μετρήσεις σε γυναίκες αθλήτριες. Εντούτοις, είναι σχετική η ικανότητα απόδοσης της αερόβιας δύναμης και ο λόγος είναι οι διαφορετικές απαιτήσεις οξυγόνου που έχει ο κάθε αθλητής.

1.4. ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΔΥΝΑΜΗ ΣΤΗΝ ΥΔΑΤΟΣΦΑΙΡΙΣΗ

Οι μικρής διάρκειας δραστηριότητες κάθε αθλητή [1,4,14,15] καθώς και τα επίπεδα του γαλακτικού οξέος στο αίμα [3,5,6] δείχνουν ότι η αναερόβια δύναμη και ικανότητα είναι σημαντικές στην απόδοση. Ένα μέσο αποτέλεσμα ισχύος περίπου 485 watt (29118 J) κατά τη διάρκεια μιας μέγιστης προσπάθειας 60sec έχει αναφερθεί από μετρήσεις σε 17 Ούγγρους αθλητές με τη χρήση κυκλοεργόμετρου [16]. Περισσότεροι ειδικοί δείκτες αναερόβιας ικανότητας έχουν συμπεριληφθεί στη μέτρηση των μέγιστων επιπέδων γαλακτικού οξέος στις αρτηρίες έπειτα από κολύμβηση 100 μέτρων ή 60 δευτερολέπτων κατά τη διάρκεια εργομετρικών δοκιμασιών. Τα μέσα επίπεδα γαλακτικού οξέος στο αίμα κυμαίνονται από 13-16 mmol/L σε άνδρες αθλητές διεθνούς επιπέδου [6, 17, 18] πράγμα που αντιπροσωπεύει την ικανότητα των αθλητών αυτών να συγκεντρώνουν υψηλά επίπεδα έπειτα από μία μέτρια προσπάθεια.

1.5. ΑΣΚΗΣΗ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ

Αν και η άσκηση συμβάλλει στην ανάπτυξη των μυών και των οστών, εντούτοις, δεν έχουν προσδιοριστεί εν πολλοίς τα μόρια στα οποία οφείλονται οι επιδράσεις αυτές. Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι η άσκηση μπορεί να ενεργοποιήσει μόρια, τα οποία προέρχονται από διαφορετικά όργανα όπως η αυξητική ορμόνη της υπόφυσης και ο ινσουλινοεξαρτώμενος αυξητικός παράγοντας I (insulin growth factor I, IGF-I) [19], η φύση των οποίων είναι αναβολική. Αφετέρου, ενεργοποιούνται φλεγμονώδεις καταβολικές κυτταροκίνες όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκων α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) ή η ιντερλευκίνη-1 (IL-1), οι οποίες παράγονται από ανοσολογικά ενεργοποιημένα μονοπύρρηνα κύτταρα του περιφερικού αίματος (peripheral blood monocytes, PBMC) όπως λεμφοκύτταρα και μονοκύτταρα. Υπάρχουν μελέτες που έχουν εξετάσει αυξητικούς παράγοντες, φλεγμονώδεις κυτταροκίνες και μονοπύρρηνα κύτταρα μόνο σε γυναίκες ή μόνο σε άντρες δεδομένου ότι έχει βρεθεί στους ενήλικες επίδραση του φύλου στους αυξητικούς παράγοντες και την ανοσολογική απόκριση στην άσκηση. Πιο συγκεκριμένα, οι Stupka et al [20] αναφέρουν ότι η μυϊκή φλεγμονώδης απόκριση κατά την άσκηση φαίνεται εξασθενημένη στις γυναίκες σε σύγκριση με τους άντρες. Παρόμοια, οι Pritzlaff-Roy et al [21] έδειξαν ότι η παραγωγή της αυξητικής ορμόνης λόγω της άσκησης είναι πιο έντονη στις γυναίκες σε σχέση με τους άντρες.



Εικόνα 2: Η επίδραση της άσκησης στην φλεγμονή

1.6. ΜΥΙΚΟΣ ΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΦΛΕΓΜΟΝΗ

Είναι ευρέως αποδεκτό ότι η προπόνηση και ο ανταγωνισμός οδηγούν σε μικροτραυματισμούς στους μύες, τα οστά και τις αρθρώσεις [22] και αυτοί αναφέρονται με τον όρο «προσαρμοστικός μικροτραυματισμός» (adaptive microtrauma, AMT). Το φαινόμενο αυτό μπορεί να θεωρηθεί ως η αρχική φάση μιας «διαρκούς κάκωσης». Προς αντιμετώπισή του μπορεί να εφαρμοστεί ένα κατάλληλο προπονητικό πρόγραμμα με επαρκείς περιόδους ανάρρωσης. Στους μηχανισμούς που προκαλούν το AMT ανήκουν η άσκηση, που προκαλεί αυξημένες τοπικές μεταβολικές ανάγκες (π.χ. ποδηλασία) ή ισχαιμία/επαναιμάτωση [1,12] και η περίπτωση συχνών έντονων επαναλήψεων, που οδηγούν σε κάκωση αρθρώσεων. Ο λόγος που οι μικροτραυματισμοί αυτοί αναφέρονται ως «προσαρμοστικοί» είναι ότι καταλήγουν σε ήπια ανοσολογική απόκριση με τελικό σκοπό την ίαση [23,24,25]. Όταν στη συνέχεια ο αθλητής/ασθενής προπονείται υπερβολικά σκληρά χωρίς ανάρρωση, το ήπιο AMT μπορεί να επιδεινωθεί και να οδηγήσει σε μια υποκλινική κάκωση και τελικά σε OTS. Ακολούθως, μονοκύτταρα ενεργοποιούνται από κυτταροκίνες σχετιζόμενες με τον τραυματισμό και παράγουν μεγάλες ποσότητες των φλεγμονωδών κυτταροκινών IL-1β, IL-6 και TNF-α, τα οποία προκαλούν συστηματική φλεγμονή.

Προσαρμοστικός μικροτραυματισμός



Τοπική οξεία φλεγμονή



Τοπική Χρόνια φλεγμονή



**Συστηματική ανοσία/
Φλεγμονώδης απόκριση**

Εικόνα 3: Σχηματική απεικόνιση των προτεινόμενων γεγονότων που συνδέονται με την άσκηση και οδηγούν στη συστηματική ανοσία και φλεγμονή.

Σύμφωνα με τη θεωρία των κυτταροκινών, το επαναλαμβανόμενο τραύμα στο μυοσκελετικό σύστημα, το οποίο προκαλείται από την υψηλής έντασης προπόνηση σχετίζεται με ανεπαρκή ανάπαυση και ανάρρωση. Πολλές φυσιολογικές και ψυχολογικές ενδείξεις/συμπτώματα του OTS μπορούν να προέρχονται από την παρουσία μυϊκής βλάβης. Επιπρόσθετα, η θεωρία των κυτταροκινών προσπαθεί να εξηγήσει και άλλους παράγοντες, που μπορεί να έχουν συνεργιστικό αποτέλεσμα όπως το ψυχολογικό στρες [26] ή μια οξεία ιική μόλυνση [27,28].

1.7. ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΥΠΕΡΠΡΟΠΟΝΗΣΗΣ

Οι αθλητές υψηλού επιπέδου προπονούνται σκληρά για να βελτιώσουν την απόδοσή τους. Το Σύνδρομο Υπερπροπόνησης (Overtraining Syndrome, OTS) είναι μια κατάσταση όπου ο αθλητής προπονείται πολύ έντονα, ενώ η απόδοσή του επηρεάζεται αρνητικά εξαιτίας της επιβάρυνσης του οργανισμού. Συνήθως, συνοδεύεται από αλλαγές διάθεσης, συμπεριφοράς και μεταβολές σε βιοχημικά μονοπάτια. Όταν η πτώση στην απόδοση είναι απόρροια ενός εξουθενωτικού προπονητικού προγράμματος, τότε αναφερόμαστε σε υπερπροπόνηση ή «κάψιμο»[29]. Εκτός από τη διεθνώς αποδεκτή, ως κριτήριο υπερπροπόνησης, μειωμένη απόδοση υπάρχουν και άλλα όπως η γενικευμένη κόπωση, η κατάθλιψη, οι μυϊκοί και αρθρικοί πόνοι και η απώλεια της όρεξης. Επί του παρόντος, η μόνη γνωστή αγωγή είναι η ελάττωση του όγκου της προπόνησης ή σε κάποιες περιπτώσεις και η ολική παύση. *«Απαξ και ο αθλητής έχει αναπτύξει ένα εγκατεστημένο σύνδρομο υπερπροπόνησης,*

πρέπει να αναπαυθεί τελείως για ένα διάστημα μεταξύ 6-12 εβδομάδων...»
[30].

1.7.1. ΘΕΩΡΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΠΕΡΠΡΟΠΟΝΗΣΗ

Αρκετοί ερευνητές έχουν επισημάνει το ρόλο του υποθαλάμου, του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια (hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA) και του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-γονάδες (hypothalamic-pituitary-gonadal axis, HPG) στο φαινόμενο της υπερπροπόνησης. Αυτά οδηγούν σε αλλαγή στα επίπεδα κατεχολαμινών, γλυκοκορτικοειδών και τεστοστερόνης [31]. Η θεωρία της γλουταμίνης προτείνει ότι μειωμένη η γλουταμίνη του αίματος ευθύνεται για τη συχνή ανεπαρκή ανοσολογική απόκριση και τους αυξημένους ρυθμούς φλεγμονής, που παρατηρούνται στο OTS αφού είναι το πρωτεύον καύσιμο των λεμφοκυττάρων [32,33]. Άλλοι ερευνητές επισημαίνουν ότι ελαττωμένα επίπεδα του αμινοξέος τρυπτοφάνη (TRY) οδηγούν σε αύξηση της πρόσληψης τρυπτοφάνης από τον εγκέφαλο [34,35]. Η τρυπτοφάνη είναι πρόδρομος ουσία για τη σύνθεση του νευροδιαβιβαστή σεροτονίνη. Άρα, αυξημένα επίπεδα τρυπτοφάνης στον εγκέφαλο οδηγούν σε αλλαγές διάθεσης, όπως υπνηλία και μειωμένη όρεξη, συμπεριφορές κοινές στο OTS [34].

Η υπόθεση του γλυκογόνου [35] θεωρεί ότι η υπερπροπόνηση οδηγεί σε ανικανότητα των αθλητών να έχουν επαρκή πρόσληψη θερμίδων κι αυτό οδηγεί σε ελαττωμένο γλυκογόνο στους μύες και άρα σε αίσθημα κούρασης και ελαττωμένη απόδοση. Η θεωρία αυτή όμως δεν έχει ακόμη επιβεβαιωθεί [36].

Οι Foster και Lehman [37] πρότειναν ότι η έλλειψη ποικιλίας στην καθημερινή προπόνηση μπορεί να προκαλέσει OTS. Αυτή είναι η *θεωρία της μονοτονίας* και βασίζεται στο ότι η ψυχολογική μονοτονία μπορεί να οδηγήσει σε υπερπροπόνηση. Μια άλλη ερμηνεία της θεωρίας αυτής είναι ότι η έντονη, καθημερινή, παρόμοια προπόνηση προκαλεί έντονο στρες στο μυο-σκελετο-αρθρικό σύστημα που κάνει τον αθλητή πιο επιρρεπή σε τραυματισμούς.

1.7.2. ΔΙΑΘΕΣΗ, ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΚΑΙ ΓΝΩΣΙΑΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΕΣ ΜΕ OTS

Για την εξήγηση του OTS έχει προταθεί η θεωρία της τρυπτοφάνης [34,32], όπου η αυξημένη πρόσληψή της από τον εγκέφαλο οδηγεί σε

έκκριση σεροτονίνης. Ωστόσο, έχει και προταθεί ένα άλλο, ψυχονευροανοσολογικό (PNI) μοντέλο [38,39,40]. Αυτό στηρίζεται σε δυο μονοπάτια του ΚΝΣ, που ενεργοποιούνται από τον υποθάλαμο [39]. Μάλιστα, στο αυτόνομο νευρικό σύστημα, η IL-1β και η IL-6 μπορούν να επιδράσουν σε ορισμένους πυρήνες του υποθαλάμου που ευθύνονται για αλλαγές της συμπεριφοράς. Υποδοχείς για την IL-1, κυρίως, αφθονούν στον ιππόκαμπο [41] και μπορούν να εμπλακούν σε διαδικασίες μάθησης και μνήμης δεδομένου ότι ο ιππόκαμπος ελέγχει τη γνωσιακή κατάσταση [42]. Γνωσιακές αλλαγές έχουν καταγραφεί σε υπερπροπονημένα άτομα [43,44,45] και τέτοιες είναι η έλλειψη προσανατολισμού, η επανεμφάνιση λαθών που προηγουμένως διορθώθηκαν, η έλλειψη συγκέντρωσης στην εργασία και η επίσχεση μάθησης.

1.7.3. ΓΛΟΥΤΑΜΙΝΗ, ΥΠΕΡΚΑΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΚΑΙ OTS

Έχει προταθεί ότι ο αυξημένος όγκος προπόνησης μπορεί να σχετίζεται με ελάττωση των επιπέδων του αμινοξέος γλουταμίνη στο αίμα [32,44]. Οι μύες είναι τα όργανα που παράγουν περισσότερη γλουταμίνη και αυτή μετέχει σε πολλές διεργασίες του μεταβολισμού καθώς και στην ενεργοποίηση των μακροφάγων και τον πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων. Γι' αυτό και θεωρείται ότι η μείωση της γλουταμίνης στο αίμα οδηγεί σε πτώση της ανοσολογικής λειτουργίας, η οποία σχετίζεται με το OTS. Η οξεία συστηματική φλεγμονή σχετίζεται με μια κατάσταση καταβολισμού [45,46], η οποία καθοδηγείται από αρκετές κυτταροκίνες και γλυκοκορτικοειδή [45,46]. Αυτό συμβαίνει προκειμένου να παραχθούν αμινοξέα που θα μετέχουν στη διεργασία της γλυκονογένεσης, ώστε να διατηρηθούν υψηλά τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα [47]. Δηλαδή, παράγονται τα συστατικά για την αντιμετώπιση της κατάστασης του οργανισμού, που ο ίδιος ο οργανισμός θεωρεί απαραίτητα αφού σχετίζει το τραύμα με μειωμένη πρόσληψη τροφής. Ταυτόχρονα, στο ήπαρ ενεργοποιείται η παραγωγή πρωτεϊνών οξείας φάσης, όπως η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) διότι η κύρια πρόδρομη ουσία αυτών των πρωτεϊνών είναι η γλουταμίνη. Αυτές βοηθούν στην αναχαίτιση μιας δυνητικά θανάσιμης επέκτασης της φλεγμονής. Όλη αυτή η απαίτηση για αμινοξέα επιτυγχάνεται μέσω της πρωτεόλυσης των πρωτεϊνών των μυών και αναστολής του μυϊκού αναβολισμού και αυτή οδηγεί σε αρνητικό ισοζύγιο αζώτου. Το επιπλέον άζωτο αποβάλλεται ως ουρία από τους νεφρούς, γι' αυτό

απαιτείται επιπλέον νερό που εξοικονομείται από την ενεργοποίηση του μηχανισμού της δίψας [48].

1.7.4. ΓΛΥΚΟΓΟΝΟ ΜΥΩΝ, ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ ΑΙΜΑΤΟΣ, ΑΝΟΧΗ ΣΤΗΝ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ ΚΑΙ ΟΤΣ

Η υπερπροπόνηση, η συστηματική φλεγμονή και τα αυξημένα επίπεδα φλεγμονωδών κυτταροκινών προτείνεται ότι προκαλούν ανορεξία και μειωμένη πρόσληψη θερμίδων. Επίσης, η τοπική καταστροφή μυϊκής μεμβράνης και ελαττωμένη διαθεσιμότητα των μεταφορέων γλυκόζης GLUT-4 εμποδίζει την είσοδο γλυκόζης στο κύτταρο για παραγωγή γλυκογόνου. Η μειωμένη παραγωγή γλυκογόνου ευθύνεται για τα «βαριά πόδια» [49] που παραπονούνται οι υπερπροπονημένοι αθλητές αλλά και για τα χαμηλά επίπεδα γαλακτικού οξέος στο αίμα σε μέγιστη άσκηση.

1.7.5. ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΟΤΣ

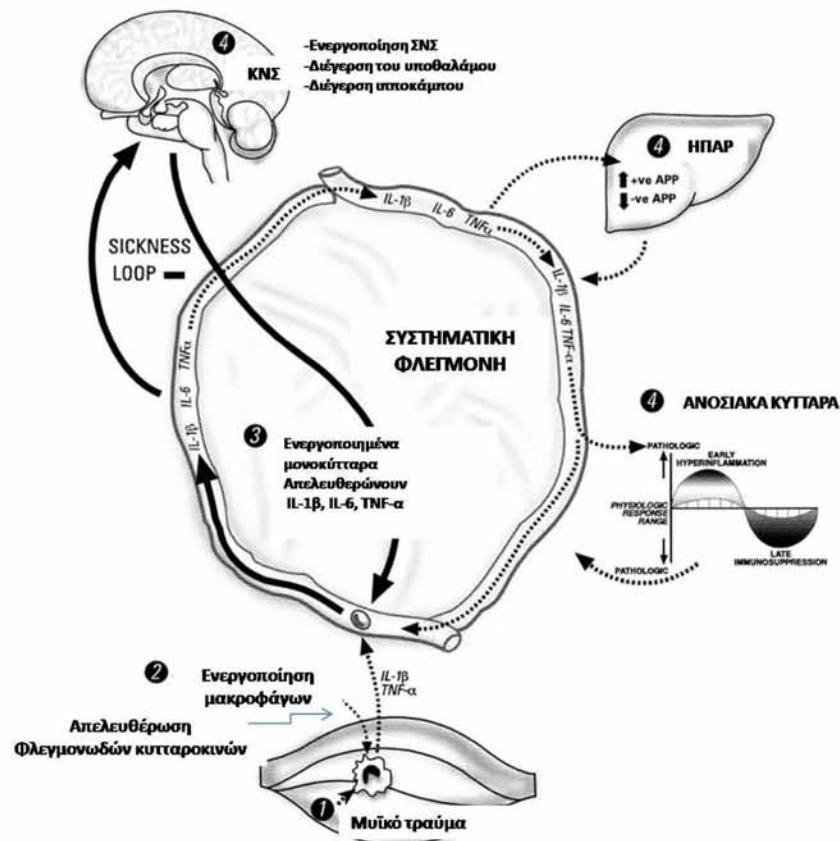
Το σύνδρομο υπερπροπόνησης σχετίζεται με εξασθένηση του ανοσολογικού συστήματος και εκδηλώνεται με ευαισθησία σε κρυολογήματα και αλλεργίες, αργή επούλωση πληγών, πονοκεφάλους και γαστρεντερικές διαταραχές. Φυσιολογικά, αμέσως μετά από κάποιο τραύμα ή χειρουργείο η φλεγμονή επιδεινώνεται και ταυτόχρονα ξεκινά η έκκριση αντιφλεγμονωδών παραγόντων που θα ελέγξουν τη φλεγμονή και τελικά θα οδηγήσουν σε ανοσοκαταστολή. Τέτοιοι αντιφλεγμονώδεις παράγοντες είναι ο ανταγωνιστής του υποδοχέα της ιντερλευκίνης-1 (IL-1ra) [50], οι διαλυτοί TNF-υποδοχείς [56], ορμόνες όπως η κορτιζόλη [57,58] και οι πρωτεΐνες οξείας φάσεως, όπως η CRP [59].

1.8. ΚΑΚΩΣΗ, ΦΛΕΓΜΟΝΗ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ

Η συνεχόμενη τοπική φλεγμονή που προκαλείται από τις κακώσεις γίνεται κάποια στιγμή χρόνια και οι κυτταροκίνες που εκκρίνει ενεργοποιούν τα μονοκύτταρα της περιφέρειας [55] που παράγουν φλεγμονώδεις κυτταροκίνες που προκαλούν συστηματική φλεγμονή ως κύρια αιτιολογία του ΟΤΣ. Η φλεγμονή είναι η απάντηση του οργανισμού όταν καλείται να επιτελέσει «αυτοϊαση». Αρχικά, προσελκύονται τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα, τα οποία 24 ώρες μετά την έναρξη της φλεγμονής δεν είναι πλέον ενεργά [25]. Ακολουθούν τα μονοκύτταρα ή μεγάλα μονοπύρρηνα, που μόλις περάσουν από την κυκλοφορία στον πάσχοντα ιστό

μεταμορφώνονται σε μακροφάγα. Το συντονισμό όλων αυτών των τύπων κυττάρων και την ενίσχυση των παραμέτρων της φλεγμονής επιτελούν οι κυτταροκίνες [56]. Αυτές είναι πρωτεΐνες που μοιάζουν με τις ορμόνες. Η βασική διαφορά τους είναι πως δεν παράγονται από συγκεκριμένα όργανα ή ιστούς, αλλά από κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, ενδοθηλιακά κύτταρα και λιποκύτταρα. Η σύνθεση των κυτταροκινών ενεργοποιείται από πολλούς παράγοντες όπως οι ελεύθερες ρίζες, οι κακώσεις ιστών και οι λοιμογόνοι παράγοντες [57]. Επίσης, πολλά διαφορετικά είδη (λεμφοκύτταρα) και οργάνων (εγκέφαλος και ήπαρ) επηρεάζονται από τις κυτταροκίνες [60]. Έχουν ακόμη την ιδιότητα να ενεργοποιούν εκτός από τα γειτονικά κύτταρα (παρακρινείς) και τον εαυτό τους (αυτοκρινείς).

Κατατάσσονται ανάλογα με τη δομή και τη λειτουργία τους σε ιντερλευκίνες (IL), ιντερφερόνες (INF), νεκρωτικούς παράγοντες όγκων (TNF), αυξητικούς παράγοντες και χημοκίνες [51]. Επίσης, κατατάσσονται σε φλεγμονώδεις, όπως οι ιντερλευκίνη-1β (IL-1β), IL-6, IL-8 και ο νεκρωτικός παράγοντας όγκου TNF-α και σε αντιφλεγμονώδεις, όπως οι IL-4, IL10 και IL-13. Οι κυτταροκίνες που αφορούν την προτεινόμενη θεωρία για την υπερπροπόνηση είναι οι φλεγμονώδεις IL-1β και TNF-α. Μια από τις δράσεις τους είναι να ενεργοποιούν τα επιθηλιακά κύτταρα των τοπικών αιμοφόρων αγγείων για την παραγωγή και άλλων κυτταροκινών. Στο ήπαρ ελέγχουν τη σύνθεση πρωτεϊνών οξείας φάσεως και στον υποθάλαμο αλλάζουν το σημείο αναφοράς της θερμοκρασίας σώματος.



Εικόνα 4: Η επίδραση του μυϊκού τραύματος στη συστηματική φλεγμονή

1.9. ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ ΣΤΗΝ ΥΔΑΤΟΣΦΑΙΡΙΣΗ

Η υδατοσφαίριση είναι μία φυσική δραστηριότητα, όπου οι καρδιακοί ρυθμοί αυξάνονται κατά 100% και το γαλακτικό οξύ κατά 375%. Εντούτοις, το φαινόμενο αυτό μπορεί να εντοπιστεί σε καθημερινές ενασχολήσεις των εφήβων ενώ δεν αποκλείεται να συναντάται και σε άλλα ομαδικά και μη αθλήματα. Μάλιστα, μελέτες προσομοίωσης της υδατοσφαίρισης σε νεαρά κορίτσια συνοδεύονται από έντονη φλεγμονώδη απόκριση. Συγκεκριμένα, η IL-6, μια κυτταροκίνη συχνά συνδεόμενη με καταβολική κατάσταση αυξάνεται σημαντικά μετά από τη συγκεκριμένη άσκηση [61]. Αν και η IL-6 θεωρούνταν ένα καταβολικό μόριο, νεότερα δεδομένα προτείνουν ότι είναι πιθανό να έχει θετικές επιδράσεις στην ανάπτυξη σε συγκεκριμένες καταστάσεις συμπεριλαμβανομένης και της άσκησης. Υπάρχουν και άλλα μέλη της ίδιας οικογένειας κυτταροκινών, που ρυθμίζουν τη μυϊκή ανάπτυξη [62]. Η IL-6 διεγείρει την αγγειογένεση με τη συμμετοχή αγγειακών αυξητικών παραγόντων (π.χ αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών 2 [64] και αγγειακός ενδοθηλιακός παράγοντας) [64]. Η σημασία του συγκεκριμένου ευρήματος έγκειται στο διπλό ρόλο της IL-6 ως φλεγμονώδους μορίου αλλά και ως αντιφλεγμονώδους κυτταροκίνης, που εκκρίνεται από T-κύτταρα και

μακροφάγα με σκοπό να διεγείρει την ανοσολογική απόκριση στο τραύμα ή άλλη ιστική βλάβη, που οδηγεί σε φλεγμονή. Η IL-6 είναι επίσης και μια μυοκίνη, η οποία παράγεται από τους μύες και η συγκέντρωσή της αυξάνεται σε απόκριση στη μυϊκή σύσπαση [65]. Γενικότερα, η IL-6 αυξάνεται με την άσκηση και σε άτομα μικρής ηλικίας [66]. Παρόμοια, έχει βρεθεί μια ουσιαστική αύξηση στα επίπεδα του υποδοχέα της IL-1 (IL-1R) [61], του οποίου ο ρόλος μπορεί να είναι επίσης διττός: η τύπου I μορφή του είναι υπεύθυνη για τη μεταγωγή φλεγμονωδών σημάτων της IL-1, ενώ η τύπου II μορφή του μπορεί να είναι κατασταλτική [67].

Στους ενήλικες και στα παιδιά έχει βρεθεί επίσης αύξηση στον TNF-α έπειτα από έντονη άσκηση [68], ενώ υπάρχουν και μελέτες που υποδηλώνουν μικρή αλλά σημαντική μείωση του TNF-α κατά 20%. Πιθανές εξηγήσεις αυτής της διαφοράς μπορεί να είναι ο τύπος της άσκησης, η διάρκεια και η ένταση. Η πιο σχετική απόδειξη όσον αφορά αυτό είναι ότι η εκτεταμένη έκθεση στο κρύο παρά τη διατήρηση της θερμοκρασίας του σώματος, μειώνει την ενδοκυττάρια έκφραση του TNF-α και οδηγεί σε μείωση των επιπέδων του στον ορό μετά από άσκηση [69]. Επίσης, η πρωτεΐνη IGFBP-1, η οποία βρίσκεται κυρίως στους ιστούς και όχι στο αίμα μπορεί να αναστείλει τις αναβολικές επιπτώσεις της πρωτεΐνης IGF-I, ενώ τα επίπεδά της στην περιφέρεια αυξάνονται σε παθολογικές καταστάσεις όπως η σήψη και τα εγκαύματα. Μάλιστα, ένας αριθμός μελετών υποστηρίζει ότι η IGFBP-1 αυξάνεται με την άσκηση [70]. Γενικότερα, έχουν μελετηθεί πολλές κυτταροκίνες μερικά παραδείγματα των οποίων φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 1).

Πίνακας 1: Η επίδραση της άσκησης σε κυτταροκίνες και αυξητικούς παράγοντες [22]

	Πριν την άσκηση	Μετά την άσκηση
IL-6	1.95±0.45 pgxmL ⁻¹	6.72±1.23 pgxmL ⁻¹
IL-1Ra	290±58 pgxmL ⁻¹	464±60 pgxmL ⁻¹
TNF-α	2.58±0.28 pgxmL ⁻¹	2.4±0.25 pgxmL ⁻¹
Αυξητική ορμόνη	3.06±0.44 ngxmL ⁻¹	3.07±0.81 ngxmL ⁻¹
Συνολικός IGF-I	522±24 ngxmL ⁻¹	510± 27 ngxmL ⁻¹
Συνδεδεμένος IGF-I	520±24 ngxmL ⁻¹	506± 27 ngxmL ⁻¹
Ελεύθερος IGF-I	2.9±0.7 ngxmL ⁻¹	3.03±0.5 ngxmL ⁻¹
IL-1β	0.273±0.061 pgxmL ⁻¹	0.259±0.063 pgxmL ⁻¹
IGFBP-1	3.5±0.7 ngxmL ⁻¹	43.0±7.8 ngxmL ⁻¹

IGFBP-3	3704±168 ng×mL ⁻¹	3662±122 ng×mL ⁻¹
---------	------------------------------	------------------------------

1.10. ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗ-10

Η πρωταρχική δομή της ανθρώπινης IL-10 έχει καθοριστεί με την κλωνοποίηση cDNA, το οποίο την κωδικοποιεί [71]. Το ανθρώπινο γονίδιο της IL-10 βρίσκεται στο χρωμόσωμα 1 και είναι παρόν ως μοναδικό αντίγραφο στο γονιδίωμα [72]. Η ανθρώπινη IL-10 εκδηλώνει ισχυρή ομολογία DNA και ακολουθίας αμινοξέος με την IL-10 ποντικού και το ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης στο γονιδίωμα του ιού Epstein-Barr, BCRF1 [73], που μοιράζεται πολλές από τις βιολογικές δραστηριότητες της κυτταροκίνης στο κύτταρο και μπορεί επομένως να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην αλληλεπίδραση ιών-ξενιστών.



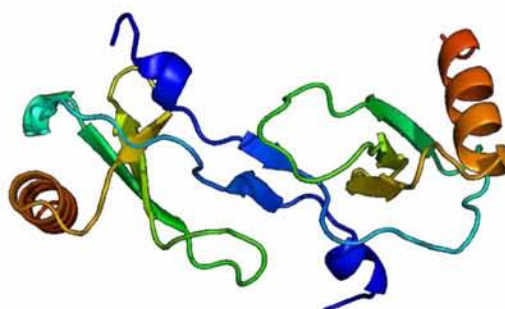
Εικόνα 5: Το μόριο της ιντερλευκίνης-10

Η πρωτεΐνη έχει 160 αμινοξέα με μοριακό βάρος 18.5 kDa [74]. Με βάση τη δομή της, είναι μέλος της οικογένειας των κυτταροκινών δέσμης-τετραπλού έλικα [75]. Σε διαλυτή μορφή είναι ένα ομοδιμερές με μοριακό βάρος 39 kDa [76]. Αν και περιέχει μια N-συνδεδεμένη γλυκοζυλιωμένη περιοχή στερείται ανιχνεύσιμων υδατανθράκων [71]. Η ανασυνδυαζόμενη πρωτεΐνη που εκφράζεται στο E.coli έτσι διατηρεί όλες τις γνωστές βιολογικές δραστηριότητες. Η IL-10 είναι μια πλειοτροπική κυτταροκίνη που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο ως ρυθμιστής της λεμφικής και μυελικής λειτουργίας των κυττάρων. Λόγω της δυνατότητάς της να εμποδίζει τη σύνθεση κυτταροκινών καθώς και διάφορες βοηθητικές λειτουργίες των μακροφάγων αποτελεί έναν ισχυρό καταστολέα των δραστικών λειτουργιών των μακροφάγων, των T-κυττάρων και των φυσικών κυτταροκτόνων κυττάρων (NK-κύτταρα). Επιπλέον, η IL-10 συμμετέχει στη ρύθμιση του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των B-κύτταρων (τα οποία συμμετέχουν στην παραγωγή αντισωμάτων), των σιτευτικών κυττάρων (τα οποία συνδέονται με την αλλεργική αντίδραση) και κυττάρων του θύμου

αδένα [77]. Οι ανοσοκατασταλτικές ιδιότητες της IL-10 [78] προτείνουν μια πιθανή κλινική χρήση της IL-10 στην καταστολή των απορρίψεων μοσχευμάτων μετά από τη μεταμόσχευση οργάνων. Η IL-10 μπορεί επιπλέον συμμετέχει σε ισχυρές αντιφλεγμονώδεις δραστηριότητες [78].

1.11. ΧΗΜΕΙΟΤΑΚΤΙΚΗ ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΤΩΝ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Η ανθρώπινη χημειοτακτική πρωτεΐνη των μονοκυττάρων (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1), γνωστή και ως χημειοκίνη, αποτελείται από 76 αμινοξέα και προέρχεται από τη διάσπαση ενός υδροφοβικού πεπτιδίου μήκους 23 αμινοξέων από την πρόδρομη μορφή της που αποτελείται από 99 αμινοξέα [79,80]. Η MCP-1 είναι ένα μονομερές πολυπεπτιδίο με μοριακό βάρος 13kDa. Παρόμοια με άλλες χημειοτακτικές κυτταροκίνες (χημειοκίνες), ο γονιδιακός της τόπος βρίσκεται στο χρωμόσωμα 17 και εκφράζεται κυρίως από τα μακροφάγα σε απόκριση σε ένα ευρύ φάσμα κυτταροκινών όπως οι IL-6, TNF-α και IL-1β, αλλά μπορεί, έπειτα από διέγερση να παραχθεί επίσης από διαφορετικά κύτταρα και ιστούς, όπως οι ινοβλάστες, τα ενδοθηλιακά κύτταρα ή ορισμένα καρκινικά κύτταρα [79,80].



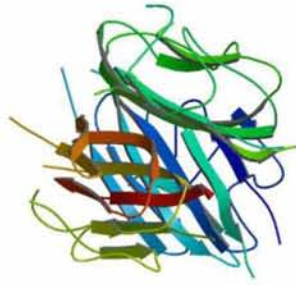
Εικόνα 6: Το μόριο της MCP-1

Οι χημειοκίνες αντιπροσωπεύουν μία υπεροικογένεια μικρών εκκρινόμενων πρωτεϊνών που λειτουργούν ως διακυτταρικοί σηματοδότες για να ελέγξουν τη μετανάστευση και την ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων που εμπλέκονται στις φλεγμονώδεις αντιδράσεις και την ανοσία [81,82]. Επιπλέον, είναι σημαντικοί διαμεσολαβητές πολλών παθολογικών καταστάσεων όπως οι αλλεργικές αντιδράσεις, οι χρόνιες φλεγμονώδεις και αυτοάνοσες νόσοι, η ανάπτυξη όγκων και η αιματοποιητική ανάπτυξη [83]. Η MCP-1, γνωστή ως μονοκύτταρος χημειοτακτικός και ενεργοποιητικός παράγοντας (MCAF), προσελκύει επίσης τα λεμφοκύτταρα T και τα κύτταρα NK [86,87]. Λόγω της ιδιαιτερότητας των κυττάρων στόχων της, η MCP-1 μπορεί να δράσει ως παθογόνο σε ποικίλες ασθένειες που χαρακτηρίζονται από τη μονοπύρνη

διήθηση κυττάρων, όπως η αρτηριοσκλήρυνση [88], η ρευματοειδής αρθρίτιδα και οι αλλεργικές αντιδράσεις [86,87]. Αυξημένα επίπεδα της MCP-1 έχουν βρεθεί επίσης στην οστική φλεγμονή, τη νόσο Alzheimer (AD) [89], τη μυοκαρδιακή ισχαιμία [90] και τις ιικές μολύνσεις [91,92]. Επιπλέον, σε οξείες και χρόνια ενεργές αλλοιώσεις της σκλήρυνσης κατά πλάκας (MS) η ανοσοδραστικότητα της MCP-1 αυξήθηκε ενώ η MCP-1 βρέθηκε να μειώνεται σημαντικά στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (CSF) και τις χρόνιες αλλοιώσεις των ασθενών με MS [93,94]. Στα βασεόφιλα, η MCP-1 είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική ως ερέθισμα της απελευθέρωσης ισταμίνης αλλά έχει μόνο ισχνή χημειοτακτική δράση. Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι προσελκύει τα CD4+ και CD8+ T-κύτταρα, ενώ η έκφραση της MCP-1 μπορεί να έχει επιπτώσεις στη μόλυνση από HIV μέσω της σηματοδότησης του CCR2 υποδοχέα της [95].

1.12. ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ

Η αντιπονεκτίνη (επίσης γνωστή και ως GBP-28, apM1, AdipoQ και Acrp30) είναι μια εκκρινόμενη πρωτεΐνη ειδική των λιποκυττάρων, η οποία κωδικοποιείται από το γονίδιο *ADIPOQ* [96]. Πρόκειται για ένα πολυπεπτίδιο 244 αμινοξέων με 4 κύριες περιοχές. Η πρώτη είναι μια μικρή αλληλουχία σηματοδότησης, η οποία στοχεύει την ορμόνη που θα την οδηγήσει εκτός του κυττάρου. Η δεύτερη είναι μια μικρή περιοχή, η οποία ποικίλει από είδος σε είδος και η τρίτη είναι μια περιοχή 65 αμινοξέων στο αμινοτελικό άκρο της με ομοιότητες με τις πρωτεΐνες κολλαγόνου. Τέλος, τέταρτη περιοχή της αντιπονεκτίνης είναι μια καρβοξυτελική σφαιρική δομή. Η δομή της συγκεκριμένης πρωτεΐνης έχει ομοιότητες με τον παράγοντα του συμπληρώματος C1q. Εντούτοις, μετά την ανακάλυψη της τρισδιάστατης δομής της, αυτή η σφαιρική δομή βρέθηκε ότι έχει μια καταπληκτική ομοιότητα με τη δομή του παράγοντα νέκρωσης όγκων (TNF-α) παρά το γεγονός ότι οι αντίστοιχες αλληλουχίες των πρωτεϊνών δε συμπίπτουν [97]. Για την ακρίβεια, παρά το γεγονός ότι μοιράζονται μικρή ομολογία οι αλληλουχίες αυτές, η παρόμοια τρισδιάστατη δομή τους και τα συγκεκριμένα διατηρημένα αμινοξέα προτείνουν μια εξελικτική σχέση ανάμεσα στα C1q-τύπου τμήματα της αντιπονεκτίνης και μέλη της TNF οικογένειας [98].



Εικόνα 7: Το μόριο της αντιπανεκτίνης

Η αντιπανεκτίνη σχηματίζει διαφορετικά συμπλέγματα όπως χαμηλού μοριακού βάρους τριμερή, μεσαίου μοριακού βάρους εξαμερή και υψηλού μοριακού βάρους ολιγομερείς δομές, οι οποίες επηρεάζουν τη βιολογική της δράση [99]. Η αντιπανεκτίνη είναι μια πρωτεϊνική ορμόνη που ρυθμίζει ένα μεγάλο αριθμό μεταβολικών διαδικασιών συμπεριλαμβανομένης της ρύθμισης της συγκέντρωσης της γλυκόζης και του καταβολισμού των λιπιδίων [100]. Εκκρίνεται αποκλειστικά από το λιπώδη ιστό στην κυκλοφορία του αίματος ενώ η συγκέντρωσή της είναι πολύ υψηλή στο πλάσμα του αίματος. Συγκεκριμένα, τα επίπεδα της αντιπανεκτίνης (5-10μg/MI) είναι περίπου το 0.01% των συνολικών πρωτεϊνών του πλάσματος [101]. Μάλιστα, τα επίπεδα της αντιπανεκτίνης συσχετίζονται αντίστροφα με τα ποσοστά λίπους στο σώμα ενηλίκων ενώ η συσχέτιση αυτή στα νεογνά και τα παιδιά είναι λιγότερο εμφανής [102].

Η αντιπανεκτίνη επάγεται κατά τη διαφοροποίηση των λιποκυττάρων ενώ η έκκρισή της διεγείρεται από την ινσουλίνη [103]. Δύο υποδοχείς της αντιπανεκτίνης, οι AdipoR1 και AdipoR2, έχουν κλωνοποιηθεί και εκφράζουν 7 διαμεμβρανικά τμήματα [104]. Ο AdipoR1 υποδοχέας εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό από τους σκελετικούς μύες, ενώ ο AdipoR2 βρίσκεται πρωταρχικά στο ήπαρ. Ένεση της αντιπανεκτίνης σε μη παχύσαρκα διαβητικά ποντίκια οδηγεί σε μια ανεξάρτητη της ινσουλίνης μείωση στα επίπεδα της γλυκόζης. Αυτό προφανώς οφείλεται σε επίδραση της αντιπανεκτίνης στην ευαισθητοποίηση της ινσουλίνης και στη ρύθμιση του μεταβολισμού των τριγλυκεριδίων [105].

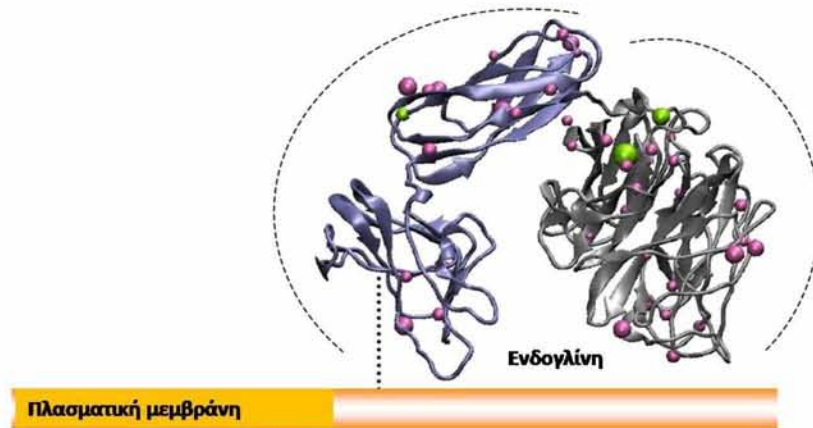
Μια ελλειπής μορφή της αντιπανεκτίνης (gAdiponectin), η οποία αποτελείται μόνο από το καρβοξυτελικό σφαιρικό τμήμα έχει βρεθεί στο αίμα ενώ ανασυνδυασμένη μορφή της ρυθμίζει τη μείωση του βάρους καθώς και την οξειδωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων στους μύες και το ήπαρ ποντικών [106,107]. Η πλήρης μορφή της ανασυνδυασμένης αντιπανεκτίνης

είναι λιγότερο ικανή να επάγει αυτά τα αποτελέσματα. Ο μηχανισμός στον οποίο βασίζεται ο ρόλος της αντιπονεκτίνης στην οξειδωση των λιπιδίων ίσως εμπλέκει τη ρύθμιση της έκφρασης ή της ενεργότητας των πρωτεϊνών που σχετίζονται με το μεταβολισμό των τριγλυκεριδίων όπως ο CD36, η ακυλοσυνενζυμο Α-οξειδάση, AMPK και PPAR γ [107,108,109].

Αν και η ρύθμιση της γλυκόζης και του μεταβολισμού των λιπιδίων στον άνθρωπο είναι λιγότερο ξεκάθαρη είναι πιθανό να ενεργοποιούνται παρόμοιοι μηχανισμοί [110]. Έχει αναφερθεί ότι υπάρχει αρνητική συσχέτιση μεταξύ της παχυσαρκίας και της αντιπονεκτίνης που βρίσκεται στην κυκλοφορία [111,112,113] καθώς τα επίπεδά της αυξάνονται ταυτόχρονα με την απώλεια βάρους [114]. Ωστόσο, μειωμένα επίπεδα αντιπονεκτίνης σχετίζονται με την αντίσταση στην ινσουλίνη και την υπερινσουλινεμία [115]. Ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 έχουν μειωμένα επίπεδα αντιπονεκτίνης ενώ συγκεκριμένα αντιδιαβητικά φάρμακα όπως οι θειαζολιδινεδιόλες αυξάνουν τα επίπεδά της [116]. Η αντιπονεκτίνη μπορεί να έχει και αντι-αθηρογενετικό και αντι-φλεγμονώδη ρόλο. Μελέτες δείχνουν, ότι τα επίπεδά της στο πλάσμα ασθενών με στεφανιαία νόσο μειώνονται. Η συγκεκριμένη πρωτεΐνη παρεμποδίζει την ενδοθηλιακή έκφραση των μορίων προσκόλλησης *in vitro*, καταστέλλοντας έτσι την πρόσδεση των μονοκυττάρων σε αυτά [117]. Επιπλέον, ρυθμίζει αρνητικά την ανάπτυξη των μυελομονοκυτταρικών προγονικών κυττάρων και την παραγωγή του TNF- α από τα μακροφάγα [118,119].

1.13. ΕΝΔΟΓΛΙΝΗ

Η ενδογλίνη, γνωστή και ως CD105, έχει μοριακό βάρος 180 kDa και δεσμεύει μέλη της οικογένειας TGF- β . Αυτή η μεγάλη τύπου I ολοκληρωτική μεμβρανοειδής γλυκοπρωτεΐνη μπορεί να έχει ρόλους στην αιμοποίηση, την καρδιοαγγειακή ανάπτυξη και την αγγειογένεση. Η ενδογλίνη έχει μία διθειούχα-συνδεδεμένη εξωκυτταρική περιοχή και φωσφορολιωμένη κυτοπλασματική ουρά [120]. Έχει κατά 71% ομοιότητα στην αλληλουχία της με τις διαμεμβρανοειδείς και κυτοπλασματικές δομές της β -γλυκόζης [120]. Έχουν ταυτοποιηθεί δύο τύποι ενδογλίνης (η S και η L), που διαφέρουν στο μήκος των κυτοπλασματικών τους ουρών [121]. Η ενδογλίνη-L αποτελείται συνολικά από 633 αμινοξέα με μια κυτοπλασματική περιοχή 47 αμινοξέων, ενώ η ενδογλίνη-S αποτελείται από 600 αμινοξέα και έχει μία κυτοπλασματική περιοχή 14 αμινοξέων.



Εικόνα 8: Το μόριο της ενδογλίνης

Η ενδογλίνη εκφράζεται σε αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα [122], χονδροκύτταρα [123] και συνσπιτιοτροφοβλάστες από το στάδιο του πλακούντα [124]. Επίσης, εντοπίζεται σε μονοκύτταρα [125], ερυθροειδείς προπομπούς [126] και σε έναν υποπληθυσμό αιματοποιητών βλαστικών κυττάρων [127]. Παρότι η λειτουργία της παραμένει εν πολλοίς άγνωστη, τα επίπεδα μίας κυκλοφορούσας διαλυτής μορφής ενδογλίνης ανεβαίνουν σε ασθενείς με αθηροσκλήρυνση [128] και με ορισμένες μορφές καρκίνου συμπεριλαμβανομένων του μαστού [129], του παχέος εντέρου [130] και του μυελού των οστών [131].

Η ενδογλίνη δεσμεύει αρκετά μέλη της υπερικογένειας TGF- β και πιο συγκεκριμένα τους TGF- β 1, TGF- β 3, BMP-2, BMP-7 και την ακτιβίνη A [132]. Η ενδογλίνη δε δεσμεύει TGF- β στελέχη μόνη της, αλλά συσχετιζόμενη και με το στέλεχος και με τον αντίστοιχο αποδέκτη [132]. Για παράδειγμα, η ενδογλίνη δεσμεύει *in vitro* τους TGF- β 1 και TGF- β 3 με τη βοήθεια του TGF- β τύπου II δέκτη (TGF- β RII) ή συνεργάζεται με την ακτιβίνη A και BMP-7 μέσω της ακτιβίνης τύπου II και IIB. Επιπλέον, η ενδογλίνη δεσμεύει το bmp-2 *in vitro* μέσω είτε του bmpR-IA (ALK-3) είτε του bmpR-IB (ALK-6). Αν και η ενδογλίνη δε δεσμεύει τον TGF- β από μόνη της, μπορεί να δεσμεύσει το δέκτη ελλείψει του στελέχους. Παραδείγματος χάριν, οι TGF- β RI και TGF- β RII συνεργάζονται και με τις ενδοκυτταρικές και εξωκυτταρικές περιοχές της ενδογλίνης [133].

Ο δεσμευτικός μηχανισμός οδηγεί στο διαφορικό κανονισμό της φωσφορυλιωμένης κατάστασης και του TGF- β RI και του TGF- β RII. Η ενδογλίνη φαίνεται να έχει και θετικά και αρνητικά αποτελέσματα ως διαμορφωτής της σηματοδότησης της TGF- β . Η ενδογλίνη ενισχύει *in vitro* τη

φωσφορυλίωση της καθοδικής πορείας του δραστικού TGF-β, Smad2 [133]. Επιπλέον, η έντονη εμφάνιση ενδογλίνης στα μυελομονοκυτταρικά κύτταρα καταστέλλει τις δραστηριότητες του TGF-β1 [134].

Επίσης, έχει προταθεί η συμμετοχή της ενδογλίνης στην αιμοποίηση, την αγγειογένεση και την καρδιαγγειακή ανάπτυξη. Η ενδογλίνη έχει χρησιμοποιηθεί ως δείκτης για να καθορίσει μακροπρόθεσμα επαναπροσδιορίσιμα αιματοποιητικά βλαστικά κύτταρα. Επιπλέον, η τεχνητή διαφοροποίησή της σε ενδογλίνη -/- σε εμβρυικά βλαστικά κύτταρα ποντικών στις μυελοποιητικές και ερυθροποιητικές καταγωγές είναι εξασθετισμένες [136]. Ποντίκια knockout πεθαίνουν ενδομήτρια την 10^η-11^η ημέρα, χαρακτηρίζονται από την αποτυχία ωρίμανσης των εξω-εμβρυϊκών φορέων λεκίθου και εκθέτουν αποδυναμωμένο εμβρυικό αγγειακό σύστημα, που οδηγεί στην απώλεια ενδοθηλιακής ακεραιότητας και σε αιμορραγία [136,137]. Τα ποντίκια -/- σε ενδογλίνη επιδεικνύουν επίσης ανώμαλη καρδιακή ανάπτυξη που συμπεριλαμβάνει διευρυμένες καρδιές, νέκρωση, και ατέλειες στο σχηματισμό βαλβίδων και διαφραγμάτων [137]. Στους ανθρώπους, οι μεταλλάξεις στο γονίδιο ενδογλίνης είναι υπεύθυνες για την κληρονομική αιμορραγική τελαγγειεκτασία τύπου 1 (HHT1), μια αυτοσωμική διαταραχή που χαρακτηρίζεται από την αιμορραγία των τελαγγειεκτασιών των βλεννωδών μεμβρανών και του γαστρεντερικού κομματιού και αρτηριοφλεβώδης δυσμορφία σε διάφορα συστήματα οργάνων συμπεριλαμβανομένων του εγκεφάλου, των πνευμόνων και του ήπατος [138, 139]. Επιπλέον, διάφορες μελέτες έχουν δείξει την ενισχυμένη ενδοθηλιακή εμφάνιση ενδογλίνης, που συνδέεται με την αγγειογένεση σε διάφορους τύπους καρκίνων [140]. Ο εντοπισμός ενδογλίνης στο αγγειακό σύστημα ιστών καρκίνου την έχει κάνει επίσης ένα πιθανό στόχο για τη συσχετισμένη με όγκους αντι-αγγειογενή θεραπεία [141, 142].

1.14. ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΥΠΟΘΕΣΗ

Η υδατοσφαίριση είναι ένα άθλημα που λόγω έντονης ατομικής προσπάθειας του αθλητή έχει υψηλές μεταβολικές απαιτήσεις. Συνοδεύεται από έντονες και μικρές σε διάρκεια «εκρήξεις» δραστηριότητας με ενδιάμεσα διαλλείματα. Η βιβλιογραφία στερείται εργασιών που εξετάζουν τη μεταβολή συγκεκριμένων κυτταροκινών σε ομαδικά αθλήματα κατά τη διάρκεια ενός ετήσιου προπονητικού κύκλου. Στην παρούσα εργασία αναμένονται μεταβολές στα επίπεδα σημαντικών κυτταροκινών στο περιφερικό αίμα όπως η

ιντερλευκίνη-10, η αντιπονεκτίνη, η ενδογλίνη και η MCP-1. Μια τέτοια μελέτη θα καταδείκνυε τις περιόδους, στις οποίες οι αθλήτριες είναι πιο επιβαρυνμένες από την προπόνηση με αποτέλεσμα να επηρεάζεται η αθλητική τους απόδοση καθώς και πιθανούς τρόπους αντιμετώπισης του προβλήματος αυτού.

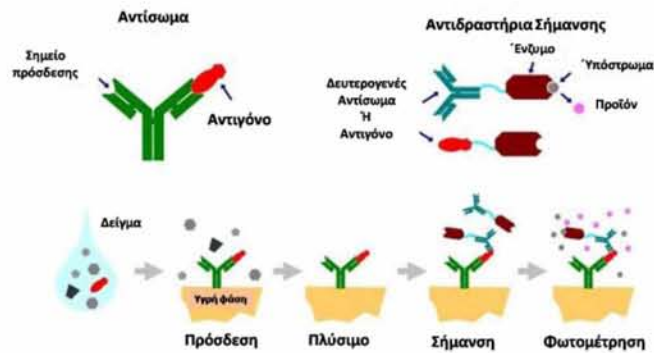
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Στην παρούσα μελέτη λήφθηκαν δείγματα περιφερικού αίματος από 6 νεαρές αθλήτριες υδατοσφαίρισης ομάδας της Α1 κατηγορίας που κάνουν πρωταθλητισμό. Οι αιμοληψίες έγιναν σε τέσσερις χρονικές περιόδους. Πιο συγκεκριμένα, τα δείγματα λήφθηκαν κατά την έναρξη της προετοιμασίας το Σεπτέμβριο, κατά την έναρξη του πρωταθλήματος το Νοέμβριο, κατά την έναρξη του δεύτερου γύρου του πρωταθλήματος το Φεβρουάριο και τέλος κατά την έναρξη των play-offs τον Απρίλιο. Κατά την έναρξη της προετοιμασίας, ο όγκος της προπόνησης είναι μεγάλος και η έντασή της υψηλή ώστε οι αθλήτριες να προετοιμαστούν όσο το δυνατόν καλύτερα για την επικείμενη αγωνιστική περίοδο. Στην έναρξη του πρωταθλήματος και στην έναρξη του δεύτερου γύρου η προπόνηση είναι καθημερινή αλλά η ένταση δεν είναι τόσο μεγάλη όσο ήταν στην αρχή της προετοιμασίας. Τέλος, κατά την περίοδο των play-offs οι αθλήτριες είναι ήδη καταμονημένες από τις συνεχείς προπονήσεις και τα παιχνίδια ολόκληρης της περιόδου και η προπόνηση είναι επίσης μέτριας έντασης και καθημερινή. Τα δείγματα αίματος λήφθηκαν σε σωληνάρια χωρίς αντιπηκτικό, έμειναν για 20 λεπτά ώσπου το αίμα να πήξει και ακολούθησε φυγοκέντρηση στα 1370g στους 4°C για 10 λεπτά ώστε να διαχωριστεί ο ορός από τα ερυθροκύτταρα. Ο ορός συλλέχθηκε και διατηρήθηκε στους -80°C ώσπου να γίνουν οι αναλύσεις.

2.2. ΑΝΟΣΟΠΡΟΣΡΟΦΗΤΙΚΗ ΕΝΖΥΜΙΚΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ (ELISA)

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των προς εξέταση κυτταροκινών έγινε με τη χρήση της ανοσοπροσοφητικής ενζυμικής δοκιμασίας (enzyme linked immunoabsorbent assay, ELISA).



Εικόνα 9: Η αρχή της μεθόδου

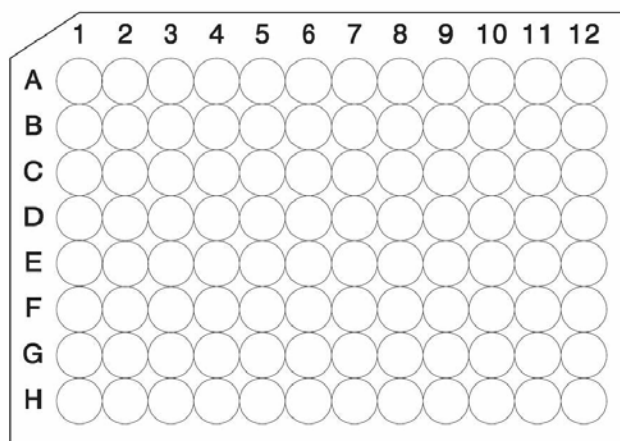
Η ανάλυση των δειγμάτων έγινε σε DSX-compatible αυτοματοποιημένο μηχάνημα ELISA (DYNEX) στο Τμήμα Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.



Εικόνα 10: Το αυτοματοποιημένο μηχάνημα της ELISA στο οποίο έγιναν οι μετρήσεις

2.2.1. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗΣ-10

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της IL-10 έγινε με τη χρήση του Human IL-10 ELISA kit (Diacclone). Αρχικά, προετοιμάστηκαν το διάλυμα πλυσίματος (wash buffer) και τα πρότυπα διαλύματα IL-10 (standards). Ακολούθως, προστέθηκαν 50μl αντισώματος συνδεδεμένου με βιοτίνη (Anti-IL-10 biotin conjugate) έναντι της IL-10 στη μικροπλάκα (microplate) 96 βοθρίων (96 wells), η οποία είναι εκ των προτέρων καλυμμένη με αντίσωμα (antibody pre-coated).



Εικόνα 11: Η μικροπλάκα με τα βοθρία στα οποία γίνονται οι αντιδράσεις.

Στη συνέχεια, προστέθηκαν 100μl πρότυπου διαλύματος ή δείγματος στα αντίστοιχα βοθρία (συνήθως στα πρώτα βοθρία αντιστοιχούν βοθρία του πρότυπου διαλύματος) και ακολούθησε ανάδευση και επώση 2 ωρών σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθησε απομάκρυνση του υπερκείμενου και πλύσιμο με διάλυμα πλύσης (1X wash buffer) και η διαδικασία επαναλήφθηκε 5 φορές. Η HRP συνδεδεμένη στρεπταβιδίνη (Streptavidin-HRP) προστέθηκε (100μl) στην anti-IL-10 και επώαστηκε για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά την επώαση και πλύσεις όπως παραπάνω προστέθηκαν 100μl διαλύματος υποστρώματος (Substrate Solution) για 20 λεπτά στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου. Τέλος, προστέθηκαν 100μl διαλύματος διακοπής της αντίδρασης (Stop solution) και έγινε φωτομέτρηση στα 450nm εντός 30 λεπτών. Ο προσδιορισμός όλων των δειγμάτων έγινε εις τριπλούν.

2.2.2. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ MCP-1

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της MCP-1 έγινε με τη χρήση του Human MCP-1 ELISA kit (Diacclone). Συγκεκριμένα, αφού προετοιμάστηκαν όλα τα αντιδραστήρια, τα πρότυπα διαλύματα (standards) και τα δείγματα στη συνέχεια πλύθηκαν δύο φορές τα βοθρία της μικροπλάκας με διάλυμα (wash buffer) και μετά την απομάκρυνσή του προστέθηκαν 100μl διαλύματος (assay buffer) στα βοθρία που αντιστοιχούσαν στα πρότυπα διαλύματα. Προστέθηκαν 100μl πρότυπου διαλύματος MCP-1 στα πρώτα βοθρία της μικροπλάκας και δημιουργήθηκαν διαβαθμισμένες αραιώσεις από τα 1000pg/ml στα 16pg/ml με τη μεταφορά 100μl από το ένα βοθρίο στο επόμενο. Στα κενά βοθρία προστέθηκαν 100μl διαλύματος (assay buffer) και 80μl του ίδιου στα γεμάτα. Στη συνέχεια προστέθηκαν 20μl δείγματος στα αντίστοιχα βοθρία και 50μl της

σημασμένης ουσίας (HRP-conjugate) και ακολούθησε επώση σε θερμοκρασία δωματίου για 2 ώρες. Απομακρύνθηκε του υπερκείμενο και πλύθηκε με διάλυμα πλυσίματος (wash buffer). Έπειτα, προστέθηκαν 100μl διαλύματος υποστρώματος (TMB substrate solution) σε όλα τα βοθρία συμπεριλαμβανομένων και των κενών και ακολούθησε επώση για 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Τέλος, έπειτα από την προσθήκη 100μl διαλύματος διακοπής της αντίδρασης (stop solution) σε όλα τα βοθρία συμπεριλαμβανομένων και των κενών μετρήθηκε η οπτική πυκνότητα του δείγματος εντός των 30 λεπτών σε φωτόμετρο στα 450nm. Ο προσδιορισμός όλων των δειγμάτων έγινε εις τριπλούν.

2.2.3. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΝΔΟΓΛΙΝΗΣ

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της ενδογλίνης έγινε με τη χρήση του Human Endoglin/CD105 Immunoassay kit (Quantikine). Συγκεκριμένα, αφού προετοιμάστηκαν όλα τα αντιδραστήρια προστέθηκαν 100μl κατάλληλου διαλύματος (Assay Diluent RD1S) σε κάθε βοθριο της μικροπλάκας. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 50μl πρότυπου διαλύματος δείγματος ελέγχου (control) ή δείγματος στα κατάλληλα βοθρία και ακολούθησε επώση για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου σε οριζόντιο περιστροφικό μηχανημα ανακίνησης της μικροπλάκας (shaker) στις 500 ± 50 rpm. Ακολούθησε απομάκρυνση του υπερκείμενου από κάθε βοθριο και πλύσιμο τέσσερις φορές. Με ειδικό διάλυμα (wash buffer). Ακολούθησε προσθήκη 200μl της σημασμένης ενδογλίνης (endoglin -conjugate) σε κάθε βοθριο και επώση για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου όπως παραπάνω ενώ μετά το πέρας αυτής απομακρύνθηκε το υπερκείμενο με πλύσεις. Τέλος, προστέθηκαν 200μl διαλύματος υποστρώματος (substrate solution) σε κάθε βοθριο, το οποίο επώστηκε για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι και η αντίδραση αυτή διακόπηκε με 50μl διαλύματος διακοπής (stop solution) σε κάθε βοθριο. Το χρώμα της αντίδρασης ανά βοθριο αλλάζει απο μπλέ σε κίτρινο (χαρακτηριστική αλλαγή της χρωμογόνου αντίδρασης). Η οπτική πυκνότητα του δείγματος έγινε εντός των 30 λεπτών σε φωτόμετρο στα 450nm. Ο προσδιορισμός όλων των δειγμάτων έγινε εις τριπλούν.

2.2.4. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της αντιπονεκτίνης έγινε με τη χρήση του Human Total Adiponectin/Acrp30 Immunoassay kit (Quantikine). Συγκεκριμένα, προστέθηκαν σε κάθε βοθρίο 100μl από κατάλληλο διάλυμα (Assay Diluent RD1W). Στη συνέχεια, προστέθηκαν 50μl πρότυπου διαλύματος, δείγματος ελέγχου (control) ή δείγματος στα κατάλληλα βοθρία και ακολούθησε επώαση για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου σε οριζόντιο περιστροφικό μηχάνημα ανακίνησης στις 500±50rpm. Εντούτοις, τα δείγματα ορού που χρησιμοποιήθηκαν απαιτούσαν προηγούμενη αραιώση (1:100) με αραιωτικό διάλυμα (Calibrator Diluent RD6-39). Το υπερκείμενο απομακρύνθηκε από κάθε βοθρίο και έγινε πλύσιμο με 400μl διαλύματος τέσσερις φορές. Ακολούθησε προσθήκη 200μl της σημασμένης ενδογλίνης (adiponectin-conjugate) σε κάθε βοθρίο και επώαση για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου όπως παραπάνω ενώ μετά το πέρας αυτής ακολούθησε απομάκρυνση του υπερκείμενου και πλύσεις. Τέλος, προστέθηκαν 200μl διαλύματος υποστρώματος (substrate solution) σε κάθε βοθρίο, το οποίο επώαστηκε για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι, αντίδραση που διακόπηκε με 50μl διαλύματος διακοπής (stop solution) σε κάθε βοθρίο. Η οπτική πυκνότητα του δείγματος έγινε εντός των 30 λεπτών σε φωτόμετρο στα 450nm. Ο προσδιορισμός όλων των δειγμάτων έγινε εις τριπλούν.

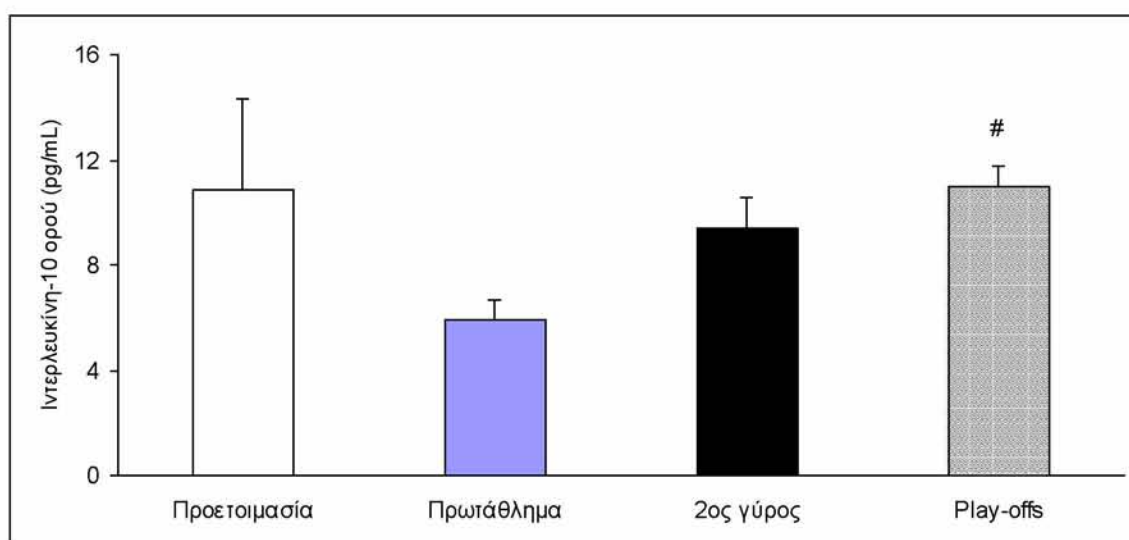
2.3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε μέσω της ανάλυσης διακύμανσης ενός παράγοντα (χρόνος) (ANOVA) για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις. Οι ζευγαρωτές συγκρίσεις έγιναν μέσω ανάλυσης απλής κύριας επίδρασης. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο $P < 0.05$. Για όλες τις στατιστικές αναλύσεις χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα SPSS, version 13.0 (SPSS Inc., Chicago, Ill.). Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως mean ±SEM.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗ-10

Η συγκέντρωση της IL-10 κατά την έναρξη της προετοιμασίας είχε τιμή 10.88 pg/mL (SEM=3.44) ενώ στην έναρξη του πρωταθλήματος η τιμή αυτή μειώθηκε στα 5.93 pg/mL (SEM=0.77). Στη συνέχεια, κατά την περίοδο έναρξης του δεύτερου γύρου αυξήθηκε πάλι στα 9.40 pg/mL (SEM=1.15) ενώ στην έναρξη των play-offs υπήρξε μια περαιτέρω αύξηση στα 11.02 pg/mL (SEM=0.75). Οι διαφορές που προκύπτουν είναι εμφανείς αλλά όχι στατιστικά σημαντικές πλην της συγκριτικής διαφοράς, που υπάρχει ανάμεσα στο πρωτάθλημα και τα play-offs ($p=0.005$).

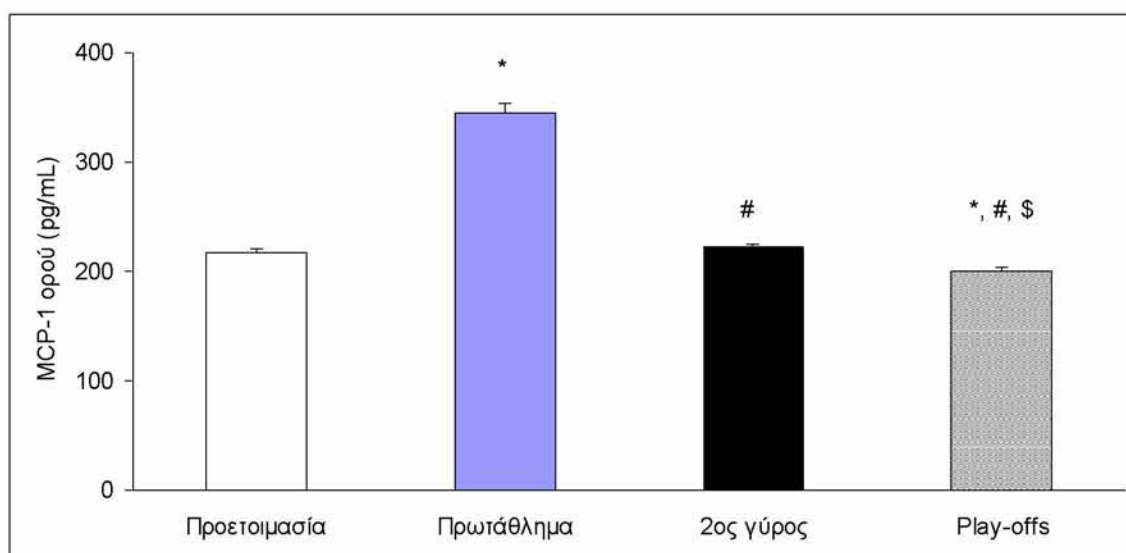


Διάγραμμα 1: Απεικόνιση των συγκεντρώσεων της IL-10 ανά περίοδο.

#: στατιστικά σημαντική διαφορά συγκριτικά με το πρωτάθλημα

3.2. MCP-1

Η συγκέντρωση της MCP-1 κατά την έναρξη της προετοιμασίας είχε τιμή 217.03 pg/mL (SEM=4.06), ενώ στην έναρξη του πρωταθλήματος η τιμή αυτή αυξήθηκε στα 344.65 pg/mL (SEM=9.29). Στη συνέχεια, κατά την περίοδο έναρξης του δεύτερου γύρου μειώθηκε στα 222.43 pg/mL (SEM=2.92), ενώ στην έναρξη των play-offs υπήρξε μια περαιτέρω μείωση στα 199.67 pg/mL (SEM=4.70). Από τις διαφορές που προκύπτουν η αύξηση της MCP-1 στο πρωτάθλημα είναι στατιστικά σημαντική σε σχέση με την προετοιμασία, όπως επίσης ανάμεσα στο δεύτερο γύρο και το πρωτάθλημα και τέλος ανάμεσα στα play-offs και τις τρεις προηγούμενους περιόδους ($p=0.004$).



Διάγραμμα 2: Απεικόνιση των συγκεντρώσεων της MCP-1 ανά περίοδο.

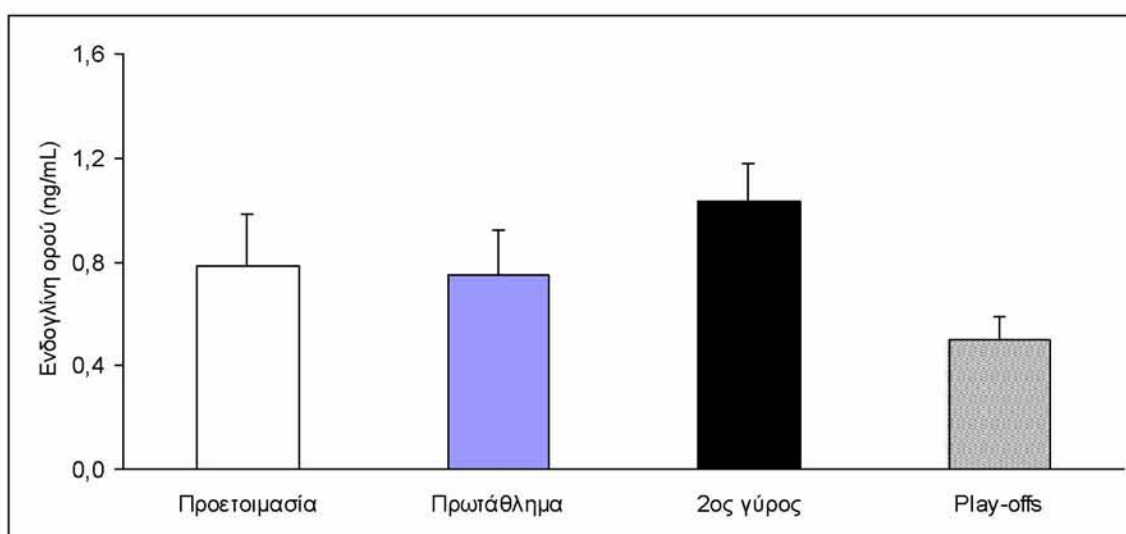
*: στατιστικά σημαντική διαφορά συγκριτικά με την προετοιμασία,

#: στατιστικά σημαντική διαφορά συγκριτικά με το πρωτάθλημα,

\$: στατιστικά σημαντική συγκριτικά με το δεύτερο γύρο

3.3. ΕΝΔΟΓΛΙΝΗ

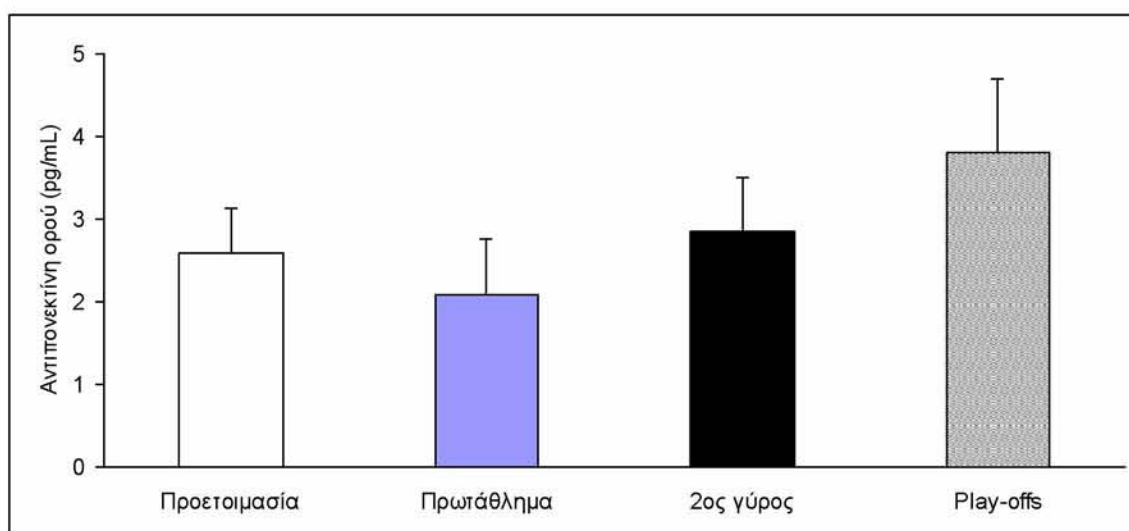
Η συγκέντρωση της ενδογλίνης κατά την έναρξη της προετοιμασίας είχε τιμή 0.78 ng/mL (SEM=0.20), ενώ στην έναρξη του πρωταθλήματος η τιμή αυτή μειώθηκε ελάχιστα στα 0.75 ng/mL (SEM=0.17). Στη συνέχεια, κατά την έναρξη του δεύτερου γύρου υπήρξε μια αύξηση στα 1.03 ng/mL (SEM=0.14), ενώ κατά την έναρξη των play-offs υπήρξε μια περαιτέρω μείωση με τιμή στα 0.50ng/mL (SEM=0.09). Από τις διαφορές που προκύπτουν καμία δεν είναι στατιστικά σημαντική ($p=0.175$).



Διάγραμμα 3: Απεικόνιση των συγκεντρώσεων της ενδογλίνης ανά περίοδο.

3.4. ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ

Η συγκέντρωση της αντιπονεκτίνης κατά την έναρξη της προετοιμασίας είχε τιμή 2.58 pg/mL (SEM=0.56), ενώ στην έναρξη του πρωταθλήματος η τιμή αυτή μειώθηκε στα 2.08pg/mL (SEM=0.67). Στη συνέχεια, κατά την έναρξη του δεύτερου γύρου υπήρξε μια αύξηση στα 2.85 pg/mL (SEM=0.64), ενώ στην έναρξη των play-offs υπήρξε μια περαιτέρω αύξηση στα 3.81pg/mL (SEM=0.89). Από τις διαφορές που προκύπτουν καμία δεν είναι στατιστικά σημαντική ($p=0.145$).



Διάγραμμα 4: Απεικόνιση των συγκεντρώσεων της αντιπονεκτίνης ανά περίοδο.

4.ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα εργασία παρατηρήθηκε ότι η αερόβια άσκηση και η υψηλής έντασης προπόνηση, που είναι χαρακτηριστικά των αθλητριών υδατοσφαίρισης υψηλού επιπέδου αύξησαν την τοπική και συστηματική φλεγμονή. Το αποτέλεσμα αυτό φάνηκε από τις μεταβολές στη συγκέντρωση της χημειοτακτικής πρωτεΐνης των μονοκυττάρων (MCP-1) και της IL-10. Αντίθετα, δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική μεταβολή στη συγκέντρωση της ενδογλίνης και της αντιπονεκτίνης, οι οποίες είχαν ωστόσο σαφείς τάσεις μεταβολής.

Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες έχει διαπιστωθεί σημαντική μείωση της MCP-1 με την άσκηση σε σύγκριση με μη ασκούμενα άτομα που πάσχουν από μεταβολικό σύνδρομο [143], αποτελέσματα τα οποία έρχονται σε αντίθεση με αυτά της παρούσας εργασίας. Αυξανόμενες ενδείξεις προτείνουν ότι χημειοκίνες όπως η MCP-1 παίζουν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία διήθησης των λευκοκυττάρων ελκύνοντας μονοκύτταρα στο αρτηριακό τοίχωμα [144]. Ωστόσο, οι συμμετέχοντες ήταν άνδρες ασθενείς ηλικίας 20-75 έτη και φυσικά ανενεργοί (αθλούσαν λιγότερο από 30 λεπτά την ημέρα). Επομένως, δεν μπορεί να συγκριθεί η φυσιολογία νεαρών αθλητριών που αθλούνται επαγγελματικά, ελεύθερων από φαρμακευτική αγωγή με την προηγούμενη ομάδα. Παρόλα αυτά, οι συγγραφείς προτείνουν ότι η άσκηση μπορεί να καταστείλει τη διαδικασία της φλεγμονής έχοντας έτσι ένα προστατευτικό και ταυτόχρονα αντιφλεγμονώδη ρόλο. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρονται και στη μελέτη των Roberts et al [145], δηλαδή μείωση της MCP-1 μετά από άσκηση. Είναι γνωστό ότι η MCP-1 έχει συγκεκριμένα κύτταρα ως στόχο, τα μονοκύτταρα και τα βασεόφιλα ενώ *in vitro* μπορεί να διεγείρει βοηθητικά (CD4) και κυτταροτοξικά (CD8) και T-κύτταρα μνήμης [146]. Η MCP-1 προσελκύει μονοκύτταρα στην περιοχή της φλεγμονής [147], υποδεικνύοντας έτσι τη μέγιστη σημασία της στο φαινόμενο αυτό. Επομένως, αύξηση της MCP-1 κατά την περίοδο έναρξης του πρωταθλήματος σημαίνει αύξηση της φλεγμονής κατά την περίοδο αυτή.

Όσον αφορά την IL-10, η συγκέντρωσή της εμφανίζει τάση μείωσης την περίοδο έναρξης του πρωταθλήματος. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η IL-10 εμπλέκεται σε ένα μεγάλο αριθμό φλεγμονωδών καταστάσεων ως σημαντικός ρυθμιστής του ανοσολογικού συστήματος. Επίσης, *in vitro* και *in vivo* μελέτες δείχνουν ότι η IL-10 θα μπορούσε να είναι πιθανός θεραπευτικός παράγοντας για την ίαση οξείας και χρόνιας συστηματικής και τοπικής

φλεγμονώδους αντίδρασης που συχνά παρατηρείται στους αθλητές και μπορεί να οδηγήσει σε σύνδρομο υπερπροπόνησης. Μελέτες προσδιορισμού της IL-10 και άλλων κυτταροκινών σε μαραθωνοδρόμους δείχνουν ότι τα επίπεδά τους αυξάνονται θεαματικά μετά τον αγώνα ενώ παραμένουν υψηλά 1.5 ώρες μετά. Οι συγγραφείς προτείνουν ότι τα χαμηλά επίπεδα κυτταροκινών όπως η IL-1β και TNF-α στο πλάσμα του αίματος μπορεί να οφείλονται στον ανασταλτικό ρόλο της IL-10, η οποία παρεμποδίζει τη φλεγμονή [149]. Συνεκτιμώντας την αύξηση της συγκέντρωσης της MCP-1 (αύξηση της συστηματικής φλεγμονής την περίοδο έναρξης του πρωταθλήματος) και τη μείωση της συγκέντρωσης της IL-10 (μείωση της αντιφλεγμονώδους δράσης του αίματος), καταλήγουμε ότι την περίοδο αυτή αυξάνεται η φλεγμονή των αθλητριών.

Όσον αφορά την αντιπνεκτίνη, παρατηρείται μια τάση για ελαφρά μείωση της συγκέντρωσής της την περίοδο έναρξης του πρωταθλήματος και αυξάνεται την περίοδο έναρξης των play-offs. Μελέτες σε αρουραίους προτείνουν ότι η έκφραση του mRNA της αντιπνεκτίνης αυξάνεται κατά 280% με την άσκηση [150]. Σε *in vitro* μελέτες έχει δειχτεί ότι τα επίπεδα της αντιπνεκτίνης στο πλάσμα έχουν σημαντικό ανασταλτικό ρόλο για τον TNF-α [151] και άρα παρεμποδιστικό ρόλο όσον αφορά τη φλεγμονή. Τα επίπεδά της σε υγιείς ενήλικες [152] είναι υψηλότερα από τα δείγματα των αθλητριών υδατοσφαίρισης. Η μείωση της αντιπνεκτίνης στην παρούσα εργασία, πιθανόν εξηγεί τη μείωση της έντασης της προπόνησης στη διάρκεια του πρωταθλήματος και άρα τη μείωση της έκφρασής της από το λιπώδη ιστό αλλά και της αύξησής της κατά την κρίσιμη περίοδο έναρξης των play-offs.

Τέλος, έχει βρεθεί ότι η έκφραση της ενδογλίνης αυξάνεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα μετά από αγγειακή βλάβη [153]. Στην παρούσα εργασία, η συγκέντρωση της ενδογλίνης παραμένει σχεδόν σταθερή με μια μικρή αύξηση την περίοδο έναρξης του 2ου γύρου, η οποία ωστόσο δεν είναι στατιστικά σημαντική.

Συμπερασματικά, παρατηρείται ότι την περίοδο έναρξης του πρωταθλήματος η φλεγμονή είναι αυξημένη, όπως φαίνεται από την αυξημένη συγκέντρωση της MCP-1. Επιπλέον, η μειωμένη συγκέντρωση της IL-10 την ίδια περίοδο φανερώνει την ανικανότητα του οργανισμού να αντιμετωπίσει τη φλεγμονή αυτή. Η περίοδος έναρξης του πρωταθλήματος ακολουθεί την περίοδο της προετοιμασίας, όπου η καταπόνηση των

αθλητριών είναι μεγάλη λόγω της υπερπροπόνησης. Αυτό φαίνεται από τους δύο παραπάνω δείκτες κατά την έναρξη του πρωταθλήματος. Τότε, λοιπόν, πιθανόν να είναι η κατάλληλη περίοδος ώστε με κάποια διατροφική παρέμβαση να βοηθηθούν οι αθλήτριες να αναστρέψουν τις δυσμενείς επιδράσεις της προπονητικής καταπόνησης για να είναι η απόδοσή τους η καλύτερη δυνατή στη διάρκεια του έτους.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Smith HK. Physiological fitness and energy demands of water polo; time-motion analysis of field players and goaltenders. Proceedings of the Federation Internationale de Natation Amateur (FINA) First World Water Polo Coaches seminar; 1991 May 27-June 3: Athens. Lausanne: FINA, 1991; 183-207
- [2] Hohmann A, Frase R. Analysis of swimming speed and energy metabolism in competition water polo games. In: MacLaren D, Reilly T, Lees A, editors. Swimming science VI: biomechanics and medicine in swimming. London: E & FN Spon, 1992: 313-9
- [3] Sardella F, Alippi B, Rudic R, et al. Analisi fisiometabolica della partita. *Tecnica Nuoto* 1990: 21-4
- [4] Pinnington H, Dawson B, Blanksby B. The energy requirements for water polo. Nedlands (WA): Australian Sports Commission, 1986
- [5] Hollander AP, Dupont SHJ, Volkerijk SM. Physiological strain during competitive water polo games and training. In: Miyashita M, Mutoh Y, Richardson AB, editors. *Medicine and science in aquatic sports*. Vol. 39, Basel: Karger, 1994: 178-85
- [6] Rodriguez FA. Physiological testing of swimmers and water polo players in Spain. In: Miyashita M, Mutoh Y, Richardson AB, editors. *Medicine and science in aquatic sports*. Vol. 39. Basel: Karger, 1994: 172-7
- [7] Pinnington H, Dawson B, Blanksby B. Conditioning training for water polo. *Sports Coach* 1990; 13: 17-22
- [8] Spriet LL. Anaerobic metabolism in human skeletal muscle during short-term, intense activity. *Can J Physiol Pharmacol* 1992; 70: 157-65
- [9] Boobis LH, Williams C, Wooton SA. Human muscle metabolism during brief maximal exercise. *J Physiol (Lond)* 1982; 338: 21-2P
- [10] Jacobs I, Tesch P, Bar-Or O, et al. Lactate in human skeletal muscle after 10 and 30s of supramaximal exercise. *J Appl Physiol* 1983; 55: 365-7
- [11] Balsom PD, Seger JY, Sjodin B, et al. Maximal-intensity intermittent exercise: effect of recovery duration. *Int J Sports Med* 1992; 13: 528-33
- [12] Lavoie JM, Montpetit RR. Applied physiology of swimming. *Sports Med* 1986; 3: 165-89
- [13] Petric T. What is water polo? Proceedings of the Federation Internationale de Natation Amateur (FINA) First World Water Polo Coaches seminar; 1991 May 27-Jun 3: Athens. Lausanne: FINA, 1991: 29-51
- [14] Hohmann A, Frase R. Analysis of swimming speed and energy metabolism in competition water polo games. Proceedings of the Federation Internationale de Natation Amateur (FINA) First World Water Polo Coaches seminar; 1991 May 27-June 3: Athens. Lausanne: FINA, 1991: 208-13
- [15] Avlonitou E. Energy requirements and training considerations in competitive water polo games. Proceedings of the Federation Internationale

de Natation Amateur (FINA) First World Water Polo Coaches seminar. 1991 May 27-Jun 3: Athens. Lausanne: FINA, 1991: 139-50

[16] Szogy A, Cherebetiu G. A 1-min bicycle ergometer test for determination of anaerobic capacity [in Romanian]. *Eur J Appl Physiol* 1974; 33: 171-6

[17] Thoden JS, Reardon FD. Quarterly aerobic and anaerobic assessment and specificity training of the National Waterpolo Team: effects on performance capacity [abstract]. *Can J Appl Sport Sci* 1985; 10: 33P

[18] Malomski J, Ekes E, Nemeskeri V et al. Study of anaerobic energy expenditure: some new aspects. *Hungarian Rev Sports Med* 1982; 23: 245-58

[19] Eliakim, A., J. A. Brasel, and Cooper DM. GH response to exercise: assessment of the pituitary refractory period, and relationship with circulating components of the GH-IGF-I axis in adolescent females. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 12:47-55, 1999.

[20] Stupka, N., S. Lowther, K. Chorneyko, J. M. Bourgeois, C. Hogben, and M. A. Tarnopolsky. Gender differences in muscle inflammation after eccentric exercise. *J. Appl. Physiol.* 89:2325-2332, 2000.

[21] Pritzlaff-Roy, C. J., L. Widemen, J. Y. Weltman, et al. Gender governs the relationship between exercise intensity and growth hormone release in young adults. *J. Appl. Physiol.* 92:2053-2060, 2002.

[22] Smith, L. L. and M. Miles. Exercise-induced muscle injury and inflammation. In: *Applied Sports Science*, W. E. Garret, and D. T. Kirkendall (Eds.). Media, PA: Williams & Wilkins, 1999, in press.

[23] Clarkson, P. M., and I. Tremblay. Exercise-induced muscle damage, repair, and adaptations in humans. *J. Appl. Physiol.* 65:1-6, 1988.

[24] Macintyre, D. L., W. D. Reid, and D. C. Mckenzie. The inflammatory response to muscle injury and its clinical implications. *Sports Med.* 20:24-40, 1995.

[25] Smith, L. L. Acute inflammation: the underlying mechanism in delayed onset muscle soreness? *Med. Sci. Sports Exerc.* 23:542- 551, 1991.

[26] Morgan, W. P., D. R. Brown, J. S. Raglin, P. J. O'connor, and K. A. Ellikson. Psychological monitoring of overtraining and staleness. *Br. J. Sports Med.* 21:107-114, 1987.

[27] Keast, D. Immune responses to overtraining and fatigue. In: *Exercise and Immune Function*, L. Hoffman-Goetz (Ed.). Boca Rotan, FL: CRC Press, 1996, pp. 121-141.

[28] Rowbottom, D., D. Keast, C. Goodman, and A. R. Mortan. Glutamine and the overtraining syndrome. *Eur. J. Physiol.* 70:502, 1995.

[29] O'toole, M. Overreaching and overtraining in endurance athletes. In: *Overtraining in Sport*. R. B. Kreider, A. C. Fry, and M. L. O'Toole (Eds.). Champaign, IL: Human Kinetics, 1998, pp. 3-18.

- [30] Noakes, T. *Lore of Running*. Champaign, IL: Human Kinetics Publishers, Inc., 1991, pp. 408–425.
- [31] Keizer, H. A. Neuroendocrine aspects of overtraining. In: *Overtraining in Sport*, R. B. Kreider, A. C. Fry, and M. L. O'Toole (Eds.). Champaign, IL: Human Kinetics, 1998, pp. 145–168.
- [32] Newsholme, E. A., M. PARRY-BILLINGS, N. MCANDREW, and R. Budgett. A biochemical mechanism to explain some characteristics of overtraining. In: *Advances in Nutrition and Sport*, F. Brouns (Ed.). Basel: Karger, 1991, pp. 79–83.
- [33] Pedersen, B. K. and T. Rohde. Exercise, glutamine and the immune system. In: *Exercise Immunology*, B. K. Pedersen (Ed.). New York: Chapman & Hall, 1997, pp. 75–88.
- [34] Kreider, R. B. Central fatigue hypothesis and overtraining. In: *Overtraining in Sport*, R. B. Kreider, A. C. Fry, and M. L. O'Toole (Eds.). Champaign, IL: Human Kinetics, 1998, pp. 309– 334.
- [35] Costill, D. L., M. G. Flynn, J. P. Kirwan, et al. Effects of repeated days of intensified training on muscle glycogen and swimming performance. *Med. Sci. Sports Exerc.* 20:249 –254, 1988.
- [36] SNYDER, A. Overtraining and glycogen depletion hypothesis. *Med. Sci. Sports Exerc.* 30:1146 –1150, 1998.
- [37] FOSTER, C., and M. LEHMAN. Overtraining syndrome. In: *Running Injuries*, G. N. Guten (Ed.). Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1997, pp. 173–188.
- [38] Maes, M. Evidence for an immune response in major depression: a review and hypothesis. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* 19:11–38, 1995.
- [39] Maier, S. F. and L. R. WATKINS. Cytokines for psychologists: implications for bidirectional immune-to-brain communication for understanding behavior, mood, and cognition. *Psychol. Rev.* 105: 83–107, 1998.
- [40] Smith, R. S. The macrophage theory of depression. *Med. Hypoth.* 35:298 –306, 1991.
- [41] Cunningham, E. T., and E. B. DE SOUZA. Interleukin-1 receptors in the brain and endocrine tissue. *Immunol. Today* 14:171–176, 1993.
- [42] Cunningham, A. J., C. A. Murray, L. A. J. O'neill, M. A. Lynch, and J. J. O'connor. Interleukin-1b (IL-1b) and tumor necrosis factor (TNF) inhibit long-term potentiation in the rat dentate gyrus in vitro. *Neurosci. Lett.* 203:17–20, 1996.
- [43] Fry, R. W., A. R. Norton, and D. Keast. Overtraining in athletes: an update. *Sports Med.* 12:32– 65, 1991.
- [44] Urhausen, A., H. H. W. Gabriel, and W. Kinderman. Impaired pituitary hormonal response to exhaustive exercise in overtrained endurance athletes. *Med. Sci. Sports Exerc.* 30:447– 448, 1998.

- [45] Chang, H. R., and B. Bistrain. The role of cytokines in the catabolic consequences of infection and injury. *J. Parent. Ent. Nutr.* 22:156 –166, 1998.
- [46] Stoner, H. B. Metabolism after trauma and in sepsis. *Circ. Shock* 19:75–87, 1986.
- [47] Wagenmakers, J. M. Muscle amino acid metabolism at rest and during exercise: role in human physiology and metabolism. In: *Exercise and Sport Sciences Reviews*, J. O. Holloszy (Ed.). Baltimore: Williams and Wilkins, 1998, pp. 287–314.
- [48] Marks, D. B., A. D. Marks, and C. M. SMITH. Intertissue relationships in the metabolism of amino acids. In: *Basic Medical Biochemistry* (1st Ed.). Baltimore: Williams and Wilkins, 1996, pp. 647–666.
- [49] Noakes, T. *Lore of Running*. Champaign, IL: Human Kinetics Publishers, Inc., 1991, pp. 408–425.
- [50] Dinarello, C. A., and R. C. THOMPSON. Blocking IL-1: interleukin- 1 receptor antagonist in vivo and in vitro. *Immunol. Today* 12:404–410, 1991.
- [51] Hamblin, A. S. Cytokines and Cytokine Receptors. In: *In Focus*, D. Rickwood and D. Male (Eds.). New York: Oxford University Press Inc., 1993, pp. 1–19.
- [52] Faist, E., C. Schinkel, and S. Zimmer. Update on the mechanisms of immune suppression of injury and immune modulation. *World J. Surg.* 20:454–459, 1996.
- [53] Fischer, J., and P.-O. Hasselgren. Cytokines and glucocorticoids in the regulation of the "hepato-skeletal muscle axis" in sepsis. *Am. J. Surg.* 161:266 –271, 1991.
- [54] Koj, A. Metabolic studies of acute phase proteins. In: *Pathophysiology of Plasma Protein Metabolism*, G. Mariani (Ed.). London: McMillan, 1983, pp. 221–248.
- [55] Perry, J. D. Exercise, injury and chronic inflammatory lesions. *Br. Med. Bull.* 48:668–682, 1992.
- [56] Simpson, K. J., N. W. Lukas, L. Colletti, R.M. Strieter, and S. K. Kunkel. Cytokines and the liver. *J. Hepat.* 27:1120 –1132, 1997.
- [57] Biffi, W. L., E. E. Moore, F.A. Moore, and V. M. Peterson. Interleukin-6 in the injured patient: marker of injury or mediator of inflammation? *Ann. Surg.* 224:647– 664, 1996.
- [58] Cavaillon, J. M. Cytokines and macrophages. *Biomed. Pharmacother.* 48:445– 453, 1994.
- [59] Sen, C. K. and L. Packer. Antioxidant and redox regulation of gene transcription. *FASEB J.* 10:709 –720, 1996.
- [60] Haas, H. S. and K. Schauenstein. Neuroimmunomodulation via limbic structures: the neuroanatomy of psychoimmunology. *Prog. Neurobiol.* 51:195–222, 1996.

- [61] Dan Nemet, Christie M. Rose-Gottron, PAUL J. Mills, and Dan M. Cooper. Effect of Water Polo Practice on Cytokines, Growth Mediators, and Leukocytes in Girls. *Medicine & Science in Sports & Exercise*: 2003 - Volume 35 - Issue 2 - pp 356-363
- [62] Reardon, K. A., J. Davis, R. M. Kapsa, P. Choong, and E. Byrne. Myostatin, insulin-like growth factor-1, and leukemia inhibitory factor mRNAs are upregulated in chronic human disuse muscle atrophy. *Muscle Nerve* 24:893–899, 2001.
- [63] Blotnick, S., G. E. Peoples, M. R. Freeman, T. J. Eberlein, and M. Klagsbrun. T lymphocytes synthesize and export heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor and basic fibroblast growth factor, mitogens for vascular cells and fibroblasts: differential production and release by CD4₊ and CD8₊ T cells. *Proc Natl. Acad Sci. USA* 91:2890 –2894, 1994.
- [64] Freeman, M. R., F. X. Schneck, M. L. Gagnon, et al. Peripheral blood T lymphocytes and lymphocytes infiltrating human cancers express vascular endothelial growth factor: a potential role for T cells in angiogenesis. *Cancer Res.* 55:4140–4145, 1995.
- [65] Febbraio MA, Pedersen BK (2005). "Contraction-induced myokine production and release: is skeletal muscle an endocrine organ?". *Exerc Sport Sci Rev* 33 (3): 114–9).
- [66] Nemet, D., Y. OH, H. S. Kim, M. A. Hill, and D. M. Cooper. The effect of intense exercise on inflammatory cytokines and growth mediators in adolescent boys. *Pediatrics*. 110:681–689, 2002)
- [67] Kuno K, Matsushima K (1994). "The IL-1 receptor signaling pathway" (abstract page). *J. Leukoc. Biol.* 56 (5): 542–7.
- [68] Ostrowski, K., T. Rohde, S. ASP, P. Schjerling, and B. K. Pedersen. Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. *J. Physiol.* 515:287–291, 1999.
- [69] Rhind, S. G., J. W. Castellani, I. K. Brenner, et al. Intracellular monocyte and serum cytokine expression is modulated by exhausting exercise and cold exposure. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 281:R66–R75, 2001.
- [70] Hopkins, N. J., P. M. Jakeman, S. C. Cwyfan Hughes, and J. M. P. Holly. Changes in circulating insulin-like growth factor-binding protein-I (IGFBP-1) during prolonged exercise: effect of carbohydrate feeding. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 79:1887–1890, 1994.
- [71] Vieira P, de Waal-Malefyt R, Dang MN, Johnson KE, Kastelein R, Fiorentino DF, deVries JE, Roncarolo MG, Mosmann TR, Moore KW. Isolation and expression of human cytokine synthesis inhibitory factor cDNA clones: homology to Epstein-Barr virus open reading frame BCRFI. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991 Feb 15;88(4):1172-6.
- [72] Kim JM, Brannan CI, Copeland NG, Jenkins NA, Khan TA, Moore KW. Structure of the mouse IL-10 gene and chromosomal localization of the mouse and human genes. *J Immunol.* 1992 Jun 1;148(11):3618-23.

- [73] Baer R, Bankier AT, Biggin MD, Deininger PL, Farrell PJ, Gibson TJ, Hatfull G, Hudson GS, Satchwell SC, Séguin C, et al. DNA sequence and expression of the B95-8 Epstein-Barr virus genome. *Nature*. 1984 Jul 19-25;310(5974):207-11.
- [74] Moore KW, Vieira P, Fiorentino DF, Trounstein ML, Khan TA, Mosmann TR. Homology of cytokine synthesis inhibitory factor (IL-10) to the Epstein-Barr virus gene BCRF1. *Science*. 1990 Jun 8;248(4960):1230-4. Erratum in: *Science* 1990 Oct 26;250(4980):494.
- [75] Shanafelt AB, Miyajima A, Kitamura T, Kastelein RA. The amino-terminal helix of GM-CSF and IL-5 governs high affinity binding to their receptors. *EMBO J*. 1991 Dec;10(13):4105-12.
- [76] Spits H, de Waal Malefyt R. Functional characterization of human IL-10. *Int Arch Allergy Immunol*. 1992;99(1):8-15. Review.
- [77] Moore KW, O'Garra A, de Waal Malefyt R, Vieira P, Mosmann TR. Interleukin-10. *Annu Rev Immunol*. 1993;11:165-90. Review.
- [78] de Waal Malefyt R, Abrams J, Bennett B, Figdor CG, de Vries JE. Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med*. 1991 Nov 1;174(5):1209-20.
- [79] Yoshimura T, Yuhki N, Moore SK, Appella E, Lerman MI, Leonard EJ. Human monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1). Full-length cDNA cloning, expression in mitogen-stimulated blood mononuclear leukocytes, and sequence similarity to mouse competence gene JE. *FEBS Lett*. 1989 Feb 27;244(2):487-93.
- [80] Shyy YJ, Li YS, Kolattukudy PE. Structure of human monocyte chemotactic protein gene and its regulation by TPA. *Biochem Biophys Res Commun*. 1990 Jun 15;169(2):346-51.
- [81] Rollins BJ. Chemokines. *Blood*. 1997 Aug 1;90(3):909-28.
- [82] Baggiolini M, Dewald B, Moser B. Human chemokines: an update. *Annu Rev Immunol*. 1997;15:675-705. Review.
- [83] Proost P, Wuyts A, van Damme J. The role of chemokines in inflammation. *Int J Clin Lab Res*. 1996;26(4):211-23. Review.
- [85] Taub DD. Chemokine-leukocyte interactions. The voodoo that they do so well. *Cytokine Growth Factor Rev*. 1996 Dec;7(4):355-76. Review.
- [86] Carr MW, Roth SJ, Luther E, Rose SS, Springer TA. Monocyte chemoattractant protein 1 acts as a T-lymphocyte chemoattractant. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994 Apr 26;91(9):3652-6.
- [87] Taub DD, Proost P, Murphy WJ, Anver M, Longo DL, van Damme J, Oppenheim JJ. Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), -2, and -3 are chemotactic for human T lymphocytes. *J Clin Invest*. 1995 Mar;95(3):1370-6.
- [88] Namiki M, Kawashima S, Yamashita T, Ozaki M, Hirase T, Ishida T, Inoue N, Hirata K, Matsukawa A, Morishita R, Kaneda Y, Yokoyama M. Local

overexpression of monocyte chemoattractant protein-1 at vessel wall induces infiltration of macrophages and formation of atherosclerotic lesion: synergism with hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002 Jan;22(1):115-20.

[89] Graves DT, Jiang Y, Valente AJ. The expression of monocyte chemoattractant protein-1 and other chemokines by osteoblasts. *Front Biosci.* 1999 Jul 1;4:D571-80. Review.

[90] Tarzami ST, Cheng R, Miao W, Kitsis RN, Berman JW. Chemokine expression in myocardial ischemia: MIP-2 dependent MCP-1 expression protects cardiomyocytes from cell death. *J Mol Cell Cardiol.* 2002 Feb;34(2):209-21.

[91] Mateo L, La Linn M, McColl SR, Cross S, Gardner J, Suhrbier A. An arthrogenic alphavirus induces monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8. *Intervirology.* 2000;43(1):55-60.

[92] Edwards JA, Denis F, Talbot PJ. Activation of glial cells by human coronavirus OC43 infection. *J Neuroimmunol.* 2000 Aug 1;108(1-2):73-81.

[93] McManus C, Berman JW, Brett FM, Staunton H, Farrell M, Brosnan CF. J Neuroimmunol. 1998 Jun 1;86(1):20-9. MCP-1, MCP-2 and MCP-3 expression in multiple sclerosis lesions: an immunohistochemical and in situ hybridization study. *J Neuroimmunol.* 1998 Jun 1;86(1):20-9.

[94] Mahad DJ, Howell SJ, Woodroffe MN. Expression of chemokines in the CSF and correlation with clinical disease activity in patients with multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2002 Apr;72(4):498-502.

[95] Kuna P, Reddigari SR, Rucinski D, Oppenheim JJ, Kaplan AP. Monocyte chemotactic and activating factor is a potent histamine-releasing factor for human basophils. *J Exp Med.* 1992 Feb 1;175(2):489-93.

[96] Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K (April 1996). "cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1)". *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 221 (2): 286-9.

[97] Shapiro L, Scherer PE (March 1998). "The crystal structure of a complement-1q family protein suggests an evolutionary link to tumor necrosis factor". *Curr. Biol.* 8 (6): 335-8.

[98] Pajvani UB, Du X, Combs TP, Berg AH, Rajala MW, Schulthess T, Engel J, Brownlee M, Scherer PE. Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin. Implications for metabolic regulation and bioactivity. *J Biol Chem.* 2003 Mar 14;278(11):9073-85. Epub 2002 Dec 20.

[99] Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem.* 1995 Nov 10;270(45):26746-9.,

[100] Díez JJ, Iglesias P (March 2003). "The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease". *Eur. J. Endocrinol.* 148 (3): 293-300.

[101] Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem.* 1995 Nov 10;270(45):26746-9.

[102] Ukkola O, Santaniemi M (November 2002). "Adiponectin: a link between excess adiposity and associated comorbidities?". *J. Mol. Med.* 80 (11): 696-702.

[103] Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem.* 1995 Nov 10;270(45):26746-9

[104] Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, Sugiyama T, Miyagishi M, Hara K, Tsunoda M, Murakami K, Ohteki T, Uchida S, Takekawa S, Waki H, Tsuno NH, Shibata Y, Terauchi Y, Froguel P, Tobe K, Koyasu S, Taira K, Kitamura T, Shimizu T, Nagai R, Kadowaki T. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature.* 2003 Jun 12;423(6941):762-9. Erratum in: *Nature.* 2004 Oct 28;431(7012):1123.

[105] Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M, Scherer PE. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med.* 2001 Aug;7(8):947-53.

[106] Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, Ebbets-Reed D, Erickson MR, Yen FT, Bihain BE, Lodish HF. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001 Feb 13;98(4):2005-10. Epub 2001 Feb 6.

[107] Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M, Froguel P, Kadowaki T. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipotrophy and obesity. *Nat Med.* 2001 Aug;7(8):941-6.

[108] Tomas E, Tsao TS, Saha AK, Murrey HE, Zhang Cc C, Itani SI, Lodish HF, Ruderman NB. Enhanced muscle fat oxidation and glucose transport by ACRP30 globular domain: acetyl-CoA carboxylase inhibition and AMP-activated protein kinase activation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 Dec 10;99(25):16309-13. Epub 2002 Nov 27.

[109] Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K, Eto K, Akanuma Y, Froguel P, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Nagai R, Kahn BB, Kadowaki T. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med.* 2002 Nov;8(11):1288-95. Epub 2002 Oct 7.

[110] Thamer C, Machann J, Tschritter O, Haap M, Wietek B, Dahl D, Bachmann O, Fritsche A, Jacob S, Stumvoll M, Schick F, Häring HU. Relationship between serum adiponectin concentration and intramyocellular lipid stores in humans. *Horm Metab Res.* 2002 Nov-Dec;34(11-12):646-9.

[111] Kishore U, Reid KB. C1q: structure, function, and receptors. *Immunopharmacology.* 2000 Aug;49(1-2):159-70. Review.

- [112] Stefan N, Bunt JC, Salbe AD, Funahashi T, Matsuzawa Y, Tataranni PA. Plasma adiponectin concentrations in children: relationships with obesity and insulinemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Oct;87(10):4652-6.
- [113] Matsubara M, Maruoka S, Katayose S. Inverse relationship between plasma adiponectin and leptin concentrations in normal-weight and obese women. *Eur J Endocrinol.* 2002 Aug;147(2):173-80.
- [114] Faraj M, Havel PJ, Phélis S, Blank D, Sniderman AD, Cianflone K. Plasma acylation-stimulating protein, adiponectin, leptin, and ghrelin before and after weight loss induced by gastric bypass surgery in morbidly obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 Apr;88(4):1594-602.
- [115] Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tataranni PA. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 May;86(5):1930-5.
- [116] Maeda N, Takahashi M, Funahashi T, Kihara S, Nishizawa H, Kishida K, Nagaretani H, Matsuda M, Komuro R, Ouchi N, Kuriyama H, Hotta K, Nakamura T, Shimomura I, Matsuzawa Y. PPARgamma ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes.* 2001 Sep;50(9):2094-9.
- [117] Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation.* 1999 Dec 21-28;100(25):2473-6.
- [118] Yokota T, Oritani K, Takahashi I, Ishikawa J, Matsuyama A, Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Tenner AJ, Tomiyama Y, Matsuzawa Y. Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages. *Blood.* 2000 Sep 1;96(5):1723-32.
- [119] Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Nishida M, Matsuyama A, Okamoto Y, Ishigami M, Kuriyama H, Kishida K, Nishizawa H, Hotta K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation.* 2001 Feb 27;103(8):1057-63.
- [120] Cheifetz S, Bellón T, Calés C, Vera S, Bernabeu C, Massagué J, Letarte M. Endoglin is a component of the transforming growth factor-beta receptor system in human endothelial cells. *J Biol Chem.* 1992 Sep 25;267(27):19027-30.
- [121] Bellón T, Corbí A, Lastres P, Calés C, Cebrián M, Vera S, Cheifetz S, Massague J, Letarte M, Bernabéu C. Identification and expression of two forms of the human transforming growth factor-beta-binding protein endoglin with distinct cytoplasmic regions. *Eur J Immunol.* 1993 Sep;23(9):2340-5.
- [122] Gougos A, Letarte M. Identification of a human endothelial cell antigen with monoclonal antibody 44G4 produced against a pre-B leukemic cell line. *J Immunol.* 1988 Sep 15;141(6):1925-33.

- [123] Parker WL, Goldring MB, Philip A. Endoglin is expressed on human chondrocytes and forms a heteromeric complex with betaglycan in a ligand and type II TGFbeta receptor independent manner. *J Bone Miner Res.* 2003 Feb;18(2):289-302.
- [124] Gougos A, St Jacques S, Greaves A, O'Connell PJ, d'Apice AJ, Bühring HJ, Bernabeu C, van Mourik JA, Letarte M. Identification of distinct epitopes of endoglin, an RGD-containing glycoprotein of endothelial cells, leukemic cells, and syncytiotrophoblasts. *Int Immunol.* 1992 Jan;4(1):83-92.
- [125] Lastres P, Bellon T, Cabañas C, Sanchez-Madrid F, Acevedo A, Gougos A, Letarte M, Bernabeu C. Regulated expression on human macrophages of endoglin, an Arg-Gly-Asp-containing surface antigen. *Eur J Immunol.* 1992 Feb;22(2):393-7.
- [126] Bühring HJ, Müller CA, Letarte M, Gougos A, Saalmüller A, van Agthoven AJ, Busch FW. Endoglin is expressed on a subpopulation of immature erythroid cells of normal human bone marrow. *Leukemia.* 1991 Oct;5(10):841-7.
- [127] Chen CZ, Li M, de Graaf D, Monti S, Göttgens B, Sanchez MJ, Lander ES, Golub TR, Green AR, Lodish HF. Identification of endoglin as a functional marker that defines long-term repopulating hematopoietic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 Nov 26;99(24):15468-73. Epub 2002 Nov 15.
- [128] Blann AD, Wang JM, Wilson PB, Kumar S. Serum levels of the TGF-beta receptor are increased in atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 1996 Feb;120(1-2):221-6.
- [129] Li C, Guo B, Wilson PB, Stewart A, Byrne G, Bundred N, Kumar S. Plasma levels of soluble CD105 correlate with metastasis in patients with breast cancer. *Int J Cancer.* 2000 Mar 20;89(2):122-6.
- [130] Takahashi N, Kawanishi-Tabata R, Haba A, Tabata M, Haruta Y, Tsai H, Seon BK. Association of serum endoglin with metastasis in patients with colorectal, breast, and other solid tumors, and suppressive effect of chemotherapy on the serum endoglin. *Clin Cancer Res.* 2001 Mar;7(3):524-32.
- [131] Calabrò L, Fonsatti E, Bellomo G, Alonci A, Colizzi F, Sigalotti L, Altomonte M, Musolino C, Maio M. Differential levels of soluble endoglin (CD105) in myeloid malignancies. *J Cell Physiol.* 2003 Feb;194(2):171-5.
- [132] Barbara NP, Wrana JL, Letarte M. Endoglin is an accessory protein that interacts with the signaling receptor complex of multiple members of the transforming growth factor-beta superfamily. *J Biol Chem.* 1999 Jan 8;274(2):584-94.
- [133] Guerrero-Esteo M, Sanchez-Elsner T, Letamendia A, Bernabeu C. Extracellular and cytoplasmic domains of endoglin interact with the transforming growth factor-beta receptors I and II. *J Biol Chem.* 2002 Aug 9;277(32):29197-209. Epub 2002 May 15.
- [134] Lastres P, Letamendía A, Zhang H, Rius C, Almendro N, Raab U, López LA, Langa C, Fabra A, Letarte M, Bernabéu C. Endoglin modulates cellular responses to TGF-beta 1. *J Cell Biol.* 1996 Jun;133(5):1109-21.

- [135] Cho SK, Bourdeau A, Letarte M, Zúñiga-Pflücker JC. Expression and function of CD105 during the onset of hematopoiesis from Flk1(+) precursors. *Blood*. 2001 Dec 15;98(13):3635-42.
- [136] Li DY, Sorensen LK, Brooke BS, Urness LD, Davis EC, Taylor DG, Boak BB, Wendel DP. Defective angiogenesis in mice lacking endoglin. *Science*. 1999 May 28;284(5419):1534-7.
- [137] Bourdeau A, Dumont DJ, Letarte M. A murine model of hereditary hemorrhagic telangiectasia. *J Clin Invest*. 1999 Nov;104(10):1343-51.
- [138] McAllister KA, Grogg KM, Johnson DW, Gallione CJ, Baldwin MA, Jackson CE, Helmbold EA, Markel DS, McKinnon WC, Murrell J, et al. Endoglin, a TGF-beta binding protein of endothelial cells, is the gene for hereditary haemorrhagic telangiectasia type 1. *Nat Genet*. 1994 Dec;8(4):345-51.
- [139] Shovlin CL. Molecular defects in rare bleeding disorders: hereditary haemorrhagic telangiectasia. *Thromb Haemost*. 1997 Jul;78(1):145-50. Review.
- [140] Duff SE, Li C, Garland JM, Kumar S. CD105 is important for angiogenesis: evidence and potential applications. *FASEB J*. 2003 Jun;17(9):984-92. Review.
- [141] Matsuno F, Haruta Y, Kondo M, Tsai H, Barcos M, Seon BK. Induction of lasting complete regression of preformed distinct solid tumors by targeting the tumor vasculature using two new anti-endoglin monoclonal antibodies. *Clin Cancer Res*. 1999 Feb;5(2):371-82.
- [142] Tabata M, Kondo M, Haruta Y, Seon BK. Antiangiogenic radioimmunotherapy of human solid tumors in SCID mice using (125)I-labeled anti-endoglin monoclonal antibodies. *Int J Cancer*. 1999 Aug 27;82(5):737-42.
- [143] Marius Trøseida, Knut T. Lappegaard, Tor Claudic, Jan K. Dama, Lars Mørkride, Randi Brendberg, Tom E. Mollnes. Exercise reduces plasma levels of the chemokines MCP-1 and IL-8 in subjects with the metabolic Syndrome. *European Heart Journal* (2004) 25, 349–355
- [144] Ridker PM, Buring JE, Cook NR et al. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14,719 initially healthy American women. *Circulation* 2003;107:391–7.
- [145] Christian K. Roberts, Dean Won, Sandeep Pruthi, Silvia Kurtovic, Ram K. Sindhu, sratola D. Vaziri and R. James Barnard Effect of a short-term diet and exercise intervention on oxidative stress, inflammation, MMP-9, and monocyte chemotactic activity in men with metabolic syndrome factors *J Appl Physiol* 100:1657-1665, 2006. First published Dec 15, 2005;
- [146] Carr MW, Roth SI, Luther E, Rose SS, Springer TA (1994). Monocyte chemoattractant protein 1 acts as a T-lymphocyte chemoattractant. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 91:3652-3656.
- [147] Ajuebor MN, Flower RJ, Hannon R, Christie M, Bowers K, Verity A, Perretti M. Endogenous monocyte chemoattractant protein-1 recruits

monocytes in the zymosan peritonitis model. *J Leukoc Biol* 1998;63:108–116. [PubMed: 9469480]

[148] Musch TI, Wolfram S, Hageman KS, Pickar JG. Skeletal muscle ouabain binding sites are reduced in rats with chronic heart failure. *J Appl Physiol* 92: 2326–2334, 2002.

[149] David C. Nieman, Dru A. Henson, Lucille L. Smith, Alan C. Utter, Debra M. Vinci, J. Mark Davis, David E. Kaminsky and Max Shute Cytokine changes after a marathon race *J Appl Physiol* 91: 109–114, 2001.

[150] Zeng Q, Isobe K, Fu L, Ohkoshi N, Ohmori H, Takekoshi K, Kawakami Y. Effects of exercise on adiponectin and adiponectin receptor levels in rats. *Life Sci.* 2007 Jan 9;80(5):454-9. Epub 2006 Oct 5.

[151] Ouchi N, Kihara S, Arita Y et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules:

adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation* 1999;100:2473–2476.

[152] Matsuzawa Y. White adipose tissue and cardiovascular disease. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2005;19:637–647.

[153] Botella LM, Sanz-Rodriguez F, Sanchez-Elsner T, Langa C, Ramirez JR, Vary C, Roughley PJ, Bernabeu C. Lumican is down-regulated in cells expressing endoglin. Evidence for an inverse correlation between endoglin and lumican expression. *Matrix Biol* 2004;22:561–572.