

Α΄ ΠΡΟΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Γ.Κ. ΖΩΓΡΑΦΟΣ

**«ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ ΤΩΝ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΩΣ
ΔΕΙΚΤΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΟΞΙΚΩΝ ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΩΝ
ΚΑΙ ΑΛΛΑΓΗΣ ΤΗΣ ΟΞΕΟΒΑΣΙΚΗΣ ΙΣΟΡΡΟΠΙΑΣ ΤΩΝ ΙΣΤΩΝ ΣΤΟΥΣ
ΑΘΛΗΤΕΣ»**

ΙΩΑΝΝΗΣ ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΥ

ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΟΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ 2013

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΝΟΥΡΑΣ ΑΝΔΡΕΑΣ

ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΡΕΣΠΗΣ ΕΥΣΤΑΘΙΟΣ

ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΟΥΛΑΚΗΣ ΜΑΝΟΥΣΟΣ

(ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ)

ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΑ ΜΕΛΗ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΝΟΥΡΑΣ ΑΝΔΡΕΑΣ

ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΡΕΣΠΗΣ ΕΥΣΤΑΘΙΟΣ

ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΟΥΛΑΚΗΣ ΜΑΝΟΥΣΟΣ

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΖΩΓΡΑΦΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΛΕΑΝΔΡΟΣ ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ

ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΘΕΟΔΩΡΟΠΟΥΛΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΤΟΥΤΟΥΖΑΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ

Αφιερώνεται

στην μνήμη της Σταματίνας Ηλιοπούλου

και στους γονείς μου Φώτη και Δέσποινα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω από βάθους καρδιάς την τριμελή επιτροπή της Διδακτορικής αυτής Διατριβής που αποτελείται από τους:

Μανουρά Ανδρέα, Καθηγητή Χειρουργικής της Α΄ Προπαιδευτικής Χειρουργικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Κρέσπη Ευστάθιο, Αναπληρωτή Καθηγητή Χειρουργικής της Α΄ Προπαιδευτικής Χειρουργικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Κωνσταντουλάκη Μανούσο, Αναπληρωτή Καθηγητή Χειρουργικής της Α΄ Προπαιδευτικής Χειρουργικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, επιβλέποντα της διατριβής, ο οποίος με τις συμβουλές του, την καθοδήγηση και τη στήριξη που μου παρείχε, έκανε εφικτή την ολοκλήρωση της μελέτης αυτής.

Επίσης θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον Ζωγράφο Γεώργιο, Καθηγητή Χειρουργικής και Διευθυντή της Α΄ Προπαιδευτικής Χειρουργικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Η μελέτη αυτή θα ήταν αδύνατο να πραγματοποιηθεί χωρίς την ενεργό συμμετοχή και την καθοριστική συμβολή του Θανόπουλου Βασίλειου, Επίκουρου Καθηγητή ΤΕΦΑΑ του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Οφείλω επίσης μεγάλη ευγνωμοσύνη στους:

Κατσαραγάκη Στυλιανό, Καθηγητή Χειρουργικής της Α΄ Προπαιδευτικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών και Διευθυντή της Μονάδας Τραύματος-Αυξημένης Φροντίδας του «Ιπποκρατείου» Νοσοκομείου Αθηνών.

Ντάσκα Ελευθερία, Προϊσταμένη της Μονάδας Τραύματος-Αυξημένης Φροντίδας του «Ιπποκρατείου» Νοσοκομείου Αθηνών.

Ζωγράφο Νικόλαο, Γραμματέα της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Στο ανθρώπινο δυναμικό του Αιματολογικού και Βιοχημικού Εργαστηρίου του «Ιπποκρατείου» Νοσοκομείου Αθηνών και στους ανθρώπους του Εργαστηρίου Χειρουργικής Έρευνας της Α΄ Προπαιδευτικής Χειρουργικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών και κυρίως στις Οικονόμου Βενετία, Κατάκη Αγάπη και Δερβεντζή Αναστασία.

Στους υπεύθυνους του κολυμβητηρίου των Ηλυσίων.

Στους συμμετέχοντες αθλητές, πρωταθλητές και φοιτητές ΤΕΦΑΑ του Πανεπιστημίου Αθηνών που ακολούθησαν πλήρως τις οδηγίες και έδωσαν τον καλύτερο εαυτό τους για να πραγματοποιηθεί αυτή η έρευνα.

Στους καλούς φίλους, συναδέλφους και μη που βοήθησαν ο καθένας με τον τρόπο του στην ολοκλήρωση της συγγραφής αυτής της μελέτης.

Στην Ζαΐμη Ζαφειρία, στην Λαμπρινή-Ειρήνη Αναστασίου, καθώς επίσης και στις Γεωργία-Μαρία Αρβανίτη και Δέσποινα Αρβανίτη για την αμέριστη συμπαράστασή τους και ιδιαίτερα στους τομείς της συντακτικής και ορθογραφικής διόρθωσης όσο και της συγγραφής του κειμένου.

Τέλος αλλά επ' ουδενί εσχάτως, στους ανθρώπους που είναι κυρίως υπεύθυνοι για το στατιστικό μέρος, με την μεγάλη συμβολή τους στον τομέα της στατιστικής ανάλυσης και επεξεργασίας των αποτελεσμάτων, Μπουντουβή Νικόλαο, Ενδοκρινολόγο και Γεωργίου Ευάγγελο, Βιοστατιστικό, αλλά και σε όλους εκείνους που συνέβαλαν σε μικρότερο ή μεγαλύτερο βαθμό στην ολοκλήρωση αυτής της μελέτης.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ.....	6
2. ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	18
3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	20
4. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	22
4.1. ΑΠΟΠΤΩΣΗ.....	23
4.1.1. Εισαγωγή.....	23
4.1.2. Ανακάλυψη και ετυμολογία	26
4.1.3. Διαδικασία.....	27
4.1.4. Μιτοχονδριακή ρύθμιση.....	28
4.1.5. Άμεση σηματοδοτική οδός.....	30
4.1.6. Μονοπάτι του TNF.....	30
4.1.7. Μονοπάτι του Fas.....	31
4.1.8. Κοινά στοιχεία.....	32
4.1.9. Κασπάσες.....	33
4.1.10. Εκτέλεση.....	34
4.1.11. Απομάκρυνση νεκρών κυττάρων.....	37
4.1.12. Πρώιμη-όψιμη απόπτωση.....	38
4.1.13. Διαφορές μεταξύ νέκρωσης και απόπτωσης.....	39
4.1.14. Μέθοδοι για τη διάκριση των αποπτωτικών από τα νεκρωτικά κύτταρα.....	40
4.1.15. Ελαττωματικά μονοπάτια.....	42
4.2. ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ.....	46
4.3. ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΑΣΚΗΣΗ.....	53
4.4. ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ-ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΗ ΟΞΕΩΣΗ ΚΑΙ ΑΣΚΗΣΗ.....	58
4.5. ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΚΑΤΩΦΛΙ-ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΣΚΗΣΗΣ.....	64
4.6. ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΑΣΚΗΣΗ.....	70
5. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	73
5.1. ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ.....	74
5.2. ΤΕΧΝΙΚΗ.....	75
5.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	82
5.4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	110
5.5. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	115
5.6. SUMMARY.....	117
5.7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	118
5.8. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....	131

1. ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΑΤΟΜΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ:	ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΥ ΙΩΑΝΝΗΣ
ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΗΣ:	2 Φεβρουαρίου 1971
ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ:	Αθήνα
ΥΠΗΚΟΟΤΗΤΑ:	Ελληνική
ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ:	Ιτέας 5, Αμπελόκηποι Τ.Κ. 115.23
ΤΗΛΕΦΩΝΟ:	6944399907 – 2106923964
E-MAIL:	docsiou@gmail.com

1982-1985

Γυμνάσιο οδού Αχαΐας, Αμπελοκήπων Αθήνας (αποφοιτήσας με άριστα)

1985-1988

57^ο Γενικό Λύκειο Ερυθρού Σταυρού (αποφοιτήσας με άριστα)

1988-1993

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού (ΤΕΦΑΑ) (αποφοιτήσας Λίαν Καλώς)

Ειδικότητα: Προπονητική Καλαθοσφαίρισης

1997-2004

Πανεπιστήμιο Αθηνών, Ιατρική Σχολή (αποφοιτήσας Λίαν Καλώς)

11-11-2004 έως 10-2-2005

Τρίμηνη εκπαίδευση στα Τακτικά Εξωτερικά Ιατρεία (Παθολογικό-Χειρουργικό – Καρδιολογικό) και στο τμήμα Επειγόντων Περιστατικών του Γενικού Νομαρχιακού Νοσοκομείου Αγρινίου

1-2-2005 έως 28-2-2006

Υπηρεσία Ιατρού Υπαίθρου στο Π.Ι. Πατιόπουλου του Κέντρου Υγείας Χαλκιάπουλων Νομού Αιτωλοακαρνανίας

1-3-2006 έως 10-1-2007

Ειδικευόμενος Ιατρός Γενικής Χειρουργικής στο Γ.Ν.Ν. Αγγινίου.

Με συμμετοχή σε τακτικά και έκτακτα χειρουργεία όπως βουβωνοκήλες, σκωληκοειδεκτομές, ομφαλοκήλες, μηροκήλες επιγαστρικές-μετεγχειρητικές κήλες, κύστεις κόκκυγα, λαπαροσκοπικές, ανοιχτές χολοκυστεκτομές και χολοκυστεκτομές διερεύνησης χοληδόχου πόρου, διάτρησης στομάχου δωδεκαδακτύλου, κερσοί, εντερεκτομές, παραεδρικά αποστήματα-συρίγγια, ενδοκοιλιακή αιμορραγία, αιμορροΐδες, ακρωτηριασμοί, κολοστομίες, εκτομές, ερευνητικές λαπαροτομίες κ.ά.

Επίσης συμμετοχή σε μεγάλο αριθμό μικροεπεμβάσεων όπως συρραφές τραυμάτων, αφαιρέσεις κύστεων, διανοίξεις αποστημάτων κ.ά.

Συνολικά 190 χειρουργεία από τα οποία 38 ως Χειρουργός, 29 ως πρώτος βοηθός και 123 ως δεύτερος βοηθός.

26-10-2007 έως 21-12-2012

Ειδικευόμενος ιατρός ορθοπαιδικής στο Γενικό Νοσοκομείο Νίκαιας-Πειραιά «ΑΓΙΟΣ ΠΑΝΤΕΛΕΗΜΩΝ»

Στο διάστημα αυτό και στα πλαίσια της εκπαίδευσης για την ειδικότητα της ορθοπαιδικής παρακολούθησα τακτικώς και ανελλιπώς τις εργασίες: του **Νευροχειρουργικού** τμήματος από 31-6-2010 έως 30-12-2010 και τις εργασίες του τμήματος **Χειρουργικής Θώρακος** από 3-4-2012 μέχρι 3-10-2012. Επίσης συμμετείχα τακτικώς και ανελλιπώς στο πρόγραμμα της **Α΄ Παιδοορθοπαιδικής** κλινικής του Γενικού Νοσοκομείου «Η ΑΓΙΑ ΣΟΦΙΑ» από 1-3-2011 έως 29-2-2012.

Στο συνολικό διάστημα της εκπαίδευσης για την ειδικότητα της ορθοπαιδικής συμμετείχα σε πληθώρα χειρουργικών επεμβάσεων όπως οστεοσυνθέσεις εσωτερικές και εξωτερικές, ενδομυελικές ηλώσεις, αρθροπλαστικές, οστεοτομίες, αρθροσκοπήσεις και συνδεσμικές αποκαταστάσεις, σε αποσυμπιέσεις συνδρόμων πίεσης και παγίδευσης νεύρων και τενόντων, σε περιπτώσεις καταγμάτων ανοιχτών και κλειστών, ενδαρθρικών και περιαρθρικών καταγμάτων,

καταγμάτων- εξάρθρωμάτων, ψευδαρθρώσεων, συνδεσμικών βλαβών, αποκατάσταση μαλακών μορίων και άλλων σύνθετων βλαβών στα άνω και κάτω άκρα όπως επίσης και στην σπονδυλική στήλη αλλά και στον πυελικό δακτύλιο και την κοτύλη, τομέας στον οποίο υπήρχε υψηλού βαθμού εξειδίκευση και εμπειρία στην ορθοπαιδική κλινική του Γενικού Νοσοκομείου Νίκαιας.

Επίσης σε πληθώρα παιδοορθοπαιδικών επεμβάσεων όπως κλειστές και ανοιχτές ανατάξεις καταγμάτων, απελευθερώσεις μαλακών μορίων, επιμηκύνσεις τενόντων, οστεοτομίες, μεταφορές τενόντων, σπονδυλοδεσίες, ακρωτηριασμούς κ.ά.

Συνολικά 1106 χειρουργεία εκ των οποίων 542 ως χειρουργός, 406 ως Α΄ βοηθός και 158 ως Β΄ βοηθός.

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- Για το διάστημα των ετών 1992 έως 1997 επαγγελματική περιοδική απασχόληση ως καθηγητής φυσικής αγωγής σε αθλητικούς χώρους, γυμναστήρια και αθλητικούς ομίλους.
- Απασχόληση ως συμβασιούχος ιδιώτης ιατρός στο πρόγραμμα “Βοήθεια στο σπίτι” για το διάστημα από Ιανουάριο έως Σεπτέμβριο 2007 στο δήμο Ινάχου του νομού Αιτωλοακαρνανίας.
- Απασχόληση ως ιδιώτης ειδικευμένος ορθοπαιδικός ιατρός σε πολυιατρεία και ιδιωτικές κλινικές από Απρίλιο 2013 έως σήμερα.

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Αγγλικά (δίπλωμα PROFICIENCY)

ΓΝΩΣΗ Η/Υ

Microsoft Word, Excel, Power Point, Internet

ΣΤΡΑΤΙΩΤΙΚΗ ΘΗΤΕΙΑ

1997-1998

Πολεμική Αεροπορία-Ειδικότητα νοσοκόμου (20μηνη θητεία).
Πολύμηνη εργασία στο Γενικό Νοσοκομείο Αεροπορίας και σε ιατρεία
στρατιωτικών μονάδων κατά τη διάρκεια της θητείας.

ΣΥΝΕΔΡΙΑ-ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΑ ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ-ΕΡΓΑΣΙΕΣ-ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΚΑΙ ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ

- Συμμετοχή στο Επιστημονικό Συνέδριο «Ορίζοντες της Αθλητικής Επιστήμης» Πανεπιστημιούπολη-Αμφιθέατρο Φιλοσοφικής Σχολής 1992, Αθήνα
- Συμμετοχή-Παρουσίαση στο 5^ο Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδος με ελεύθερη ανακοίνωση με θέμα «Μηχανισμοί εμπλεκόμενοι στην πρόκληση της ασταθούς στηθάγχης και του οξέως εμφράγματος του μυοκαρδίου και η σχέση τους με την θεραπευτική αντιμετώπιση των παθήσεων αυτών» 24-27 Μαΐου 1999, Αλεξανδρούπολη
- Συμμετοχή-Παρουσίαση στο 6^ο Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδος με ελεύθερη ανακοίνωση με θέμα «Πρόληψη δευτερογενούς εγκεφαλικής ισχαιμίας μετά από κρανιοεγκεφαλική κάκωση 2000, Θεσσαλονίκη
- Συμμετοχή-παρουσίαση στο 7^ο Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδος με αναρτημένες ανακοινώσεις με θέματα: α) «Εγκυμοσύνη σε τελικό στάδιο χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας» β) «Νεφρική οστεοδυστροφία μέσω δευτεροπαθούς υπερπαραθυρεοειδισμού» 2001, Λάρισα

- Συμμετοχή στο 16^ο Διεθνές Συνέδριο Κλινικής Καρδιολογίας 2001, Αθήνα
- Συμμετοχή στο 6^ο Διανοσοκομειακό Μεταπτυχιακό Σεμινάριο «Αναπνευστική ανεπάρκεια – Επίκαιρα θέματα» 2001, Αθήνα
- Συμμετοχή και μέλος της οργανωτικής επιτροπής στην 1^η Ετήσια Επιστημονική Ημερίδα «Πρώιμος καρκίνος του μαστού, από τη διάγνωση στη θεραπεία» Α΄ Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Ιπποκράτειο ΓΠΝ Αθηνών 2003, Αθήνα
- Συμμετοχή στο 5^ο Πανευρωπαϊκό Συνέδριο Γυναικολογίας 9-11 Οκτωβρίου 2003, Ρόδος
- Συμμετοχή στη 2^η Ετήσια Επιστημονική Ημερίδα «Η επεμβατική τεχνολογία στη διάγνωση του πρώιμου καρκίνου του μαστού». Α΄ Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Ιπποκράτειο ΓΠΝ Αθηνών 2004, Αθήνα
- Συμμετοχή στο 1^ο Συνέδριο Ε.Α.Ε. & 5^ο Συμπόσιο Αρθροσκοπικής Χειρουργικής 2005, Θεσσαλονίκη
- Συμμετοχή στο 2^ο Σεμινάριο Τραύματος Ώμου και Αγκώνα, 4-6 Νοεμβρίου 2005, Πάτρα

- Συμμετοχή στο 3^ο ΣΕΜΙΝΑΡΙΟ ΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΩΝ ΣΤΟ ΣΚΙ υπό την αιγίδα της ISSS (International Society for Skiing Safety) και της Ε.Α.Ε. (Ελληνική Εταιρεία Αρθροσκόπησης, Χειρουργικής γόνατος και αθλητικών κακώσεων “Γεώργιος Νούλης”, 9-11 Δεκεμβρίου 2005, Δελφοί
- Συμμετοχή στο 20^ο Congress of the European Society for Surgery of the Shoulder and the Elbow (ESSE), 20-23 Σεπτεμβρίου 2006, Αθήνα
- Συμμετοχή στο 62^ο Πανελλήνιο Ορθοπαιδικό Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής και Τραυματολογίας 3-7 Οκτωβρίου 2006, Αθήνα
- Συμμετοχή στο 4^ο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Τραύματος και Επείγουσας Χειρουργικής 22-24 Φεβρουαρίου 2007, Αθήνα
- Συμμετοχή στο 26^ο Συνέδριο Ορθοπαιδικής και Τραυματολογικής Εταιρείας Μακεδονίας-Θράκης 11-14 Απριλίου 2007, Θεσσαλονίκη
- Συμμετοχή στη ημερίδα της ΕΛΙΟΣ (Ελληνικό ίδρυμα οστεοπόρωσης) στα πλαίσια της συνεχιζόμενης εκπαίδευσης στα μεταβολικά νοσήματα των οστών με θέμα: “Η αναγκαιότητα για μια Ολοκληρωμένη Αντιμετώπιση της Οστεοπόρωσης” Αίγλη Ζαππείου 20 Φεβρουαρίου 2008, Αθήνα.
- Συμμετοχή στο 1^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Εταιρείας Ιατρικών Σπουδών HILTON 21-22 Μαρτίου 2008, Αθήνα

- Συμμετοχή στο 9^ο ΔΙΕΘΝΕΣ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΑΘΛΗΤΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΕΛΛΑΔΟΣ και στο 7^ο ΕΛΛΑΔΟ-ΚΥΠΡΙΑΚΟ ΑΘΛΗΤΙΑΤΡΙΚΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ 27-30 ΜΑΡΤΙΟΥ 2008, Αθήνα
- Συμμετοχή και μέλος της οργανωτικής επιτροπής στην ημερίδα: ΚΑΤΑΓΜΑΤΑ ΚΟΤΥΛΗΣ (φροντιστηριακή άσκηση – διάγνωση - προσπελάσεις-θεραπεία) 2 Μαρτίου 2008, Γ.Ν.Νίκαιας υπό την αιγίδα του ΚΕΟΧ
- Συμμετοχή στο 6^ο Συμπόσιο επείγουσας και εντατικής ιατρικής ενόπλων δυνάμεων 30-31 Μαΐου 2008, Αθήνα
- Συμμετοχή στο 16^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Μελέτης Μεταβολισμού των οστών 6-8 Ιουνίου 2008 , Κως
- Συμμετοχή και αναρτημένη ανακοίνωση με θέμα: “ΠΑΡΑΜΕΛΗΜΜΕΝΗ ΣΥΝΘΕΤΗ ΒΛΑΒΗ ΠΥΕΛΙΚΟΥ ΔΑΚΤΥΛΙΟΥ-ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΜΕ EX-FIX” στο 64^ο Πανελλήνιο Ορθοπαιδικό Συνέδριο 8-11 Οκτωβρίου 2008, Αθήνα
- Συμμετοχή στο Εντατικό Εκπαιδευτικό Διήμερο του Κολλεγίου Ελλήνων Ορθοπαιδικών Χειρουργών 14-15 Νοεμβρίου 2008, Αθήνα
- Συμμετοχή στην Επιστημονική ημερίδα της ΕΕΜΜΟ (Ελληνικής Εταιρείας Μελέτης Μεταβολισμού των οστών) με θέμα: “Τι νεότερο στα μεταβολικά νοσήματα των οστών” Δεκέμβριος 2008, Βόλος

- Συμμετοχή στο 1^ο Ευρωπαϊκό Συνέδριο του Ευρωπαϊκού Κολλεγίου Αθλητιών 1st Congress of ECOSEP (European College of sports and Exercise Physicians-Faculty of sport and exercise Medicine (U.K)-FSEM (UK) και στο 12^ο Αθλητιατρικό Επιμορφωτικό Σεμινάριο 13-14 Δεκεμβρίου 2008, Θεσσαλονίκη
- Συμμετοχή και αναρτημένη ανακοίνωση με θέμα: "Θνητότητα σε πολυτραυματίες με κακώσεις πυελικού δακτυλίου" στο 5^ο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Τραύματος και Επείγουσας Χειρουργικής 19-21 Φεβρουαρίου 2009, Ευγενίδιο Ιδρυμα-Αθήνα
- Συμμετοχή στο AO Course Management of Common Periarticular Fractures 13-14 Φεβρουαρίου 2009, Πάτρα
- Συμμετοχή στο Ninth European Congress on clinical and economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis 18-21 Μαρτίου 2009, Συνεδριακό Κέντρο Μεγάρου Μουσικής Αθηνών
- Συμμετοχή στο εντατικό σεμινάριο "Principles of Clinical Research" υπό την αιγίδα της OTC HELLAS 28 Μαρτίου 2009, Αθήνα
- Συμμετοχή και ελεύθερη ανακοίνωση με θέμα "Πρόσθια μεταφορά του οπίσθιου κνημιαίου διαμέσου της μεσόστεας μεμβράνης" στο 28^ο Ετήσιο Συνέδριο της Ορθοπαιδικής και Τραυματολογικής Εταιρείας Μακεδονίας Θράκης 22-25 Απριλίου 2009, Θεσσαλονίκη

- Συμμετοχή στο 15^ο Ετήσιο κοινό Συνέδριο Ελληνικής Εταιρίας Επανορθωτικής Μικροχειρουργικής και Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Χεριού και Άνω Άκρου 21-28 Αυγούστου 2009 εν πλω στο "Aegean Pearl"
- Συμμετοχή στο 66^ο Πανελλήνιο Ορθοπαιδικό Συνέδριο 13-16 Οκτωβρίου 2010, Αθήνα
- Συμμετοχή με ελεύθερη ανακοίνωση με θέμα "The mechanism of the injury in the management of Pelvic Fractures" στο 12^ο EFFORT Copenhagen 1-4 June 2011
- Συμμετοχή και ελεύθερη ανακοίνωση με θέμα "Αντιμετώπιση ανοιχτών καταγμάτων κάτω άκρων με οστικό έλλειμμα σε δύο χρόνους, αρχικά με εξωτερική οστεοσύνθεση και οριστική θεραπεία με εσωτερική οστεοσύνθεση, λαγόνια μοσχεύματα και βλαστοκύτταρα" στο 67^ο Πανελλήνιο Ορθοπαιδικό Συνέδριο 12-16 Οκτωβρίου 2011, Αθήνα
- Συμμετοχή στο εκπαιδευτικό σεμινάριο 4th Athens hip u/s Course for the diagnosis and management of DDH 11-13 Μαΐου 2012, Αθήνα
- Συμμετοχή στο εκπαιδευτικό σεμινάριο AO Trauma Balkan Course "Principles in Operative fracture Management" 17-19 Μαΐου 2012, Θεσσαλονίκη

- Συμμετοχή στην ημερίδα της Ελληνικής Αγγειολογικής Εταιρείας: Φλεβική θρομβοεμβολική νόσος “από την πρόληψη έως την θεραπεία” 5 Οκτωβρίου 2012, Αθήνα
- Συμμετοχή στο 68^ο Πανελλήνιο Ορθοπαιδικό Συνέδριο 3-6 Οκτωβρίου 2012, Αθήνα
- Συμμετοχή στο 6^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Σπονδυλικής Στήλης 25-28 Οκτωβρίου 2012, Ιωάννινα
- Συμμετοχή στο 18^ο κοινό Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Επανορθωτικής Μικροχειρουργικής και της Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Χεριού και Άνω Άκρου 8-10 Νοεμβρίου 2012, Θεσσαλονίκη
- Συμμετοχή στις εκδηλώσεις της 9^{ης} εβδομάδας καλαθοσφαίρισης Special Olympics 26 Νοεμβρίου – 2 Δεκεμβρίου 2012, Αθήνα
- Συμμετοχή στην ημερίδα των Α΄ και Β΄ ορθοπαιδικών τμημάτων του Νοσοκομείου Παίδων «Η ΑΓΙΑ ΣΟΦΙΑ» “ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΚΑΤΑΓΜΑΤΩΝ ΣΤΗΝ ΠΑΙΔΙΚΗ ΚΑΙ ΕΦΗΒΙΚΗ ΗΛΙΚΙΑ” 30 Μαρτίου 2013, Αθήνα
- Συμμετοχή στο 69^ο Συνέδριο Ορθοπαιδικής Χειρουργικής και Τραυματολογίας 2-5 Οκτωβρίου 2013, Αθήνα

ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ – ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΕΡΓΟ

- Υποτροφία “Ιδρύματος Ανάγνου” ως τελειόφοιτος της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών
- Διδακτορική διατριβή: Εκπόνηση διδακτορικής διατριβής με θέμα: “Μελέτη της απόπτωσης των περιφερικών λεμφοκυττάρων ως δείκτη αξιολόγησης της συγκέντρωσης τοξικών μεταβολιτών και αλλαγής της οξεοβασικής ισορροπίας των ιστών στους αθλητές” Α΄ Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών Γ.Ν.Α. «Ιπποκράτειο»-Εργαστήριο Χειρουργικής Έρευνας

ΜΕΛΟΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΤΑΙΡΙΩΝ

- Μέλος Ιατρικού Συλλόγου Αθηνών
- Μέλος Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής και Τραυματολογίας

ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΑ

Αθλητισμός (καλαθοσφαίριση, ποδόσφαιρο, σωματοδρομική, πολεμικές τέχνες), ανάγνωση λογοτεχνικών-φιλοσοφικών-επιστημονικών κειμένων, κινηματογράφος, ταξίδια.

2. ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η απόπτωση είναι μία διεργασία προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου που συμβαίνει σε πολυκυτταρικούς οργανισμούς. Είναι μια φυσιολογική διεργασία που είναι απαραίτητη για την ομοιόσταση των ιστών, την απομάκρυνση επιβλαβών κυττάρων αλλά και την ανάπτυξη των οργάνων. Η απόπτωση αποτελεί μέρος της απόκρισης της ανοσοποιητικού συστήματος.

Αποπτωτικοί παράγοντες είναι οι ιοί, η ακτινοβολία, η αδυναμία επιδιόρθωσης του DNA και η κόπωση. Η κόπωση της αθλητικής προσπάθειας φαίνεται να επηρεάζει την κυτταρική απόπτωση σε πολλά όργανα και ιστούς. Τα τελευταία χρόνια, ειδικότερα την τελευταία δεκαετία έχουν γίνει προσπάθειες από τους ειδικούς της αθλητιατρικής και αθλητικής επιστήμης, να μετρηθούν οι μοριακοί, βιοχημικοί και κυτταρικοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στην αθλητική προσπάθεια και άσκηση, στα πλαίσια των επιδιώξεων να βρεθούν τρόποι χρήσης τους ώστε να καταστούν προγνωστικοί παράγοντες ή δείκτες ή να επιτευχθούν προπονητικά πρωτόκολλα για την βελτίωση της φυσικής κατάστασης και της αθλητικής επίδοσης.

Μέχρι τώρα προσφιλής μέθοδος εκτίμησης της αθλητικής προσπάθειας είναι η μέτρηση του γαλακτικού οξέος στο αίμα. Μέσω των τιμών αυτού και του επιπέδου της μεταβολικής οξέωσης που παρατηρείται στην άσκηση, εκτιμάται το επίπεδο έντασης της άσκησης και το επίπεδο ικανοτήτων των αθλητών σε πολλά αθλήματα. Το σημείο εκείνο που το γαλακτικό οξύ αρχίζει να συσσωρεύεται στον οργανισμό (εκεί που αρχίζουν να ξεπερνώνονται οι ταχύτητες απομάκρυνσής του από τον οργανισμό), είναι το αναερόβιο κατώφλι που χαρακτηρίζει και την είσοδο στην έντονη άσκηση.

Βέβαια γίνεται χρήση και άλλων παραγόντων-παραμέτρων για τον προσδιορισμό της έντασης της άσκησης και του επιπέδου φυσικής κατάστασης των αθλητών όπως της VO_{2max} και άλλων.

Σε αυτή τη μελέτη χρησιμοποιήθηκε η λεμφοκυτταρική απόπτωση η οποία σχετίζεται στενά και με την ανοσοποιητική απόκριση του οργανισμού. Προσπαθήσαμε να συσχετίσουμε τα επίπεδα μεταβολικής οξέωσης και συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος, με την απόπτωση των λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα κατά την έντονη (μέγιστης έντασης) άσκηση που βρίσκεται πάνω από το αναερόβιο κατώφλι, προκειμένου να δούμε κατά πόσο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ο παράγοντας αυτός (η απόπτωση των περιφερικών λεμφοκυττάρων δηλαδή) στον χώρο της αθλητικής επιστήμης.

3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Όπως αναφέρθηκε και στον πρόλογο, στην συγκεκριμένη μελέτη προσπαθήσαμε να συνδέσουμε την απόπτωση των περιφερικών λεμφοκυττάρων με τις μεταβολικές αλλαγές και την οξέωση στην έντονη άσκηση και να δούμε κατά πόσο αυτή (η απόπτωση) επηρεάζεται. Η επιλογή των λεμφοκυττάρων στην συγκεκριμένη έρευνα έγινε κυρίως λόγω του γεγονότος ότι αυτά σχετίζονται με την απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος. Όπως είναι γνωστό, διάφορες συνθήκες όπως υπερβολικά υψηλή θερμοκρασία, άγχος αλλά και φυσικό στρες μπορούν να επηρεάσουν την λειτουργία του ανοσοποιητικού.

Η έντονη άσκηση λοιπόν τείνει να συνδεθεί με μια αντίδραση μικρότερης λειτουργικότητας των λεμφοκυττάρων. Τι έχει φανεί όμως μέχρι σήμερα για την λεμφοκυτταρική απόπτωση σε καταστάσεις αθλητικού στρες; Ποια είναι τα επίπεδα της σωματικής άσκησης που επάγουν μεταβολές στον ρυθμό απόπτωσης των λεμφοκυττάρων;

Ορισμένες έρευνες έχουν δείξει ότι ανάλογα με την ένταση της άσκησης υπάρχουν μεταβολές στην καμπύλη απόπτωσης των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος. Αυτό που θα θέλαμε να διευκρινιστεί είναι το κατά πόσο μπορούμε να συνδέσουμε την απόπτωση των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος με τα στοιχεία που καταδεικνύουν την μεταβολική οξέωση που υφίσταται ο ανθρώπινος οργανισμός κατά την έντονη άσκηση τόσο κατά τη διάρκεια όσο και μετά το αθλητικό στρες.

Συνοψίζοντας, οι κύριοι σκοποί της συγκεκριμένης μελέτης συνδέονται με τη διερεύνηση των παρακάτω ερωτημάτων:

- 1) Τι κινητική ακολουθεί η απόπτωση των περιφερικών λεμφοκυττάρων μετά την έντονη άσκηση;
- 2) Ποιά η συσχέτιση της απόπτωσης των περιφερικών λεμφοκυττάρων με τους παράγοντες της μεταβολικής οξέωσης, όπως το γαλακτικό οξύ, μετά την έντονη άσκηση;

- 3) Υπάρχουν διαφορές στην απόπτωση των περιφερικών λεμφοκυττάρων μεταξύ των δύο ομάδων; (μεταξύ δηλαδή αυτών που ασχολούνται με τον πρωταθλητισμό και της ομάδας ελέγχου).
- 4) Σε ποιες χρονικές φάσεις μετά την άσκηση εμφανίζονται πιο έντονα οι διαφορές αυτές και πως αυτό μπορεί να συσχετιστεί με τον βαθμό μεταβολικής οξέωσης στους συγκεκριμένους αθλητές;
- 5) Μπορούμε να συσχετίσουμε άμεσα την απόπτωση των περιφερικών λεμφοκυττάρων με το επίπεδο φυσικής κατάστασης ή ακόμα και με την επίδοση των αθλητών; Μπορεί η απόπτωση σε ηρεμία ή μετά την άσκηση να καταστεί αξιόπιστος δείκτης για το επίπεδο ικανοτήτων του αθλητή στη μέγιστη προσπάθεια;

4. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4.1. ΑΠΟΠΤΩΣΗ

4.1.1. Εισαγωγή

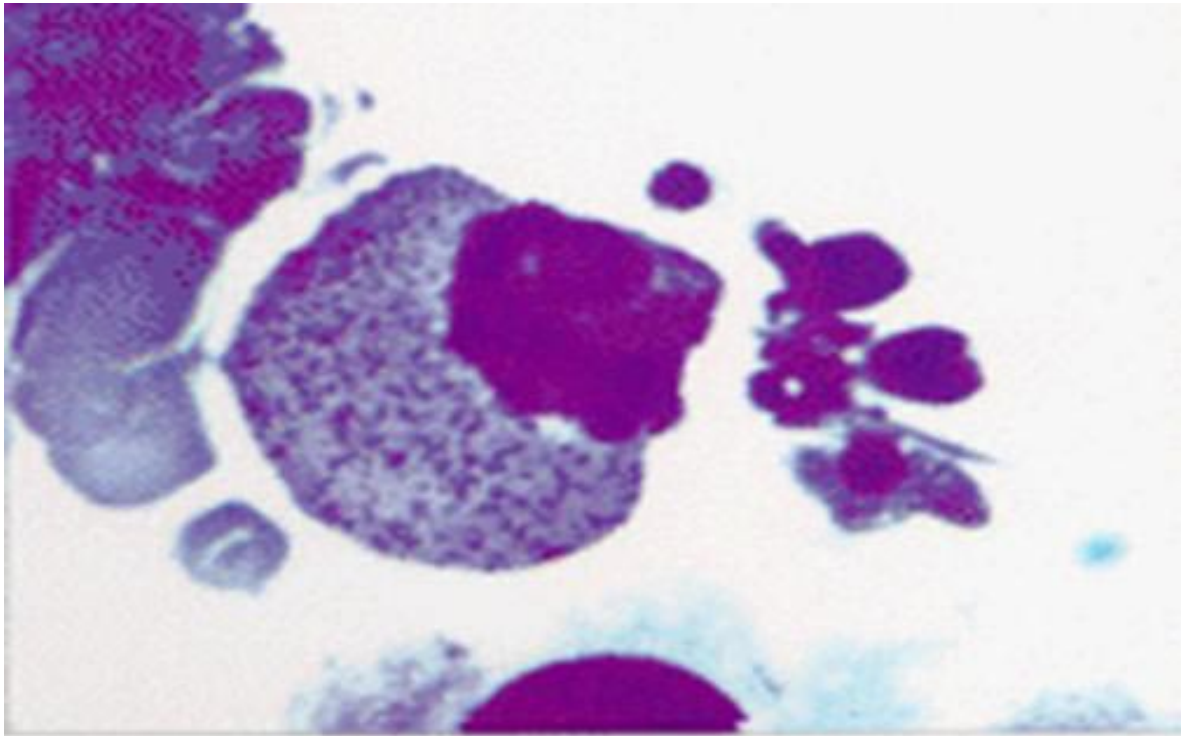
Σε ένα κύτταρο μπορεί να υπάρξει επιβίωση, πολλαπλασιασμός με μίτωση, διαφοροποίηση ή θάνατος.

Η απόπτωση είναι μία διεργασία προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Συμβαίνει μόνο σε πολυκυτταρικούς οργανισμούς [1]. Είναι μια διαδικασία που θεωρείται φυσιολογική και είναι απαραίτητη για την ομοιοστάση των ιστών, την απομάκρυνση επιβλαβών κυττάρων αλλά και την ανάπτυξη των οργάνων. Κατά τη διάρκεια της απόπτωσης το κύτταρο συρρικνώνεται, το ίδιο και η χρωματίνη, η μιτοχονδριακή μεμβράνη διαρρηγνύεται και το κύτταρο αποδομείται (εικ. 1) και σχηματίζει αποπτωτικά σώματα, τα οποία φαγοκυτταρώνονται, χωρίς φλεγμονή.[2]

Κατά τη διάρκεια της απόπτωσης έχουμε πρωτεϊνοσύνθεση. Η διαδικασία της απόπτωσης είναι καταστροφική και αυτοενισχυόμενη και μη αντιστρεπτή.

Η απόπτωση προκαλείται από πολλούς εξωκυτταρικούς και ενδοκυτταρικούς παράγοντες.

Αποπτωτικοί παράγοντες είναι οι ιοί, η ακτινοβολία, η κόπωση και η αδυναμία επιδιόρθωσης του DNA [15]. Επίσης όταν τα κύτταρα του επιθηλιακού ιστού απομακρυνθούν από τον βασικό υμένα πεθαίνουν με απόπτωση. Η απόπτωση αποτελεί μέρος της ανοσοποιητικής απόκρισης.



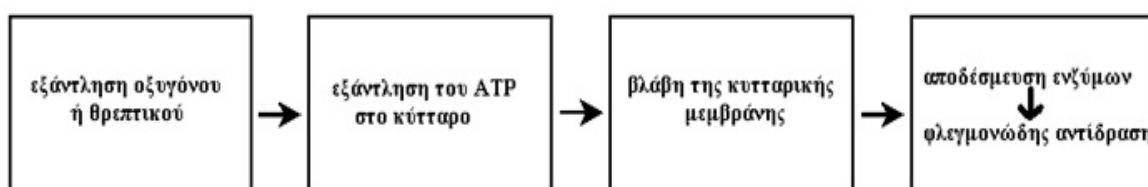
Εικόνα 1- Κύτταρο σε αποπτωτική διαδικασία νέκρωσης

Η απόπτωση είναι εξαιρετικά σημαντική διαδικασία και λαμβάνει μέρος τόσο σε ενήλικα όσο και σε εμβρυικά κύτταρα. Στα έμβρυα τα κύτταρα πεθαίνουν όταν η δομή που σχηματίζουν δεν είναι πλέον απαραίτητη, όπως στην ουρά του γυρίνου ή στα δάκτυλα των άκρων [49],[45]. Στους ενήλικες ο ρόλος της έχει να κάνει με α) τη ρύθμιση του αριθμού των κυττάρων σε ένα ιστό ή ένα όργανο β) την καταστροφή και απομάκρυνση των επιβλαβών κυττάρων γ) την άμυνα του οργανισμού και τη ρύθμιση της ανοσοποίησης δ) την προστασία από κακοήθεις εξαλλαγές (μιτώσεις) [50].

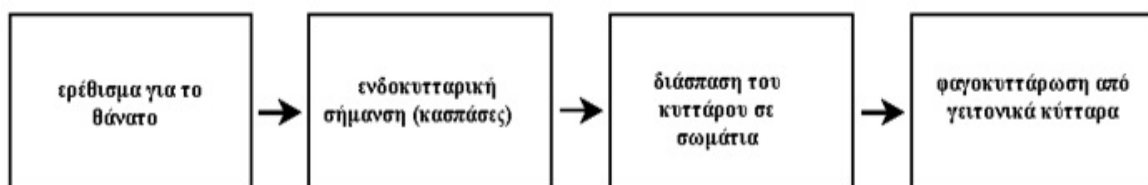
Σε αντίθεση με την νέκρωση η οποία είναι μία μορφή τραυματικού θανάτου του κυττάρου που προκύπτει από οξεία κυτταρική βλάβη, η απόπτωση προσδίδει γενικά πλεονεκτήματα κατά τη διάρκεια του κύκλου ζωής ενός οργανισμού (πίνακας 1). Τότε ο κυτταρικός θάνατος είναι απαραίτητος για τη ρύθμιση του κυτταρικού αριθμού.

Κάθε ημέρα 50 έως 70 δισεκατομμύρια κύτταρα πεθαίνουν λόγω απόπτωσης στον μέσο ενήλικο άνθρωπο. Για ένα μέσο παιδί ηλικίας μεταξύ 8 και 14 ετών, περίπου 20 έως 30 δισεκατομμύρια κύτταρα πεθαίνουν σε μία ημέρα [3]. Τα καρκινικά κύτταρα ανθίστανται στην απόπτωση με αποτέλεσμα ο αριθμός τους να μεγαλώνει. Όμως και η απόπτωση είναι επιβλαβής επειδή οδηγεί σε εκφυλιστικές ασθένειες.

Νέκρωση: παθητικός κυτταρικός θάνατος αναφέρεται σε ομάδα κυττάρων



Απόπτωση: ενεργητική αυτοκαταστροφή αναφέρεται σε μονήρη κύτταρα



Πίνακας 1

4.1.2. Ανακάλυψη και ετυμολογία

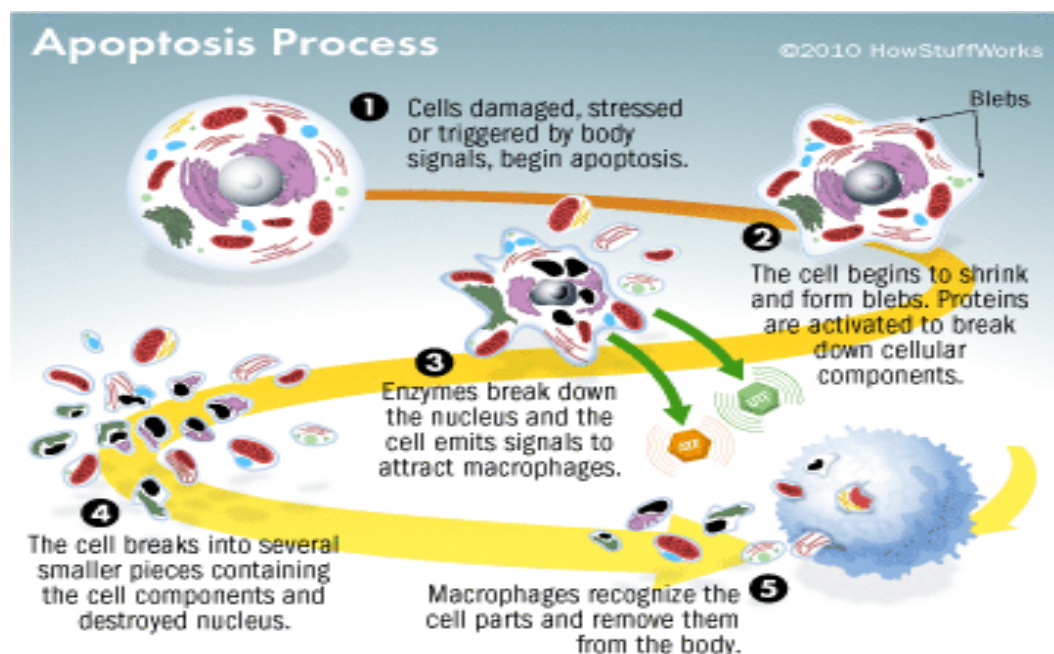
Ο Γερμανός επιστήμονας Karl Vogt ήταν ο πρώτος που περιέγραψε την αρχή της απόπτωσης το 1842. Το 1885 ο ανατόμος Walther Flemming κάνει μια πιο λεπτομερή και ακριβή περιγραφή της διαδικασίας του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου.

Το 1965 οι John Ross και Foxton Kerr στο πανεπιστήμιο του Queensland ήταν σε θέση να διακρίνουν την απόπτωση από τον τραυματικό κυτταρικό θάνατο [4]. Το 1972 οι Kerr, Currie και Wylie δημοσίευσαν άρθρο για την απόπτωση στο British Journal of Cancer, χρησιμοποιώντας αρχικά τον όρο προγραμματισμένη νέκρωση των κυττάρων, ονομάζοντας όμως τελικά την διαδικασία φυσικού θανάτου των κυττάρων, απόπτωση [5].

Τον όρο απόπτωση είχε προτείνει ο James Cormack Καθηγητής της Ελληνικής γλώσσας στο πανεπιστήμιο του Aberdeen [6]. Τον Μάρτιο του 2000 ο Kerr έλαβε το βραβείο Ghulich και Ludwing για την περιγραφή της απόπτωσης. Το 2002 το βραβείο νόμπελ ιατρικής απονεμήθηκε στους Sulston και Brenner για το έργο τους στον εντοπισμό γονιδίων που ελέγχουν την απόπτωση. Ο όρος απόπτωση είχε μία ιατρική έννοια για τους Έλληνες πάνω από δύο χιλιάδες χρόνια πριν. Ο Ιπποκράτης χρησιμοποίησε τον όρο για να σημάνει την
“πτώση των οστών”.

4.1.3. Διαδικασία

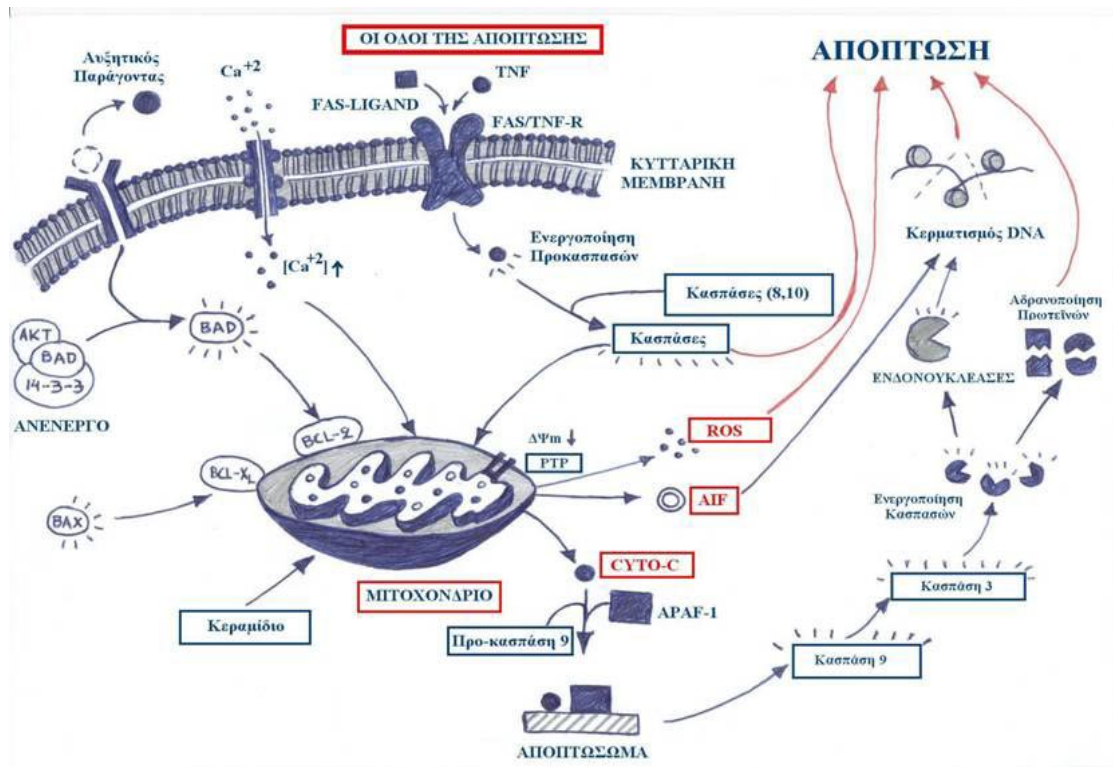
Πριν η πραγματική διαδικασία απόπτωσης λάβει χώρα, αποπτωτικά σήματα πρέπει να ωθήσουν τις ρυθμιστικές πρωτεΐνες να αρχίσουν το αποπτωτικό μονοπάτι (σχήμα 1). Αυτό το στάδιο επιτρέπει στα αποπτωτικά σήματα να προκαλέσουν τον κυτταρικό θάνατο ή να σταματήσουν τη διαδικασία αν το κύτταρο δε χρειάζεται να πεθάνει. Πολλές πρωτεΐνες συμμετέχουν στην απόπτωση, αλλά έχουν αναγνωριστεί δύο κύριες μέθοδοι ρύθμισης: α) η στόχευση της λειτουργικότητας των μιτοχονδρίων (μονοπάτι εκ των έσω) β) η άμεση οδός με τη μετάβαση του σήματος μέσω πρωτεϊνών προσαρμογέων [31]. Ένα άλλο εξωγενές μονοπάτι ενεργοποίησης που έχει μελετηθεί είναι η αύξηση της συγκέντρωσης ασβεστίου μέσα στο κύτταρο, που προκαλεί απόπτωση μέσω μιας πρωτεΐνης που προσδένει ασβέστιο, την καλπαΐνη (calpain).



Σχήμα 1

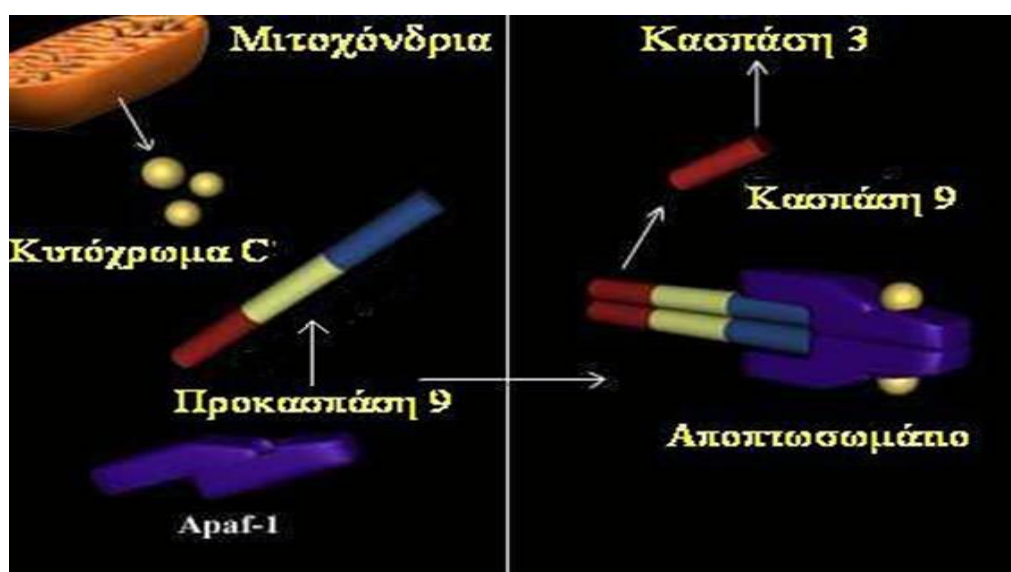
4.1.4. Μιτοχονδριακή ρύθμιση

Τα μιτοχόνδρια είναι το μέρος όπου πραγματοποιείται η αερόβια αναπνοή. Χωρίς μιτοχόνδρια ένα κύτταρο πεθαίνει γρήγορα, ένα γεγονός που αξιοποιείται από κάποιες αποπτωτικές οδούς (σχήμα 2). Οι πρωτεΐνες της απόπτωσης που δρουν στα μιτοχόνδρια, τα επηρεάζουν με ποικίλους τρόπους [31]. Μπορεί να προκαλέσουν την διόγκωση του μιτοχονδρίου με το σχηματισμό μεμβρανικών πόρων ή μπορούν να αυξήσουν τη διαπερατότητα της μιτοχονδριακής μεμβράνης με αποτέλεσμα να προκληθεί απελευθέρωση ρυθμιστών της απόπτωσης [15]. Αυτά αποτελούν μέρος του εσωτερικού μονοπατιού ρύθμισης της απόπτωσης.



Σχήμα 2

Μιτοχονδριακές πρωτεΐνες γνωστές ως SMACs (small mitochondria-derived activator of caspases) απελευθερώνονται στο κυτταρόπλασμα ως αποτέλεσμα της αύξησης της αναστολής της απόπτωσης (IAP, inhibitor of apoptosis proteins) και τις απενεργοποιούν, με αποτέλεσμα οι IAP να αδυνατούν να σταματήσουν τη διαδικασία της απόπτωσης. Οι IAP επίσης καταστέλλουν μία οικογένεια άλλων πρωτεϊνών που ονομάζονται κασπάσες οι οποίες πραγματοποιούν την αποδόμηση του κυττάρου, άρα η διαπερατότητα των μιτοχονδρίων μπορεί να ρυθμίσει έμμεσα τη δράση των κασπασών [16]. Επίσης απελευθερώνεται από τα μιτοχόνδρια το κυτόχρωμα C εξαιτίας του σχηματισμού ενός διαύλου, γνωστού ως MAC (mitochondrial apoptosis-induced channel) στην εξωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη [17] και έχει ρυθμιστική δράση καθώς προάγει δράσεις σχετικές με την απόπτωση [15]. Μόλις το κυτόχρωμα C απελευθερωθεί, προσδένεται στην πρωτεΐνη ενεργοποίησης της απόπτωσης 1 (Apaf-1) και σε ATP, και στη συνέχεια προσδένεται στην προκασπάση 9 με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός πρωτεϊνικού συμπλόκου γνωστού ως αποπτώσωμα [31]. Στο αποπτώσωμα η προκασπάση μεταπίπτει στην ενεργή μορφή της, την κασπάση 9 η οποία με τη σειρά της ενεργοποιεί την πρωτεΐνη καθοριστή, κασπάση 3 (σχήμα 3).



Σχήμα 3

Οι πόροι MAC ρυθμίζονται από διαφορετικές πρωτεΐνες όπως αυτές που κωδικοποιούνται από την οικογένεια αντιαποπτωτικών γονιδίων Bcl-2, που είναι ομόλογα με το γονίδιο Ced-9 που αναγνωρίστηκε στο *Caenorhabditis elegans*, είδος νηματοειδούς σκώληκα [18] [19]. Οι πρωτεΐνες Bcl-2 είναι ικανές να προάγουν ή να καταστείλουν την απόπτωση δρώντας άμεσα πάνω στο MAC. Οι πρωτεΐνες Bcl-2, Bcl-xL ή Mcl-1 εμποδίζουν το σχηματισμό του.

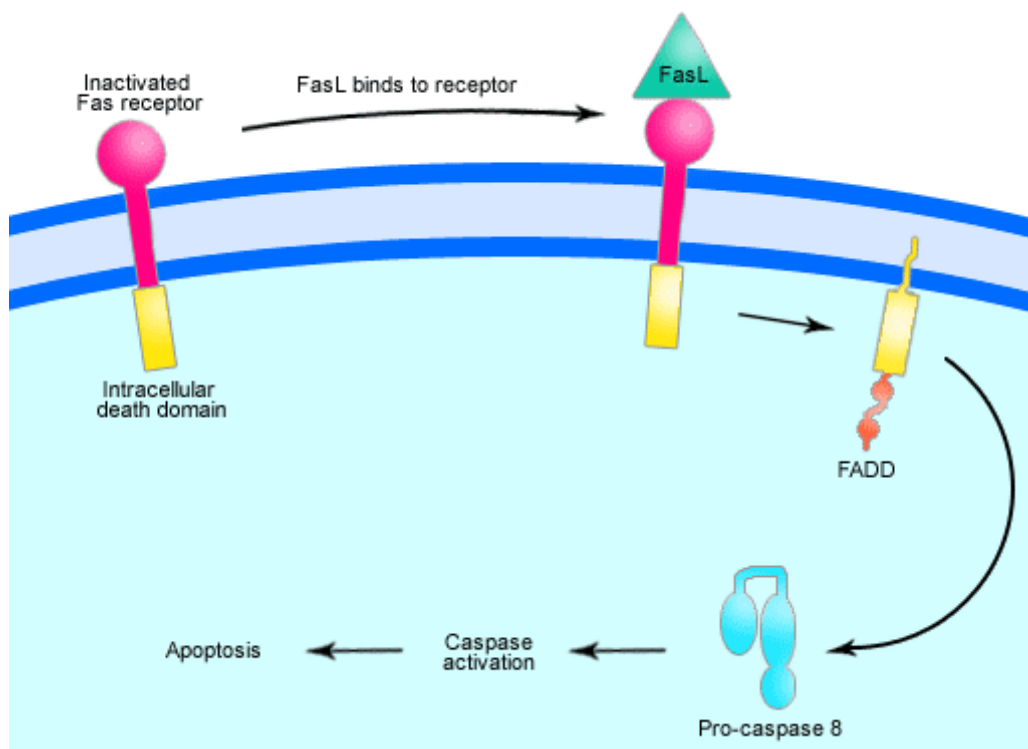
4.1.5. Άμεση σηματοδοτική οδός

Δύο θεωρίες σχετικά με την άμεση εκκίνηση των αποπτωτικών μηχανισμών στα θηλαστικά έχουν προταθεί: α) το μοντέλο που θεωρεί ότι η απόπτωση προκαλείται από τον παράγοντα TNF (παράγοντας νέκρωσης όγκων) και β) το μοντέλο σύνδεσης Fas-συνδέτη Fas. Και τα δύο μοντέλα περιλαμβάνουν τους υποδοχείς TNF (TNFR) που συνδέονται με εξωγενή σήματα [20][31].

4.1.6. Μονοπάτι του TNF

Ο TNF είναι μία κυτοκίνη. Παράγεται κυρίως από ενεργοποιημένα μακροφάγα και είναι το κύριο εξωκυττάριο ενδιάμεσο της απόπτωσης. Τα περισσότερα ανθρώπινα σωματικά κύτταρα έχουν δύο υποδοχείς TNF: TNF-R1 και TNF-R2 [31]. Η πρόσδεση του TNF στον TNF-R1 έχει αποδειχθεί ότι εκκινεί ένα μονοπάτι που οδηγεί στην ενεργοποίηση των κασπασών μέσω των πρωτεϊνών περιοχής θανάτου που σχετίζεται με τον υποδοχέα TNF (TNF receptor-associated death domain ή TRADD) και της πρωτεΐνης περιοχής θανάτου που σχετίζεται με το FAS (Fas-associated death domain protein ή FADD [21] Η πρόσδεση αυτού του υποδοχέα μπορεί επίσης να οδηγήσει έμμεσα στην ενεργοποίηση

μεταγραφικών παραγόντων που σχετίζονται με την κυτταρική επιβίωση και την αντίδραση σε φλεγμονές [22][31].



Σχήμα 4

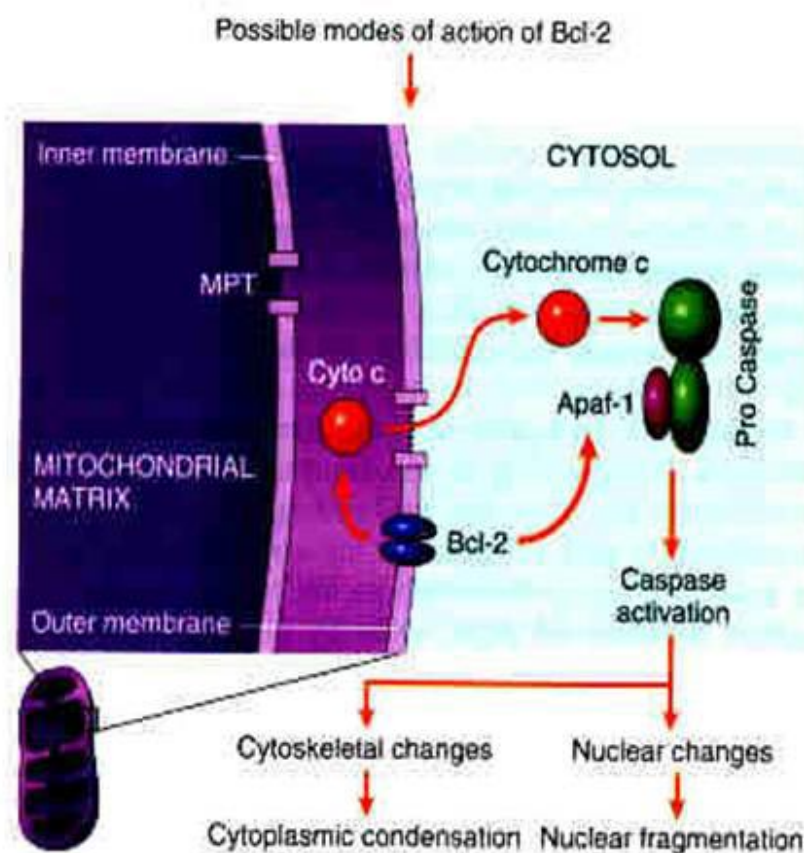
4.1.7. Μονοπάτι του FAS

Ο υποδοχέας FAS (γνωστός ως APO-1 ή CD95) προσδένει τον συνδέτη FAS (FasL) (σχήμα 4), μία διαμεμβρανική πρωτεΐνη που ανήκει στην οικογένεια TNF [20]. Η αλληλεπίδραση Fas και FasL έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό του συμπλόκου DISC, το οποίο περιλαμβάνει το FADD, την κασπάση 8 και την κασπάση 10 [31]. Σε κάποιους τύπους κυττάρων (τύπου I), η κασπάση 8 ενεργοποιεί άμεσα άλλες κασπάσες και πυροδοτεί την εκτέλεση της απόπτωσης. Σε άλλους τύπους κυττάρων (τύπου II) το FAS-DISC ξεκινά μια διαδικασία που έχει

ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση προαποπτωτικών παραγόντων από τα μιτοχόνδρια και την ενεργοποίηση της κασπάσης 8 [23].

4.1.8. Κοινά στοιχεία

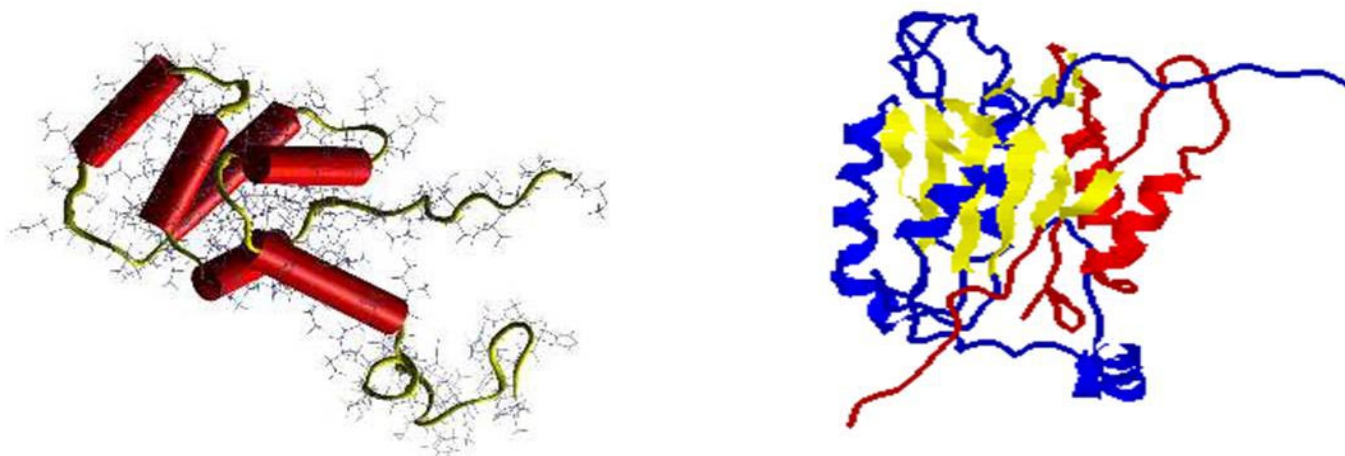
Μετά την ενεργοποίηση των TNF-R1 και Fas στα κύτταρα των θηλαστικών, εγκαθιδρύεται μία ισορροπία μεταξύ προαποπτωτικών και αντιαποπτωτικών ομοδιμερών που σχηματίζονται στην εξωτερική μεμβράνη σε ενεργοποιητές των κασπασών, όπως το κυτόχρωμα C και οι SMAC. Ο έλεγχος των προαποπτωτικών πρωτεϊνών σε κύτταρα που δεν βρίσκονται σε διαδικασία απόπτωσης δεν είναι καθόλου κατανοητός, αλλά γενικά οι Bax [8] και Bak ενεργοποιούνται από τις πρωτεΐνες BH3 που ανήκουν στην οικογένεια Bcl-2 [31] (σχήμα 5).



Σχήμα 5

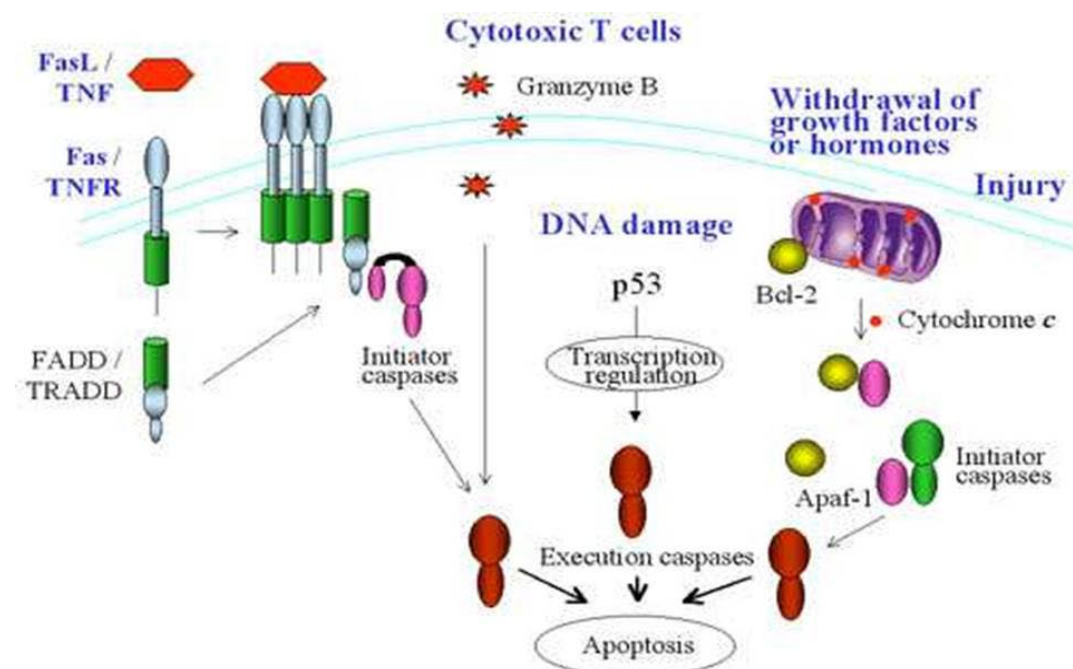
4.1.9. Κασπάσες

Οι κασπάσες παίζουν κεντρικό ρόλο στη μεταβίβαση των αποπτωτικών σημάτων. Οι κασπάσες είναι πρωτεΐνες που έχουν ρόλο πρωτεασών (εικόνα 2). Ειδικότερα οι λειτουργίες τους έχουν να κάνουν με διακοπή της επικοινωνίας με τα γειτονικά κύτταρα, επαναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού, αναστολή της επιδιόρθωσης του DNA, αποδιοργάνωση των λαμινών και αποστολή μηνυμάτων για φαγοκυττάρωση [50]. Υπάρχουν δύο είδη κασπασών: Οι εναρκτήριες κασπάσες, οι κασπάσες 8, 9, 10 και 2 και οι κασπάσες καθοριστές 3, 6 και 7. Η ενεργοποίηση των εναρκτήριων κασπασών απαιτεί πρόσδεση με συγκεκριμένες μικρές πρωτεΐνες προσαρμογείς. Τότε οι κασπάσες καθοριστές ενεργοποιούνται από τις εναρκτήριες πρωτεΐνες με πρωτεολυτικές διαδικασίες. Οι ενεργές πρωτεΐνες καθοριστές ενεργοποιούν άλλες ενδοκυττάρειες πρωτεΐνες-στόχους που φέρουν εις πέρας το αποπτωτικό πρόγραμμα μέσω της οριστικής παύσης του μεταβολισμού [31].



Εικόνα 2- Η Κασπάση 10 και η κασπάση 1

Πολλές πρωτεΐνες-στόχοι ανήκουν στην ενζυμική οικογένεια των ενδονουκλεασών (που συνήθως βρίσκονται σε ανενεργή μορφή μέσα στο κύτταρο). Άλλες πρωτεΐνες που παίζουν ρόλο στην απόπτωση είναι η οικογένεια των τρανσγλουταμινασών μέσω της δράσης των οποίων αποτρέπεται η φλεγμονώδης αντίδραση κατά την διαδικασία της απόπτωσης [31].



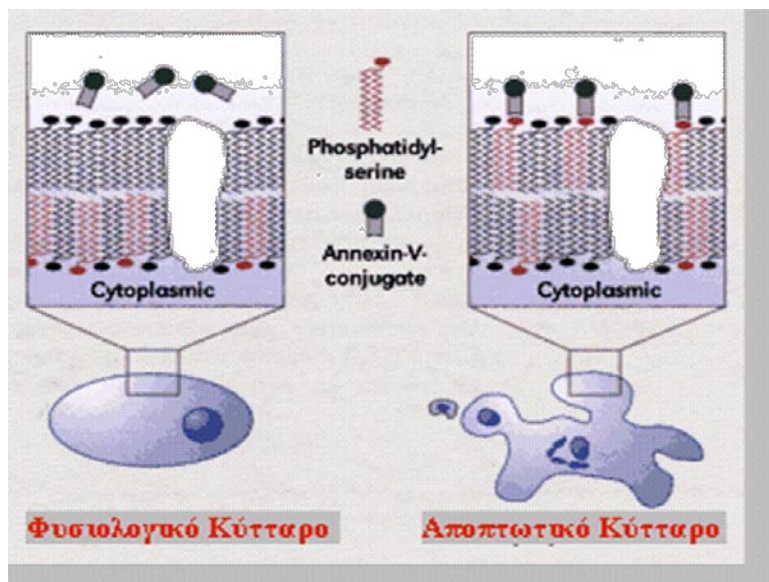
Σχήμα 6

4.1.10. Εκτέλεση

Πολλά μονοπάτια και σήματα οδηγούν στην απόπτωση αλλά υπάρχει ένας συγκεκριμένος μηχανισμός που προκαλεί τον κυτταρικό θάνατο. Αφότου το κύτταρο λάβει το ερέθισμα, υπόκειται σε οργανωμένη αποδόμηση των κυτταρικών οργανιδίων από ενεργές πρωτεολυτικές κασπάσες (σχήμα 6). Το κύτταρο που υπόκειται σε απόπτωση έχει χαρακτηριστική μορφολογία:

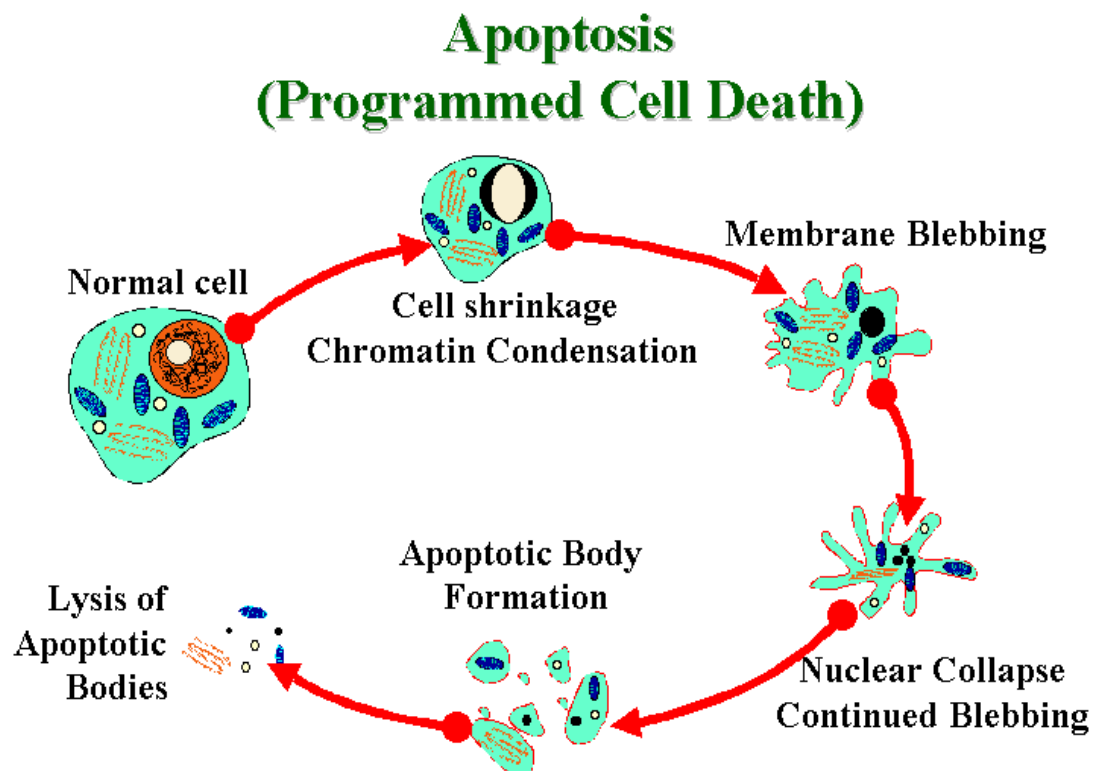
1. Το κύτταρο συρρικνώνεται και γίνεται σφαιρικό επειδή ο πρωτεϊνικός κυτταροσκελετός του αποδομείται από τις κασπάσες [9].
2. Το κυτταρόπλασμα φαίνεται πυκνό και τα οργανίδια συμπυκνωμένα.
3. Η χρωματίνη συμπυκνώνεται σε συμπαγή κομμάτια στον πυρηνικό υμένα σε μια διαδικασία γνωστή ως πύκνωση, το σημείο καμψής της απόπτωσης [24] [25].
4. Ο πυρηνικός φάκελος γίνεται ασυνεχής και το DNA μέσα του κομματιάζεται σε μια διαδικασία που αναφέρεται ως καρυόρρηξη. Ο πυρήνας σπάει σε πολλά διακριτά χρωματινικά σώματα εξαιτίας της αποδόμησης του DNA [26].
5. Η κυτταρική μεμβράνη παρουσιάζει ανώμαλα εξογκώματα.
6. Το κύτταρο διασπάται σε πολλά κυστίδια που ονομάζονται αποπτωτικά σώματα, τα οποία στη συνέχεια φαγοκυτταρώνονται.

Εδώ είναι σημαντικός ο ρόλος των μεμβρανικών μεταβολών στην αναγνώριση των αποπτωτικών κυττάρων. Οι κυτταρικές μεμβράνες γενικά είναι ασύμμετρες και η όψη που εμφανίζουν στο εσωτερικό του κυττάρου ή του οργανιδίου είναι πολύ διαφορετική από την εξωτερική. Σημαντικός ο ρόλος της αμινοφωσφολιπιδικής τρανσλοκάσης, της φλοπάσης και σκραμπλάσης στην ασύμμετρη αυτή εικόνα που παρουσιάζει η κυτταρική μεμβράνη [50]. Η αύξηση των ιόντων Ca^{+} [7] προκαλεί αναστολή της τρανσλοκάσης και ενεργοποίηση της σκραμπλάσης [12], με αποτέλεσμα να εκτίθεται η φωσφατιδυλοσερίνη στο εξωτερικό πέταλο [44] [11]. Η απώλεια λοιπόν αυτής της προαναφερθείσας ασυμμετρίας των φωσφολιπιδίων και η έκθεση της αρνητικά φορτισμένης φωσφατιδυλοσερίνης στο εξωτερικό πέταλο (σχήμα 7), έχει ως τελικό αποτέλεσμα την αναγνώριση των αποπτωτικών κυττάρων και την απομάκρυνση τους από τα φαγοκύτταρα [10],[40],[41.]



Σχήμα 7

Η απόπτωση διαδραματίζεται με μεγάλη ταχύτητα και τα κυτταρικά υπολείμματα απομακρύνονται γρήγορα, με αποτέλεσμα να είναι δύσκολο να ανιχνευτεί. Κατά τη διάρκεια της καρυόρρηξης, οι ενεργές ενδονουκλεάσες κόβουν το DNA σε μικρά κομμάτια (σχήμα 8) με συγκεκριμένο μήκος. Αυτό δίνει μία χαρακτηριστική κλιμακωτή εμφάνιση στη γέλη από άγαρ ύστερα από ηλεκτροφόρηση. Έλεγχος για κλιμάκωση DNA (DNA laddering) διαφοροποιεί την απόπτωση από ισχαιμικό ή τοξικό κυτταρικό θάνατο [27].



Σχήμα 8

4.1.11 Απομάκρυνση νεκρών κυττάρων

Η απομάκρυνση νεκρών κυττάρων γίνεται από γειτονικά φαγοκύτταρα. Τα ετοιμοθάνατα κύτταρα που υπόκεινται στα τελευταία στάδια της απόπτωσης παρουσιάζουν στην επιφάνειά τους μόρια που αναγνωρίζονται από τα φαγοκύτταρα. Αυτά τα μόρια σηματοδοτούν τα κύτταρα για φαγοκυττάρωση από κύτταρα που κατέχουν κατάλληλους υποδοχείς, όπως τα μακροφάγα [28],[50]. Μετά την αναγνώριση, το φαγοκύτταρο αναδιοργανώνει τον κυτταροσκελετό του ώστε να ενδοκυτταρώσει το κύτταρο (σχήμα 9). Η απομάκρυνση των νεκρών κυττάρων από τα φαγοκύτταρα συμβαίνει χωρίς να προκληθεί φλεγμονώδης αντίδραση [28][43].



Σχήμα 9

4.1.12. Πρώιμη – όψιμη απόπτωση

Η πρώιμη φάση της απόπτωσης χαρακτηρίζεται από αλλαγές στη μιτοχονδριακή μεμβράνη έως και μεγάλη απώλεια των δυνατοτήτων της. Αυτό είναι που χαρακτηρίζει την είσοδο του κυττάρου στην πρώιμη φάση της απόπτωσης. Τα βιοχημικά χαρακτηριστικά σε αυτή τη φάση είναι η ενεργοποίηση των κασπασών 3,7 και 9, η αποκοπή CK-18, της β-ακτίνης και του PARP [46].

Η μεταγωγή από την πρώιμη προς την μέση φάση της απόπτωσης έχει ως κλειδί την μετατόπιση της φωσφατυδιλοσερίνης. Στα ζώντα ανέπαφα κύτταρα εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα αλλά μεταφέρεται στην εξωτερική επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης όταν το κύτταρο εισέρχεται στη μέση από την πρώιμη φάση [33],[34]. Εδώ χρησιμοποιούμε και την ανεξίνη V για τον εντοπισμό της φωσφατυδιλοσερίνης (με τη βοήθεια του ιωδιούχου προπιδίου). Στη μέση φάση τα βιοχημικά χαρακτηριστικά της απόπτωσης έχουν να κάνουν με την αποκάλυψη του αντιγόνου 7A6 στη μιτοχονδριακή μεμβράνη, την μετάθεση της φωσφατυδιλοσερίνης στην εξωτερική επιφάνεια της εξωτερικής μεμβράνης και την κατάτμηση του DNA μεταξύ των νουκλεοσωμάτων (180-200 bpDNA ladder) [46].

Η όψιμη φάση της απόπτωσης μπορεί να αναγνωριστεί από τον κατακερματισμό του DNA.

Συνοπτικά λοιπόν μπορούμε να πούμε ότι τα πρώιμα αποπτωτικά κύτταρα διατηρούν την ακεραιότητα της μεμβράνης ενώ στα όψιμα παρατηρείται διάρρηξη της μεμβράνης. Όμως ανεξάρτητα από αυτό, τα σήματα που δίνουν στα μακροφάγα είναι ίδια σε χροιά και ένταση τόσο από τα πρώιμα όσο και από τα όψιμα αποπτωτικά, πράγμα που δεν τα αφήνει να καταστούν προφλεγμονώδεις παράγοντες, αποτρέπει δηλαδή την φλεγμονή (σε αντίθεση με τα νεκρωτικά).

4.1.13. Διαφορές μεταξύ νέκρωσης και απόπτωσης

Εδώ έχει έννοια να κάνουμε μια αδρή αναφορά στη διαφορά των μεταξύ τους χαρακτηριστικών (πίνακες 2_α, 2_β). Αυτά που χαρακτηρίζουν την απόπτωση όπως είδαμε παραπάνω, είναι η προσβολή μονήρων κυττάρων με αρχική απώλεια της φυσιολογικής διαμόρφωσης της κυτταρικής επιφάνειας και των μεσοκυττάρων συνδέσεων με συνέπεια τη δημιουργία ακανόνιστων κυτταροπλασματικών προσεκβολών, τη συμπύκνωση της χρωματίνης, τη συρρίκνωση του κυταροπλάσματος, και τον κατακερματισμό του DNA, τη δημιουργία αποπτωτικών σωμάτων και την φαγοκυττάρωση χωρίς φλεγμονώδη αντίδραση [50].

Η νέκρωση από την άλλη πλευρά, χαρακτηρίζεται από προσβολή ομάδων κυττάρων, βλάβη στην κυτταρική μεμβράνη που προκαλεί εισροή ιόντων και H₂O με συνέπεια τη διόγκωση των κυττάρων. Εδώ το DNA αποδομείται με τυχαία κατανομή και διαρρηγνύεται η πυρηνική μεμβράνη (καρυόλυση του πυρήνα). Τελικά η απώλεια της ακεραιότητας της μεμβράνης οδηγεί το κύτταρο σε λύση, με απελευθέρωση κυτταρικών συστατικών στον εξωκυττάριο χώρο και φλεγμονώδη αντίδραση.

Έχουν εντοπιστεί και κύτταρα που κατά το θάνατό τους εμφανίζουν μείγμα αποπτωτικών και νεκρωτικών μορφολογικών χαρακτηριστικών. Η ενδιάμεση αυτή μορφή θανάτου φαίνεται ότι οφείλεται στη διαφορετική κάθε φορά έκφραση αλληλεπικαλυπτόμενων νεκρωτικών και αποπτωτικών διαδικασιών και την κάλυψη της απόπτωσης από τη λεγόμενη δευτεροπαθή νέκρωση. Αυτή η κατάσταση μπορεί να ονομαστεί «νεκραπόπτωση» (necroptosis) [47],[48].

4.1.14. Μέθοδοι για τη διάκριση των αποπτωτικών από τα νεκρωτικά κύτταρα

Προκειμένου να διακρίνει κανείς την απόπτωση σε σχέση με την νέκρωση μπορεί να κάνει ανάλυση της μορφολογίας με μικροσκοπία time-lapse, φλουοροκυτταρομετρία ροής και ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Υπάρχουν επίσης διάφορες βιοχημικές τεχνικές για την ανάλυση των δεικτών κυτταρικής επιφάνειας, κυτταρικών δεικτών όπως ο κατακερματισμός DNA (φλουοροκυτταρομετρία ροής), η ενεργοποίηση κασπάσης, η Bid διάσπαση και η απελευθέρωση του κυττοχρώματος C (western Blot). Ωστόσο δεν υπάρχει διακριτή επιφάνεια ή βιοχημικός δείκτης της τοξικής νέκρωσης των κυττάρων και μόνο αρνητικοί δείκτες είναι διαθέσιμοι. Αυτοί περιλαμβάνουν απουσία αποπτωτικών παραμέτρων (ενεργοποίηση κασπάσης, απελευθέρωση κυττοχρώματος C και ολιγοπυρηνοσωματικό κατακερματισμό DNA) και την κινητική των διαφορικών δεικτών κυτταρικού θανάτου (φωσφατιδυλοσερίνη έκθεσης και διαπερατότητα κυτταρικής μεμβράνης).

Στην αναγνώριση των αποπτωτικών κυττάρων συμβάλλει η αννεξίνη V (ανήκει στις αννεξίνες, μια ευρύτερη οικογένεια πρωτεϊνών). Έχει την τάση να δεσμεύεται με αρνητικά φορτισμένα φωσφολιπίδια (φωσφατιδυλοσερίνη) παρουσία ιόντων Ca^{+} . Παρουσιάζει ελάχιστη συγγένεια με τη φωσφατιδυλοχολίνη και τη σφιγγομυελίνη και χρησιμοποιείται στην αναγνώριση και ποσοτικοποίηση των αποπτωτικών κυττάρων. Η αναγνώριση τους μπορεί να γίνει μέσω της ανίχνευσης των πρώιμα αποπτωτικών κυττάρων με ανίχνευση φωσφατιδυλοσερίνης στην εξωτερική στιβάδα των μεμβρανών των αποπτωτικών κυττάρων με τη χρήση του συμπλόκου Αννεξίνη V-φλουορεσεΐνη. Έτσι διακρίνονται εύκολα τα αποπτωτικά κύτταρα που έχουν έντονα βαφεί από το σύμπλοκο Αννεξίνη V-φλουορεσεΐνη. Είναι όμως πιθανό και τα νεκρωτικά κύτταρα να έχουν σημανθεί λόγω της πρώιμης αποσύνθεσης της πλασματικής τους μεμβράνης. Έτσι για να υπάρξει διάκριση της απόπτωσης από τη νέκρωση στο μικροσκόπιο, είναι απαραίτητο τα κύτταρα να επαναβαφούν με ιωδιούχο προπίδιο (PI) [39].

ΣΥΝΟΠΤΙΚΟΣ ΠΙΝΑΚΑΣ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ - ΝΕΚΡΩΣΗΣ

	ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΑΠΟΠΤΩΣΗ	ΝΕΚΡΩΣΗ
ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	Προσβολή	Μονήρη κύτταρα	Ομάδες κυττάρων
	Συνδέσεις κυττάρων μεταξύ τους και με βασική μεμβράνη	Χάνονται στα αρχικά στάδια	Χανονται στα τελικά στάδια
	Πλασματική μεμβράνη	Δημιουργία προεξοχών αλλά διατήρηση ακεραιότητας	Λύση μεμβράνης → Απελευθέρωση κυτταρικών συστατικών
	Κύτταρο	Συρρίκνωση – Σχηματισμός αποπτωτικών σωματίων	Διόγκωση και διάσπαση
	Πυρήνας	Συρίκνωση – αποδόμηση (καρυόρρηξη)	Εξαφάνιση (Καρυόλυση)
	Χρωματίνη	Συμπύκνωση σε μάζες ομογενούς πυκνότητας	Συγκέντρωση σε μάζες ασαφούς περιγράμματος
	Λυσοσώματα	Άθικτα	Οπή απ' όπου απελευθερώνονται ένζυμα
	Κυτταροπλασματικά οργανίδια	Διογκώνονται στα τελικά στάδια	Διογκώνονται στα αρχικά στάδια
	Εξιδρωματική φλεγμονή	Δεν παρατηρείται	Έντονη
	Σχηματισμός ουλής	Όχι	Ναι
	Φαγοκυττάρωση	Από γειτονικά φυσιολογικά κύτταρα	Όχι

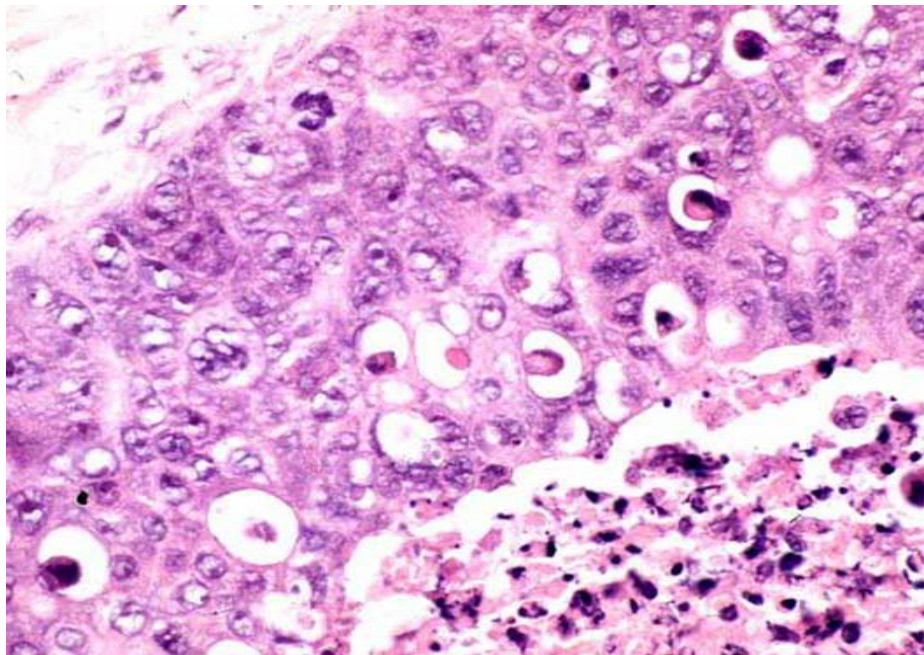
Πίνακας 2α

ΒΙΟΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	Ερεθίσματα	Φυσιολογικά	Παθολογική βλάβη
	Αντιστρέψιμη	Όχι (μετά τις μορφολογικές αλλαγές)	Ναι (μέχρι ενός σημείου)
	Ρύθμιση	Αυστηρή, με συνθετικά στάδια και στάδια δράσης	Καθόλου ή μ ικρή ρύθμιση
	Απαιτήσεις σε ενέργεια	Απαραίτητο το ATP	Καμία
	Αποδόμηση DNA	Διανουκλεοσωματική, κομμάτια μήκους 180-200 ζεύγη βάσεων (DNA fragmentation)	Τυχαίας κατανομής
	Ενεργοποίησης κασπάσης	Ναι	Όχι

Πίνακας 2β

4.1.15 Ελαττωματικά μονοπάτια

Όταν η κανονική λειτουργία της αποπτωτικής διαδικασίας διαταράσσεται, επηρεάζεται η ικανότητα των κυττάρων να υποβληθούν σε φυσιολογική απόπτωση. Έτσι αυξάνεται η πιθανότητα για τη δημιουργία κυττάρων καρκινικών ή κυττάρων που νοσούν. Η δυσλειτουργία για παράδειγμα της ογκοκατασταλτικής πρωτεΐνης P53 μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένη απόπτωση και στον πιθανό σχηματισμό όγκων. Αυτό συνήθως οφείλεται σε μεταλλάξεις που εκτρέπουν τα κύτταρα από τον φυσιολογικό μηχανισμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού και επιβίωσης. Έτσι λοιπόν μπορεί να δημιουργηθεί ένας όγκος (εικ. 3) με ανεξέλεγκτη αύξηση [50],[101]. Η αναστολή της απόπτωσης μπορεί κατά συνέπεια να οδηγήσει σε έναν αριθμό παθογόνων καταστάσεων όπως α) καρκίνων, β) αυτοάνοσων νόσων, φλεγμονωδών νόσων γ) ιογενών λοιμώξεων.



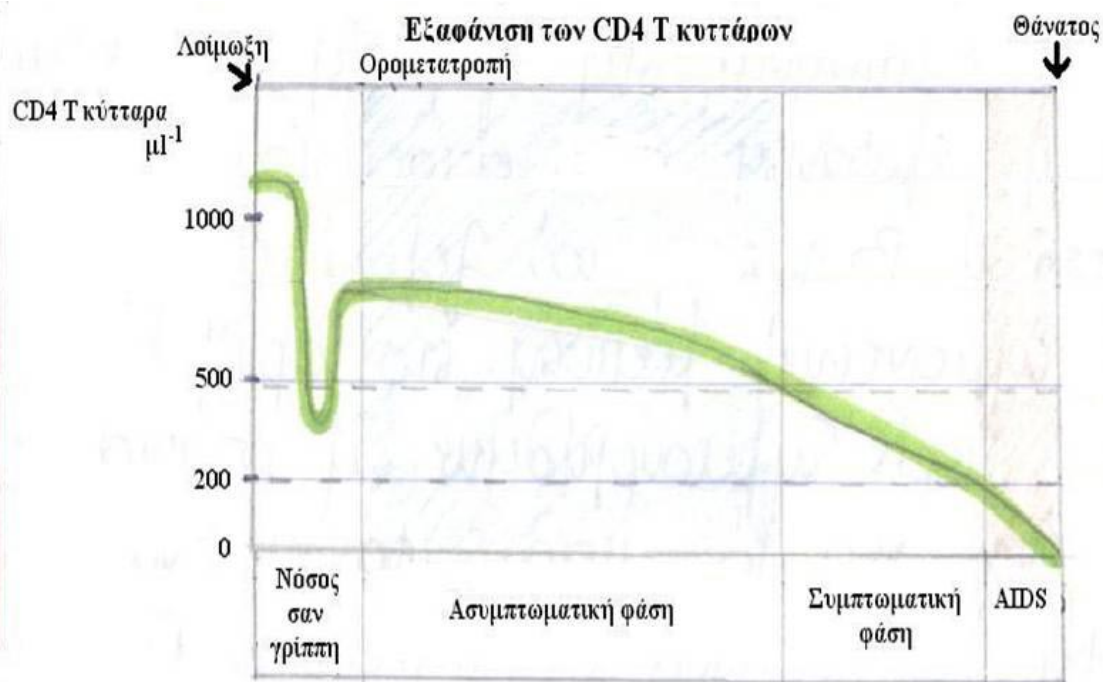
Εικόνα 3 - Αναστολή της απόπτωσης και ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός στον καρκίνο

Αρχικά υπήρχε η αντίληψη ότι η συνδεδεμένη συσσώρευση των κυττάρων οφείλεται μόνο στην αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού αλλά τώρα είναι γνωστό ότι οφείλεται επίσης στην μείωση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Η υπερέκφραση λοιπόν γονιδίων που παράγουν πρωτεΐνες με αντιαποπτωτική δράση (όπως η Bcl-2), συμβάλλουν στην εμφάνιση κάποιων τύπων καρκίνου (όπως αυτός του μαστού). Ανασταλτικές πρωτεΐνες όπως αυτές που εκφράζονται από τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV) είναι υπεύθυνες για την αναστολή της δράσης ογκοκατασταλτικών πρωτεϊνών με συνέπεια να διαταράσσεται ο φυσιολογικός κύκλος της απόπτωσης, και να σχηματίζονται όγκοι όπως αυτός του τραχήλου της μήτρας [50].

Στην περίπτωση των αυτοάνοσων νοσημάτων οι ανοσολογικοί μηχανισμοί κινούνται εναντίον οικείων αντιγόνων με αποτέλεσμα τη δημιουργία αυτοαντισωμάτων και την πρόκληση ιστικών βλαβών.

Όσον αφορά τις ιογενείς λοιμώξεις και τις φλεγμονώδεις νόσους μπορούν να προκληθούν είτε από αύξηση της κυτταρικής απόπτωσης ή από αναστολή της απόπτωσης.

Έτσι σε περιπτώσεις περίσσειας απόπτωσης οδηγούμαστε σε νευροεκφυλιστικές ασθένειες, αιματολογικές ασθένειες και βλάβη των ιστών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι ο ιός HIV που συνδέεται άμεσα με την υπερβολική, ανεξέλεγκτη απόπτωση, με συνέπεια την απώλεια του ελέγχου του αριθμού των CD4+ λεμφοκυττάρων (σχήμα 10) [13] και την εξέλιξη σε σύνδρομο ανοσοποιητικής ανεπάρκειας (AIDS) [50].



Σχήμα 10

Σημαντική λοιπόν θέση έχει η αναφορά στην ιογενή επαγωγή της απόπτωσης όταν ένα ή περισσότερα κύτταρα ενός ζωντανού οργανισμού έχουν μολυνθεί με έναν ιό που οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο. Οι ιοί μπορούν να προκαλέσουν απόπτωση των μολυσμένων κυττάρων μέσω μιας σειράς μηχανισμών όπως :

- A) μηχανισμοί υποδοχέων
- B) ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης R (PKR)
- Γ) Αλληλεπίδραση με το p53
- Δ) Έκφραση των ιϊκών πρωτεϊνών σε συνδυασμό με MHC πρωτεΐνες στην επιφάνεια του μολυσμένου κυττάρου [14]

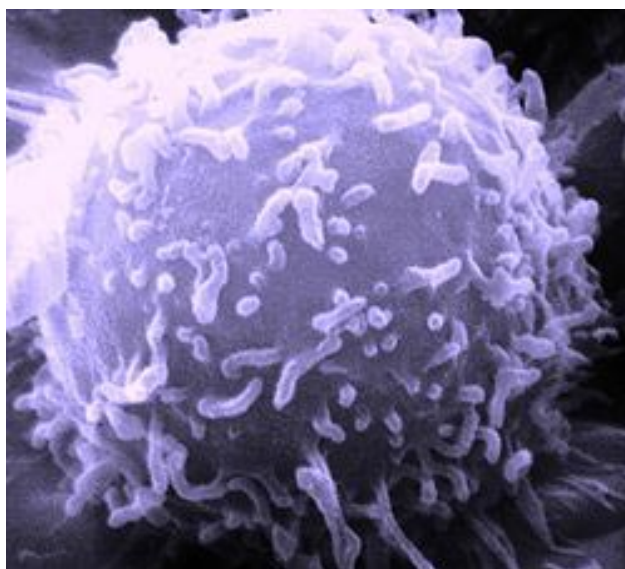
επιτρέποντας την αναγνώριση από τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος (όπως Natural Killer και κυτταροτοξικά T κύτταρα) που επάγουν στη συνέχεια την απόπτωση του μολυσμένου κυττάρου.

Οι μέθοδοι θεραπείας νόσων που σχετίζονται με τη διαταραχή της απόπτωσης, έχουν να κάνουν με μηχανισμούς που δρουν μειώνοντας ή αυξάνοντας την απόπτωση, ανάλογα με το αν η νόσος προκαλείται από περίσσεια ή αναστολή της απόπτωσης αντίστοιχα [67].

4.2. ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ

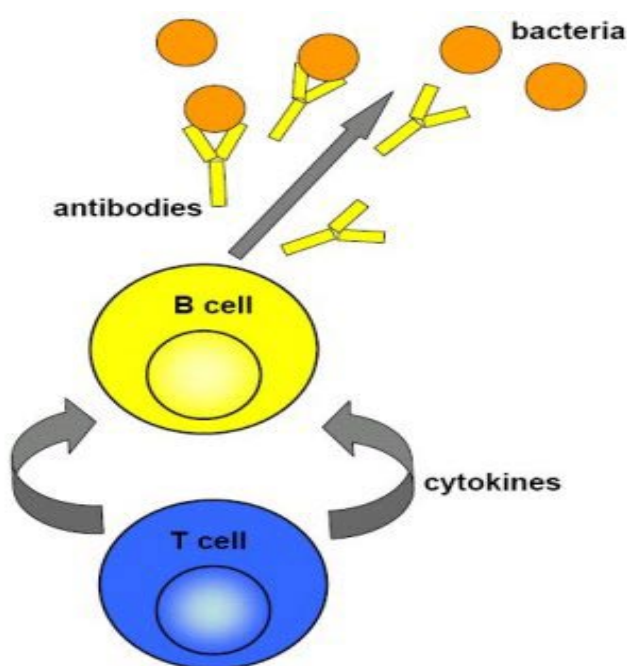
Στην συγκεκριμένη έρευνα θα χρησιμοποιήσουμε την μέτρηση της απόπτωσης των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος. Το κριτήριο ήταν ότι τα κύτταρα αυτά, σχετίζονται με την ανοσιακή απόκριση του ανθρώπινου οργανισμού η οποία διεγείρεται όταν ο οργανισμός υποβάλλεται σε κάποιο στρες και θα εξηγήσουμε αναλυτικότερα παρακάτω τι σημαίνει αυτό [89],[91].

Τα λεμφοκύτταρα (εικ. 4) λοιπόν είναι είδος λευκών αιμοσφαιρίων στο ανοσοποιητικό σύστημα των σπονδυλωτών. Βλέποντάς τα στο μικροσκόπιο, τα λεμφοκύτταρα μπορούν να χωριστούν σε μεγάλα και μικρά. Μεγάλα κοκκιώδη λεμφοκύτταρα περιλαμβάνουν φυσικά κύτταρα φονείς (NK κύτταρα). Τα μικρά λεμφοκύτταρα αποτελούνται από κύτταρα T και B. Οι τρεις κύριοι τύποι των λεμφοκυττάρων είναι τα κύτταρα T, τα κύτταρα B και τα φυσικά φονικά κύτταρα. Τα λεμφοκύτταρα μπορούν να προσδιοριστούν από τον μεγάλο πυρήνα τους [89],[92].



Εικόνα 4

T και B κύτταρα: Τα T κύτταρα (κύτταρα του θύμου) και τα B κύτταρα (κύτταρα προερχόμενα από την bursa) είναι τα κύρια κυτταρικά συστατικά της προσαρμοστικής ανοσολογικής απόκρισης. Τα T κύτταρα εμπλέκονται στην κυτταρική ανοσία, ενώ τα B κύτταρα σχετίζονται με τα αντισώματα (σχήμα 11). Η λειτουργία των T και B κυττάρων είναι να αναγνωρίζουν συγκεκριμένα «μη ίδια» αντιγόνα κατά τη διάρκεια μιας διαδικασίας που είναι γνωστή ως «παρουσίαση αντιγόνου». Από τη στιγμή που έχουν εντοπίσει έναν εισβολέα, τα κύτταρα παράγουν συγκεκριμένες απαντήσεις που είναι προσαρμοσμένες για την εξάλειψη συγκεκριμένων παθογόνων παραγόντων ή μολυσμένων με παθογόνους παράγοντες κύτταρα [89],[91],[92].



Σχήμα 11

Τα B κύτταρα αποκρίνονται με την παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων αντισωμάτων τα οποία εξουδετερώνουν ξένα αντικείμενα όπως τα βακτήρια και οι ιοί. Σε ενεργοποίηση ορισμένων T-βοηθητικών

κυττάρων, παράγονται κυτοκίνες, που κατευθύνουν την ανοσολογική απόκριση ενώ άλλα κύτταρα που ονομάζονται κυτταροτοξικά Τ-κύτταρα, παράγουν τοξικά κοκκία που περιέχουν ισχυρά ένζυμα τα οποία επάγουν τον θάνατο του μολυσμένου με παθογόνα στοιχεία κυττάρου. Μετά την ενεργοποίηση τα Β και Τ κύτταρα αφήνουν μία μόνιμη κληρονομιά για τα αντιγόνα που αντιμετωπίζουν, υπό τη μορφή των κυττάρων μνήμης. Καθόλη τη διάρκεια ζωής ενός οργανισμού αυτά τα κύτταρα μνήμης θα «θυμούνται» κάθε συγκεκριμένο παθογόνο που αντιμετωπίστηκε και θα είναι σε θέση να εξαπολύσουν μια ισχυρή και ταχεία απάντηση αν το παθογόνο εντοπιστεί και πάλι [89],[91].

Φυσικά φονικά κύτταρα (NK): Τα NK κύτταρα είναι ένα μέρος του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος και παίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην άμυνα του ξενιστή απέναντι στους όγκους και στα μολυσμένα με ιούς κύτταρα. Τα NK κύτταρα διακρίνουν αυτά τα κύτταρα από τα φυσιολογικά αναγνωρίζοντας τις αλλαγές ενός μορίου επιφανείας που ονομάζεται MHC (μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας). Τα NK κύτταρα ενεργοποιούνται ως απόκριση σε μια οικογένεια κυτοκινών που ονομάζονται ιντερφερόνες. Τα ενεργοποιημένα NK κύτταρα απελευθερώνουν κυτταροτοξικά που καταστρέφουν στη συνέχεια τα τροποποιημένα κύτταρα. Έτσι ονομάστηκαν κύτταρα φυσικοί φονείς λόγω της αρχικής έννοιας ότι δεν απαιτούν προηγούμενη ενεργοποίηση προκειμένου να σκοτώσουν κύτταρα που δεν έχουν MHC τύπου I [89],[91].

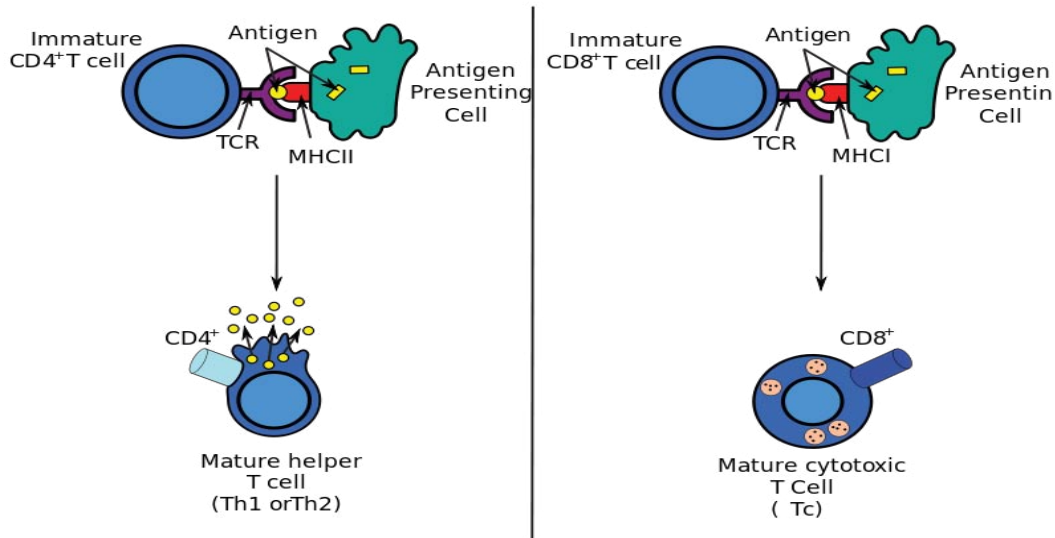
Όσον αφορά την προέλευση των λεμφοκυττάρων, ξέρουμε ότι τα βλαστικά κύτταρα στα θηλαστικά διαφοροποιούνται προς διάφορα είδη κυττάρων μέσω της διαδικασίας της αιμοποίησης. Όλα τα λεμφοκύτταρα προέρχονται από ένα κοινό προγονικό τύπο κυττάρων και με τη διαδικασία της λεμφοποίησης σχηματίζονται τα διάφορα είδη τους (πίνακας 3). Β κύτταρα ωριμάζουν σε Β λεμφοκύτταρα στο μυελό των οστών, ενώ τα Τ κύτταρα μεταναστεύουν και ωριμάζουν σε ένα ξεχωριστό όργανο που ονομάζεται θύμος. Μετά την ωρίμανση τα λεμφοκύτταρα εισέρχονται στην κυκλοφορία και τα περιφερικά λεμφοειδή όργανα (π.χ. σπλήνας και λεμφαδένες) και συμμετέχουν στην έρευνα για την εισβολή παθογόνων ή όγκων [92].

ΤΥΠΟΙ	ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ	ΠΟΣΟΣΤΟ	ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΟΙ MARKERS
NK κύτταρα	Λύση των κυττάρων που έχουν μολυνθεί από ιούς και των καρκινικών κυττάρων	7% (2-13%)	CD16 CD56 but not CD3
Βοηθητικά T κύτταρα	Απελευθέρωση κυττοκινών και αυξητικών παραγόντων που ρυθμίζουν άλλα κύτταρα του ανοσοποιητικού	46% (28-59%)	TCRαβ, CD3 and CD4
Κυτταροτοξικά T κύτταρα	Λύση των κυττάρων που έχουν μολυνθεί από ιούς και των καρκινικών κυττάρων και των αλλομοσχευμάτων	19% (13-32%)	TCRαβ, CD3 and CD8
γδ T κύτταρα	Ανοσορύθμιση και κυτταροτοξικότητα	5% (2%-8%)	TCRγδ and CD3
B κύτταρα	Έκκριση αντισωμάτων	23% (18-47%)	MHC class II, CD19 and CD21

Πίνακας 3

Τα λεμφοκύτταρα συμμετέχουν στην προσαρμοστική ανοσία (τα B και τα T) και διαφοροποιούνται περισσότερο μετά την έκθεση σε κάποιο αντιγόνο [89] [91]. Τα λεμφοκύτταρα προσπαθούν να εξαλείψουν το αντιγόνο είτε απελευθερώνοντας αντισώματα (όπως τα B λεμφοκύτταρα) και τα κυτταροτοξικά κοκκία (κυτταροτοξικά T κύτταρα) ή σηματοδοτώντας άλλα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος (βοηθητικά T κύτταρα) (σχήμα 12).

Κύτταρα μνήμης παραμένουν στους περιφερικούς ιστούς και στην κυκλοφορία για παρατεταμένο χρονικό διάστημα ώστε να είναι έτοιμα να ανταποκριθούν σε πιθανή μελλοντική έκθεση στο ίδιο αντιγόνο. Ζουν από αρκετές εβδομάδες, έως αρκετά χρόνια, έως και μια ολόκληρη ζωή, μεγάλα διαστήματα σε σχέση με άλλα λευκοκύτταρα.



Σχήμα 12

Χαρακτηριστικά: Ένα κανονικό λεμφοκύτταρο έχει ένα μεγάλο σκούρο σε χρώση πυρήνα με λίγο ηωσινοφιλικό κυτταρόπλασμα. Ο πυκνός πυρήνας ενός λεμφοκυττάρου έχει περίπου το μέγεθος ενός ερυθρού αιμοσφαιρίου (περίπου 7 μm). Τα πολυριβοσώματα είναι ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό στα λεμφοκύτταρα και εμπλέκονται σε σύνθεση πρωτεϊνών που επιτρέπουν την παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων κυτοκινών και ανοσοσφαιρινών από αυτά τα κύτταρα [89].

Είναι δύσκολο να γίνει διάκριση μεταξύ των T και B κυττάρων σε ένα επίχρισμα περιφερικού αίματος. Κανονικά η κυτταρομετρία ροής χρησιμοποιείται για συγκεκριμένους λεμφοκυτταρικούς υποπληθυσμούς. Αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό του ποσοστού των λεμφοκυττάρων που περιέχουν ένα συγκεκριμένο συνδυασμό των ειδικών πρωτεϊνών κυτταρικής επιφάνειας, όπως ανοσοσφαιρίνες ή σύμπλεγμα διαφοροποίησης (CD) ή δείκτες που παράγουν συγκεκριμένες πρωτεΐνες (για παράδειγμα κυτοκίνες χρησιμοποιώντας ενδοκυττάρια χρώση κυτοκίνης). Για να μελετηθεί η λειτουργία ενός λεμφοκυττάρου δυνάμει των πρωτεϊνών που δημιουργεί, μπορούν να χρησιμοποιηθούν και άλλες τεχνικές όπως η ELISPOT ή τεχνική της δοκιμασίας έκκρισης

Στο κυκλοφορικό σύστημα μετακινούνται από λεμφαδένα σε λεμφαδένα. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με τα μακροφάγα τα οποία είναι μάλλον σταθερά [89], [90], [91].

Η αύξηση της συγκέντρωσης των λεμφοκυττάρων (λεμφοκυττάρωση) είναι συνήθως ένα σημάδι ιογενούς λοίμωξης. Όμως ένας υψηλός αριθμός λεμφοκυττάρων με χαμηλό αριθμό ουδετερόφιλων θα μπορούσε να προκληθεί από λέμφωμα. Μια χαμηλή ή κανονική προς χαμηλή απόλυτη συγκέντρωση λεμφοκυττάρων συνδέεται με αυξημένα ποσοστά μόλυνσης μετά από χειρουργική επέμβαση ή τραύμα. Χαμηλά T λεμφοκύτταρα παρατηρούνται όταν υπάρξει μόλυνση με τον ιό HIV (ειδικά τα CD4+) και χωρίς το κλειδί αυτής της άμυνας ο οργανισμός καθίσταται ευπαθής σε ευκαιριακές λοιμώξεις. Επίσης σε ορισμένες μορφές καρκίνου π.χ. μελάνωμα ή καρκίνος του παχέος εντέρου τα λεμφοκύτταρα μπορούν να μεταναστεύσουν εντός και να επιτεθούν στον όγκο. Αυτό μπορεί να οδηγήσει μερικές φορές σε υποχώρηση του πρωτογενούς όγκου. Δύο είδη κυτταρικών θανάτων παίζουν ρόλο στη ρύθμιση του λεμφοκυτταρικού πληθυσμού, ο τυχαίος θάνατος και ο καθοδηγούμενος θάνατος [89],[92].

Η απόπτωση τώρα των λεμφοκυττάρων παίζει ένα πολύ σημαντικό ρόλο στην ομοιόσταση. Αυξημένη απόπτωση των λεμφοκυττάρων μπορεί να προκαλέσει η ανοσοανεπάρκεια μέσω της απώλειας κυττάρων. Αντίθετα μείωση της απόπτωσης μπορεί να οδηγήσει σε αυτοανοσία ή λέμφωμα [92]. Η ύπαρξη κατακερματισμού του DNA στα λεμφοκύτταρα σε διαβητικά πειραματόζωα (ποντίκια) αλλά και σε ανθρώπους με διαβήτη δείχνει αυξημένη απόπτωση, πράγμα που μπορεί να εξηγήει την διαταραγμένη ανταπόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος στις περιπτώσεις μη σωστά ελεγχόμενου διαβήτη[51]. Επίσης ο σωστός έλεγχος με ινσουλίνη φάνηκε να μειώνει δραστικά το ποσοστό των αποπτωτικών λεμφοκυττάρων. Σε πειράματα με κουνέλια τα οποία τέθηκαν σε κατάσταση σήψης ενδοκοιλιακών οργάνων (περιτονίτιδα) φάνηκε η μεγάλη αύξηση της λεμφοκυτταρικής απόπτωσης η οποία όσο πιο πρώιμα εμφανιζόταν τόσο μεγαλύτερη ήταν η πιθανότητα θανάτου από σηπτικό shock [52]. Έτσι ένας από τους χαρακτηριστικούς μηχανισμούς που οδηγούν σε αύξηση της λεμφοκυτταρικής απόπτωσης είναι η σήψη και η ενδοτοξιναιμία [65].

Ο εκτεταμένος λοιπόν αποπτωτικός θάνατος των λεμφοκυττάρων είναι πιθανότατα μια σημαντική αιτία της βαθείας ανοσοκαταστολής που είναι ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα των ασθενών με σήψη [29],[30]. Επίσης η παράλληλα εκτεταμένη απόπτωση των γαστρικών επιθηλιακών κυττάρων μπορεί να θέσει σε κίνδυνο την ακεραιότητα του τοιχώματος του εντέρου με αποτέλεσμα την μετατόπιση των βακτηρίων ή ενδοτοξινών στην συστηματική κυκλοφορία [52]. Η δυνητική σημασία της απόπτωσης στην παθοφυσιολογία της σήψης απεικονίζεται από τα αποτελέσματα στα ζωικά μοντέλα που αποδεικνύουν ότι η αναστολή (με διάφορες στρατηγικές) της αυξημένης απόπτωσης βελτιώνει την επιβίωση στην σήψη [54].

Επιπλέον, από διάφορες μελέτες έχει καταδειχθεί ότι σε εκτεταμένο χειρουργικό τραύμα υπάρχει στατιστικά σημαντική μείωση των υγιών και αύξηση τόσο των όψιμα αποπτωτικών όσο και των νεκρωτικών λεμφοκυττάρων έως και 24 ώρες μετεγχειρητικά [54]. Η διαφορά στον βαθμό του κυτταρικού θανάτου προφανώς οφείλεται στο μεγαλύτερο ή μικρότερο βαθμό ενεργοποίησης της ανοσολογικής απάντησης στην έκταση του χειρουργικού τραύματος [63]. Όσον αφορά τώρα το σηπτικό στρες, υποτέθηκε ότι είναι πιθανόν να κυκλοφορεί στον ορό κάποιος παράγοντας κατά τη διάρκεια της σήψης παίζοντας ρυθμιστικό ρόλο στην απόπτωση των λεμφοκυττάρων, ενώ από μελέτες φαίνεται ότι δρα μέσω και των δύο αποπτωτικών οδών (της ενδογενούς αλλά και της εξωγενούς).

4.3. ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΑΣΚΗΣΗ

Η χρήση της κυτταρικής απόπτωσης γενικά στο χώρο της αθλητικής επιστήμης είναι μια πρόσφατη σχετικά προσπάθεια (θα έλεγε κανείς κυρίως της τελευταίας δεκαετίας) να προσδιορίσουμε το επίπεδο της φυσικής κατάστασης με καινούργιους δείκτες και να θέσουμε νέους προγνωστικούς παράγοντες για τον καλύτερο και ακριβέστερο καθορισμό της αθλητικής απόδοσης και επίδοσης, στη διάθεση των επιστημόνων της αθλητιατρικής και αθλητικής επιστήμης [93].

Όπως αναφέρθηκε, ο αποπτωτικός κυτταρικός θάνατος διαφέρει από τον νεκρωτικό μορφολογικά και βιοχημικά, όμως και οι δύο μορφές εμφανίζονται μετά την άσκηση. Επίσης είδαμε ότι ενδογενή και εξωγενή σήματα ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων που ελέγχουν την έναρξη και το ρυθμό της απόπτωσης μέσω δημιουργίας και έκφρασης διαφόρων πρωτεϊνών (όπως Bax, fas, p53 κ.α.) που προάγουν ή αναστέλλουν την απόπτωση. Το τελικό αποτέλεσμα είναι λογικό να ρυθμίζεται ανάλογα με τα ποσοστά των γονιδίων που ευοδώνουν ή όχι την απόπτωση [53].

Η έντονη άσκηση ενεργοποιεί κάποιους παράγοντες που μπορούν να διαφοροποιήσουν την απόπτωση σε διάφορους ιστούς (εικ. 5). Υπάρχουν μελέτες που δείχνουν ουσιαστικές διαφορές στα λεμφοκύτταρα και τους σκελετικούς μυς [94].

Τέτοιοι παράγοντες είναι τα γλυκοκορτικοειδή, η έλλειψη του αυξητικού παράγοντα (GF), η αύξηση του ενδοκυττάριου ασβεστίου, η περίσσεια δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS-reactive oxygen species), και ο TNF (tumor necrosis factor).



Εικόνα 5

Πολλοί από αυτούς τους παράγοντες αντιδρούν με τις ενδοκυττάριας και εξωκυττάριας πρωτεΐνες, πράγμα που τελικά πυροδοτεί ή αναστέλλει τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Η αύξηση σε έκκριση γλυκοκορτικοειδών, η ενδοκυττάρια συγκέντρωση ασβεστίου και δραστικών μορφών οξυγόνου έχει φανεί ότι συμβαίνει κατά τη διάρκεια έντονης άσκησης. Έτσι η έντονη και όχι η μέτρια άσκηση όπως φαίνεται από έρευνες επάγει την απόπτωση. Άλλες μελέτες έδειξαν ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος αυξήθηκε τουλάχιστον για μία ώρα μετά την άσκηση.

Η αυξημένη παραγωγή οξειδωτικών παραγόντων στα μιτοχόνδρια των μυών κατά τη διάρκεια της έντονης άσκησης, φαίνεται ότι προκαλεί βλάβη στο DNA και σε κάποιες πρωτεΐνες. Συγκεκριμένες βλάβες στο DNA μπορούν να τροποποιήσουν την έκφραση αντί και προ αποπτωτικών πρωτεϊνών. Επιπλέον, άλλοι παράγοντες, όπως η μείωση των επιπέδων γλουταθειονίνης μπορούν να πυροδοτήσουν στα μιτοχόνδρια την απελευθέρωση πρωτεϊνών που ενεργοποιούν τις

κασπάσες όπως το κυτόχρωμα C και ο AIF (apoptosis inducing factor). Η απελευθέρωση του κυτοχρώματος C στο κυτταρόπλασμα είναι ένα πρώιμο αποπτωτικό γεγονός. Το κυτόχρωμα C θα συνδεθεί με τον Apaf-1 (apoptosis protease-activating factor) και ATP. Αυτό το σύμπλεγμα είναι ικανό να ενεργοποιήσει την κασπάση 9 που είναι υπεύθυνη για την έναρξη του καταρράκτη των πρωτεολυτικών γεγονότων που οδηγούν στην απόπτωση.

Η παρατεταμένη φυσική δραστηριότητα μπορεί να προκαλέσει βλάβη στους σκελετικούς μυς ιδίως με εκκεντρική σύσπαση δηλαδή σύσπαση επιμήκυνσης παρά με ισομετρική σύσπαση. Εδώ εν τάχει να αναφέρουμε ότι υπάρχουν τρία είδη μυϊκής συστολής:

- α) Η συγκεντρική ή μειομετρική συστολή
- β) Η εκκεντρική ή πλειομετρική συστολή και
- γ) Η ισομετρική ή στατική συστολή

Παλαιότερα πίστευαν ότι η βλάβη οφειλόταν κυρίως σε φλεγμονώδεις και νεκρωτικές διαδικασίες, αλλά πιο πρόσφατες μελέτες έδειξαν το σημαντικό ρόλο της απόπτωσης των μυϊκών ινών στους ενήλικες κατά τη διάρκεια και μετά την άσκηση. Σε μελέτες με ποντίκια μετά από έντονη άσκηση φάνηκε έως και 48 ώρες μετά κατακερματισμός DNA και μειωμένα επίπεδα Bcl-2 (αντιαποπτωτικής μιτοχονδριακής πρωτεΐνης), φαινόμενα που δίνουν μια μερική εξήγηση στην επίταση του φαινομένου της απόπτωσης μετά από έντονη άσκηση.

Ακόμα δεν φαίνεται να μπορούμε να διασαφηνίσουμε πλήρως τον βιοχημικό μηχανισμό που ενεργοποιεί την απόπτωση στους σκελετικούς μυς αλλά η κύρια υπόθεση είναι ότι κατά τη διάρκεια της άσκησης ο μεταβολισμός στους μυς επιταχύνεται, πράγμα το οποίο οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS). Τα υψηλά επίπεδα οξειδωτικών παραγόντων μπορούν να προκαλέσουν βλάβη στο DNA και να ενεργοποιήσουν την απόπτωση [58]. Οι τύπου I μυϊκές ίνες (αργής συστολής) που είναι κατεχοχήν οξειδωτικές είναι

δυνατόν να φθάσουν στο σημείο να μην μπορούν να διαχειριστούν την περίσσεια των δραστικών μορφών οξυγόνου.

Επιπλέον το στρες της άσκησης αυξάνει τα επίπεδα των κατεχολαμινών τα οποία ευοδώνουν περαιτέρω την απόπτωση. Η αύξηση των δραστικών μορφών οξυγόνου και των γλυκοκορτικοειδών ως αποτέλεσμα της άσκησης μπορεί να σηματοδοτήσει στα κύτταρα την έναρξη της απόπτωσης [96]. Επίσης η μειωμένη χρήση των σκελετικών μυών λόγω χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας θα μπορούσε να επηρεάσει την απόπτωση [100]. Πράγματι σε έρευνες που έχουν γίνει έχει φανεί αύξηση της απόπτωσης στα κύτταρα των σκελετικών μυών στο 50% περίπου των ασθενών με χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια. Σε αυτούς τους ασθενείς εμφανίστηκαν πολύ χαμηλότερα επίπεδα $\dot{V}O_2 \max$ και χαμηλότερα επίπεδα έκφρασης της Bcl-2.

Ο μηχανισμός βέβαια εδώ πιθανότατα είναι αρκετά διαφορετικός. Όπως είδαμε νωρίτερα, η διαταραχή της μιτοχονδριακής ομοιόστασης είναι αυτή που μπορεί να επάγει την απόπτωση μέσω της δημιουργίας βλάβης στο DNA, βλάβης στη μιτοχονδριακή μεμβράνη, αύξησης του Ca^{+2} , που προκαλούν την απελευθέρωση προαποπτωτικών παραγόντων όπως το κυτόχρωμα C. Μελέτες όμως σε κύτταρα σκελετικών μυών έδειξαν ότι το κυτταρόπλασμά τους δεν είχε τη δυνατότητα να ενεργοποιήσει τις τύπου II κασπάσες χρησιμοποιώντας το μονοπάτι μέσω του κυτοχρώματος C. Ο αποπτωτικός παράγοντας ενεργοποίησης πρωτεασών -1 (Araf-1) επίσης δεν ήταν παρών στα σκελετικά μυϊκά κύτταρα.

Από τα παραπάνω μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η απόπτωση στα κύτταρα των σκελετικών μυών μπορεί να μην λειτουργεί μέσω του ίδιου μιτοχονδριακού μηχανισμού. Κατά τη διάρκεια της άσκησης βέβαια εκλύονται πολλές πρωτεΐνες που είναι απαραίτητες για την ενεργοποίηση των κασπασών.

Αυτό που πρέπει να κρατήσει κάποιος από τις προηγούμενες αναφορές για την απόπτωση στους σκελετικούς μυς είναι το γεγονός ότι μέχρι ένα σημείο φαίνεται ότι η αύξηση της απόπτωσης κατά την άσκηση είναι μία φυσιολογική διαδικασία που έχει ως στόχο να απομακρύνει πιο γρήγορα τα μερικώς παραβλαφθέντα κύτταρα. Επίσης η εκκεντρικού

τύπου σύσπαση στους μυς όταν είναι έντονη ή παρατεταμένη μπορεί να προκαλέσει σημαντική μηχανικού τύπου βλάβη η οποία ακολουθείται από μια φλεγμονώδη αντίδραση που οδηγεί στη νέκρωση και την απόπτωση.

4.4. ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ-ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΗ ΟΞΕΩΣΗ ΚΑΙ ΑΣΚΗΣΗ

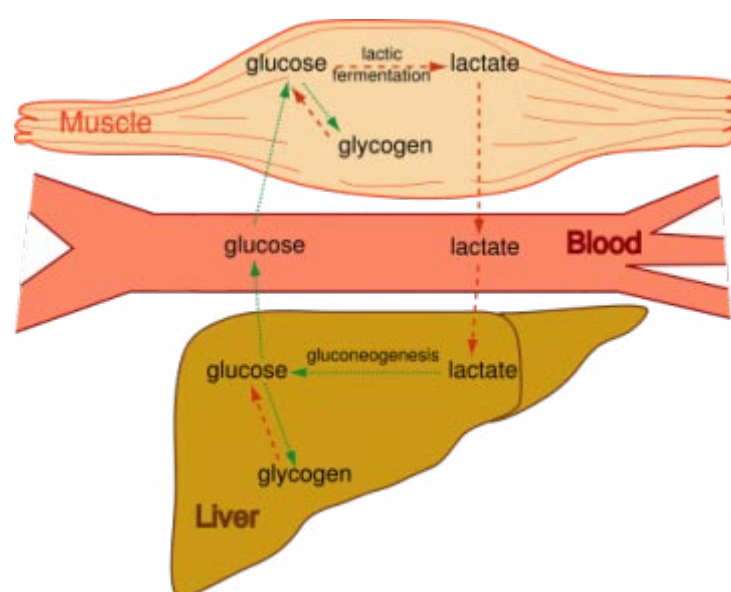
Κατά τη διάρκεια της σωματικής κόπωσης και ειδικότερα του αθλητικού στρες είναι γνωστό ότι σχηματίζεται στους μυς που εργάζονται γαλακτικό οξύ. Δηλαδή δημιουργείται όταν οι απαιτήσεις σε ενέργεια του οργανισμού αυξάνονται. Ας δούμε όμως τους βιοχημικούς μηχανισμούς που λαμβάνουν χώρα λίγο πιο διεξοδικά. Τα μυϊκά κύτταρα παράγουν έργο καταναλώνοντας τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP) [69],[71]. Η συγκεκριμένη ουσία παράγεται στα μιτοχόνδρια με την καύση της γλυκόζης και των λιπών και είναι εκείνη που κάνει τις μυϊκές ίνες να συστέλλονται. Η μετατροπή της γλυκόζης συντελείται σε δύο στάδια, το αναερόβιο, που δεν απαιτεί οξυγόνο και το αερόβιο. Το αερόβιο παράγει την μεγαλύτερη ποσότητα ATP και προσφέρει χάρη στην παρουσία οξυγόνου τέλεια καύση με παράγωγα μόνο το διοξείδιο του άνθρακα και τη θερμότητα.

Σε περίπτωση όμως έντονης εργασίας κατά την οποία οι αυξημένες ανάγκες σε ενέργεια δεν καλύπτονται από τον αερόβιο μεταβολισμό, ενεργοποιείται ο αναερόβιος. Κατά τη διάρκεια αυτού του σταδίου παράγεται ως παραπροϊόν πυροσταφυλικό οξύ και απομακρύνεται αντιδρώντας με το υδρογόνο και έτσι σχηματίζεται το γαλακτικό οξύ [69],[71].

Το γαλακτικό οξύ έχει ως αποστολή του να απομακρύνει το υδρογόνο και να επιτρέψει έτσι στους μυς να συνεχίσουν το έργο τους, εφοδιάζοντας τον οργανισμό με επιπλέον ενέργεια. Από τους μυς το γαλακτικό οξύ περνά στο αίμα και από εκεί στο ήπαρ (σχήμα 13). Όταν τα επίπεδα του γαλακτικού οξέος ξεπερνούν την ικανότητα της πέψης του οργανισμού, προκαλείται μυϊκή κόπωση και πόνος. Εδώ να αναφέρουμε λίγο πιο αναλυτικά τους μηχανισμούς απομάκρυνσης του γαλακτικού οξέος που γίνεται όπως είπαμε κυρίως μέσω των μυών όπου το γαλακτικό οξύ μετατρέπεται σε πυροσταφυλικό που εισέρχεται στον κύκλο του KREBS, μέσα στα μιτοχόνδρια των μυϊκών ινών τύπου I (βραδείας συστολής). Εκεί παράγεται ενέργεια (ATP) και

CO₂. Οι μυϊκές ίνες που δεν συμμετέχουν άμεσα στην κίνηση έχουν τις μεγαλύτερες δυνατότητες απομάκρυνσης γαλακτικού οξέος [69].

Άλλος τρόπος απομάκρυνσης του γαλακτικού είναι η αποδόμησή του σε H₂O και CO₂ [71]. Επίσης μέσω του κύκλου του Cori όπου το πυροσταφυλικό και το γαλακτικό οξύ που εμφανίζονται στον ασκούμενο μυ οδηγούνται στο ήπαρ, τους νεφρούς και την καρδιά μετατρέπόμενα σε γλυκόζη η οποία μετά ξαναχρησιμοποιείται για την παραγωγή αναερόβιας ενέργειας. Τέλος μικρό ποσοστό απομακρύνεται δια μέσου του ιδρώτα.



Σχήμα 13

Καθώς αυξάνεται η ένταση της άσκησης δημιουργείται μεγαλύτερη εξάρτηση από τις μυϊκές ίνες ταχείας συστολής. Οι ίνες αυτές χρησιμοποιούν κυρίως υδατάνθρακες για να τροφοδοτήσουν τις συστολές τους. Όπως αναφέρθηκε κάθε φορά που διασπώνται υδατάνθρακες για ενέργεια οι μύες παράγουν γαλακτικό οξύ. Όσο πιο γρήγορα κινείται κάποιος τόσο περισσότερες ίνες ταχείας συστολής χρησιμοποιούνται. Κατά συνέπεια μπορούμε να χρησιμοποιούμε περισσότερους υδατάνθρακες ως καύσιμο και να παράγουμε περισσότερο γαλακτικό οξύ [71].

Το αυξημένο λοιπόν γαλακτικό οξύ στο αίμα σημαίνει ότι ο ρυθμός εισόδου του υπερβαίνει το ρυθμό απομάκρυνσής του. Η σημασία του οξυγόνου εδώ είναι πολύ μικρή. Κατά τη διάρκεια αγωνισμάτων αντοχής όπως σε μαραθώνιους και τρίαθλο, τα επίπεδα του γαλακτικού οξέος στο αίμα σταθεροποιούνται ακόμη και αν η παραγωγή αυξάνεται [69],[72]. Αυτό συμβαίνει επειδή η ικανότητα παραγωγής γαλακτικού οξέος συνδυάζεται με την ικανότητα χρησιμοποίησής του ως καύσιμο.

Νωρίς κατά τη διάρκεια ενός αγώνα υπάρχει μια τεράστια αύξηση των ποσοστών που οι μύες λαμβάνουν και χρησιμοποιούν γλυκόζη και κατανέμουν το γλυκογόνο [72]. Το αυξημένο ποσοστό του μεταβολισμού των υδατανθράκων επιταχύνει την παραγωγή γαλακτικού οξέος το οποίο προκαλεί επίσης αύξηση του γαλακτικού οξέος στο αίμα. Καθώς το σώμα κατευθύνει αίμα στους μύες που δουλεύουν μπορεί να γίνει καλύτερα μεταφορά του γαλακτικού οξέος σε άλλους ιστούς και να χρησιμοποιηθεί ως καύσιμο [71]. Αυτό μειώνει τα επίπεδα του στους μύες και στο αίμα ακόμα και αν συνεχίζονται να παράγονται μεγάλες ποσότητες γαλακτικού οξέος. Αυτό μπορεί να κάνει κάποιον αθλητή να αισθανθεί καλύτερα σε κάποιες φάσεις του αγώνα ή της προπόνησης.

Είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν ραδιοσημασμένοι ανιχνευτές για να ακολουθήσουν το μοτίβο της χρήσης καυσίμων στο αίμα και στους μύες. Οι μελέτες δείχνουν ότι κατά τη διάρκεια της άσκησης, η παραγωγή του γαλακτικού οξέος και η απομάκρυνση του συνεχίζουν στο 300-500% του ποσοστού ανάπαυσης παρόλο που η κατανάλωση οξυγόνου σταθεροποιείται σε υπομέγιστα επίπεδα [71],[72].

Το γαλακτικό οξύ μπορούμε να πούμε ότι έχει δημιουργήσει μια κακή φήμη. Πολλοί το κατηγορούν για κόπωση, μυϊκούς πόνους και κράμπες. Θα έλεγε κανείς ότι το βλέπουν ως κάτι που θα έπρεπε να αποφεύγεται με κάθε τρόπο [69]. Όπως είδαμε όμως παραπάνω διαδραματίζει έναν κρίσιμο ρόλο στην παραγωγή ενέργειας κατά τη διάρκεια της άσκησης, και παρέχει τα καύσιμα για πολλούς ιστούς, βοηθώντας στη χρήση των υδατανθράκων και λειτουργεί ως καύσιμο για την παραγωγή γλυκόζης και γλυκογόνου από το ήπαρ [73]. Στην πραγματικότητα είναι ο τρόπος

της φύσης που βοηθά να αντιμετωπίζουμε οποιεσδήποτε πιεστικές για τον οργανισμό καταστάσεις.

Όμως το γαλακτικό οξύ έχει και μια λιγότερο φωτεινή πλευρά. Όταν το σώμα δημιουργεί γαλακτικό οξύ διασπάται σε γαλακτικό ιόν και ιόντα υδρογόνου. Τα ιόντα υδρογόνου είναι το οξύ στο γαλακτικό οξύ. Παρεμβαίνει με ηλεκτρικά σήματα στους μύες και τα νεύρα επιβραδύνοντας τις ενεργειακές αντιδράσεις και εξασθενίζοντας τις μυϊκές συσπάσεις. Το κάψιμο που νιώθει ο αθλητής κατά την έντονη προπόνηση προκαλείται από συσσώρευση ιόντων υδρογόνου. Το αίσθημα λοιπόν της κόπωσης οφείλεται σε ιόντα υδρογόνου [69].

Σίγουρα λοιπόν το γαλακτικό οξύ δεν αποτελεί απόβλητο του οργανισμού αλλά πρόκειται για εξαιρετικά γρήγορο καύσιμο που προτιμάται από την καρδιά και τους μύες κατά τη διάρκεια της άσκησης. Επίσης είναι ζωτικής σημασίας η παρουσία του για να διασφαλιστεί ότι το σώμα παίρνει μια σταθερή προμήθεια υδατανθράκων ακόμα και κατά τη διάρκεια χρονοβόρας άσκησης. Όπως προαναφέρθηκε το σώμα παράγει γαλακτικό οξύ όταν διασπά υδατάνθρακες για ενέργεια. Όσο πιο γρήγορα διασπαστεί η γλυκόζη και το γλυκογόνο τόσο μεγαλύτερος είναι ο σχηματισμός του γαλακτικού οξέος [69].

Κατά την ανάκαμψη και την υπομέγιστη προπόνηση το σώμα βασίζεται κυρίως στο λίπος για καύσιμα. Ωστόσο όταν φτάσει κανείς το 50% της μέγιστης ικανότητας (το όριο για τα περισσότερα ψυχαγωγικά προγράμματα άσκησης), το σώμα χρησιμοποιεί ολοένα και περισσότερους υδατάνθρακες ώστε να τροφοδοτήσει την άσκηση. Όσο περισσότερο χρησιμοποιούνται οι υδατάνθρακες ως καύσιμο, τόσο περισσότερο γαλακτικό οξύ παράγεται [72].

Βέβαια εδώ οφείλουμε πάλι να τονίσουμε ότι ενώ η παραγωγή ενέργειας με τον αερόβιο μηχανισμό αποδίδει 33 ATP, ο καταβολισμός των υδατανθράκων με τον αναερόβιο μηχανισμό είναι μόλις 3 ATP. Η διαδικασία λοιπόν αυτή θα μπορούσε να χαρακτηριστεί αντιοικονομική για τις εφεδρείες του οργανισμού όμως έχει το μεγάλο πλεονέκτημα ότι είναι πολύ γρήγορη προσφέροντας στον αθλούμενο σχεδόν διπλάσια ποσότητα ενέργειας (1,4mmol/Kg/s έναντι 0,6mmol/Kg/s ATP). Η

συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος μπορεί να φτάσει ακόμα και στα 30mmol κάτω από πολύ έντονες συνθήκες άσκησης ενώ οι τιμές ηρεμίας είναι κοντά στο 1 mmol/L. Η διάσπαση τώρα του γαλακτικού οξέος σε γαλακτικό ανιόν και υδρογονοϊόντα όπως είναι φυσικό ρίχνει το pH από 7,1-7,0 και σε ακραίες συνθήκες ακόμα και έως 6,3. Είναι όμως πρόβλημα η μέτρηση του γαλακτικού οξέος στο αίμα ενώ ουσιαστικά μας ενδιαφέρει η συγκέντρωση του (και το αντίστοιχο pH) στους μύες, με δεδομένο ότι η συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος στο αίμα εξαρτάται από την παραγωγή γαλακτικού οξέος στους μυς, από την διάχυση του στο αίμα, τον αριθμό οξειδωσης του και τον ρυθμό απομάκρυνσης του από το αίμα; [71], [72].

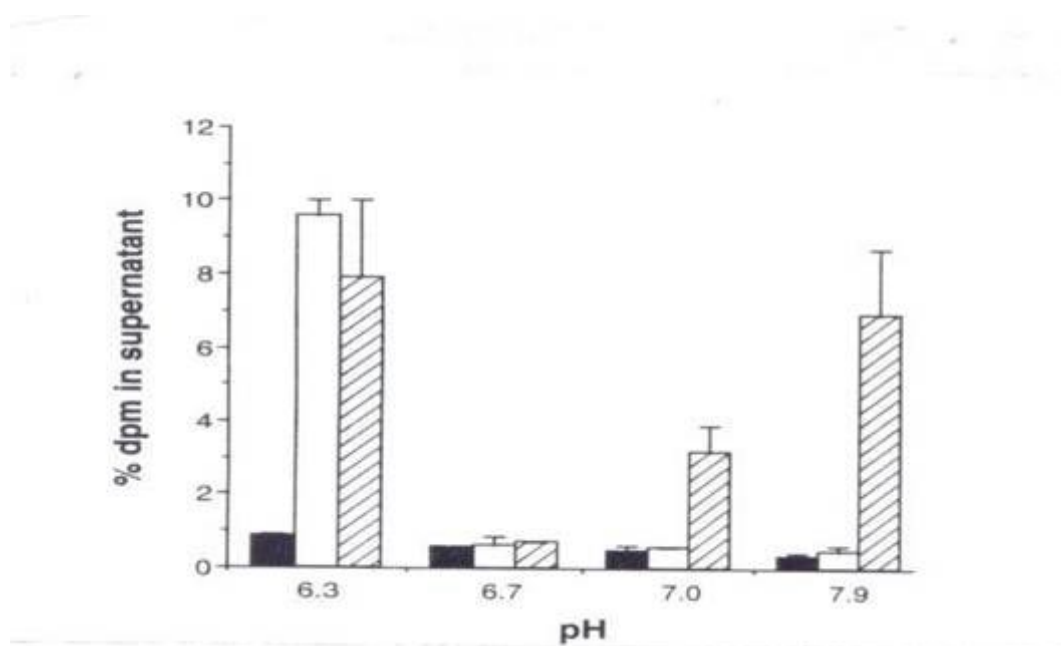
Όπως αναφέρθηκε με την παραγωγή υδρογονοϊόντων από τη διάσπαση του γαλακτικού οξέος γίνεται όξινο το περιβάλλον των μυών. Η πτώση του pH θα μπορούσε να βλάψει έως και μη αντιστρεπτά τους μύες αν έπεφτε κάτω από το 7,1-7,0 στο 5,6 για παράδειγμα. Ευτυχώς όμως στο σώμα μας υπάρχουν όξινα ανθρακικά ιόντα τα οποία δρουν ως ρυθμιστές της οξύτητας (buffers).

Τα όξινα ανθρακικά ιόντα δεσμεύουν υδρογονοϊόντα και δημιουργούνται μόρια ανθρακικού οξέος, το οποίο στη συνέχεια διασπάται σε μόρια νερού και διοξειδίου του άνθρακος. Έτσι λοιπόν βλέποντας το από την μεριά της αθλητικής επιστήμης, στα αθλήματα μεγάλης έντασης και εκρηκτικότητας (όπως οι σπρίντερ για παράδειγμα) σε σχέση με τα αθλήματα αντοχής αποκτάται μεγαλύτερη ικανότητα ρύθμισης της οξύτητας. Εδώ αξίζει να σημειώσουμε ότι σε αθλήματα μεγάλης έντασης (100μ. κολύμβησης, 400μ. τρεξίματος), οι αθλητές πολλές φορές χρησιμοποιούν σόδα (όξινο ανθρακικό νάτριο) το οποίο διασπώμενο δίνει όξινα ανθρακικά ιόντα.

Επανερχόμενοι στο θέμα της πτώσης του pH στους μύες πρέπει να αναφέρουμε την μείωση της ικανότητας συστολής και παραγωγής ενέργειας σε αυτούς. Όταν το pH μειώνεται κάτω από 6,9 τότε αναστέλλεται η διαδικασία γλυκόλυσης και η παραγωγή του ATP κατ'επέκταση. Έτσι γίνεται κατανοητό ότι σε πολλά αθλήματα η πτώση του pH είναι ο κύριος περιοριστικός παράγοντας ο οποίος επιφέρει την κόπωση (σχήμα 14). Φτάνοντας αυτά τα όρια pH το γαλακτικό οξύ

μπορεί να κυμαίνεται από 8-9 έως και 17 mmol/L. Αυτό όμως που ενδιαφέρει ιδίως την αθλητική επιστήμη είναι το τι επιπτώσεις έχει η μεγάλη συγκέντρωση γαλακτικού οξέος στους μύες και η αντίστοιχη πτώση του pH στην αθλητική απόδοση και επίδοση. Δυστυχώς η πτώση του pH δεν είναι άμεσα αναστρέψιμη [73]. Έτσι όταν ξεκινήσει για παράδειγμα ένας αγώνας κολύμβησης πάρα πολύ δυνατά, αυτό το χρεώνεται ο αθλητής και στο υπόλοιπο του αγώνα καθώς χρειάζεται χρόνο για να επανέλθει το pH στις φυσιολογικές του τιμές [50].

Ανάλογα με το επίπεδο και την ένταση της προσπάθειας μπορεί να χρειάζονται 20-30 λεπτά ή και παραπάνω για να επανέλθει το pH σε φυσιολογικά επίπεδα. Όταν το γαλακτικό οξύ κυμαίνεται στα επίπεδα των 6-7 mmol/L ο αθλητής μπορεί να το αντιμετωπίσει κατά τη διάρκεια του αγώνα [73]. Οτιδήποτε πέρα από αυτό το όριο δεν γίνεται να αντιμετωπιστεί πλήρως από τον οργανισμό και η ικανότητα παραγωγής έργου βρίσκεται πλέον σε μειωμένα επίπεδα.



Σχήμα 14

4.5. ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΚΑΤΩΦΛΙ-ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΣΚΗΣΗΣ

Αυτό που αναφέρεται ως γαλακτικό κατώφλι είναι το σημείο πέρα από το οποίο η αύξηση της έντασης της προπόνησης ή του αγώνα επιφέρει συσσώρευση γαλακτικού οξέος στο σώμα

Εκεί επικεντρώνονται σε μεγάλο βαθμό οι προσπάθειες βελτίωσης της αθλητικής επίδοσης με στόχο να ανέβει ο πήχης του επιπέδου της αθλητικής προσπάθειας όταν θα εμφανιστεί το γαλακτικό κατώφλι, όπως και το να ανέβει φυσικά σε υψηλότερη τιμή η μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου [70]. Σε αυτό όμως θα επανέλθουμε. Μετατρέπεται λοιπόν το γαλακτικό κατώφλι σε αντίστοιχα επίπεδα σφυγμών, ταχύτητας, κ.λπ.

Ακόμα λοιπόν και αν υπάρχει μία αμφισβήτηση κατά πόσο η μέτρηση της συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος είναι αξιόπιστη για να μετράμε την ένταση της προπόνησης, είναι βέβαιο ότι είναι μια πολύ πιο σίγουρη και αξιόπιστη μέτρηση από την μέτρηση της καρδιακής συχνότητας. Είναι σημαντικό για τους αθλητές να γνωρίζουν σε ποια τιμή έργου ταχύτητας και επίδοσης βρίσκεται το γαλακτικό τους κατώφλι ώστε να μην χρεώνονται για την συνέχεια της προσπάθειας τους και να μπορούν να ελέγχουν, όσο αυτό καθίσταται δυνατό, τον ρυθμό τους [85].

Όπως γίνεται αντιληπτό, το γαλακτικό κατώφλι αναφέρεται και ως αναερόβιο κατώφλι. Μια μέση τιμή συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος όπου ξεκινάει το αναερόβιο κατώφλι είναι τα 4 mmol/L. Εδώ πρέπει να αναφέρουμε πως στην καθημερινή αθλητική πράξη και προπόνηση δεν έχουμε σχεδόν ποτέ μόνιμα χρήση μόνο του αερόβιου ή μόνο του αναερόβιου τρόπου παραγωγής ενέργειας [70]. Υπάρχουν για παράδειγμα ομαδικά αθλήματα που εμπεριέχουν σύντομα χρονικά διαστήματα με μεγάλη απαίτηση ενεργειακή σε μικρό χρονικό διάστημα (όπως σπριντ στο ποδόσφαιρο ή στην καλαθοσφαίριση), οπότε σε αυτή την περίπτωση ενεργοποιείται ο αναερόβιος μηχανισμός. Όμως σε κάποια άλλη στιγμή χαλαρού τρεξίματος η

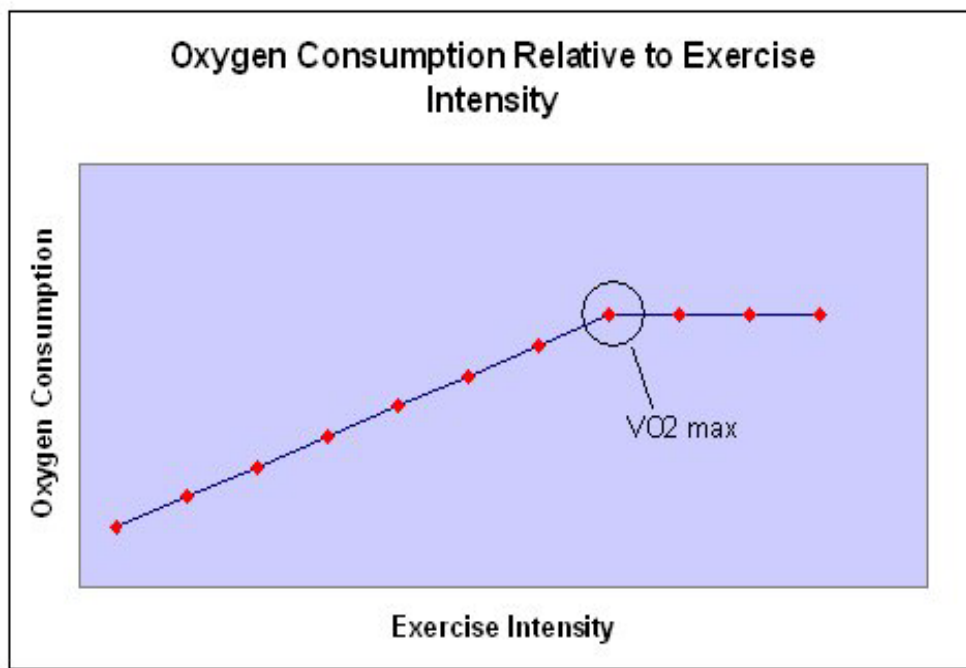
ενέργεια παρέχεται με τον αερόβιο μηχανισμό. Ανάλογα τώρα με το πόσο μεγάλος ή μικρός είναι ο λόγος αναερόβιου/αερόβιου μηχανισμού το γαλακτικό οξύ που δημιουργείται απομακρύνεται με ρυθμούς που οδηγούν τελικά σε συσσώρευση και προοδευτική αύξηση του ή απομακρύνεται ευκολότερα (με ρυθμούς που δεν επιτρέπουν την αύξηση του από ένα επίπεδο και άνω) [85].

Σύμφωνα λοιπόν με μελέτες έχει φανεί ότι το γαλακτικό (αναερόβιο) κατώφλι είναι δυνατόν με την κατάλληλη προπόνηση (ανάλογα με το άθλημα και το υπόστρωμα του αθλητή) να βελτιωθεί. Εδώ χρήζουν ειδικότερης αναφοράς οι διαλλειματικές μέθοδοι προπόνησης, αυξανόμενης έντασης, η μέθοδος Fartlek και άλλες.

Υπάρχουν διάφοροι τρόποι μέτρησης του αναερόβιου κατωφλίου όπως το Conconi test και άλλες πιο σύγχρονες μέθοδοι αλλά δεν έχει έννοια η περαιτέρω ανάλυση τους στο συγκεκριμένο κείμενο.

Ας δούμε όμως παράλληλα πως αλλιώς μετράμε τα επίπεδα της φυσικής κατάστασης ενός αθλητή και ποια είναι η συσχέτιση με την συγκέντρωση γαλακτικού οξέος και ειδικότερα με το αναερόβιο κατώφλι [70]. Ένας κλασικός τρόπος είναι με την μέτρηση της $\dot{V}O_2 \max$ [85]. Μιλώντας όμως αναλυτικότερα, ας ορίσουμε τι είναι $\dot{V}O_2 \max$. Αναφέρεται ως η μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου, η μέγιστη κατανάλωση οξυγόνου, η μέγιστη αερόβια ικανότητα. Πρακτικά είναι η μέγιστη ικανότητα του ανθρώπινου οργανισμού να μεταφέρει και να χρησιμοποιεί το οξυγόνο κατά την μέγιστη – οριακή προσπάθεια. Το σημείο που η πρόσληψη O_2 μεταπίπτει σε plateau ορίζεται ως η $\dot{V}O_2 \max$ (σχήμα 15) [81]. Η απ'ευθείας μέτρηση του $\dot{V}O_2 \max$ απαιτεί εξειδικευμένο εξοπλισμό ενώ η έμμεση μέτρηση του μέσω διαφόρων test είναι πιο εύχρηστη και εύκολα εφαρμόσιμη από τους προπονητές. Γενικότερα χρησιμοποιείται σαν παράγοντας ενδεικτικός της καρδιοαναπνευστικής αντοχής και της αερόβιας ικανότητας και όχι τόσο σαν προγνωστικός παράγοντας της πιθανότητας επιτυχημένων επιδόσεων σε αθλήματα αντοχής [79],[84]. Η $\dot{V}O_2 \max$ συχνά εκφράζεται σε σχέση με το σωματικό βάρος γιατί το οξυγόνο και η

ενέργεια που χρειάζεται ο κάθε οργανισμός διαφέρει ανάλογα με το μέγεθος. [80], [82],[84].



Σχήμα 15

Μπορεί επίσης να εκφραστεί ανάλογα με την επιφάνεια του σώματος. Όσον αφορά τα επίπεδα της $VO_2 \max$ στα οποία εμφανίζεται το αναερόβιο κατώφλι, αυτά εξαρτώνται από το επίπεδο φυσικής κατάστασης και πιο συγκεκριμένα:

- Το μέσο άτομο φθάνει στο αναερόβιο κατώφλι περίπου στο 60% της $VO_2 \max$
- Ερασιτέχνες αθλητές φθάνουν το αναερόβιο κατώφλι στο 65-80% της $VO_2 \max$
- Επαγγελματίες αθλητές φθάνουν το αναερόβιο κατώφλι στο 85-95% της $VO_2 \max$.

Συνήθως μετράται σε ml (χιλιοστόμετρα) ανά Kg (κιλό) ανά min (λεπτό). Σε σχέση με τη $VO_2 \max$ οι γενετικοί παράγοντες είναι αυτοί που

παίζουν καθοριστικό ρόλο και η κληρονομικότητα ευθύνεται για διακυμάνσεις που κυμαίνονται σε επίπεδα διαφοράς 25-50% μεταξύ ατόμων [79],[84].

Όμως στην πορεία των ερευνών φάνηκε ότι υπάρχει γονιδιακή αιτία για την καλή ή όχι ανταπόκριση σε ένα προπονητικό πρόγραμμα βελτίωσης της αντοχής [74]. Βέβαια το πόσο μπορεί να βελτιωθεί η VO2 max εξαρτάται και από το επίπεδο του αθλητή (πίνακας 4) όταν επιχειρείται προσπάθεια βελτίωσης. Όσο πιο καλή είναι η φυσική κατάσταση τόσο πιο δύσκολο είναι να δούμε υψηλά ποσοστά βελτίωσης. Άλλωστε οι περισσότεροι υψηλού επιπέδου επαγγελματίες αθλητές πιάνουν το peak της απόδοσης τους σχετικά νωρίς στην καριέρα τους. Φαίνεται βέβαια να υπάρχει και ένα γονιδιακά καθορισμένο όριο, πέρα από το οποίο οποιοδήποτε προπονητικό πρόγραμμα αδυνατεί να αυξήσει την αερόβια ικανότητα του αθλητή [81],[79],[83].

Αυτό όμως που έχει φανεί στην πορεία των ετών μέσα από έρευνες, είναι το πολύ σημαντικό γεγονός ότι ακόμα και όταν η VO2 max έχει φτάσει σε ένα plateau, η αθλητική επίδοση μπορεί να βελτιωθεί περαιτέρω με την προπόνηση. Αυτό οφείλεται στο ότι ο αθλητής καθίσταται περισσότερο ικανός να αγωνίζεται με μεγαλύτερο ποσοστό της VO2 max για μεγαλύτερες περιόδους [80],[82]. Δύο κύριοι λόγοι οδηγούν σε αυτό: η βελτίωση του αναερόβιου κατωφλίου και η οικονομία δυνάμεων και ενέργειας του αθλητή κατά τη διάρκεια του αγώνα [81].

Η άσκηση με υψηλές αντιστάσεις και υψηλές ενεργειακές απαιτήσεις σε μικρό χρονικό διάστημα (η αναερόβια εν γένει άσκηση) έχει μικρή επίδραση στην VO2 max. Εδώ συνήθως οι βελτιώσεις όσον αφορά τη VO2 max είναι μικρές και εμφανίζονται περισσότερο όταν το αρχικό επίπεδο φυσικής κατάστασης είναι χαμηλό [78],[84].

Χρειάζεται μεγάλη προσπάθεια με πολλές και καλά σχεδιασμένες επίπονες προπονητικές συνεδρίες για να φτάσει κάποιος το ανώτερο όριο της VO2 max. Είναι όμως πολύ πιο εύκολο να διατηρηθεί σε αυτά τα επίπεδα (πολλές φορές είναι αρκετό το ένα τρίτο του προπονητικού όγκου για να επιτευχθεί αυτό). Από μελέτες έχει αποδειχθεί ότι σε

δρομείς και κολυμβητές που έχουν μειώσει τον όγκο της προπόνησης 60% για μία περίοδο 15-21 ημερών πριν από έναν αγώνα (μια τεχνική που είναι γνωστή ως tapering) δεν είχαν απώλειες στην VO2 max [84,][87]. Όλα αυτά λοιπόν καθιστούν την VO2 max προγνωστικό παράγοντα της αθλητικής επίδοσης;

Maximal Oxygen Uptake (ml/kg/min) in Various Population Groups			
Non Athletes	Age	Males	Females
	10-19	47-56	38-46
	20-29	43-52	33-42
	30-39	39-48	30-38
	40-49	36-44	26-35
	50-59	34-41	24-33
	60-69	31-38	22-30
	70-79	28-35	20-27
Athletes			
Baseball/softball	18-32	48-56	52-57
Basketball	18-30	40-60	43-60
Bicycling	18-26	62-74	47-57
Canoeing	22-28	55-67	48-52
Football	20-36	42-60	
Gymnastics	18-22	52-58	36-50
Ice Hockey	10-30	50-63	
Jockey	20-40	50-60	
Orienteering	20-60	47-53	46-60
Racquetball	20-35	55-62	50-60
Rowing	20-35	60-72	58-65
Skiing, alpine	18-30	57-68	50-55
Skiing, nordic	20-28	65-94	60-75
Ski jumping	18-24	58-63	
Soccer	22-28	54-64	50-60
Speed skating	18-24	56-73	44-55
Swimming	10-25	50-70	40-60
Track & field, discus	22-30	42-55	
Track & field, running	18-39	60-85	50-75
	40-75	40-60	35-60
Track & field, shot put	22-30	40-46	
Volleyball	18-22		40-56
Weightlifting	20-30	38-52	
Wrestling	20-30	52-65	

Taken from Wilmore and Costill (2005) (3)

Πίνακας 4

Σε επαγγελματίες αθλητές η VO2 max δεν είναι ένας καλός προγνωστικός δείκτης της αθλητικής επίδοσης. Πιο σημαντικό είναι να ξέρουμε την ταχύτητα με την οποία τρέχει, κολυμπάει ή ποδηλατεί ο αθλητής στην VO2 max. Δύο αθλητές μπορεί να έχουν το ίδιο επίπεδο

αερόβιας ικανότητας αλλά ο ένας να το φτάσει σε ταχύτητα 20km/h και ο άλλος 22km/h. Ενώ λοιπόν μια υψηλή VO₂ max δείχνει ότι κάποιος έχει καλές επιδόσεις σε αθλήματα αντοχής, δεν καθορίζει με αρκετή ακρίβεια το επίπεδο της αθλητικής επίδοσης που θα αναμενόταν ανάλογα [86]. Αυτό που έχει μεγαλύτερη προγνωστική αξία είναι το γαλακτικό κατώφλι [76]. Επίσης όμως η ταχύτητα στο γαλακτικό κατώφλι είναι πιο σημαντική από την τιμή του κατωφλίου αυτή καθαυτή.

Το υψόμετρο είναι ένας παράγοντας που μπορεί να επηρεάσει την VO₂ max. Από τα 1600μ και πάνω αρχίζει να μειώνεται και κάθε 1000μ υψίσταται μια περαιτέρω μείωση 8-11%. Αυτό κατά βάση οφείλεται στη μείωση του κλάσματος εξώθησης. Εφόσον λοιπόν αυτό είναι το αποτέλεσμα του συνδυασμού του αριθμού των παλμών και του όγκου παλμού και ο όγκος παλμού μειώνεται λόγω της άμεσης μείωσης του όγκου του πλάσματος και έτσι λιγότερο αίμα «εξωθείται» προς τους μυς [77].

Επίσης το VO₂ max μειώνεται με την πάροδο της ηλικίας. Γενικά είναι αποδεκτό ότι αυτό μειώνεται κατά μέσο όρο 1% το χρόνο ή 10% ανά δεκαετία μετά την ηλικία των 25 ετών. Πολλές φορές βέβαια είναι και το σωματικό βάρος (η αύξηση του) που καθορίζει τη μείωση που έρχεται με την ηλικία. Γενικά θεωρείται ότι η μείωση των μέγιστων καρδιακών παλμών, η μείωση του όγκου παλμού και η μέγιστη αρτιοφλεβική διαφορά οξυγόνου οδηγούν τελικά στην μείωση [75],[85].

Μπορεί όμως η προπόνηση να επηρεάσει αυτή την ηλικιακά εξαρτώμενη μείωση;

Η εντατική προπόνηση σε μικρές ηλικίες δεν φαίνεται να παίζει άμεσα ρόλο [74]. Σε επαγγελματίες αθλητές έχει φανεί ότι η μείωση είναι μεγαλύτερου ποσοστού αν μετά από μια ηλικία σταματήσουν την προπόνηση (έως 15% ανά δεκαετία), ενώ η συνέχιση της προπόνησης σε αρκετά υψηλά επίπεδα μπορεί να φτάσει τα ποσοστά της μείωσης στο 5-6% ανά δεκαετία [84]. Αυτό που επίσης είναι καθοριστικό είναι η αύξηση ή όχι του σημαντικού βάρους. Μετά όμως την ηλικία των 50 η συνέχιση της προπόνησης δεν φαίνεται να μπορεί να διατηρήσει τόσο μειωμένους τους ρυθμούς πτώσης της VO₂ max.

4.6 ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΑΣΚΗΣΗ

Είναι γνωστό ότι διαφορετικοί τύποι στρεσογόνων καταστάσεων μπορούν να επηρεάσουν τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως υπερβολικά υψηλή θερμοκρασία, άγχος και φυσικό στρες [98], [99].

Η έντονη άσκηση μπορεί να συνδεθεί με μια αντίδραση μικρότερης λειτουργικότητας των λεμφοκυττάρων. Ο Nieman αναφέρει ότι η άσκηση μπορεί να ενισχύει ή να ελαττώνει τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος του οργανισμού, ανάλογα με τη συχνότητα, τη διάρκεια και την ένταση της άσκησης [88],[97].

Σε πειραματικά μοντέλα με αρουραίους έχει φανεί ότι ο θύμος αδένας συρρικνώνεται κάτω από ορισμένες συνθήκες που περιλαμβάνουν το τρέξιμο μέχρι εξαντλήσεως, τον φυσικό περιορισμό και την έκθεση σε ψύχος. Ο θύμος ως γνωστόν είναι το όργανο όπου παράγονται τα Τ κύτταρα (λεμφοκύτταρα που εμπλέκονται στην κυτταροεξαρτώμενη ανοσία) και μία μείωση στον ολικό αριθμό των Τ κυττάρων θα οδηγήσει σε συρρίκνωση του θύμου [99], [98]. Από το 1993 κιόλας οι Concorde και Ferry βρήκαν ότι η απόπτωση των κυττάρων του θύμου αποδεικνυόταν από τον κατακερματισμό του DNA που υπήρχε σε αρουραίους που υποβλήθηκαν σε τρέξιμο μέχρι εξαντλήσεως [59]. Μάλιστα η αύξηση της απόπτωσης ήταν ανιχνεύσιμη ακόμη και 24 ώρες μετά την άσκηση. Επίσης η απόπτωση φάνηκε να επηρεάζεται από τους υποδοχείς γλυκοκορτικοειδών αφού η μιφεπριστόνη (RU-486), ένας δυνάμει ανταγωνιστής των υποδοχέων γλυκοκορτικοειδών, δείχνει να μειώνει τον κατακερματισμό του DNA στους αρουραίους που υπέστησαν ήπια φυσική άσκηση σε σχέση με την ομάδα ελέγχου [55], [59].

Δεν έχουν δείξει όμως όλες οι έρευνες ότι η άσκηση προάγει την απόπτωση των κυττάρων του θύμου. Για παράδειγμα οι Hofman και Goetz βρήκαν ότι ποντίκια που υποβλήθηκαν σε 90' υπομέγιστο τρέξιμο και θυσιάστηκαν δύο ώρες μετά, φάνηκε ότι είχαν ένα χαμηλότερο ποσοστό θυμοκυττάρων και περισσότερα ζώντα

θυμοκύτταρα από την ομάδα ελέγχου, ανεξάρτητα από τα ανεβασμένα επίπεδα κορτικοειδών στο πλάσμα [56], [55], [60].

Η αυξημένη κατανάλωση οξυγόνου κατά τη διάρκεια της άσκησης και η απότοκη αυτής αύξηση των επιπέδων των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS), μπορεί να ενισχύσει την ικανότητα και δραστικότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων. Αυτή η αντίδραση δύναται να είναι διαφορετική ανάλογα με το πρωτόκολλο της άσκησης. Επίσης φαίνεται ότι το οξειδωτικό στρες μπορεί να επηρεάσει την απόπτωση των θυμοκυττάρων [103]. Άλλες έρευνες όπως του Azenabor και Hofman-Goetz έδειξαν ότι μετά από εξαντλητική άσκηση αυξάνονται τα υπεροξείδια των λιπιδίων (αποτέλεσμα του οξειδωτικού στρες στην κυτταρική μεμβράνη) και μειώνονται τα προστατευτικά των ελευθέρων ριζών ένζυμα όπως το υπεροξείδιο της δεσμουτάσης και η καταλάση σε θυμικό και σπληνικό ιστό. Αυτό δείχνει ότι οι ελεύθερες ρίζες μπορεί να επάγουν την απόπτωση [62],[61]. Μόνες τους οι έρευνες αυτές όμως δεν τεκμηριώνουν την ύπαρξη αυξημένης απόπτωσης των λεμφοκυττάρων μετά την άσκηση.

Σύμφωνα με πιο πρόσφατες έρευνες φαίνεται ότι η έντονη άσκηση στους ανθρώπους επάγει την λεμφοκυτταρική απόπτωση αμέσως μετά και έως 24 ώρες μετά. Έτσι η άσκηση, ειδικά η έντονη, προκαλεί αύξηση της απόπτωσης των λεμφοκυττάρων σε πολλούς ιστούς. Πρώιμη απόπτωση παρατηρήθηκε στον σπλήνα, πιο καθυστερημένα στους πνεύμονες, τον μυελό των οστών και τους λεμφαδένες [57].

Η έντονη άσκηση ακολουθείται από μια σημαντική μείωση των λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα [95]. Κάποιες μελέτες δείχνει ότι αυτό είναι αποτέλεσμα τόσο της αύξησης της απόπτωσης όσο και της αναδιανομής των λεμφοκυττάρων στον οργανισμό [64],[95]. Η μέτρια ή στο όριο της μεγάλης έντασης (αναερόβιου κατωφλίου) άσκηση δεν φαίνεται να επάγει αυτές τις μεταβολές. Επίσης έχει φανεί ότι μετά την έντονη άσκηση εκτός από τις δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS,) καθοριστικό ρόλο παίζει και ο παράγοντας Fas. Φαίνεται λοιπόν ότι το οξειδωτικό στρες προάγει την απόπτωση των λεμφοκυττάρων [68].

Όμως τα αποτελέσματα ανάλογα με το προπονητικό πρωτόκολλο διαφέρουν με συνέπεια να χρειάζονται πιο ειδικές και στοχευμένες έρευνες [102]. Για παράδειγμα μια απώλεια της φυσιολογικής λειτουργικότητας συγκεκριμένων κυττάρων του ανοσοποιητικού μπορεί να δίνει μια εξήγηση για τον συχνό επιπολασμό λοιμώξεων του αναπνευστικού σε υψηλού επιπέδου αθλητές [104].

5. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5.1 ΥΛΙΚΟ – ΜΕΘΟΔΟΣ

Στην μελέτη που διενεργήσαμε, το δείγμα αποτελείτο από 2 ομάδες κολυμβητών, 15 ατόμων η κάθε μία. Και οι 30 κολυμβητές ήταν άρρενες, ενώ επίσης ήταν όλοι φοιτητές ΤΕΦΑΑ του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Η 1^η ομάδα υφίστατο ως ομάδα ελέγχου και αποτελείτο από αρχάριους αθλητές (που όμως γνωρίζουν τεχνικά το στυλ κολύμβησης «ελεύθερο»), ενώ η 2^η από αθλητές που κάνουν πρωταθλητισμό σε Πανελλήνιο επίπεδο. Όλοι οι συμμετέχοντες ενημερώθηκαν για το σκοπό της έρευνας και τις διαδικασίες μέτρησης, έδωσαν εγγράφως τη συγκατάθεσή τους και ακολούθησε η διεξαγωγή των μετρήσεων.

Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με εφαρμογή του στυλ «ελεύθερο» σε ανοιχτό κολυμβητήριο 50μ., τις πρωινές ώρες μεταξύ 10:00 και 12:00 π.μ., την θερινή περίοδο και με μέγιστη ένταση άσκησης (μέγιστη προσπάθεια - 100%). Έγιναν 8 αποστάσεις των 50μ. με διάλειμμα 1min μεταξύ των διαδρομών. Προηγήθηκε προθέρμανση 800μ. υπό την καθοδήγηση του προπονητή. Μετά την προθέρμανση ξεκουράστηκαν έξω από το νερό για 10'. Η εκκίνηση έγινε μέσα από το νερό και όχι από το βατήρα. Η θερμοκρασία νερού ήταν στους 26±1 βαθμούς Κελσίου. Οι μετρήσεις ολοκληρώθηκαν με τυχαία σειρά σε 6 διαφορετικές συνεδρίες.

Έγινε αιμοληψία φλεβικού αίματος σε όλους τους αθλητές σε καθιστή θέση, πριν την άσκηση, αμέσως μετά την ολοκλήρωση της άσκησης (3 λεπτά από την ολοκλήρωση), 1 ώρα και 3 ώρες μετά το τέλος της άσκησης.

Οι αθλητές, μετά το τέλος της άσκησης και μέχρι την ολοκλήρωση των αιμοληψιών, βρίσκονταν σε ελεγχόμενο περιβάλλον, σε ηρεμία, χωρίς να καταναλώσουν τροφή ή υγρά εκτός από 500 ml νερού μέχρι και το πέρας της 3^{ης} ώρας.

Η μέση ηλικία των αρχαρίων αθλητών ήταν 20,9 (±1,5) έτη, το μέσο ύψος τους 180,5 (±4,6) cm και το μέσο βάρος τους 80,5 (±8,9) kg ενώ

για τους κολυμβητές υψηλού επιπέδου οι αντίστοιχες μέσες τιμές ήταν 21,6 ($\pm 1,2$) έτη, 181,6 ($\pm 6,4$) cm ύψος και 76,2 ($\pm 7,7$) kg βάρος.

Μετρήθηκαν η απόπτωση των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος με κυτταρομετρία ροής, τα επίπεδα γαλακτικού οξέος και pH, pO_2 , pCO_2 , HCO_3^- , sO_2 , Na^+ , K^+ και έγινε γενική αίματος σε κάθε φάση αιμοληψίας.

Μετρήθηκαν επίσης, μετά την ολοκλήρωση κάθε 50 μέτρων, ο χρόνος, οι χεριές και η καρδιακή συχνότητα κάθε αθλητή.

Η επιλογή μόνο ανδρών στις ομάδες της έρευνας και το μικρό ηλικιακό εύρος, όπως επίσης και το γεγονός ότι ήταν όλοι φοιτητές ΤΕΦΑΑ (ειδικά για την ομάδα των αρχαρίων) εξασφάλιζε μεγαλύτερη ομοιογένεια στο δείγμα. Η επιλογή της απόστασης (8X50μ.) και του διαλειμματικού χρόνου (1 λεπτό), έγινε με κριτήριο την επίτευξη των μέγιστων επιπέδων γαλακτικού οξέος.

5. 2. ΤΕΧΝΙΚΗ

Τα λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος απομονώθηκαν με τη μέθοδο της φυγοκέντρωσης χρησιμοποιώντας ως μέσο βαθμίδωσης το αντιδραστήριο Histopaque 1077.

Εδώ έχει έννοια να αναφέρουμε κάποια στοιχεία για τη φυγοκέντρωση που είναι η κύρια μέθοδος επεξεργασίας του αίματος. Επιτελείται εύκολα και δίνει αναπαραγώγιμα αποτελέσματα επιτυγχάνοντας το διαχωρισμό του ολικού αίματος στα επιμέρους συστατικά του. Έτσι, έχει εύκολη εφαρμογή σε διάφορα επιστημονικά και κλινικά πεδία. Σε συνδυασμό με την φυγοκέντρωση χρησιμοποιούνται διάφορα μέσα βαθμίδωσης ώστε να γίνει διαχωρισμός και απομόνωση των διαφόρων τύπων κυττάρων του αίματος. Κάνοντας λοιπόν χρήση μέσου βαθμίδωσης με υψηλή πυκνότητα και χαμηλή φυγοκεντρική δύναμη επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός των ερυθρών αιμοσφαιρίων από τους

διάφορους τύπους λευκών αιμοσφαιρίων (κοκκιοκύτταρα, λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα).

Όσον αφορά στην επιτέλεση της φυγοκέντρωσης διάφοροι ρότορες και βοηθητικές συσκευές έχουν σχεδιαστεί προκειμένου να επιτυγχάνεται η κλασματοποίηση των κυττάρων του αίματος. Στη συγκεκριμένη έρευνα χρησιμοποιήθηκε φυγόκεντρος της σειράς Avanti J-E της Beckman Coulter Inc (USA). Το αντιδραστήριο που χρησιμοποιήθηκε ως μέσο βαθμίδωσης ήταν το Histopaque 1077 της εταιρείας Sigma-Aldrich που είναι ένα διάλυμα πολυσακχαρόζης και διατριζοϊκού νατρίου σε πυκνότητα $1077 \pm 0,001 \text{ gr/ml}$ [37]. Με το μέσο αυτό πραγματοποιείται η γρήγορη απομόνωση λεμφοκυττάρων από μικρούς όγκους αίματος. Κάνοντας τη φυγοκέντρωση, τα ερυθροκύτταρα και κοκκιοκύτταρα δεσμεύονται από την πολυσακχαρόζη και καθιζάνουν στον πυθμένα του σωλήνα. Τα λεμφοκύτταρα, μαζί με άλλα μονοπύρρηνα κύτταρα, παραμένουν στη διαχωριστική επιφάνεια μεταξύ πλάσματος – αντιδραστηρίου, ενώ τα αιμοπετάλια απομακρύνονται με φυγοκέντρωση μικρής ταχύτητας κατά τη διαδικασία των σταδίων έκπλυσης.

Έτσι, η διαδικασία απομόνωσης των λεμφοκυττάρων που γίνεται με το συνδυασμό φυγοκέντρωσης – αντιδραστηρίου (Histopaque 1077) περιλαμβάνει τα ακόλουθα στάδια:

- Σε 3ml ολικού αίματος προστίθενται 5ml ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικού άλατος PBS χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο, ενώ ακολουθεί ανάμιξη του μείγματος.
- Σε έναν κωνικό σωλήνα φυγοκέντρωσης των 15 ml προστίθενται 3ml Histopaque 1077.
- Προσεκτικά επιστρώνεται το διάλυμα των 8ml αίματος-PBS επί του Histopaque 1077 χωρίς ανάμειξη. Ακολουθεί φυγοκέντρωση με 400g-Force για ακριβώς 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Χαμηλότεροι ρυθμοί φυγοκέντρωσης μπορεί να οδηγήσουν σε συσσώρευση των κυττάρων και επισφαλή απομόνωση.
- Μετά τη φυγοκέντρωση, χρησιμοποιώντας μία πιπέτα Pasteur, αναρροφάται το υπερκείμενο στρώμα μήκους 0,5cm από την

αδιαφανή διαχωριστική επιφάνεια η οποία περιέχει τα μονοπύρηννα κύτταρα. Το περιεχόμενο απομακρύνεται.

- Με μία πιπέτα Pasteur, μεταφέρεται το περιεχόμενο της αδιαφανούς διαχωριστικής επιφάνειας σε έναν καθαρό κωνικό σωλήνα φυγοκέντρισης.
- Προστίθενται στο σωλήνα 10ml PBS και πραγματοποιείται ανάμειξη.
- Πραγματοποιείται στη συνέχεια φυγοκέντρηση με 250g-Force για ακριβώς 10 λεπτά.
- Αναρροφάται το υπερκείμενο υγρό από το ίζημα και απομακρύνεται. Το ίζημα αποτελείται από λεμφοκύτταρα.
- Το λεμφοκυτταρικό ίζημα αναμειγνύεται με 5ml PBS.
- Φυγοκέντρηση με 250g-Force για ακριβώς 10 λεπτά.
- Επαναλαμβάνονται τα 3 προηγούμενα στάδια, απομακρύνεται το υπερκείμενο στρώμα και τέλος αναμειγνύεται το λεμφοκυτταρικό στρώμα με 0,5ml PBS.

Έτσι, απομονώνονται τα λεμφοκύτταρα από τους άλλους κυτταρικούς πληθυσμούς του ολικού αίματος. Η διαδικασία του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου, δηλαδή της απόπτωσης, συνοδεύεται όπως έχει αναφερθεί, από μεταβολές στην αρχιτεκτονική της μεμβράνης των κυττάρων. Βασικό στοιχείο της μεταβολής αυτής είναι η ανακατανομή των φωσφολιπιδίων ανάμεσα στην εσωτερική και εξωτερική στιβάδα της κυτταροπλασματικής μεμβράνης με τη φωσφατιδυλοσερίνη να μετατοπίζεται προς την εξωτερική στιβάδα της μεμβράνης [32],[33]. Αυτή η μετατόπιση της φωσφατιδυλοσερίνης προς την εξωτερική στιβάδα της κυτταροπλασματικής μεμβράνης, χωρίς διαταραχή της ακεραιότητάς της κατά την πρώιμη φάση της απόπτωσης, ανιχνεύεται από την πρωτεΐνη αννεξίνη V (TACS Annexin V Apoptosis Detection Kit: Enzyme Diagnostics, USA) [35].

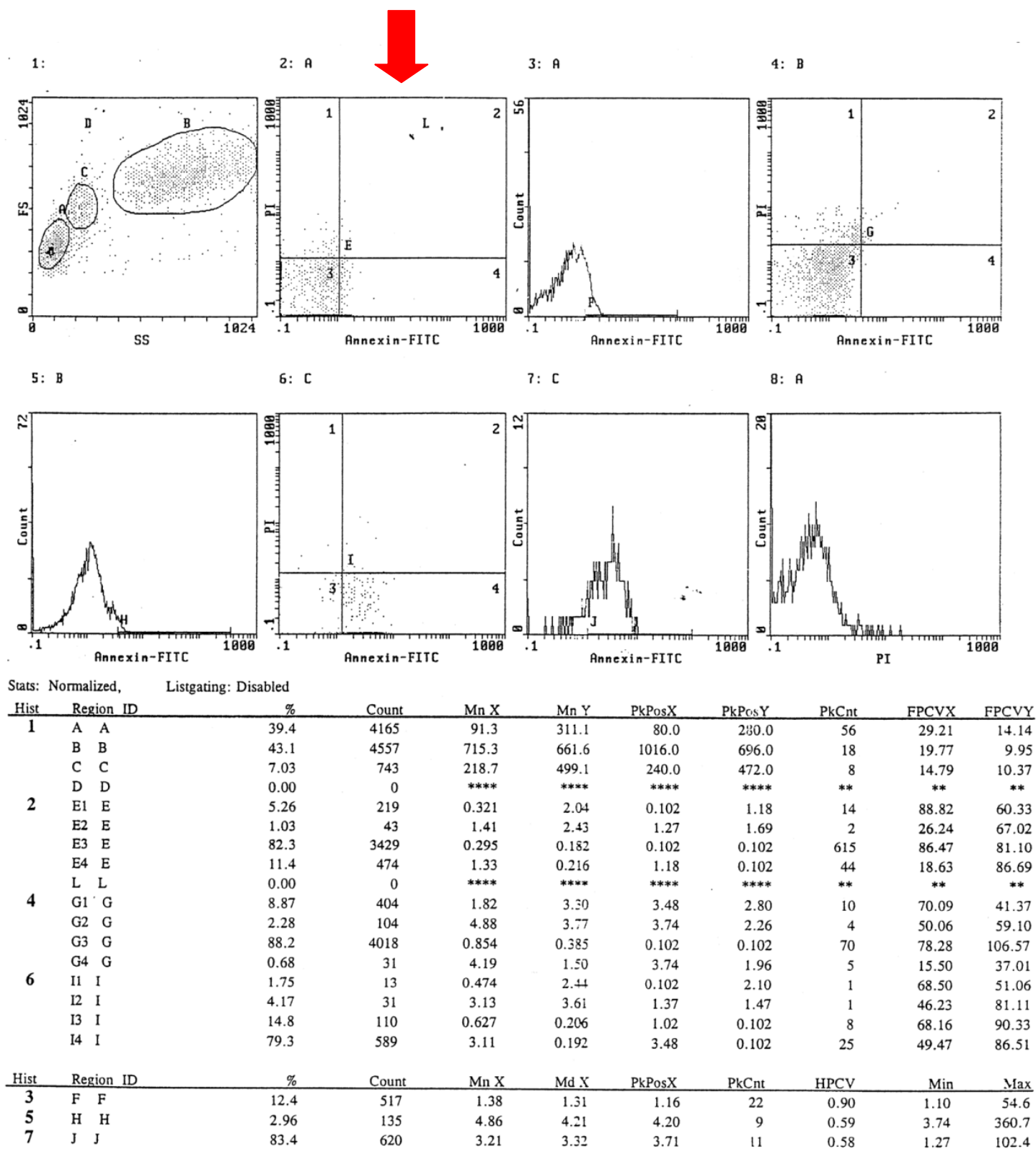
Η αννεξίνη V χρησιμοποιείται για την αναγνώριση των αποπτωτικών κυττάρων της πρώιμης φάσης λόγω της ικανότητας που έχει να συνδέεται με τη φωσφατιδυλοσερίνη [36].

Όταν πλέον διαταράσσεται η ακεραιότητα της κυτταρικής μεμβράνης και κατακερματίζεται το πυρηνικό DNA, εισερχόμαστε δηλαδή στην

όψιμη φάση της απόπτωσης, χρησιμοποιούμε για ανίχνευση τη χρωστική ιωδιούχο προπίδιο PI. Επομένως με το συνδυασμό σήμανσης των λεμφοκυττάρων με αννεξίνη V και PI είναι δυνατός ο διαχωρισμός των ζώντων κυττάρων (Annexin V-PI-), από τα πρώιμα αποπτωτικά (Annexin V+PI-), τα όψιμα αποπτωτικά (Annexin V+PI+) και τα νεκρωτικά (Annexin V-PI+). Η μέτρηση και ο χαρακτηρισμός των αποπτωτικών κυττάρων επιτελείται με τον κυτταρομετρητή ροής [42] που στην προκειμένη έρευνα ήταν ο Coulter Epics XL-MCL της Beckman Coulter (USA) [38].

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

- Έκπλυση 2×10^6 λεμφοκυττάρων με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφωρικού άλατος PBS.
- Προσθήκη Annexin V συγκέντρωσης 1mg/ml.
- Επώση 10 λεπτά στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου.
- Προσθήκη στο κυτταρικό εναιώρημα 0,1ml διαλύματος ιωδιούχου προπιδίου, ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι 1mg/ml.
- Ανάλυση των κυττάρων με κυτταρομετρία ροής. Η διπαραμετρική ανάλυση Annexin V (άξονας X) και PI (άξονας Y) αποδίδεται με κυττόγραμμα όπου τα ζώντα κύτταρα (V-PI-) εντοπίζονται στο κάτω αριστερό τεταρτημόριο, τα πρώιμα αποπτωτικά κύτταρα (V+PI-) στο κάτω δεξιό τεταρτημόριο, τα όψιμα αποπτωτικά στο άνω δεξιό τεταρτημόριο και τα νεκρωτικά στο άνω αριστερό τεταρτημόριο.



Σχήμα 16 – Κυτταρομέτρηση Ποής

Η μέτρηση του γαλακτικού οξέος, όπως και των pH, pO₂, pCO₂, HCO₃, sO₂, Na⁺, K⁺ πραγματοποιήθηκε στον αναλυτή αερίων αίματος Radiometer ABL 555 Blood Gas Analyzer.

RADIOMETER ABL555			
ABL555 PATIENT REPORT			Sample # 3019
IDENTIFICATIONS			
Operator ID		Patient ID	
Department		Sex	Not specified
Sample type	Not specified	Age	0 years
Sampling time		Weight	0 kg
Patient temp.	37.0 °C	Height	0 cm
p50(st) _d	26.84 mmHg		
tHb _d	15.0 g/dL		
FIO _{2d}	21.0 %		
		Report layout	# 1
BLOOD GAS VALUES		ELECTROLYTE VALUES	
pH	7.105	K ⁺	3.1 mmol/L
pCO ₂	47.9 mmHg	? Na ⁺	114 mmol/L
pO ₂	48.3 mmHg		
TEMPERATURE CORRECTED VALUES		METABOLITE VALUES	
pH (37.0°)	7.105	Lac	17.6 mmol/L
pCO ₂ (37.0°)	47.9 mmHg		
pO ₂ (37.0°)	48.3 mmHg		
		HEMATOCRIT VALUES	
		? Hct	56.7 %
OXYGEN STATUS			
sO _{2e}	69.7 %		
tO _{2e}	 Vol %		
CALCULATED VALUES			
HCO _{3e}	14.4 mmol/L		
ABE _e	-15.4 mmol/L		
SBC _e	12.7 mmol/L		
tCO ₂ (B) _e	 Vol %		

Εικόνα 6

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Οι διαφορές μεταξύ των ομάδων στα βασικά χαρακτηριστικά τους, όπως ηλικία, ύψος, βάρος και Δείκτης Μάζας Σώματος, αλλά και των υπολοίπων μεταβλητών για κάθε χρονική στιγμή ελέγχθηκαν με t-test για δύο ανεξάρτητα δείγματα. Η κανονικότητα των μεταβλητών ελέγχθηκε με τον έλεγχο των Shapiro-Wilks και στις περιπτώσεις που δεν πληρούνταν, οι συγκρίσεις έγιναν με μη παραμετρικό έλεγχο (Wilcoxon's Sign test).

Για να ελεγχθούν οι διαφορές μεταξύ των ομάδων στο χρόνο, στις υπό εξέταση παραμέτρους (π.χ. αριθμός ή ποσοστό λεμφοκυττάρων κ.ο.κ.), χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση διακύμανσης επαναλαμβανόμενων μετρήσεων (repeated measures ANOVA).

Οι αλληλεπιδράσεις των μεταβλητών του χρόνου και των ομάδων εξετάστηκαν με τη μέθοδο των μικτών γενικευμένων γραμμικών μοντέλων. Όπου δεν θεωρήθηκαν οι αλληλεπιδράσεις σημαντικές, έγιναν και έλεγχοι με τη μέθοδο της γραμμικής παλινδρόμησης.

Οι συσχετίσεις μεταξύ μεταβλητών ελέγχθηκαν με το συντελεστή συσχέτισης του Pearson.

Το σύνολο των ελέγχων της συγκεκριμένης μελέτης έγινε σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας 5%. Οι αριθμοί αναφέρονται στη μέση τιμή και την τυπική απόκλιση (mean±SD).

Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τα προγράμματα STATA (11^η έκδοση) & SPSS (21^η έκδοση).

5.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων ως προς την ηλικία, το ύψος ή το βάρος. Υπήρξε μια στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς τον Δείκτη Μάζας Σώματος (Δ.Μ.Σ.), με τους αρχάριους να παρουσιάζουν μεγαλύτερο Δ.Μ.Σ. ($24,6 \pm 1,9 \text{ kg/m}^2$) έναντι των κολυμβητών ($23,0 \pm 1,5 \text{ kg/m}^2$), $p=0,027$.

	Ομάδες						<i>p</i> -value
	Αρχάριοι			Κολυμβητές			
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	
Ηλικία (έτη)	15	20,9	1,5	15	21,6	1,2	0,19
Ύψος (cm)	15	180,5	4,6	15	181,6	6,4	0,6
Βάρος (kg)	15	80,5	8,9	15	76,2	7,7	0,2
Δ,Μ,Σ, (kg/m ²)	15	24,6	1,9	15	23,0	1,5	0,027

Πίνακας 5

Γαλακτικό οξύ

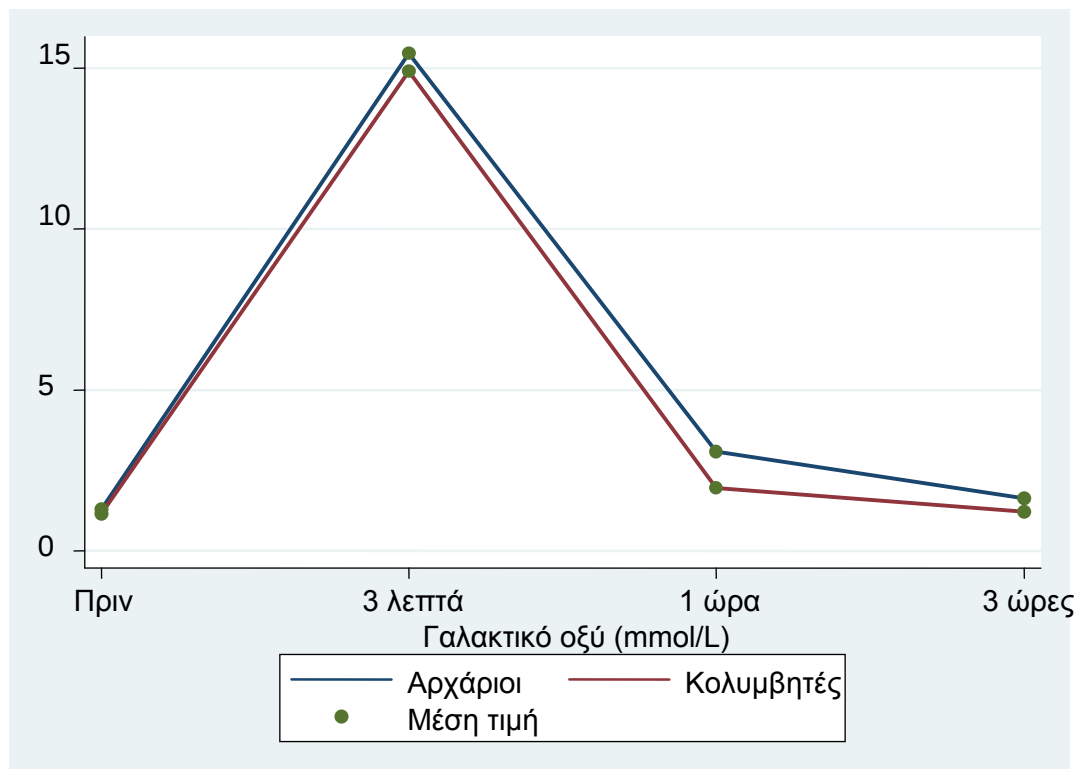
Υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη συγκέντρωση γαλακτικού οξέος μεταξύ των ομάδων, με τους αρχάριους να παρουσιάζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις έναντι των κολυμβητών τόσο στην 1^η ($3,09 \pm 1,74$ έναντι $1,96 \pm 0,49$ mmol/L αντίστοιχα, $p=0,030$) όσο και την 3^η ώρα μετά τη δοκιμασία ($1,64 \pm 0,59$ έναντι $1,22 \pm 0,36$ mmol/L αντίστοιχα, $p=0,027$).

Γαλακτικό οξύ (mmol/L)

	Αρχάριοι			Κολυμβητές			<i>p</i> -value
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	
Γαλακτικό οξύ (πριν)	15	1,30	0,44	15	1,15	0,36	0,33
Γαλακτικό οξύ (3 λεπτά)	15	15,44	3,71	15	14,90	3,86	0,7
Γαλακτικό οξύ (1 ώρα)	15	3,09	1,74	15	1,96	0,48	0,03
Γαλακτικό οξύ (3 ώρες)	15	1,64	0,59	14	1,22	0,35	0,027

Πίνακας 6

Γαλακτικό οξύ



Γράφημα 1

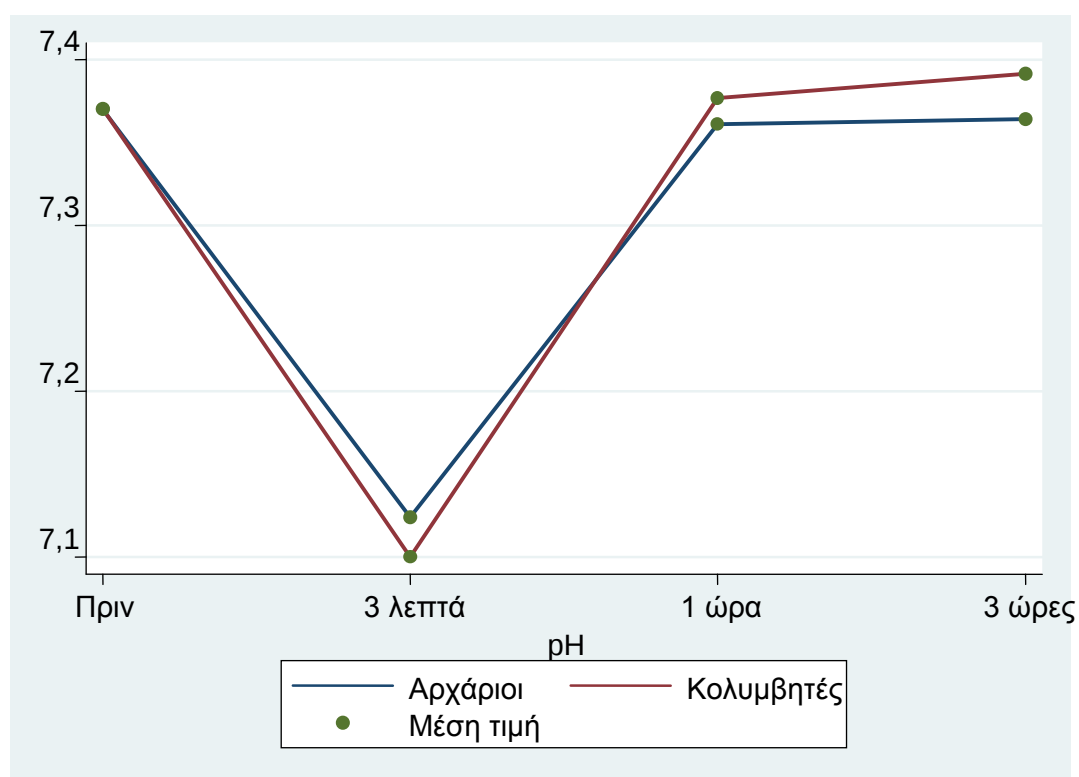
pH

Υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά στο pH μεταξύ των ομάδων, με τους αρχάριους να παρουσιάζουν χαμηλότερο pH έναντι των κολυμβητών στην 3^η ώρα μετά τη δοκιμασία ($7,36 \pm 0,03$ έναντι $7,39 \pm 0,02$ αντίστοιχα, $p=0,004$).

pH

Πίνακας 7

	Αρχάριοι			Κολυμβητές			
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	p-value
pH (πριν)	15	7,37	0,02	15	7,37	0,02	0,97
pH (3 λεπτά)	15	7,12	0,08	15	7,10	0,09	0,46
pH (1 ώρα)	15	7,36	0,02	15	7,37	0,02	0,1
pH (3 ώρες)	15	7,36	0,03	14	7,39	0,01	0,004



Γράφημα 2

Ολικά λεμφοκύτταρα (%)

Δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των 2 ομάδων ως προς το ποσοστό των λεμφοκυττάρων σε καμία χρονική στιγμή (repeated measures ANOVA, $p=0,480$).

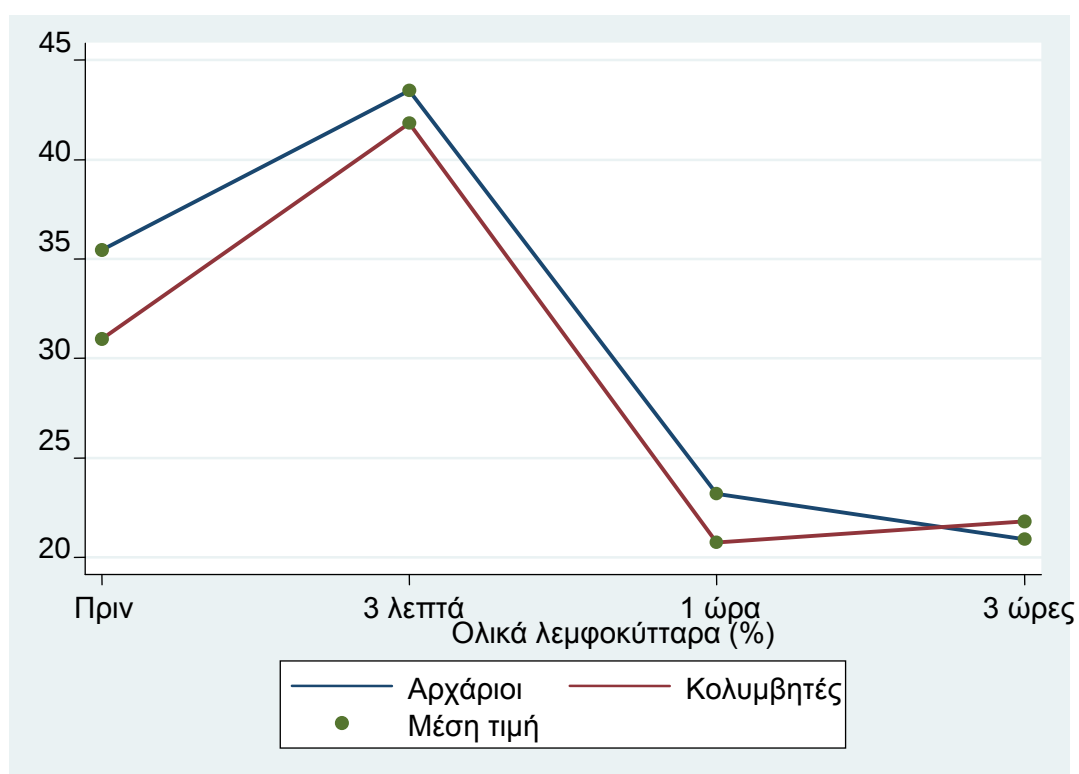
Και στις 2 ομάδες, παρατηρήθηκε μια στατιστικά σημαντική μείωση του ποσοστού των λεμφοκυττάρων στην 1^η ώρα ($23,2\pm 7,7\%$ για τους αρχάριους & $20,8\pm 8,1\%$ για τους κολυμβητές) και την 3^η ώρα μετά τη δοκιμασία ($20,9\pm 6,5\%$ & $21,8\pm 7,2\%$, αντίστοιχα) έναντι της βασικής μέτρησης ($35,5\pm 5,6\%$ & $31,0\pm 10,1\%$, αντίστοιχα), $p<0,001$ και για τις 2 ομάδες στις 2 παραπάνω χρονικές στιγμές (repeated measures ANOVA).

Γράφημα Ολικά λεμφοκύτταρα (ΟΛ) (%)

	Αρχάριοι			Κολυμβητές			<i>p</i> -value
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	
ΟΛ (%) (πριν)	15	35,46	5,58	15	30,98	10,07	0,14
ΟΛ (%) (3 λεπτά)	15	43,45	7,34	15	41,82	16,99	0,74
ΟΛ (%) (1 ώρα)	15	23,20	7,72	15	20,75	8,12	0,41
ΟΛ (%) (3 ώρες)	15	20,92	6,45	14	21,81	7,16	0,73

Πίνακας 8

Ολικά λεμφοκύτταρα (%)



Γράφημα 3

Ολικά λεμφοκυττάρια (n/μL)

Δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των 2 ομάδων ως προς τον αριθμό των λεμφοκυττάρων σε καμία χρονική στιγμή (repeated measures ANOVA, $p=0,450$).

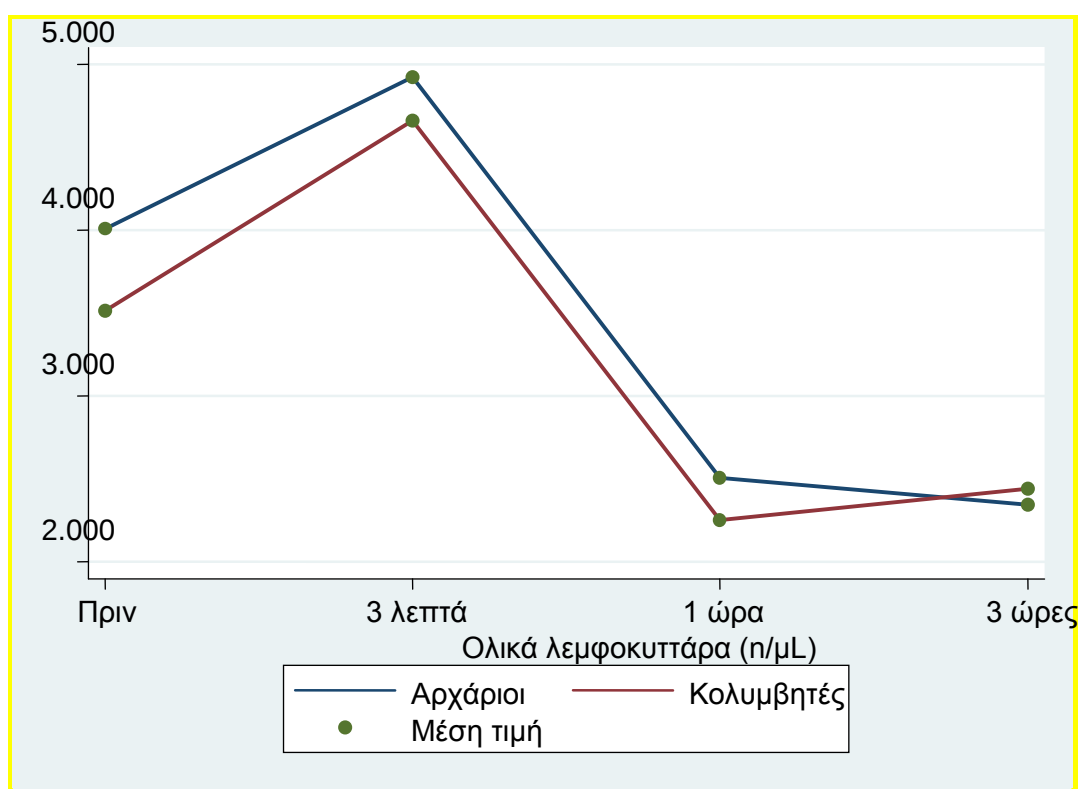
Και στις 2 ομάδες, παρατηρήθηκε μια στατιστικά σημαντική μείωση του αριθμού των λεμφοκυττάρων στην 1^η ($2.506 \pm 789/\mu\text{L}$ για τους αρχάριους & $2.253 \pm 865/\mu\text{L}$ για τους κολυμβητές) και την 3^η ώρα μετά τη δοκιμασία ($2.346 \pm 734/\mu\text{L}$ & $2.441 \pm 782/\mu\text{L}$, αντίστοιχα) έναντι της βασικής μέτρησης ($4.010 \pm 619/\mu\text{L}$ & $3.514 \pm 1.219/\mu\text{L}$, αντίστοιχα), $p < 0,001$ και για τις 2 ομάδες στις 2 παραπάνω χρονικές στιγμές (repeated measures ANOVA).

Ολικά λεμφοκυττάρια (ΟΛ) (n/μL)

	Αρχάριοι			Κολυμβητές			<i>p</i> -value
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	
ΟΛ (πριν)	15	4.010,0	619,20	15	3.514,6	1.219,93	0,17
ΟΛ (3 λεπτά)	15	4.922,5	933,00	15	4.663,0	2.008,82	0,65
ΟΛ (1 ώρα)	15	2.506,2	789,01	15	2.253,6	864,69	0,41
ΟΛ (3 ώρες)	15	2.346,0	734,12	14	2.441,2	782,08	0,74

Πίνακας 9

Ολικά λεμφοκυττάρα (n/μL)



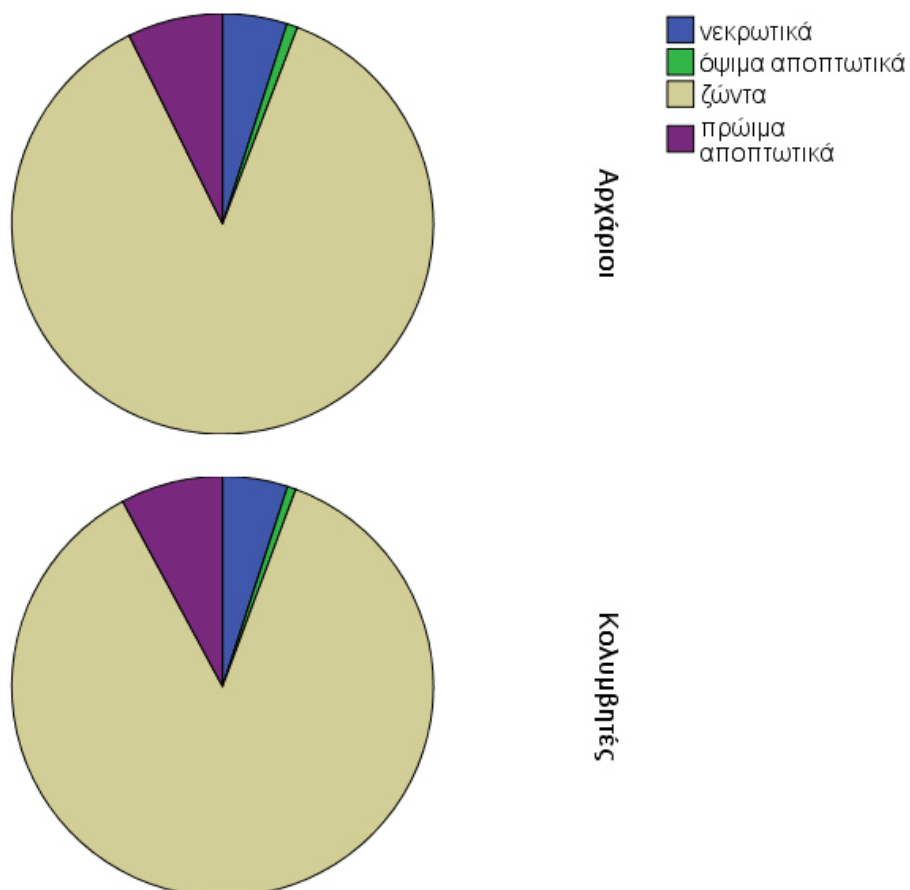
Γράφημα 4

Πριν την άσκηση

Πίνακας 10

GROUP	Ζώντα	Νεκρωτικά	Όψιμα αποπτωτικά	Πρώιμα αποπτωτικά
Αρχάριοι	86,91 %	4,94 %	0,84 %	7,31 %
Κολυμβητές	86,49 %	4,99 %	0,66 %	7,86 %
p-value	0,85	0,97	0,34	0,69

Ποσοστά λεμφοκυττάρων πριν την άσκηση



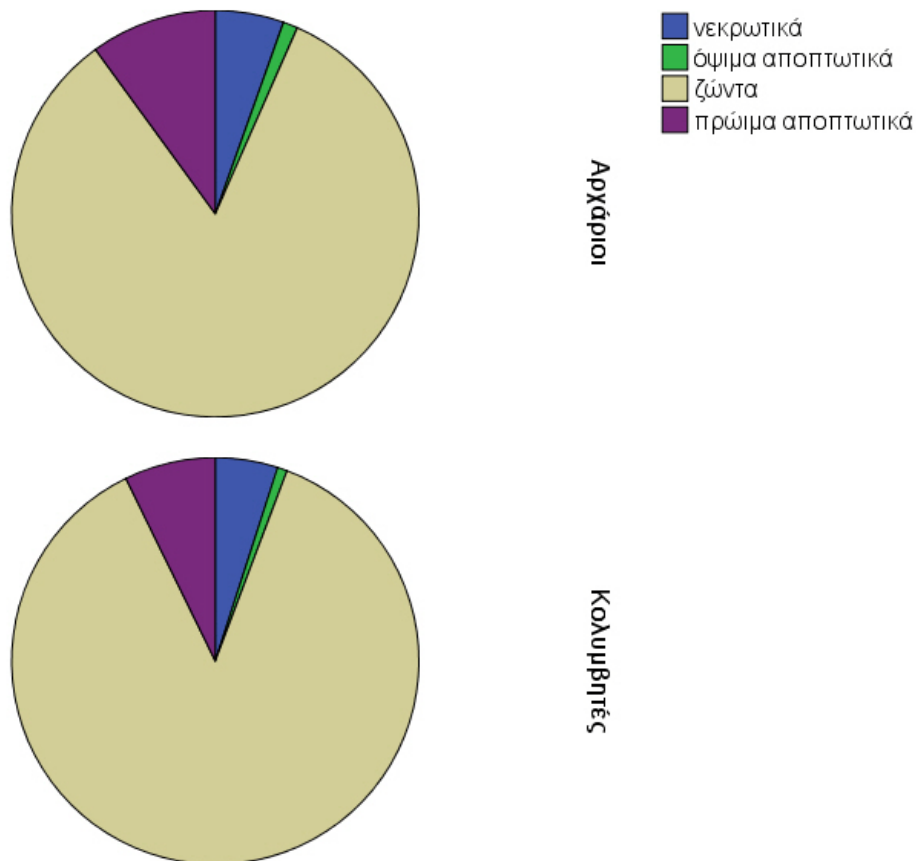
Γράφημα 5

3 ώρες μετά την άσκηση

Πίνακας 11

GROUP	Ζώντα	Νεκρωτικά	Ώσιμα αποπτωτικά	Πρώιμα αποπτωτικά
Αρχάριοι	83,39 %	5,44 %	1,16 %	10,02 %
Κολυμβητές	87,03 %	4,95 %	0,78 %	7,24 %
p-value	0,027	0,62	0,17	0,012

Ποσοστά λεμφοκυττάρων 3 ώρες μετά την άσκηση



Γράφημα 6

Νεκρωτικά λεμφοκύτταρα

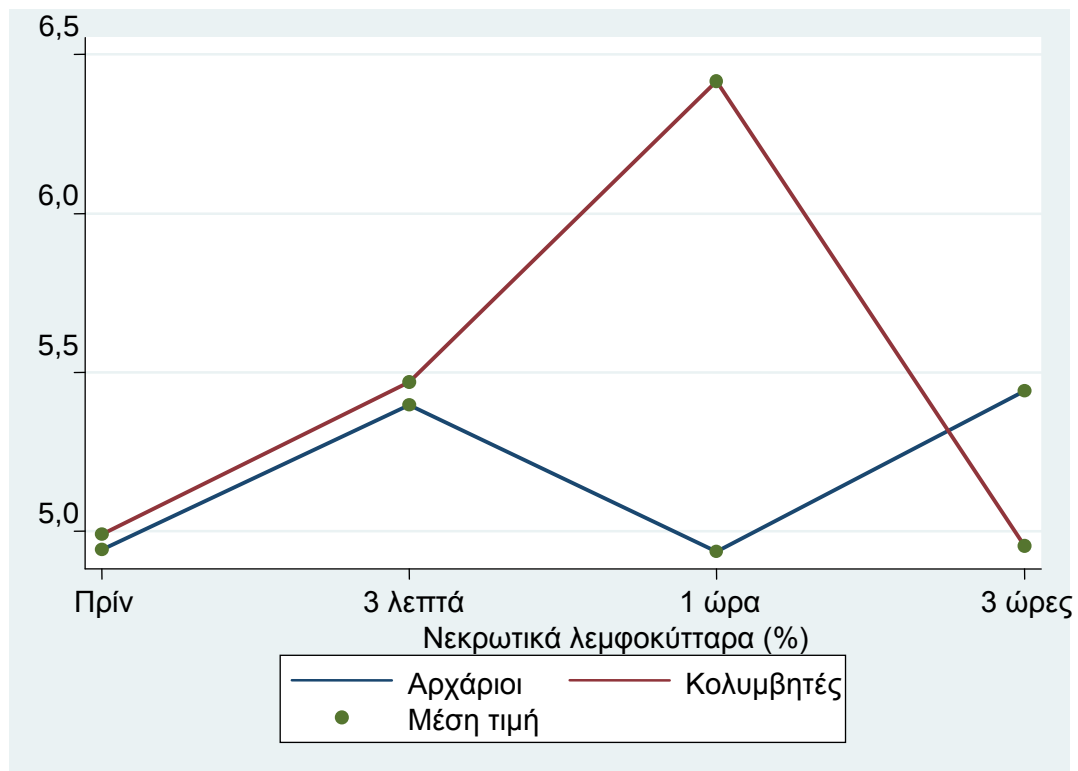
Δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των 2 ομάδων ούτε ως προς τον αριθμό (repeated measures ANOVA, $p=0,840$) ούτε ως προς το ποσοστό (repeated measures ANOVA, $p=0,760$) των νεκρωτικών λεμφοκυττάρων σε καμία χρονική στιγμή.

Νεκρωτικά λεμφοκύτταρα (%)

	Αρχάριοι			Κολυμβητές			<i>p</i> -value
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	
Νεκρωτικά (%) (πριν)	15	4,94	3,71	15	4,98	3,88	0,97
Νεκρωτικά (%) (3 λεπτά)	15	5,39	2,54	15	5,46	3,56	0,95
Νεκρωτικά (%) (1 ώρα)	15	4,93	2,94	15	6,41	3,96	0,26
Νεκρωτικά (%) (3 ώρες)	15	5,44	2,51	14	4,95	2,68	0,62

Πίνακας 12

Νεκρωτικά λεμφοκύτταρα (%)

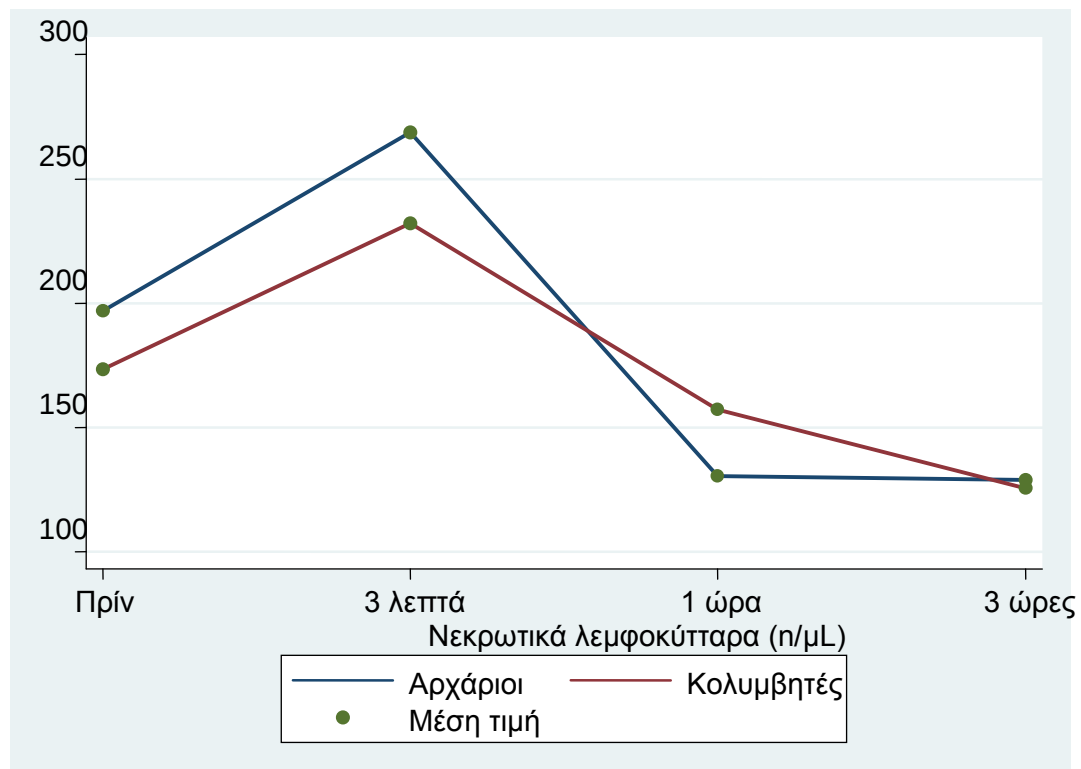


Γράφημα 7

Νεκρωτικά λεμφοκύτταρα (n/μL)

	Αρχάριοι			Κολυμβητές			p-value
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	
Νεκρωτικά (πριν)	15	196,9	157,42	15	173,4	155,45	0,68
Νεκρωτικά (3 λεπτά)	15	268,6	146,64	15	232,0	131,42	0,48
Νεκρωτικά (1 ώρα)	15	130,3	98,19	15	157,1	125,22	0,52
Νεκρωτικά (3 ώρες)	15	128,9	78,46	14	125,5	81,87	0,91

Πίνακας 13



Γράφημα 8

Ζώντα λεμφοκύτταρα

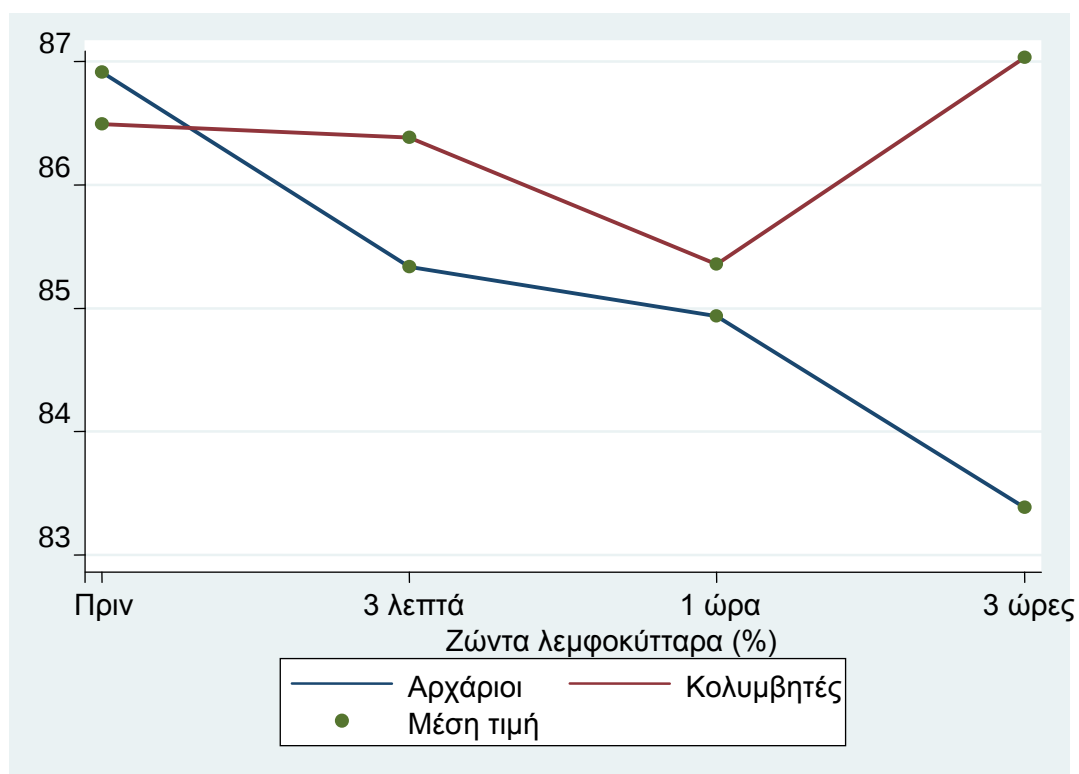
Υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 2 ομάδων ως προς το ποσοστό των ζώντων λεμφοκυττάρων στις 3 ώρες μετά τη δοκιμασία, με τους αρχάριους να εμφανίζουν μικρότερο ποσοστό ζώντων λεμφοκυττάρων έναντι των κολυμβητών ($83,38 \pm 4,32\%$ έναντι $87,02 \pm 4,02\%$, $p=0,027$).

Ζώντα λεμφοκύτταρα (%)

	Αρχάριοι			Κολυμβητές			<i>p</i> -value
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	
Ζώντα (%) (πριν)	15	86,91	6,71	15	86,49	5,17	0,85
Ζώντα (%) (3 λεπτά)	15	85,33	3,72	15	86,38	7,44	0,63
Ζώντα (%) (1 ώρα)	15	84,93	5,63	15	85,35	6,60	0,85
Ζώντα (%) (3 ώρες)	15	83,38	4,32	14	87,02	4,02	0,027

Πίνακας 14

Ζώντα λεμφοκύτταρα (%)



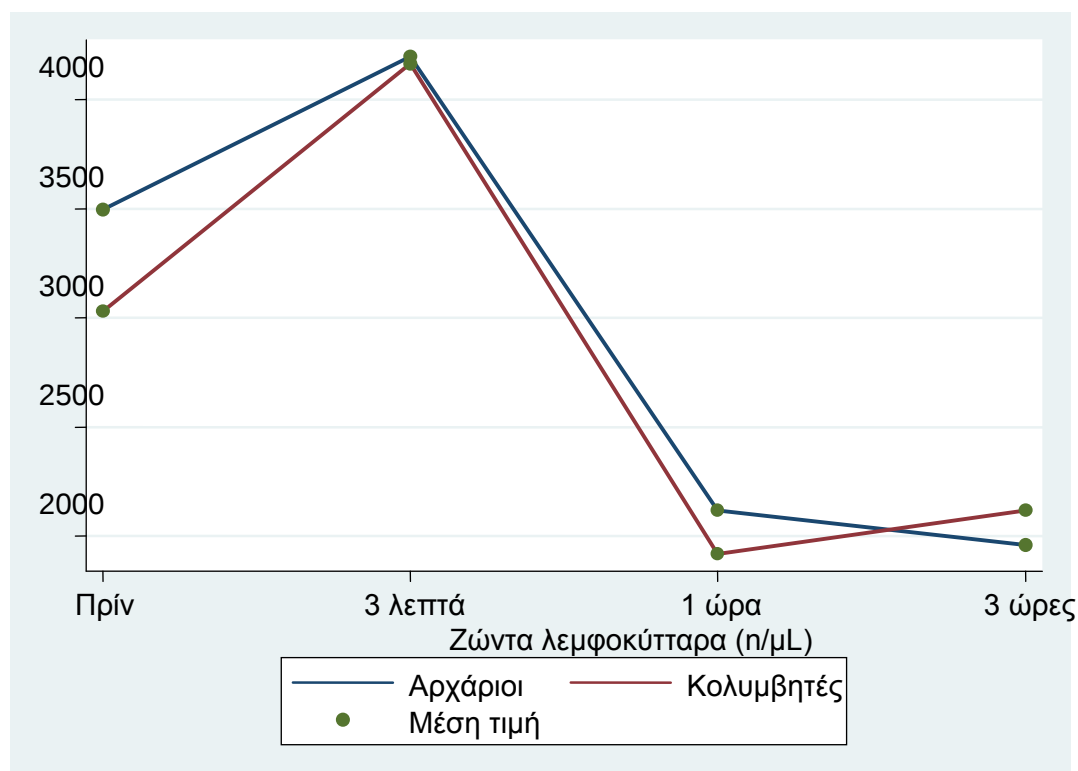
Γράφημα 9

Δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των 2 ομάδων ως προς τον αριθμό των ζώντων λεμφοκυττάρων σε καμία χρονική στιγμή (repeated measures ANOVA, $p=0,610$).

Ζώντα λεμφοκύτταρα (n/μL)

	Αρχάριοι			Κολυμβητές			<i>p</i> -value
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	
Ζώντα (πριν)	15	3.497,4	668,22	15	3.030,4	1.088,44	0,17
Ζώντα (3 λεπτά)	15	4.196,6	792,56	15	4.163,9	1845,7	0,95
Ζώντα (1 ώρα)	15	2.117,0	653,3	15	1.916,8	739,45	0,44
Ζώντα (3 ώρες)	15	1.960,1	622,0	14	2.118,6	689,02	0,52

Πίνακας 15



Γράφημα 10

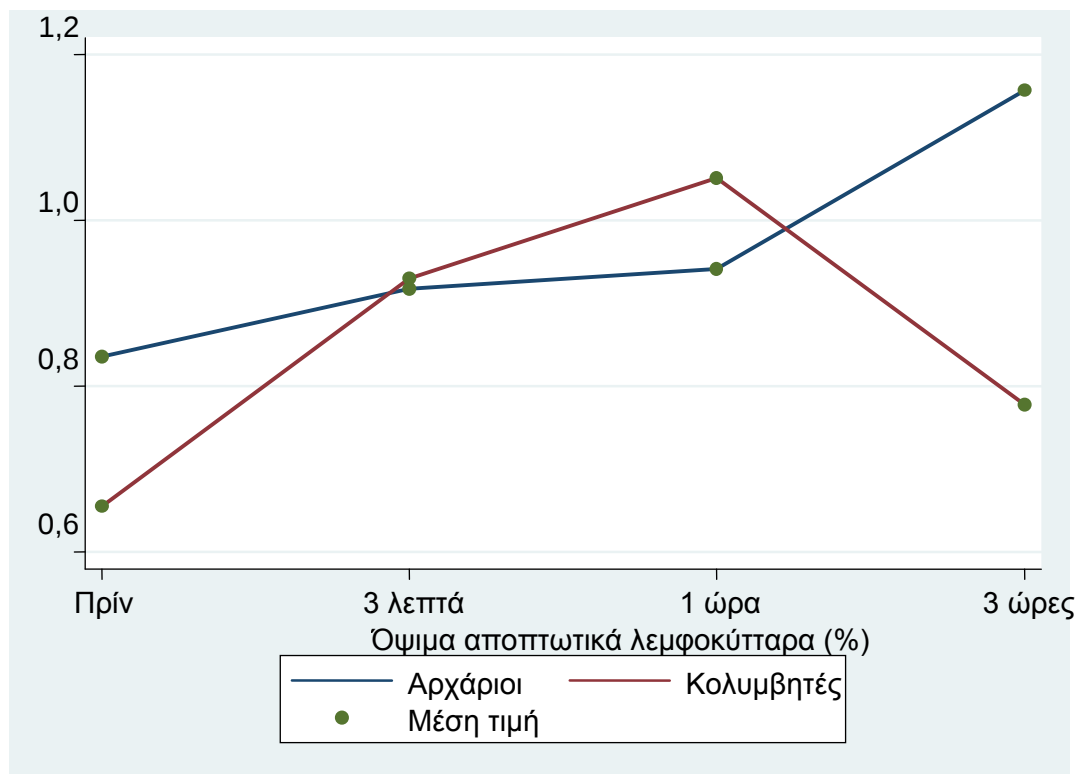
Όψιμα αποπτωτικά λεμφοκύτταρα (%)

Δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των 2 ομάδων ως προς το ποσοστό των όψιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων σε καμία χρονική στιγμή (repeated measures ANOVA, $p=0,55$).

	Αρχάριοι			Κολυμβητές			<i>p</i> -value
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	
Όψιμα αποπτωτικά (%) (πριν)	15	0,83	0,52	15	0,65	0,49	0,34
Όψιμα αποπτωτικά (%) (3 λεπτά)	15	0,91	0,44	15	0,93	1,35	0,97
Όψιμα αποπτωτικά (%) (1 ώρα)	15	0,94	0,56	15	1,05	0,68	0,64
Όψιμα αποπτωτικά (%) (3 ώρες)	15	1,15	0,86	14	0,77	0,54	0,17

Πίνακας 16

Όψιμα αποπτωτικά λεμφοκύτταρα (%)



Γράφημα 11

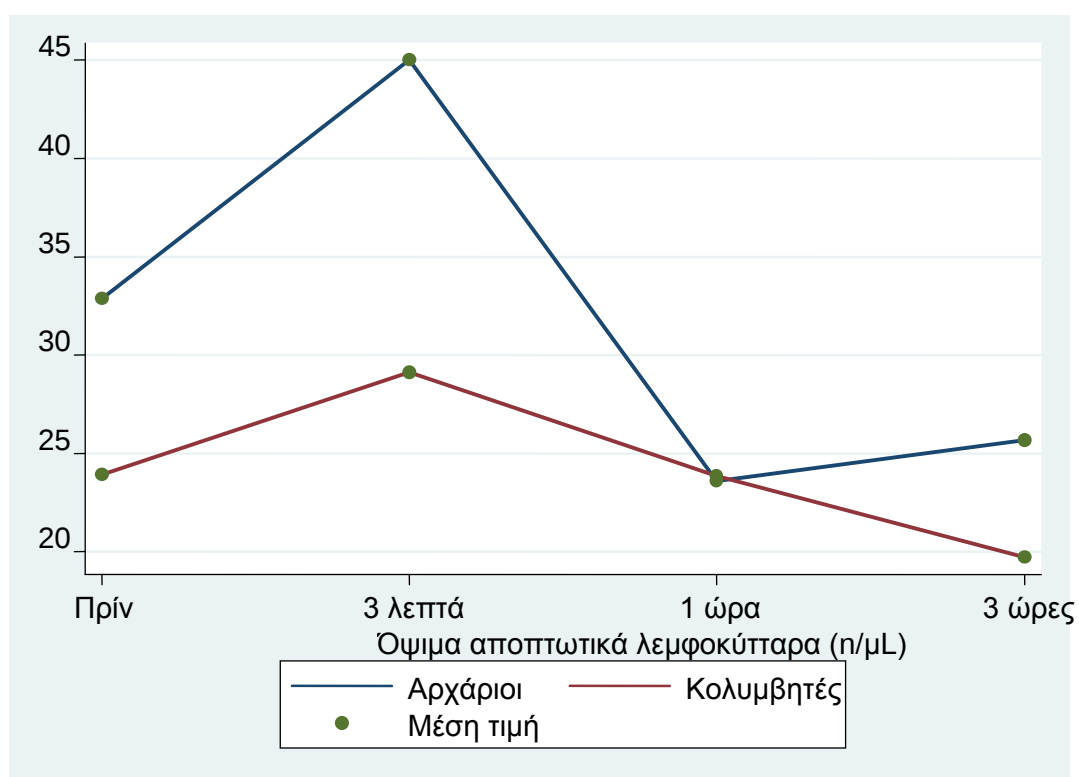
Όψιμα αποπτωτικά λεμφοκύτταρα (n/μL)

Υπήρξε μια οριακή στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 2 ομάδων ως προς τον αριθμό των όψιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων στα 3' μετά τη δοκιμασία, με τους αρχάριους να εμφανίζουν μεγαλύτερο αριθμό όψιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων έναντι των κολυμβητών ($45 \pm 23,3$ έναντι $29,13 \pm 16,33$, $p=0,04$), ωστόσο η διαφορά αυτή δεν παρατηρήθηκε στις επόμενες χρονικές στιγμές.

	Αρχάριοι			Κολυμβητές			<i>p</i> -value
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	
Όψιμα αποπτωτικά (πριν)	15	32,86	20,58	15	23,9	18,25	0,22
Όψιμα αποπτωτικά (3 λεπτά)	15	45,0	23,34	15	29,13	16,33	0,04
Όψιμα αποπτωτικά (1 ώρα)	15	23,6	15,45	15	23,86	19,25	0,98
Όψιμα αποπτωτικά (3 ώρες)	15	25,66	15,70	14	19,71	15,48	0,31

Πίνακας 17

Όψιμα αποπτωτικά λεμφοκύτταρα (n/μL)



Γράφημα 12

Πρώιμα αποπτωτικά λεμφοκύτταρα

Υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 2 ομάδων ως προς το ποσοστό των πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων συνολικά σε όλες τις χρονικές στιγμές μετά τη δοκιμασία (linear regression, $p=0,049$), με τους αρχάριους να εμφανίζουν μεγαλύτερο ποσοστό πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων έναντι των κολυμβητών.

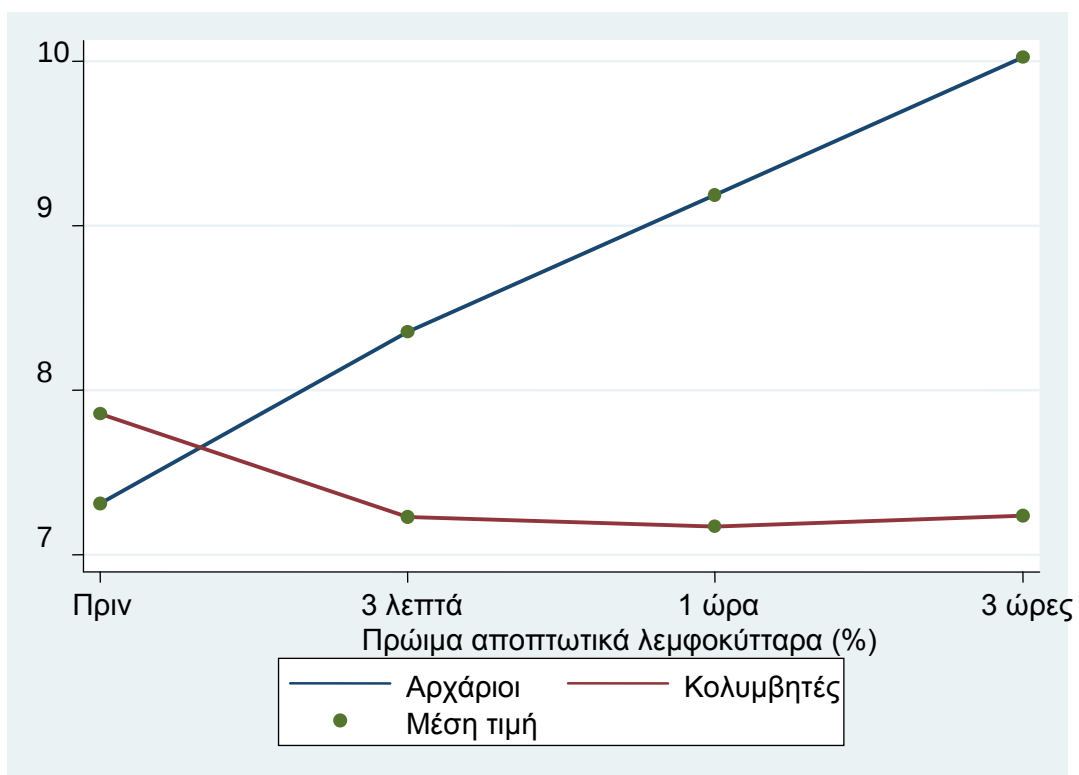
Ειδικά στις 3 ώρες μετά τη δοκιμασία έναντι της βασικής μέτρησης, η μεταβολή του ποσοστού των πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στους αρχάριους απ' ό,τι στους κολυμβητές ($+2,70\pm 4,82\%$ έναντι $-0,70\pm 2,59\%$ αντίστοιχα, $p=0,026$).

Πρώιμα αποπτωτικά λεμφοκύτταρα (%)

	Αρχάριοι			Κολυμβητές			<i>p</i> -value
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	
Πρώιμα αποπτωτικά (%) (πριν)	15	7,31	3,91	15	7,85	3,40	0,68
Πρώιμα αποπτωτικά (%) (3 λεπτά)	15	8,35	2,84	15	7,23	3,77	0,36
Πρώιμα αποπτωτικά (%) (1 ώρα)	15	9,18	5,22	15	7,17	3,75	0,23
Πρώιμα αποπτωτικά (%) (3 ώρες)	15	10,02	2,72	14	7,23	2,79	0,012

Πίνακας 18

Πρώιμα αποπτωτικά λεμφοκύτταρα (%)



Γράφημα 13

Πρώιμα αποπτωτικά λεμφοκύτταρα (n/μL)

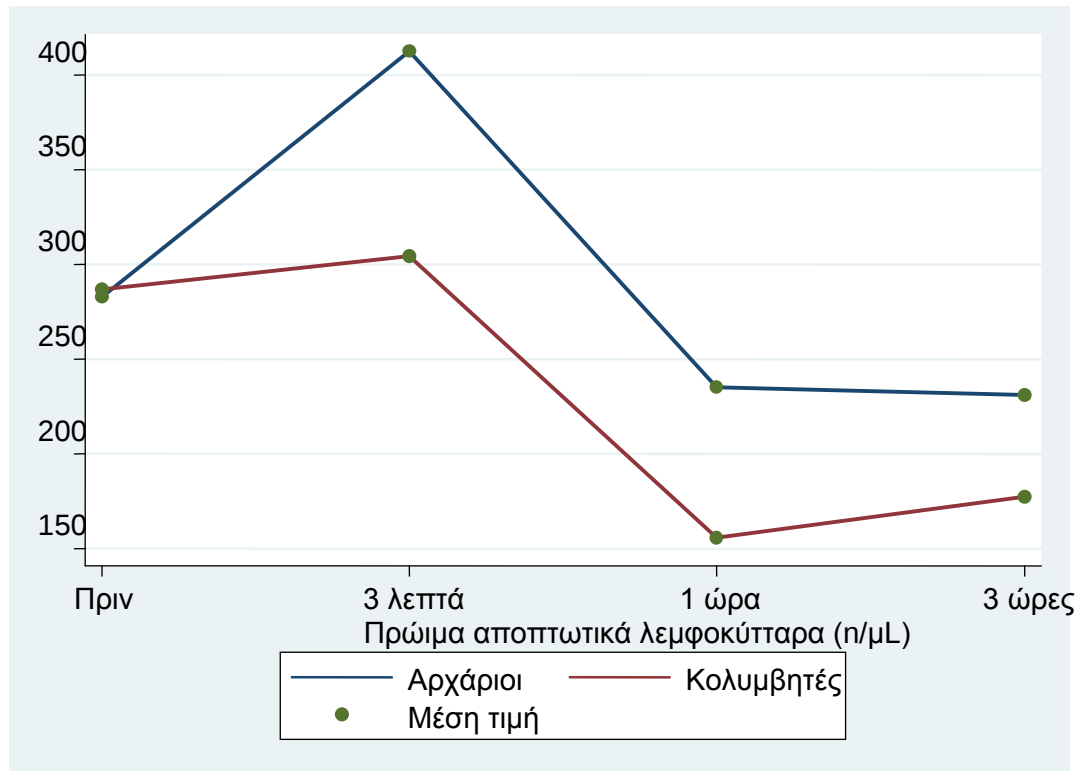
Υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 2 ομάδων ως προς τον αριθμό των πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων συνολικά σε όλες τις χρονικές στιγμές μετά τη δοκιμασία (linear regression, $p=0,021$), με τους αρχάριους να εμφανίζουν μεγαλύτερο αριθμό πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων έναντι των κολυμβητών.

Πρώιμα αποπτωτικά λεμφοκύτταρα (n/μL)

	Αρχάριοι			Κολυμβητές			<i>p</i> -value
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	
Πρώιμα αποπτωτικά (πριν)	15	282,86	138,06	15	286,8	173,88	0,95
Πρώιμα αποπτωτικά (3 λεπτά)	15	412,33	158,99	15	304,5	147,24	0,06
Πρώιμα αποπτωτικά (1 ώρα)	15	235,26	175,69	15	155,86	93,8	0,13
Πρώιμα αποπτωτικά (3 ώρες)	15	231,26	97,22	14	177,28	87,16	0,13

Πίνακας 19

Πρώιμα αποπτωτικά λεμφοκύτταρα (n/μL)

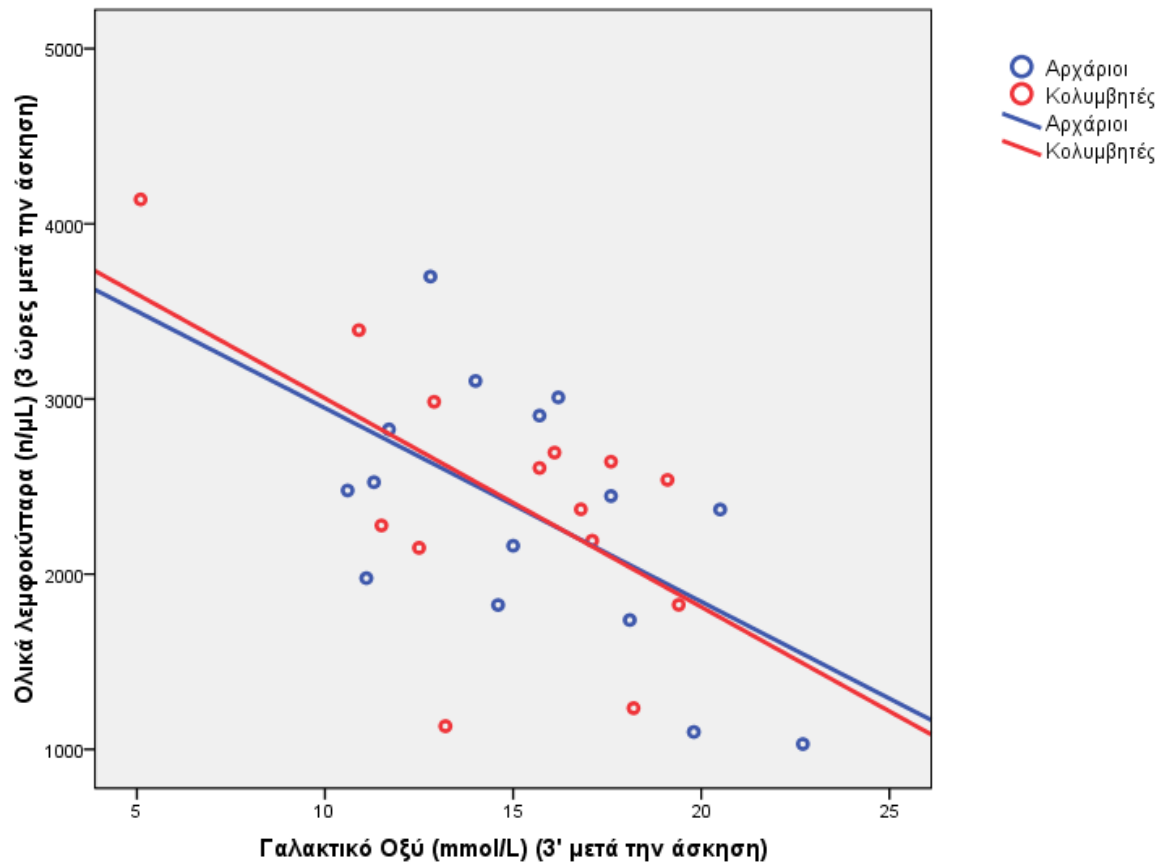


Γράφημα 14

Η ανάλυση των παραμέτρων των αερίων αίματος, του χρόνου, των χεριών, της καρδιακής συχνότητας καθώς και άλλες συσχετίσεις παρουσιάζονται στο παράρτημα.

ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ

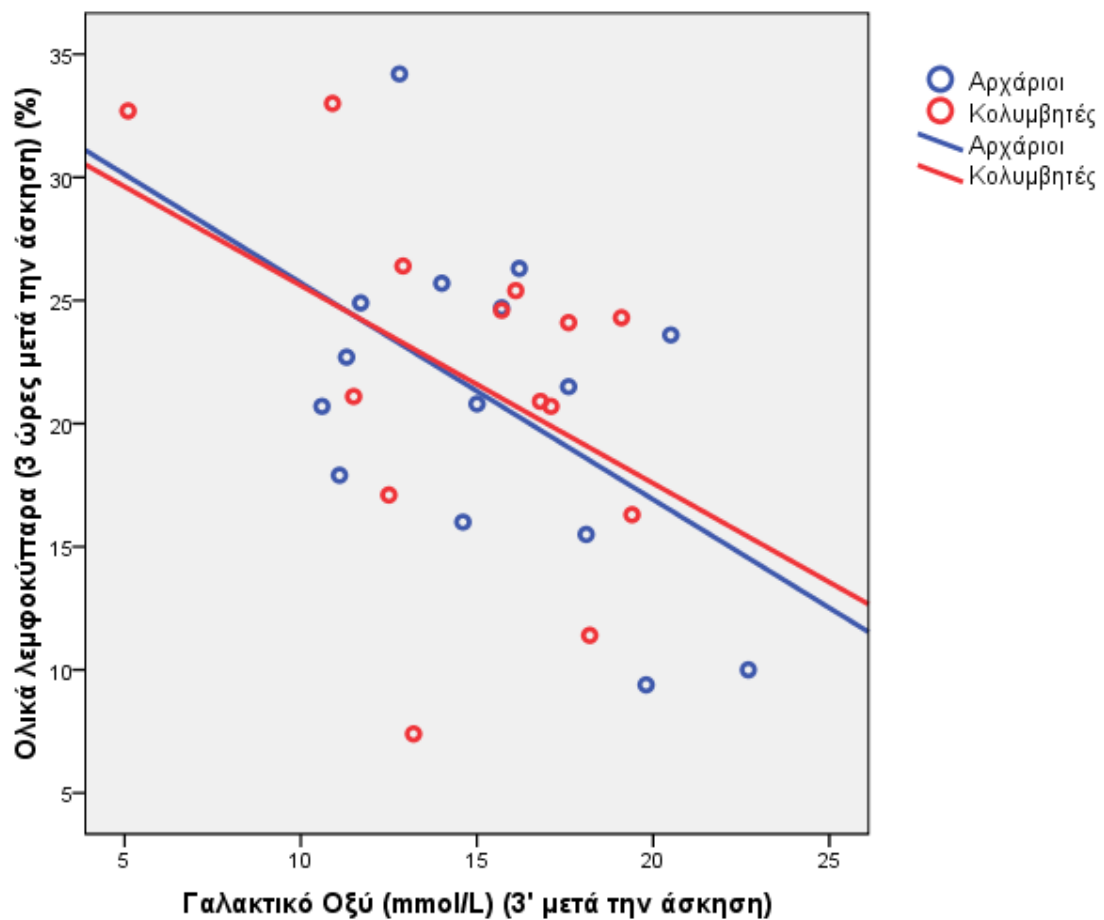
Συσχέτιση γαλακτικού οξέος με συνολικό αριθμό λεμφοκυττάρων.



Γράφημα 15

Όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση γαλακτικού οξέος 3 λεπτά μετά την άσκηση τόσο μικρότερος είναι ο συνολικός αριθμός λεμφοκυττάρων 3 ώρες μετά τη δοκιμασία ($r = -0,583$, $p = 0,001$).

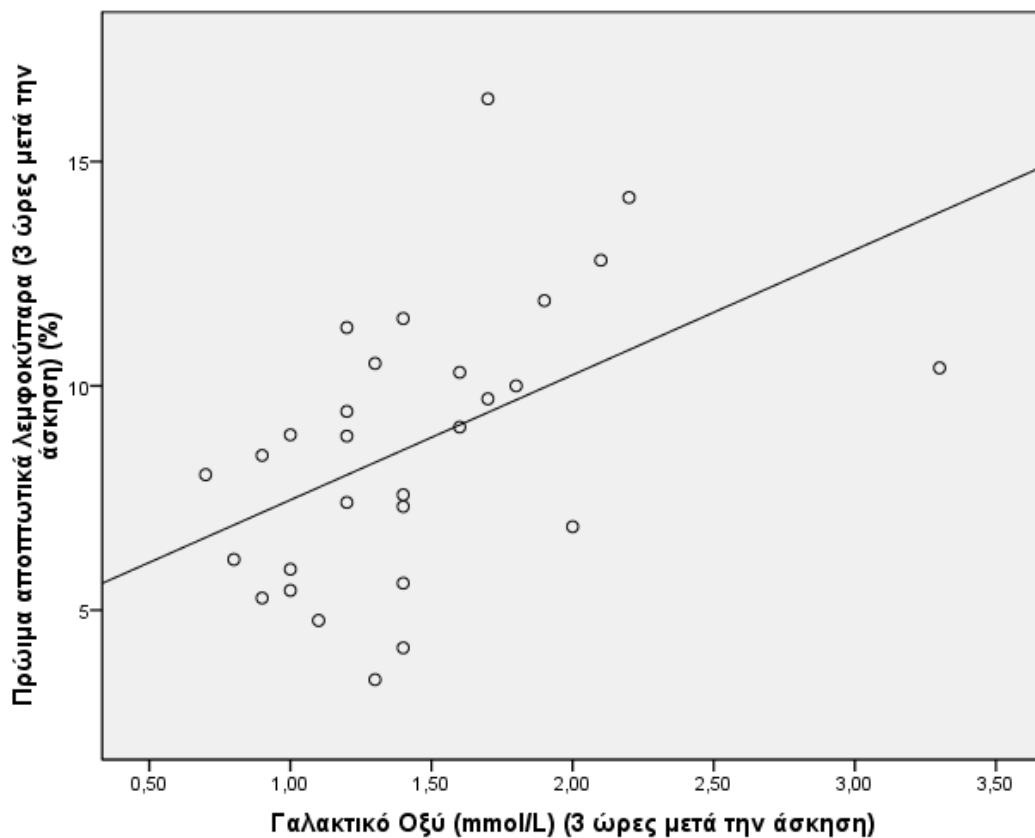
Συσχέτιση γαλακτικού οξέος με ποσοστό λεμφοκυττάρων.



Γράφημα 16

Όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση γαλακτικού οξέος στα 3 λεπτά μετά την άσκηση τόσο μικρότερο είναι το ποσοστό των λεμφοκυττάρων στις 3 ώρες μετά τη δοκιμασία ($r = -0,476$, $p = 0,009$).

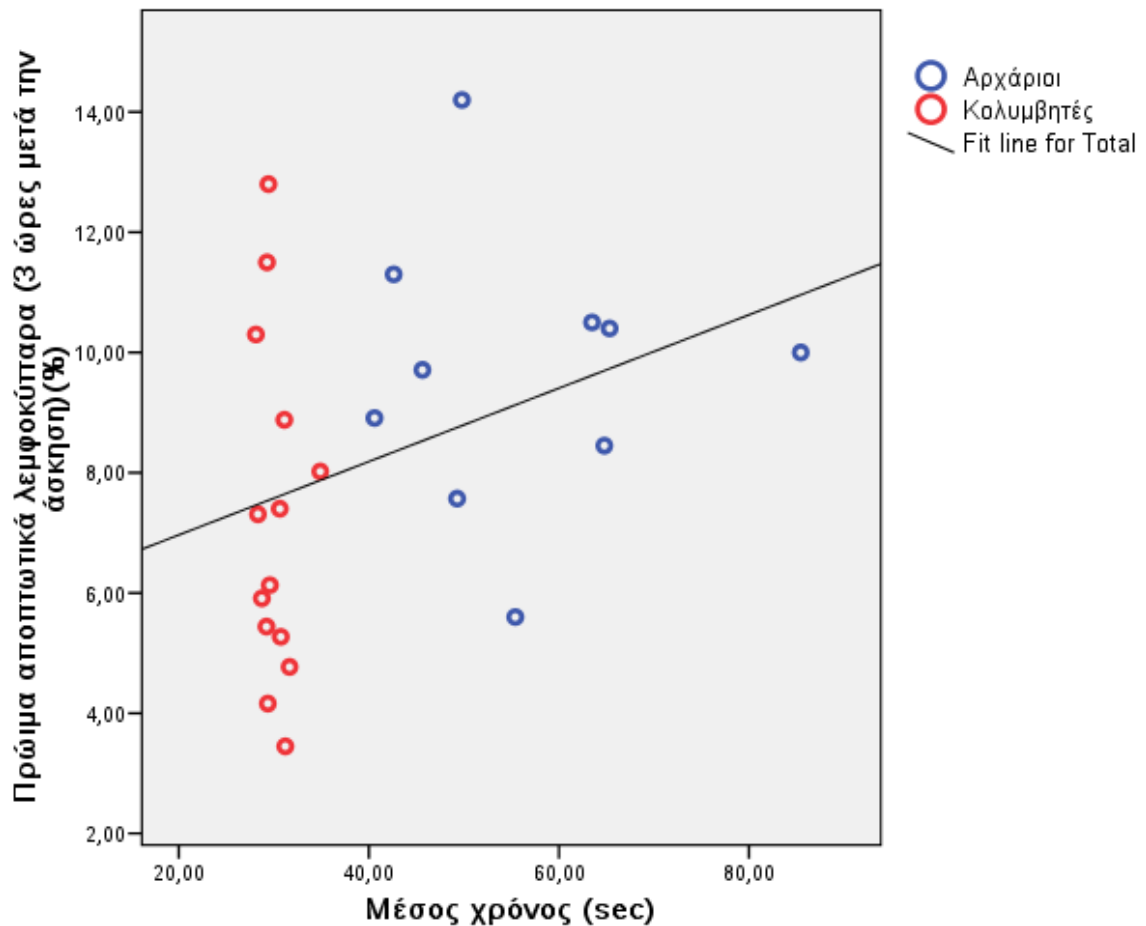
Συσχέτιση γαλακτικού οξέος με ποσοστό πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων (συνολικά, στις 3 ώρες).



Γράφημα 17

Όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση γαλακτικού οξέος στις 3 ώρες μετά την άσκηση τόσο μεγαλύτερο είναι το ποσοστό των πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων την ίδια χρονική στιγμή, συνολικά και στις 2 ομάδες ($r=0,482$, $p=0,008$).

Συσχέτιση ποσοστού πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων (στις 3 ώρες) με το μέσο χρόνο.



Γράφημα 18

Το ποσοστό των πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων στις 3 ώρες μετά την άσκηση δεν σχετίζεται με το μέσο χρόνο που χρειάστηκαν οι αθλητές για να διανύσουν κάθε απόσταση των 50μ. ούτε στο σύνολό τους ($r=0,34$, $p=0,1$) ούτε στις επιμέρους ομάδες των κολυμβητών ($r=-0,17$, $p=0,56$) και των αρχαρίων ($r=-0,04$, $p=0,9$).

5.4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Όπως είδαμε εκτενώς στην παρούσα μελέτη, η απόπτωση των κυττάρων είναι μια διαδικασία που είναι απαραίτητη τόσο για την ανάπτυξη όσο και για την επιβίωση ενός πολυκύτταρου οργανισμού. Έχοντας τις ρίζες της ετυμολογικά στην αρχαία Ελλάδα (ως όρος η απόπτωση πρωτοχρησιμοποιήθηκε από τον Ιπποκράτη), συνεχίζει να εξάπτει το ενδιαφέρον πολλών ερευνητών, αφού ο τρόπος ρύθμισης αυτού του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου διαφέρει από ιστό σε ιστό και σε διαφορετικούς τύπους κυττάρων.

Είναι αυτονόητο ότι η ιατρική επιστήμη είχε την μερίδα του λέοντος στα ερευνητικά πρωτόκολλα που χρησιμοποιούσαν την κυτταρική απόπτωση. Όμως τα τελευταία χρόνια και άλλα επιστημονικά πεδία που έχουν συνάφεια με την ιατρική επιστήμη όπως η αθλητιατρική και η αθλητική επιστήμη, έχουν την τάση να χρησιμοποιούν όλο και περισσότερο την κυτταρική απόπτωση στα πρωτόκολλα των μελετών τους. Κυρίαρχο ρόλο τόσο στις αμιγώς ιατρικές, όσο και στις συναφείς μελέτες έχουν τα λεμφοκύτταρα [66]. Ο ουσιαστικότερος λόγος χρησιμοποίησής τους έχει να κάνει με την καθοριστική τους συμβολή, όπως αυτή περιγράφεται στο γενικό μέρος της παρούσας μελέτης, στην ανταπόκριση και ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος. Καταλαβαίνει λοιπόν κανείς ότι είναι πολύ σημαντική η κινητική που ακολουθούν σε διάφορες καταστάσεις βιολογικής επιβάρυνσης του οργανισμού. Το ζητούμενο στην συγκεκριμένη μελέτη ήταν η σύνδεση της λεμφοκυτταρικής απόπτωσης με το φυσικό στρες της έντονης άσκησης.

Η χρήση παραγόντων καθορισμού της έντασης της άσκησης, όπως το γαλακτικό οξύ ή η VO_{2max} (μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου), συνδυαζόμενη με άλλες παραμέτρους μέτρησης της αθλητικής απόδοσης και επίδοσης ήταν μέχρι πρόσφατα οι κυρίαρχες (αν όχι αποκλειστικές) μέθοδοι μέτρησης, πρόγνωσης και καθορισμού των αθλητικών επιδόσεων.

Εισάγοντας λοιπόν νέες παραμέτρους που συσχετίζονται με συγκεκριμένο τρόπο με τους κλασικούς παράγοντες μέτρησης του επιπέδου και της ποιότητας της άσκησης και της αθλητικής επίδοσης, ανοίγονται νέοι δρόμοι για τη μελέτη και την προοπτική τόσο του έμψυχου αθλητικού δυναμικού όσο και των προπονητικών πρωτοκόλλων που προάγουν με τον καλύτερο δυνατό τρόπο την απόδοση και τις επιδόσεις.

Ας δούμε όμως λεπτομερέστερα τα συμπεράσματα που προκύπτουν από την ανάλυση των αποτελεσμάτων αυτής της μελέτης.

Σε σχέση με τις μετρήσεις του γαλακτικού οξέος, υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην συγκέντρωση γαλακτικού οξέος μεταξύ των ομάδων, με τους αρχάριους να παρουσιάζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις έναντι αυτών που έκαναν πρωταθλητισμό, τόσο στην 1^η όσο και στην 3^η ώρα.

Επίσης υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά στο pH, με τους αρχάριους να παρουσιάζουν μικρότερο pH έναντι αυτών που έκαναν πρωταθλητισμό στην 3^η ώρα μετά την δοκιμασία.

Μέχρι στιγμής τα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν κάτι που λίγο έως πολύ αναμέναμε, αλλά έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον να δούμε τις τιμές που έχουν να κάνουν με την λεμφοκυτταρική απόπτωση. Έτσι όσον αφορά στα ολικά λεμφοκύτταρα, δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων ως προς το ποσοστό των λεμφοκυττάρων σε καμία χρονική στιγμή.

Ωστόσο, παρατηρήθηκε και στις 2 ομάδες μια στατιστικά σημαντική μείωση του ποσοστού των λεμφοκυττάρων στην 1^η και στην 3^η ώρα μετά τη δοκιμασία έναντι της βασικής μέτρησης. Τα ίδια ακριβώς παρατηρήθηκαν και με τον απόλυτο αριθμό των ολικών λεμφοκυττάρων χωρίς σημαντική διαφορά μεταξύ των 2 ομάδων σε καμία χρονική στιγμή ενώ και οι 2 ομάδες παρουσίασαν στατιστικά σημαντική μείωση του αριθμού των λεμφοκυττάρων στην 1^η και στην 3^η ώρα μετά τη δοκιμασία.

Όσον αφορά τώρα τις επιμέρους φάσεις της απόπτωσης στις 2 ομάδες, ισχύουν τα εξής: δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ

των ομάδων ούτε ως προς τον αριθμό, ούτε ως προς το ποσοστό των νεκρωτικών λεμφοκυττάρων σε καμία χρονική στιγμή. Εκεί που υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά ήταν ως προς το ποσοστό των ζώντων λεμφοκυττάρων στις 3 ώρες μετά τη δοκιμασία, με τους αρχάριους να εμφανίζουν μικρότερο ποσοστό ζώντων λεμφοκυττάρων έναντι των κολυμβητών. Σε καμία όμως χρονική στιγμή δεν υπήρξε σημαντική διαφορά ως προς τον απόλυτο αριθμό των ζώντων λεμφοκυττάρων. Επίσης δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων ως προς το ποσοστό των όψιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων σε καμία χρονική στιγμή, ενώ υπήρξε μια οριακά στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς τον αριθμό των όψιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων μόνο στα 3' μετά τη δοκιμασία, με τους αρχάριους να εμφανίζουν μεγαλύτερο αριθμό έναντι των κολυμβητών.

Εκεί που υπήρξε ουσιαστική και εκτεταμένη σε όλες τις χρονικές στιγμές διαφορά μεταξύ των 2 ομάδων, ήταν ως προς το ποσοστό των πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων, με τους αρχάριους να εμφανίζουν μεγαλύτερο ποσοστό πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων έναντι των κολυμβητών. Ειδικά, στις 3 ώρες μετά τη δοκιμασία, η μεταβολή του ποσοστού των πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων έναντι της βασικής μέτρησης, ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στους αρχάριους από ότι στους κολυμβητές. Στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων υπήρξε και ως προς τον αριθμό των πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων συνολικά σε όλες τις χρονικές στιγμές μετά τη δοκιμασία, με τους αρχάριους να εμφανίζουν μεγαλύτερο αριθμό πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων έναντι των κολυμβητών.

Ιδιαίτερη σημασία έχουν και οι συσχετίσεις που προκύπτουν σε σχέση με το γαλακτικό οξύ. Πιο συγκεκριμένα, όσον αφορά στη συσχέτιση του συνολικού αριθμού των λεμφοκυττάρων με το γαλακτικό οξύ, βρέθηκε ότι όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση γαλακτικού οξέος στα 3' μετά την άσκηση, τόσο μικρότερος είναι ο συνολικός αριθμός αλλά και το ποσοστό των λεμφοκυττάρων στις 3 ώρες μετά τη δοκιμασία.

Επίσης, όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση γαλακτικού οξέος στις 3 ώρες μετά την άσκηση, τόσο μεγαλύτερο είναι το ποσοστό των πρώιμα

αποπτωτικών λεμφοκυττάρων την ίδια χρονική στιγμή συνολικά και στις 2 ομάδες.

Ωστόσο, το ποσοστό των πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων στις 3 ώρες δεν σχετίζεται με τον μέσο χρόνο που χρειάστηκαν οι αθλητές για να διανύσουν κάθε απόσταση των 50μ, ούτε στο σύνολό τους, ούτε στις επιμέρους ομάδες των κολυμβητών και των αρχαρίων.

Συμπερασματικά, οι αθλητές που κάνουν πρωταθλητισμό δείχνουν ότι μπορούν να διαχειριστούν καλύτερα την μεταβολική οξέωση και να ρίχνουν τα επίπεδα γαλακτικού οξέος πιο γρήγορα κοντά στα φυσιολογικά όρια σε σχέση με τους αρχάριους.

Τόσο για τους αθλητές όσο και για τους αρχάριους φάνηκε να υπάρχει σημαντική μείωση του ποσοστού και του αριθμού των ολικών λεμφοκυττάρων μετά το στρες της έντονης άσκησης, χωρίς σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Η μείωση αυτή σημειώθηκε στη μέτρηση της 1ης ώρας και συνεχίστηκε και στις 3 ώρες.

Το ερώτημα είναι αν υπάρχει διαφορά στην απόπτωση μεταξύ των 2 ομάδων. Όπως είδαμε νωρίτερα, οι αρχάριοι εμφάνιζαν μικρότερο ποσοστό ζώντων λεμφοκυττάρων στις 3 ώρες μετά την έντονη άσκηση.

Αυτό όμως που διαφοροποιούσε τις ομάδες μεταξύ τους σε σχέση με την απόπτωση, ήταν τα ποσοστά και ο αριθμός των πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων. Φάνηκε λοιπόν ότι οι αρχάριοι έθεταν σε διαδικασία πρώιμης απόπτωσης περισσότερα λεμφοκύτταρα ως αποτέλεσμα της έντονης (πάνω από το αναερόβιο κατώφλι) άσκησης.

Μπορεί να συμπεράνει κανείς ότι η καλύτερη φυσική κατάσταση των αθλητών που έκαναν πρωταθλητισμό και που επιβεβαιωνόταν με τα χαμηλότερα επίπεδα γαλακτικού οξέος και την καλύτερη διαχείριση της μεταβολικής οξέωσης, είχε επίδραση και στον περιορισμό της απόπτωσης των περιφερικών λεμφοκυττάρων (ειδικότερα των πρώιμα αποπτωτικών) σε σχέση με τους αρχάριους.

Από τις συσχετίσεις όμως με την καθαρή επίδοση (το χρόνο) των αθλητών, φάνηκε ότι η απόπτωση των περιφερικών λεμφοκυττάρων δεν δύναται να καταστεί ακόμη αξιόπιστος δείκτης πρόγνωσης της

αθλητικής επίδοσης. Έτσι, ενώ μπορεί να χρησιμοποιηθεί η απόπτωση των περιφερικών λεμφοκυττάρων ως γενικότερος δείκτης του επιπέδου φυσικής κατάστασης των αθλητών, δεν φαίνεται να έχει προγνωστική αξία στον προσδιορισμό της αθλητικής επίδοσης.

Σε αυτό το σημείο, προκύπτουν και ερωτήματα που έχουν να κάνουν με τη δυνατότητα χρήσης της απόπτωσης των περιφερικών λεμφοκυττάρων στο χώρο της αθλητιατρικής και αθλητικής επιστήμης στο μέλλον. Μένει λοιπόν ευρύ πεδίο μελέτης της λεμφοκυτταρικής απόπτωσης που έχει να κάνει με τη χρήση της σε διαφορετικά αθλήματα, σε διαφορετικά προπονητικά πρωτόκολλα που θα συγκρίνουν διαδραστικά το επίπεδο εξέλιξης της αγωνιστικής κατάστασης του αθλητή.

Πηγαίνοντας και ακόμα πιο πέρα, η πιθανή χρήση μεθόδων (μη βλαπτικών βιολογικά) φυσικών ή όχι (όπως το μπλοκάρισμα της ενεργοποίησης των κασπασών που έχει χρησιμοποιηθεί σε μοντέλα σήψης), που να επιφέρουν αύξηση της επιβίωσης και μείωση της απόπτωσης των λεμφοκυττάρων στην έντονη άσκηση, θα μπορούσε να αξιοποιηθεί ως στοιχείο ενίσχυσης της αθλητικής επίδοσης ενώ θα ήταν ενδιαφέρον να φανεί κατά πόσο αυτό θα σχετιζόταν με την ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος του οργανισμού.

Σίγουρα λοιπόν είναι ένα πεδίο μελέτης με αρκετές πτυχές, που μένει με επιπλέον έρευνες να μελετηθεί και να χρησιμοποιηθεί περαιτέρω. Με την παρούσα έρευνα, ελπίζουμε ότι έγινε ένα μικρό πρώτο βήμα προς αυτήν την κατεύθυνση.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η απόπτωση των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος σχετίζεται με την απάντηση του ανοσοποιητικού συστήματος του οργανισμού σε διάφορες καταστάσεις που προκαλούν στρες, όπως οι συστηματικές λοιμώξεις και οι χειρουργικές επεμβάσεις.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση των μεταβολών της απόπτωσης των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος μετά από έντονη σωματική άσκηση και η συσχέτισή τους με τα επίπεδα της μεταβολικής οξέωσης, αλλά και με την επίδοση των αθλητών.

Στη μελέτη, συμμετείχαν 2 ομάδες αρρένων κολυμβητών, ηλικίας $21,3 \pm 1,37$ ετών (μέση τιμή $\pm$ τυπική απόκλιση), 15 ερασιτέχνες και 15 ασχολούμενοι με πρωταθλητισμό, οι οποίοι διήνυσαν, σε μέγιστη ένταση, 8 αποστάσεις των 50 μ.

Σε όλους τους συμμετέχοντες, μελετήθηκε η απόπτωση των περιφερικών λεμφοκυττάρων (με κυτταρομετρία ροής και σήμανση με αννεξίνη V - PI), τα επίπεδα γαλακτικού οξέος, καθώς και άλλες παράμετροι πριν την άσκηση και 3 λεπτά, 1 ώρα και 3 ώρες μετά την άσκηση.

Υπήρξε σημαντικά μεγαλύτερος βαθμός μεταβολικής οξέωσης στους αρχάριους έναντι των κολυμβητών, με αυξημένη συγκέντρωση γαλακτικού οξέος ($1,64 \pm 0,59$ έναντι $1,22 \pm 0,36$ mmol/L αντίστοιχα, $p=0,027$) και χαμηλότερα επίπεδα pH ($7,36 \pm 0,03$ έναντι $7,39 \pm 0,02$ αντίστοιχα, $p=0,004$), 3 ώρες μετά τη δοκιμασία. Το ποσοστό και ο απόλυτος αριθμός των ολικών λεμφοκυττάρων παρουσίασαν σημαντική μείωση μετά την άσκηση και στις 2 ομάδες. Οι αρχάριοι κολυμβητές, ωστόσο, παρουσίασαν μια σημαντικά μεγαλύτερη αύξηση του ποσοστού των πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων, σε όλες τις χρονικές στιγμές, έναντι των αθλητών (10,02% έναντι 7,24% αντίστοιχα στις 3 ώρες μετά την άσκηση, $p=0,012$). Όσο μεγαλύτερη ήταν η συγκέντρωση γαλακτικού οξέος τόσο μεγαλύτερο ήταν το ποσοστό των πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων ($r=0,482$, $p=0,008$), ενώ ο ρυθμός απόπτωσης δεν φάνηκε να σχετίζεται με τον μέσο χρόνο των κολυμβητών.

Η έντονη άσκηση αυξάνει την απόπτωση των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος, ως απάντηση του οργανισμού στο σωματικό στρες. Οι αθλητές που προπονούνται συστηματικά διαχειρίζονται καλύτερα τη σωματική καταπόνηση, όπως αυτή εκφράζεται από τη

μικρότερη απόπτωση και μεταβολική οξέωση έναντι των αρχαρίων. Ο ρυθμός απόπτωσης, ωστόσο, δεν φαίνεται, από την παρούσα μελέτη, να έχει προγνωστική αξία ως προς την αθλητική επίδοση.

SUMMARY

Apoptosis of peripheral blood lymphocytes is associated with the immune response of the organism to various situations that cause stress, such as systemic infections and surgery.

The purpose of this study was to investigate changes in apoptosis of peripheral blood lymphocytes after strenuous physical exercise and their correlation with the levels of metabolic acidosis, as well as the performance of athletes.

In the present study, we enrolled 2 groups of male swimmers, aged $21,3 \pm 1,37$ years (mean $\pm$ SD) of 15 amateurs and 15 practitioners champions, who swam 8 distances of 50 meters at maximum intensity.

We studied the apoptosis of peripheral lymphocytes (by flow cytometry and Annexin V – PI labelling), lactic acid levels and other parameters before and 3 minutes, 1 hour and 3 hours after exercise.

There was a significantly greater degree of metabolic acidosis in amateurs against swimmers, with increased lactate concentration ($1,64 \pm 0,59$ vs. $1,22 \pm 0,36$ mmol/L respectively, $p = 0,027$) and lower pH ($7,36 \pm 0,03$ vs. $7,39 \pm 0,02$, respectively, $p = 0,004$) at 3 hours. The percentage and absolute number of total lymphocytes showed a significant decrease after exercise in both groups. Amateur swimmers, however, showed a significantly greater increase in the percentage of early apoptotic lymphocytes at all time points, compared to athletes ($10,02\%$ vs. $7,24\%$ respectively at 3 hours, $p = 0,012$). The greater the concentration of lactic acid the greater was the percentage of early apoptotic cells ($r = 0,482$, $p = 0,008$), while the rate of apoptosis did not appear to be related to the average time of swimmers.

Intense exercise increases apoptosis of peripheral blood lymphocytes as a response of the body to physical stress. The athletes who train systematically seem to be able to better manage physical stress, as reflected by lower apoptosis and metabolic acidosis against amateurs. The rate of apoptosis, however, was not shown, in this study, to have any predictive value regarding athletic performance.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Green, Douglas (2011). Means to an End: Apoptosis and other Cell Death Mechanisms. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press. ISBN 978-0-87969-888-1.
2. Alberts, Bruce; Johnson, Alexander; Lewis, Julian; Raff, Martin; Roberts, Keith; Walter, Peter (2008). "Chapter 18 Apoptosis: Programmed Cell Death Eliminates Unwanted Cells". Molecular Biology of the Cell (textbook) (5th ed.). Garland Science. p. 1115. ISBN 978-0-8153-4105-5.
3. Karam, Jose A. (2009). Apoptosis in Carcinogenesis and Chemotherapy. Netherlands Springer. ISBN 978-1-4020-9597-9.
4. Kerr, JF. (1965). "A histochemical study of hypertrophy and ischaemic injury of rat liver with special reference to changes in lysosomes". Journal of Pathology and Bacteriology **90** (90): 419–35. doi:10.1002/path.1700900210.
5. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR (August 1972). "Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics". Br. J. Cancer **26** (4): 239–57. doi:10.1038/bjc.1972.33. PMC 2008650. PMID 4561027.
6. Webster.com dictionary entry
7. Mark P. Mattson & Sic L. Chan. Calcium orchestrates apoptosis. Nature Cell Biology 5, 1041 - 1043 (2003). doi:10.1038/ncb1203-1041
8. Murphy KM, Ranganathan V, Farnsworth ML, Kavallaris M, Lock RB (January 2000). "Bcl-2 inhibits Bax translocation from cytosol to mitochondria during drug-induced apoptosis of human tumor cells". Cell Death Differ. **7** (1): 102–11. doi:10.1038/sj.cdd.4400597. PMID 10713725.

9. Böhm I. Disruption of the cytoskeleton after apoptosis induction by autoantibodies. *Autoimmunity* 2003;36:183 – 189

10. Vandivier RW, Henson PM, Douglas IS (June 2006). "Burying the dead: the impact of failed apoptotic cell removal (efferocytosis) on chronic inflammatory lung disease". *Chest* **129** (6): 1673–82. doi:10.1378/chest.129.6.1673. PMID 16778289.

11. Li MO; Sarkisian, MR; Mehal, WZ; Rakic, P; Flavell, RA (2003). "Phosphatidylserine receptor is required for clearance of apoptotic cells". *Science* **302** (5650): 1560–3. doi:10.1126/science.1087621. PMID 14645847.

12. Wang X; Wu, YC; Fadok, VA; Lee, MC; Gengyo-Ando, K; Cheng, LC; Ledwich, D; Hsu, PK et al. (2003). "Cell corpse engulfment mediated by *C. elegans* phosphatidylserine receptor through CED-5 and CED-12". *Science* **302** (5650): 1563–1566. doi:10.1126/science.1087641. PMID 14645848.

13. Judie B. Alimonti, T. Blake Ball, Keith R. Fowke (2003). "Mechanisms of CD4+ T lymphocyte cell death in human immunodeficiency virus infection and AIDS". *J Gen Virology* **84** (7): 1649–61. doi:10.1099/vir.0.19110-0. PMID 12810858.

14. Everett, H. and McFadden, G. (1999). "Apoptosis: an innate immune response to virus infection". *Trends Microbiol* **7** (4): 160–5. doi:10.1016/S0966-842X(99)01487-0. PMID 10217831.

15. Cotran; Kumar, Collins (1998). *Robbins Pathologic Basis of Disease*. Philadelphia: W.B Saunders Company. ISBN 0-7216-7335-X.

16. Fesik SW, Shi Y. (2001). "Controlling the caspases". *Science* **294** (5546): 1477–8. doi:10.1126/science.1062236. PMID 11711663.

17. Laurent M. Dejean, Sonia Martinez-Caballero, Kathleen W. Kinnally (2006). "Is MAC the knife that cuts cytochrome c from mitochondria during apoptosis?". *Cell Death and Differentiation* **13** (8): 1387–5. doi:10.1038/sj.cdd.4401949. PMID 16676005. <http://www.nature.com/cdd/journal/v13/n8/full/4401949a.html>.

18. Dejean LM, Martinez-Caballero S, Manon S, Kinnally KW (February 2006). "Regulation of the mitochondrial apoptosis-induced channel, MAC, by BCL-2 family proteins". *Biochim. Biophys. Acta* **1762** (2): 191–201. doi:10.1016/j.bbadis.2005.07.002. PMID 16055309.

19. Lodish, Harvey; et al. (2004). *Molecular Cell Biology*. New York: W.H. Freedman and Company. ISBN 0-7167-4366-3.

20. Wajant H (2002). "The Fas signaling pathway: more than a paradigm". *Science* **296** (5573): 1635–6. doi:10.1126/science.1071553. PMID 12040174.

21. Chen G, Goeddel DV (2002). "TNF-R1 signaling: a beautiful pathway". *Science* **296** (5573): 1634–5. doi:10.1126/science.1071924. PMID 12040173.

22. Goeddel, DV. "Connection Map for Tumor Necrosis Factor Pathway". *Science STKE*. doi:10.1126/stke.3822007tw132. http://stke.sciencemag.org/cgi/cm/CMP_7107.

23. Wajant, H.. "Connection Map for Fas Signaling Pathway". *Science STKE*. doi:10.1126/stke.3802007tr1. http://stke.sciencemag.org/cgi/cm/CMP_7966.

- 24.Santos A. Susin; Daugas, E; Ravagnan, L; Samejima, K; Zamzami, N; Loeffler, M; Costantini, P; Ferri, KF και άλλοι. (2000). "Two Distinct Pathways Leading to Nuclear Apoptosis". Journal of Experimental Medicine **192** (4): 571–80. doi:10.1084/jem.192.4.571. PMID 10952727. PMC 2193229. <http://www.jem.org/cgi/content/abstract/192/4/571>.

- 25.Madeleine Kihlmark; Imreh, G; Hallberg, E (15 October 2001). "Sequential degradation of proteins from the nuclear envelope during apoptosis". Journal of Cell Science **114** (20): 3643–53. PMID 11707516. <http://jcs.biologists.org/cgi/content/full/114/20/3643>.

- 26.Nagata S (April 2000). "Apoptotic DNA fragmentation". Exp. Cell Res. **256** (1): 12–8. doi:10.1006/excr.2000.4834. PMID 10739646.

- 27.M Iwata, D Myerson, B Torok-Storb and RA Zager (1996). An evaluation of renal tubular DNA laddering in response to oxygen deprivation and oxidant injury. <http://jasn.asnjournals.org/cgi/content/abstract/5/6/1307>. Ανακτήθηκε στις 2006-04-17.

- 28.Savill J, Gregory C, Haslett C. (2003). "Eat me or die". Science **302** (5650): 1516–7. doi:10.1126/science.1092533. PMID 14645835.

- 29.Konstandoulakis M., Messaris EG. Are cancer patients adequate candidates for studying apoptosis in septic and ards models. Respiratory and Critical Medicine 2001; 163:6

- 30.Liakos C., Katsaragakis St., Konstandoulakis M., Messaris E., Papanikolaou cells of bronchoalveolar lavage: A cellular reaction in patients who die with sepsis and respiratory failure. Critical Care Medicine 2001;29 (12):2310-2317

- 31.Βικιπαίδεια, ελεύθερη εγκυκλοπαίδεια, www.wikipedia.org
Απόπτωση

- 32.**Koopman G, Reutelingsperger CP, Kuijten GA, Keehnen RM, Pals ST, van Oers MH, Annexin V for flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on B cells undergo apoptosis. *Blood* 1994;84:1415-20
- 33.**Vermes I, Haanen C, Steffens-Nakken H, Reutelingsperger C. 1995. A novel assay for apoptosis-flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on early apoptotic cells using fluorescein labelled Annexin V. *J. Immunol. Meth.* 184:39
- 34.**Fadok V, Voelker D, Campbell P, Cohen J, Bratton D. and Henson P. 1992. Exposure of phosphatidylserine on the surface of apoptotic lymphocytes triggers specific recognition and removal by macrophages. *J. Immunol.* 148:2207
- 35.**BD Biosciences: Pharmingen: Protocols Annexin V Staining protocol www.bdbiosciences.com
- 36.**Letter to the Editor. Detection of apoptotic cells using a synthetic fluorescent sensor for membrane surfaces that contain phosphatidylserine. *Cell Death and Differentiation* 2003; 10:1357-1359
- 37.**Sigma-Aldrich. Product Information, Histopaque-1077, Hybri-Max, product Number H8889
- 38.**Beckman Coulter. Application information Blood Cell Separation Using Commercial Gradient Reagents and Centrifugation
- 39.**Comelissen M,Phillippe J, De Sitter S, Ridder L, Annexin V Expression in apoptotic peripheral blood lymphocytes: An electron microscopic evaluation. *Apoptosis* 2002;7:41-47
- 40.**Annegret Gerber, Marisela Bohne, Janet Rasch, Heinz Struy, Siegfried Ansorge, Harald Gollnick. Investigation of Annexin V Binding to Lymphocytes after Extracorporeal Photoimmunotherapy as an Early Marker of Apoptosis. *Dermatology* 2000;201:111-117

- 41.**Savill J, Fadok V, Henson P, Haslett C. Phagocyte recognition of cells undergoing apoptosis. *Immunol Today* 1993;14:131-136
- 42.**Schmid I, Ulttenbogaart H. and Giorgi V. Sensitive method for measuring apoptosis and cell surface phenotype in human thymocytes by flow cytometry. *Cytometry* 1994;15:12
- 43.**Ren Y Savill J. Apoptosis: the importance of being eaten. *Cell death Differ.* 1998;5:563-568
- 44.**Verhoven B, Schegel R and Williamson. Mechanisms of phosphatidylserine exposure, a phagocyte recognition signal on apoptotic T lymphocytes. *J Exp Med* 1995;185:1597-1601
- 45.**Angelopoulou R, Leventis A. Dept. of Histology and Embryology, Medical School, University of Athens, Dept. of Urology, "Hippokration" General Hospital, Athens, Greece. *Apoptosis. Iatriki* 1997, 71(6): 562-572
- 46.**Χρήστος Βαλαβάνης. Απόπτωση-Μοριακοί μηχανισμοί. Μέθοδοι ανίχνευσης. Κλινικές εφαρμογές. Μονάδα Μοριακής Ιστοπαθολογίας. Τμήμα Παθολογικής Ανατομικής ΕΑΝΠ «ΜΕΤΑΞΑ»
- 47.**M. Andrikoula, G. Vartholomatos. Division of endocrinology, Department of internal medicine, University of Ioannina, Medical School, Laboratory of Hematology, Unit of Molecular Biology. University Hospital of Ioannina, Ioannina Greece. *Archives of Hellenic Medicine* 2001,18 (5): 496-513
- 48.**Papassotiropoulos A, Ludwig M, Naib-Roo GS. Induction of apoptosis and secondary necrosis in rat dorsal root ganglion cell cultures by oxidized low density lipoprotein. *Neurosci Lett* 1996,209:33-36
- 49.**Haanen C, Vermes I. Apoptosis: programmed cell death in fetal development . *Eur J Obstet Gynaecol Reprod Biol* 1996,64:129-133

- 50.** IASPIS Ideal Modern Asklepon Park School of Medicine Athens 2008 Διαφορές μεταξύ απόπτωσης και νέκρωσης. Διαταραχές από αυξημένη κυτταρική επιβίωση και από αυξημένη απόπτωση. Τα μορφολογικά στοιχεία της απόπτωσης. Τα ένζυμα της απόπτωσης. Απόπτωση, το ενδοκυττάριο Ph. Απόπτωση, ο ρόλος των μιτοχονδρίων-το ενδοκυττάριο ασβέστιο. Μεταβολές της κυτταρικής μεμβράνης κατά την απόπτωση.
- 51.** R. Otton, F.G. Soriano, R. Verlengia and R. Curi. Diabetes induces apoptosis in lymphocytes. Departement of Physiology and Biophysics, Institute of Biomedical Sciences, University of Sao Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 1523 05508-900 Butartan, Sao Paolo, SP, Brazil
- 52.** Atmatzidis et. al. BMC infectious Diseases 2011, 11:321 <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/11/321>
Detrimental effect of apoptosis of lymphocytes at an early time point of experimental abdominal sepsis.
- 53.** K. Kruger, S. Frost, E. Most, K. Volker, J. Pallauf and F.C. Mooren. Exercise affects tissue lymphocyte apoptosis via redox-sensitive and Fas-dependent signaling pathways. Am. J. Physiol Regul Integr Comp Physiol 296:R 1518-R1527,2009.
- 54.** R. S. Hotchiss, C. M. Coopersmith and I.E. Karl. Prevention of lymphocyte apoptosis-A potential treatment of sepsis. Departement of Anesthesiology, Surgery and Medicine, Washington University School of Medicine, St. Louis, Missouri.
- 55.** F.C. Mooren, D. Bloming, A. Lechtermann, M.M. Lerch and K. Volker. Lymphocyte apoptosis after exhaustive and moderate exercise. J. Appl Physiol 93:147-153,2002
- 56.** K. Kruger, S. Agnischock, A. Lechtermann, S. Tiwari, M. Mishra, C. Pilat, A. Wagner, C. Tweddell, I.Gramlich and F.C. Mooren. Intensive resistance exercise induces lymphocyte apoptosis via cortisol and glucocorticoid receptor-dependent pathways. J. Appl Physiol 110:1226-1232,2011

- 57.**J. E. Turner, J.A. Bosch, M.T. Drayson and S. Aldred. Assessment of oxidative stress in lymphocytes with exercise. *J. Appl physiol* 111:206-211,2011
- 58.**Carraro U and Franceschi C.Apoptosis of skeletal and cardiac muscles and physical exercise. *Aging (Milano)* 9:19-34,1997.
- 59.**Concordet J.P. and Ferry A. Phsysiological programmed cell death in thymocytes is induced by physical stress (exercise). *Am J Physiol Cell Physiol* 265:C 626- C 629,1993
- 60.**Hoffman-Goetz L. and Zajchowski S. In vitro apoptosis of lymphocytes after exposure to levels of corticosterone observed following subumaximal exercise. *J Sports Med Phys Fitness* 39:269-274,1999
- 61.**Hoffman-Goetz L. Zajchowski S, and Aldred A. Impact of treadmill exercise on early apoptotic cells in mouse thymus and spleen. *Life Sci* 64:191-200,1999
- 62.**Azenabor AA and Hoffman – Goetz L. Intrathymic and intrasplenic oxidative stress mediates thymocyte and splenocyte damage in acutely exercised mice. *J Appl Physiol* 86:1823-1827,1999
- 63.**Cioca DP, Watanabe N, Isobe M. Apoptosis of peripheral blood lymphocytes is induced by catecholamines. Department of internal Medicine, Shinshu University School of Medicine, Magano Japan. *Jpn Heart J.* 2000
- 64.**Syu G-D, Chen H-i, Jen CJ (2011) Severe Exercise and Exercise Training Exert Opposite Effects on Human Neutrophil Apoptosis via Altering the Redox Status. *PLoS ONE* 6(9): e24385. doi:10.1371/journal.pone.0024385
- 65.**Liakou H., Konstandoulakis M., Katsaragakis S., Messaris E., Papanikolaou M., Georgiadis G., Menenakos E., Mariolis A., Androulakis G. Apoptosis in bronchoalveolar cells represents a major pathophysiologic pathway of death in septic patients. *Archives of Hellenic Medicine* 2000, 17(2) : 180-188

66. Payne CM, Glasser L, Tischler ME, Wyckoff D, Crome D, Fiederlein R, Bohnert O. Programmed cell death of the normal human neutrophil : an in vitro model of senescence. *Microsc Res Tech* 1994 Jul 1; 28(4) : 327-44
67. Jeong D, Kim TS, Lee JW, Kim KT, Kim HJ, Kim IH, Kim IY. Blocking of acidosis- mediated apoptosis by a reduction of lactate dehydrogenase activity through antisense mRNA expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2001 Dec 21; 289
68. Smith J., Chi D., Salazar S., Krish G., Berk S., Reynolds S., Cambron G. effect of moderate exercise on proliferative responses of peripheral blood mononuclear cells. *J Sports Med Phys fitness*, 1993
69. Τι πρέπει να ξέρετε για το γαλακτικό οξύ. Fit- Blaster. Available at : http://www.fit-blaster.com/read_article.php?pid=ti-prepei-na-kserete-gia-to-galaktiko-oksu-1337315095
70. Μεταξάς Θ., Αερόβια ικανότητα, Αναερόβιο κατώφλι, Γαλακτικό οξύ και άσκηση. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού. Εργαστήριο Φυσιολογίας- Εργομετρίας
71. Mackenzie B. (1999) Lactic Acid [WWW] Available from: <http://www.brianmac.co.uk/lactic.htm>
72. Thomas F., Department of Exercise Physiology, California State University. 10 Things you should know about lactic acid: old myths and new realities. Available at: <http://www.delano.k12.mn.us/high-school/academic-departments/science/mr-b-wiesner/cross-country/10-things-you-should-know-about-lactic-acid>
73. Αυλωνίτου Ε. (2005). Η σημασία του εργοφυσιολογικού ελέγχου στην αθλητική αξιολόγηση και πρόβλεψη αθλητικής δυνατότητας σε μικρές ηλικίες. Εθνικό Κέντρο Αθλητικών Ερευνών.

- 74.**Bouchard C. Heredity and adaptation to exercise training during growth. In Demirjian & Brault Dubuc (Eds). Human growth: a multidisciplinary review, pp. 243-252, Taylor & Francis, London , 1986.
- 75.**Bouchard C., Boulay M.R., Simoneau, JA, Lortie G. and Perusse L. Heredity and trainability of aerobic and anaerobic performances. Sports Medicine, 5:69-73, 1988.
- 76.**Klissouras V. Prediction of athletic performance. Genetic Considerations. In: Exercise Physiology: Fitness and Performance Capacity Studies. Landry F. and Orban W. (Eds). Miami : Symposia Specialists, 1978.
- 77.**Rushall, B.S. and Pyke F.S. Measuring physiological attributes of athletes. In "Training for Sports and Fitness". The MacMillan Company of Australia . Melbourne , Australia , 1992.
- 78.**Sharp, R.L., Troup, J.P. and Costill, D.L. Relationship between power and sprint freestyle swimming. Medicine Science in Sports and Exercise, 14(1): 53-56, 1982.
- 79.**Wikipedia, the free encyclopedia, VO2 max, Available at: http://en.wikipedia.org/wiki/VO2_max
- 80.**Uth, Niels; Henrik Sørensen, Kristian Overgaard, Preben K. Pedersen (January 2004). "Estimation of VO2max from the ratio between HRmax and HRrest--the Heart Rate Ratio Method". Eur J Appl Physiol. 2004 Jan;91(1):111-5. Retrieved 2009-11-03.
- 81.**Guyton, A. & Hall, J.E. (2011). "Textbook of Medical Physiology, 12th Ed.". pp. 1035–1036.

- 82.**Bouchard, Claude; Ping An, Treva Rice, James S. Skinner, Jack H. Wilmore, Jacques Gagnon, Louis Perusse, Arthus S. Leon, D. C. Rao (September 1, 1999). "Familial aggregation of VO₂max response to exercise training: results from the HERITAGE Family Study". *Journal of Applied Physiology* **87** (3): 1003–1008. PMID 10484570.
- 83.**Wagner, P.D. (2000) New ideas on limitations to VO₂max. *Exercise and Sport Sciences Reviews*. 28(1):10-4.
- 84.**Sports Fitness Advisor, VO₂ Max, Aerobic Power& Maximal Oxygen Uptake, Available at: <http://www.sport-fitness-advisor.com/VO2max.html>
- 85.**Wilmore JH and Costill DL. (2005) *Physiology of Sport and Exercise*: 3rd Edition. Champaign, IL: Human Kinetics
- 86.**Costill DL, Thomas R, Robergs RA, Pascoe D, Lambert C, Barr S, Fink WJ. Adaptations to swimming training: influence of training volume. *Med Sci Sports Exerc*. 1991 Mar;23(3):371-7
- 87.**Houmard JA, Costill DL, Mitchell JB, Park SH, Hickner RC, Roemmich JN. Reduced training maintains performance in distance runners. *Int J Sports Med*. 1990 Feb;11(1):46-52
- 88.**Nieman D., Pedersen B (2000). *Nutrition and Exercise Immunology*. Kindle Edition
- 89.**Wikipedia, the free encyclopedia, Lymphocyte, Available at: <http://en.wikipedia.org/wiki/Lymphocyte>
- 90.**Janeway, Charles; Paul Travers, Mark Walport, and Mark Shlomchik (2001). *Immunobiology*; Fifth Edition. New York and London: Garland Science. ISBN 0-8153-4101-6.
- 91.**Abbas AK and Lichtman AH (2003). *Cellular and Molecular Immunology* (5th ed.). Saunders, Philadelphia. ISBN 0-7216-0008-5.

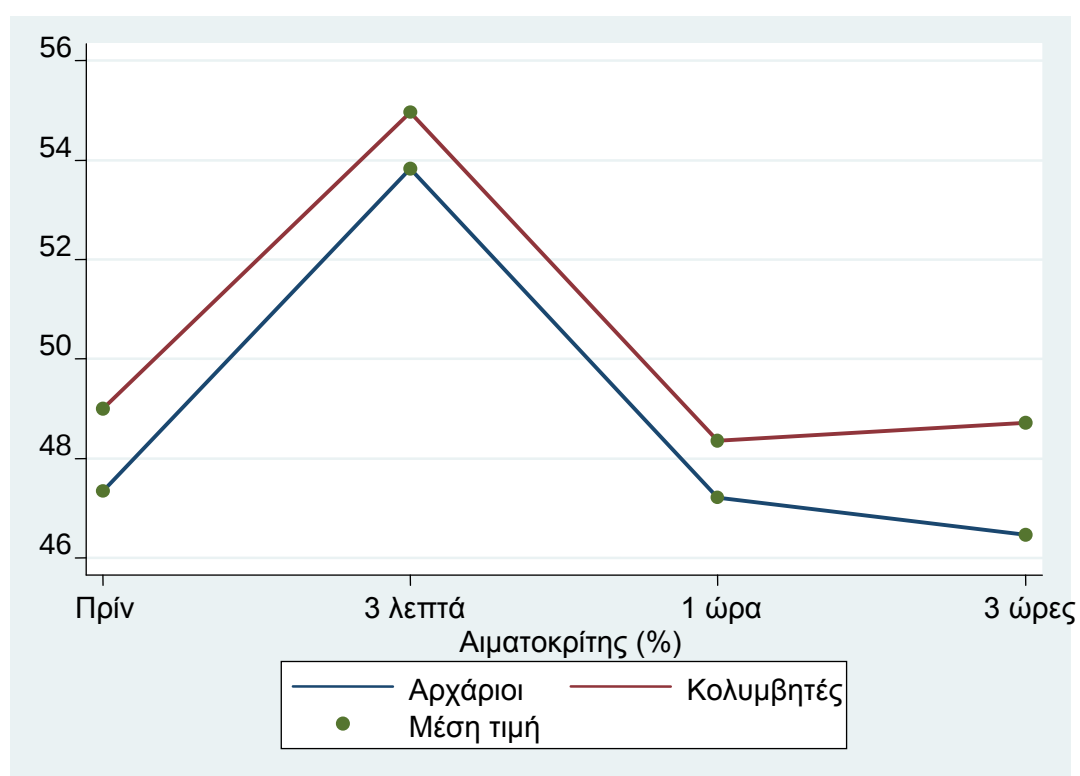
- 92.**Protective effect of a brisk tumor infiltrating lymphocyte infiltrate in melanoma: An EORTC melanoma group study. 2007.
http://www.asco.org/ascov2/Meetings/Abstracts?&vmview=abst_detail_view&confID=47&abstractID=34439
- 93.**Phaneuf S, Leeuwenburgh C. Apoptosis and exercise. Biochemistry of Aging Laboratory, Center for Exercise Science, College of Health and Human Performance, University of Florida, USA. Med Sci Sports Exerc. 2001 Mar;33(3):393-6.
- 94.**Sandri M., Apoptotic signaling in skeletal muscle fibers during atrophy. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2002 May;5(3):249-53.
- 95.**Pedersen BK, Toft AD (2000) Effects of exercise on lymphocytes and cytokines. Br J Sports Med 34: 246–251. doi: 10.1136/bjism.34.4.246.
- 96.**Suzuki K, Sato H, Kikuchi T, Abe T, Nakaji S, et al. (1996) Capacity of circulating neutrophils to produce reactive oxygen species after exhaustive exercise. J Appl Physiol 81: 1213–1222.
- 97.**Sim YJ, Yu S, Yoon KJ, Loiacono CM, Kohut ML (2009) Chronic exercise reduces illness severity, decreases viral load, and results in greater anti-inflammatory effects than acute exercise during influenza infection. J Infect Dis 200: 1434–1442. doi: 10.1086/606014.
- 98.**Witko-Sarsat V, Pederzoli-Ribeil M, Hirsch E, Sozzani S, Cassatella MA (2011) Regulating neutrophil apoptosis: new players enter the game. Trends Immunol 32: 117–124. doi: 10.1016/j.it.2011.03.001

- 99.** Mars, M.S., Govender, A., Weston, V. Naicker, and A. Chuturgoon. High intensity exercise: a cause of lymphocyte apoptosis?. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 249:366 –370, 1998.
- 100.** Podhorska-Okolow M., M. SANDRI, S. Zampieri, B. Brun, K., Rossini, and U. Carraro. Apoptosis of myofibres and satellite cells: exercise-induced damage in skeletal muscle of the mouse. *Neuropath. Appl. Neurobiol.* 24:518 –531, 1998.
- 101.** Williams, G. T. Programmed cell death: apoptosis and oncogenesis. *Cell* 65:1097–1098, 1991.
- 102.** Mooren FC, Lechtermann A, Völker K. Exercise-induced apoptosis of lymphocytes depends on training status. *Med Sci Sports Exerc.* 2004 Sep;36(9):1476-83.
- 103.** Tauler P., Sureda A., Cases N., Aguiló A., José A. , Rodríguez-Marroyo, Villa G., Tur J., Pons, A . Increased lymphocyte antioxidant defences in response to exhaustive exercise do not prevent oxidative damage
The Journal of Nutritional Biochemistry, Volume 17, Issue 10, October 2006, Pages 665-67
- 104.** P. Marnila, L. Vider, Ü. Kaljumäe, E.-K. Titov, E.-M. Lilius, O. Hänninen Effects of intensive physical exercise and training on cell mediated immunity *Pathophysiology*, Volume 5, Supplement 1, June 1998, Page 117

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Αιματοκρίτης (%)

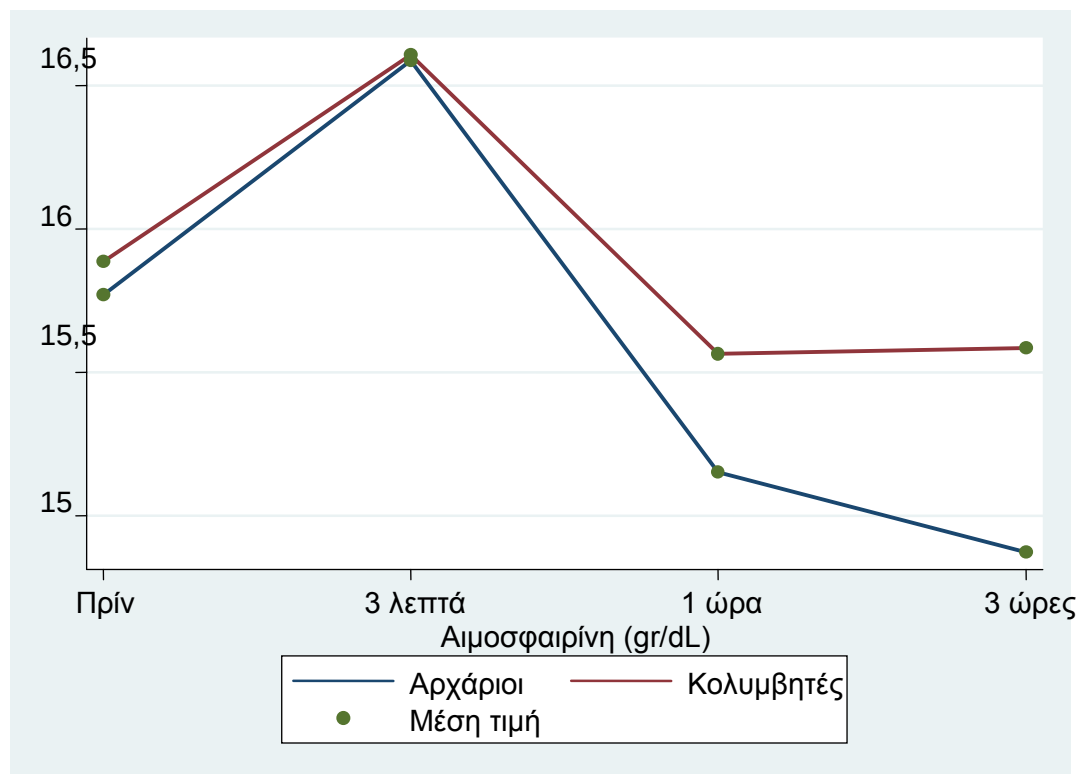
	Αρχάριοι			Κολυμβητές			
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	p-value
Hct (πριν)	15	47,3	2,99	14	49,0	2,60	0,13
Hct (3 λεπτά)	15	53,8	3,47	15	55,0	2,27	0,30
Hct (1 ώρα)	15	47,2	2,89	15	48,4	2,33	0,24
Hct (3 ώρες)	15	46,5	2,27	14	48,7	3,64	0,054



Δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων ως προς τον αιματοκρίτη ή την αιμοσφαιρίνη σε καμία χρονική στιγμή (repeated measures ANOVA, $p=0,076$ & $p=0,310$ αντίστοιχα).

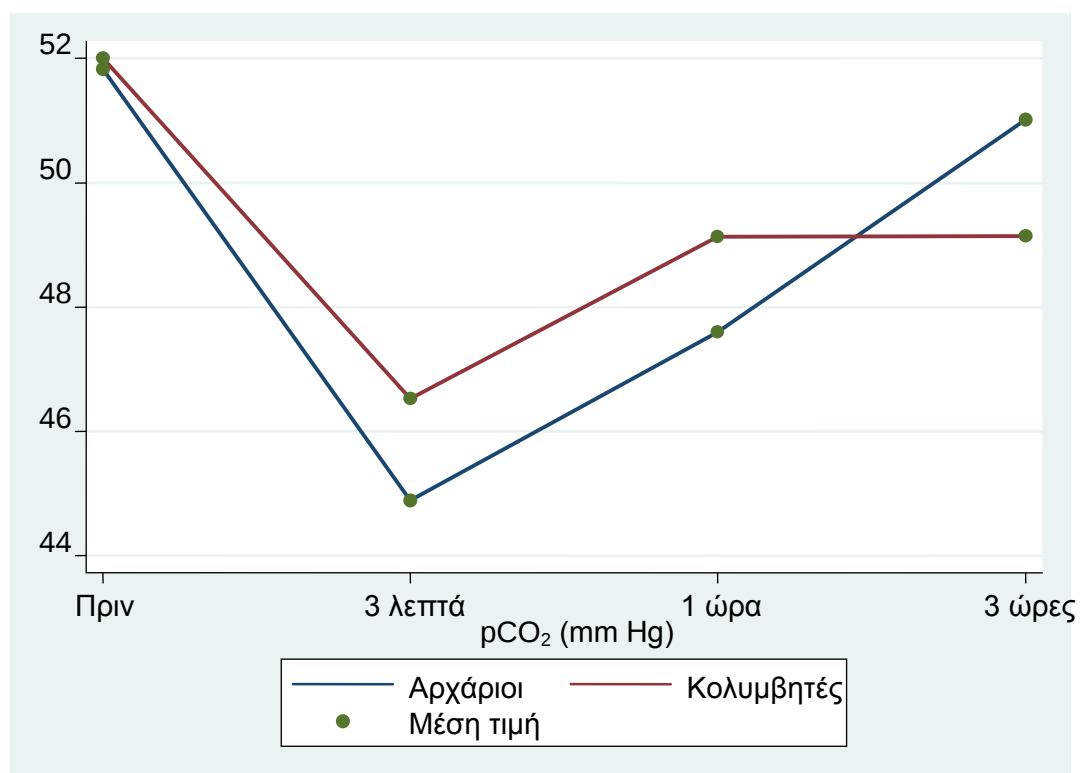
Αιμοσφαιρίνη (gr/dL)

	Αρχάριοι			Κολυμβητές			
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	p-value
Hb (πριν)	14	15,8	1,11	15	15,9	1,30	0,8
Hb (3 λεπτά)	15	16,6	1,28	15	16,6	0,88	0,96
Hb (1 ώρα)	15	15,2	1,08	15	15,6	1,15	0,32
Hb (3 ώρες)	15	14,9	1,08	14	15,6	1,04	0,08



pCO₂ (mmHg)

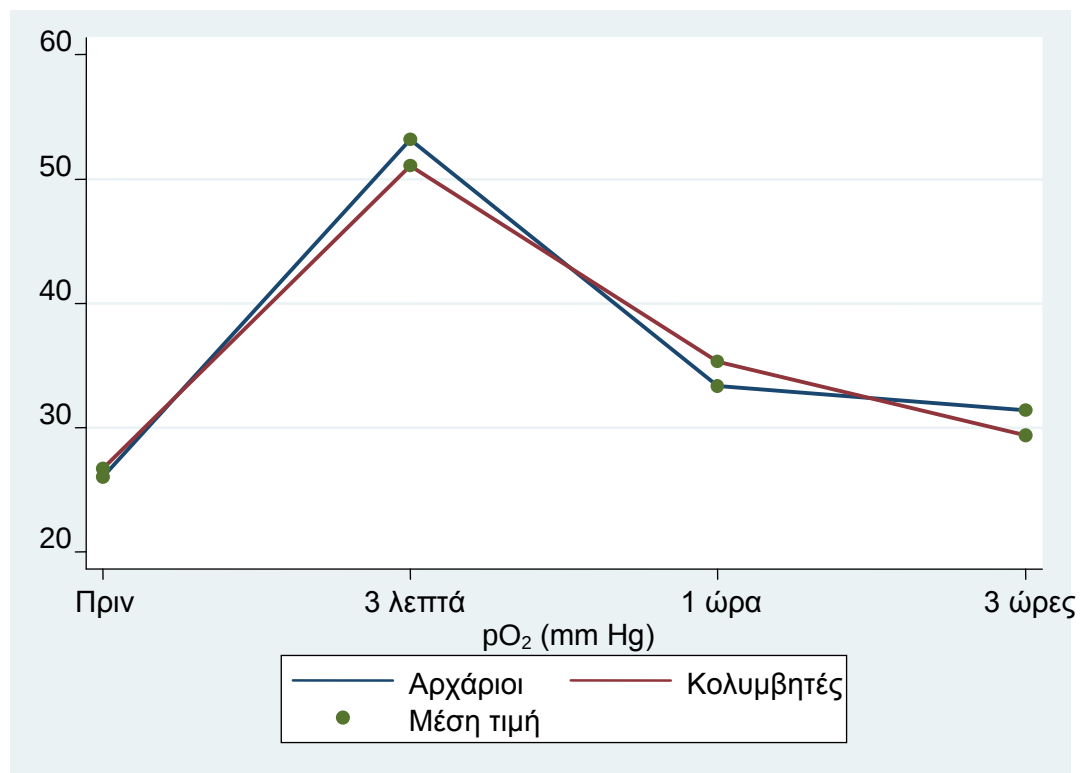
	Αρχάριοι			Κολυμβητές			p-value
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	
pCO ₂ (πριν)	15	51,82	5,18	15	52,0	4,63	0,92
pCO ₂ (3 λεπτά)	15	44,88	7,85	15	46,52	11,92	0,66
pCO ₂ (1 ώρα)	15	47,59	3,22	15	49,12	6,50	0,42
pCO ₂ (3 ώρες)	15	51,01	4,87	14	49,14	4,73	0,31



Δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων ως προς τη μερική πίεση CO₂ στο φλεβικό αίμα σε καμία χρονική στιγμή.

pO₂ (mmHg)

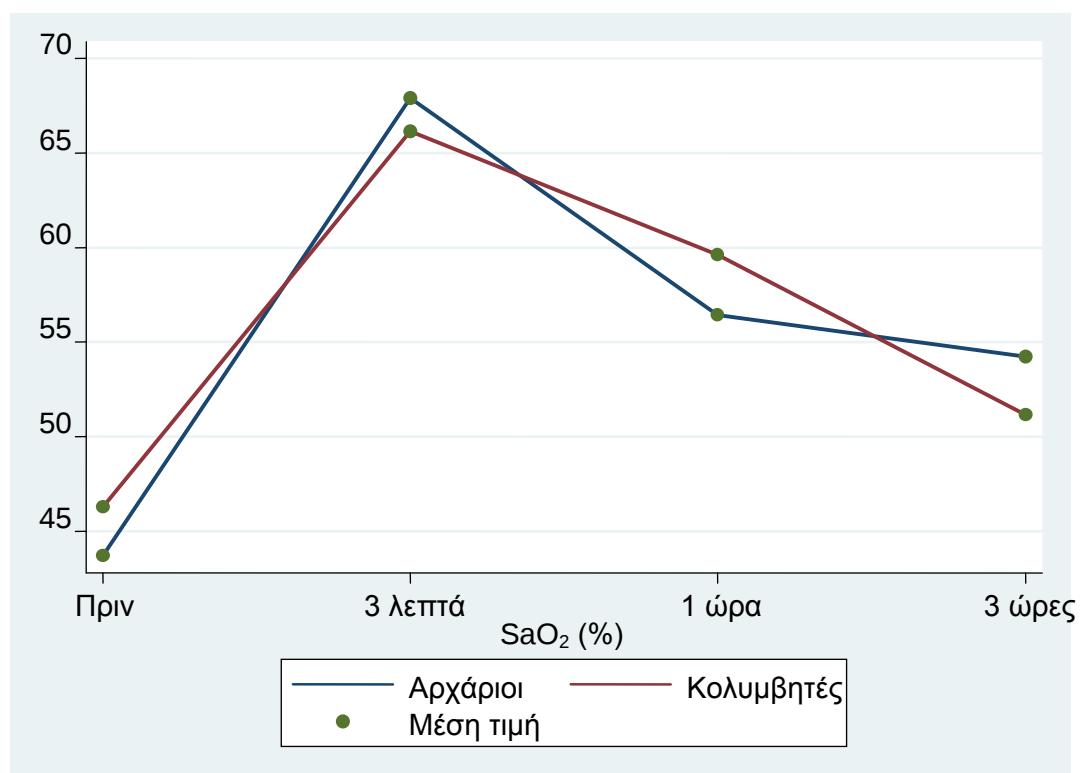
	Αρχάριοι			Κολυμβητές			p-value
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	
pO ₂ (πριν)	15	26,03	7,23	15	26,71	6,98	0,8
pO ₂ (3 λεπτά)	15	53,17	19,10	15	51,07	18,50	0,76
pO ₂ (1 ώρα)	15	33,35	12,08	15	35,30	13,93	0,69
pO ₂ (3 ώρες)	15	31,41	9,61	14	29,39	10,41	0,59



Δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων ως προς τη μερική πίεση O₂ στο φλεβικό αίμα σε καμία χρονική στιγμή.

Κορεσμός O₂ (%)

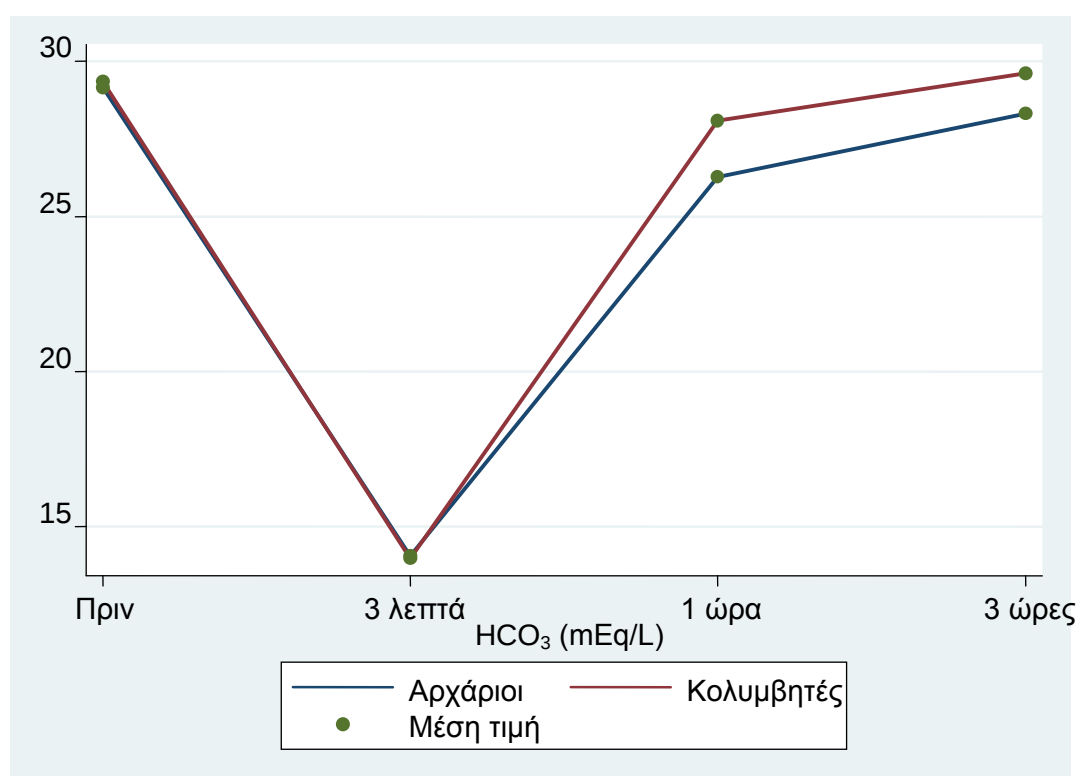
	Αρχάριοι			Κολυμβητές			p-value
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	
SaO ₂ (%) (πριν)	15	43,7	16,58	15	46,28	17,09	0,68
SaO ₂ (%) (3 λεπτά)	15	67,9	22,54	15	66,14	21,82	0,83
SaO ₂ (%) (1 ώρα)	15	56,44	21,76	15	59,6	19,31	0,68
SaO ₂ (%) (3 ώρες)	15	54,22	15,2	14	51,17	16,7	0,61



Δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων ως προς τον κορεσμό της αιμοσφαιρίνης σε O₂, στο φλεβικό αίμα, σε καμία χρονική στιγμή.

HCO₃ (mEq/L)

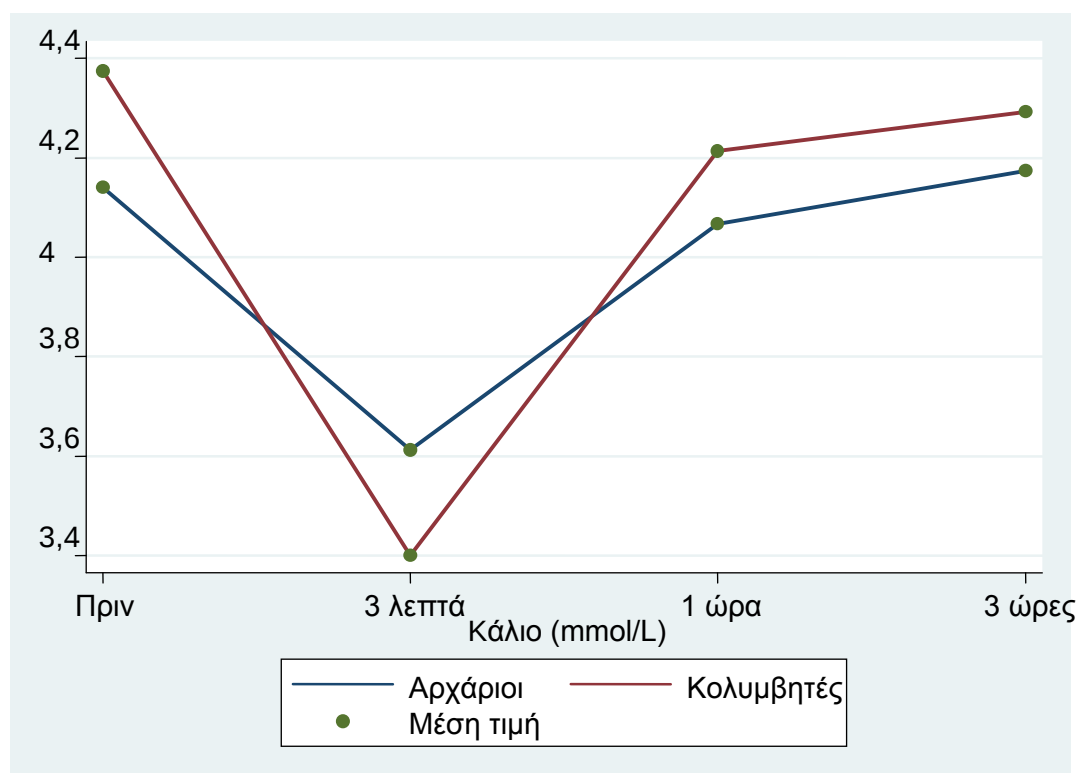
	Αρχάριοι			Κολυμβητές			p-value
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	
HCO ₃ (πριν)	15	29,15	1,68	15	29,34	2,06	0,79
HCO ₃ (3 λεπτά)	15	14,06	2,13	15	13,97	4,55	0,95
HCO ₃ (1 ώρα)	15	26,28	1,58	15	28,09	2,5	0,026
HCO ₃ (3 ώρες)	15	28,30	1,22	14	29,61	2,34	0,07



Δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων ως προς τη συγκέντρωση διττανθρακικών, στο φλεβικό αίμα, πλην της 1 ώρας, στην οποία η συγκέντρωση διττανθρακικών στους κολυμβητές ήταν υψηλότερη έναντι των αρχαρίων ($28,09 \pm 2,52$ έναντι $26,28 \pm 1,58$ mEq/L αντίστοιχα, $p=0,026$).

Κάλιο (mmol/L)

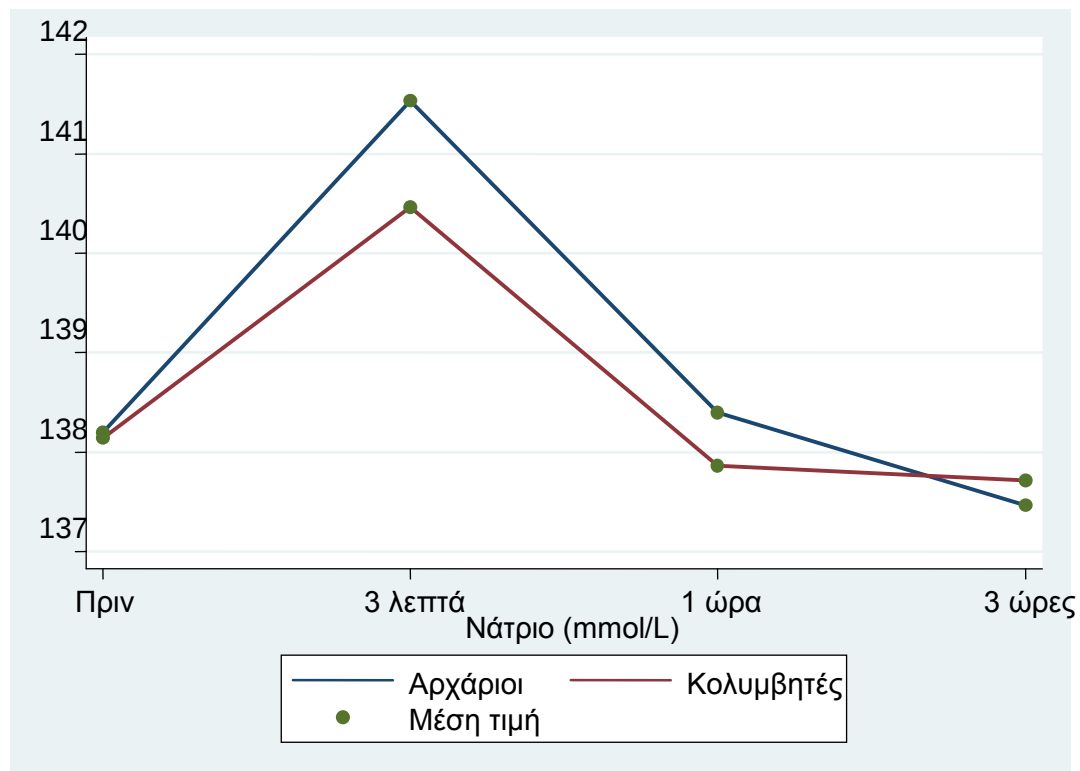
	Αρχάριοι			Κολυμβητές			
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	p-value
K ⁺ (πριν)	15	4,14	0,41	12	4,37	0,3	0,11
K ⁺ (3 λεπτά)	15	3,61	0,37	15	3,4	0,2	0,07
K ⁺ (1 ώρα)	15	4,06	0,27	15	4,2	0,19	0,11
K ⁺ (3 ώρες)	15	4,17	0,27	14	4,29	0,22	0,21



Δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων ως προς τη συγκέντρωση καλίου, στο φλεβικό αίμα, σε καμία χρονική στιγμή.

Νάτριο (mmol/L)

	Αρχάριοι			Κολυμβητές			p-value
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	
Na ⁺ (πριν)	15	138,2	1,82	14	138,1	1,65	0,93
Na ⁺ (3 λεπτά)	15	141,5	2,29	15	140,4	2,58	0,24
Na ⁺ (1 ώρα)	15	138,4	1,59	15	137,8	1,68	0,38
Na ⁺ (3 ώρες)	15	137,4	1,50	14	137,7	1,63	0,68

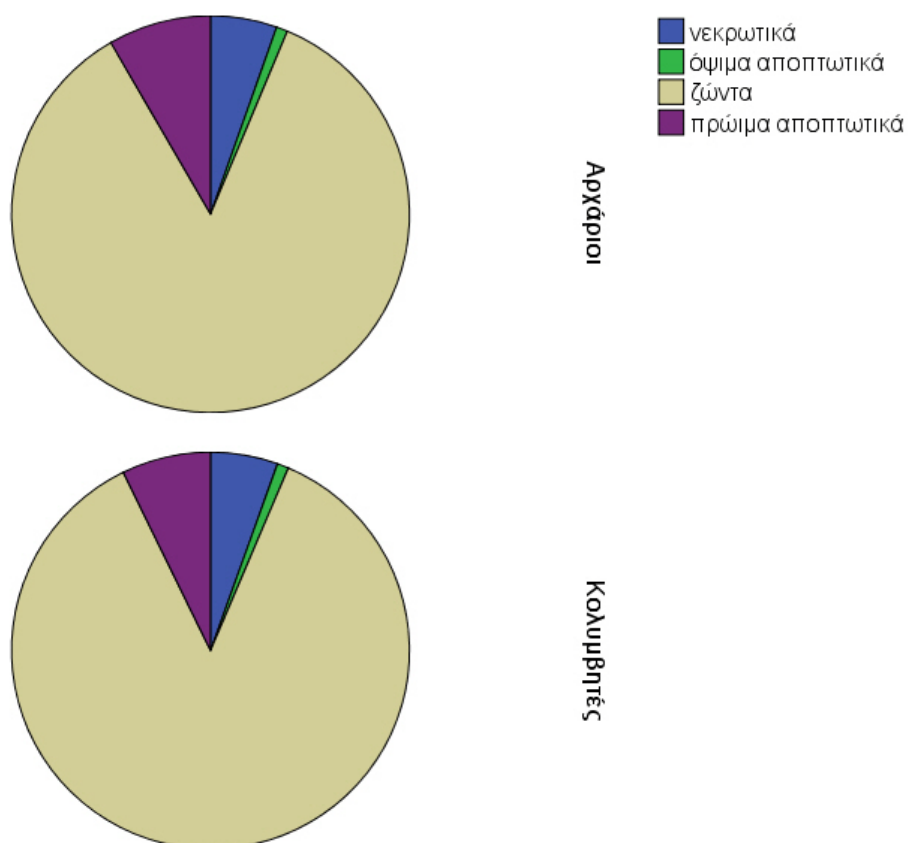


Δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων ως προς τη συγκέντρωση νατρίου, στο φλεβικό αίμα, σε καμία χρονική στιγμή.

3' μετά την άσκηση

GROUP	Ζώντα	Νεκρωτικά	Όψιμα αποπτωτικά	Πρώιμα αποπτωτικά
Αρχάριοι	85,33 %	5,40 %	0,92 %	8,35 %
Κολυμβητές	86,38 %	5,47 %	0,93 %	7,23 %
p-value	0,63	0,95	0,97	0,37

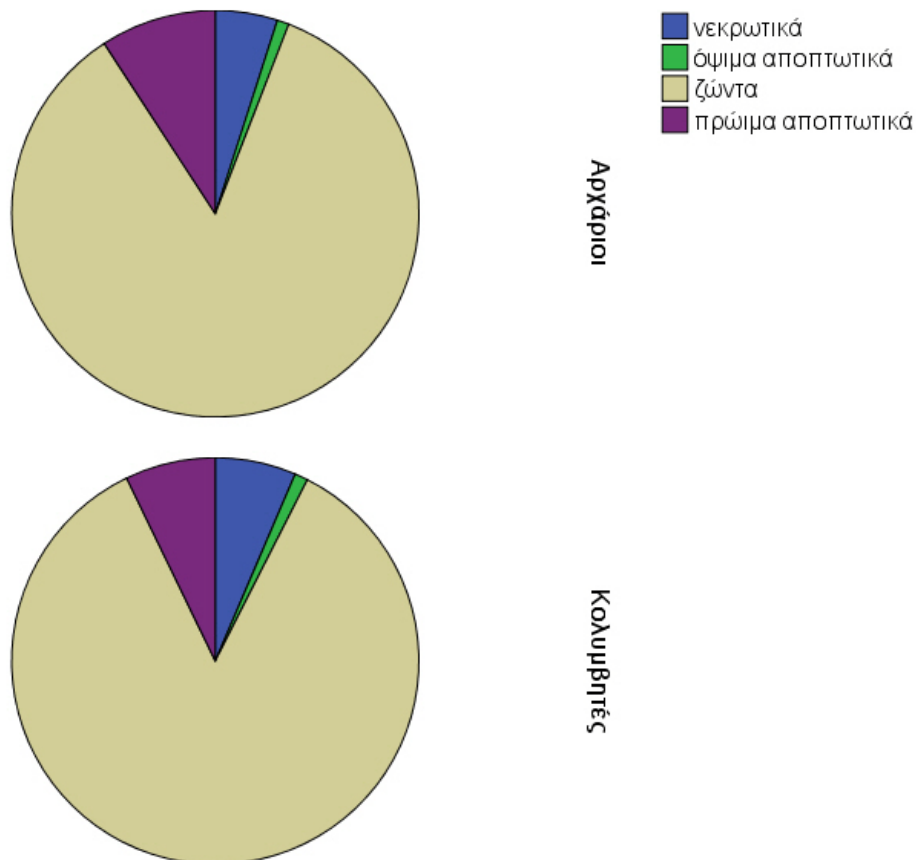
Ποσοστά λεμφοκυττάρων 3' μετά την άσκηση



1 ώρα μετά την άσκηση

GROUP	Ζώντα	Νεκρωτικά	Όψιμα αποπτωτικά	Πρώιμα αποπτωτικά
Αρχάριοι	84,93 %	4,94 %	23,60 %	9,19 %
Κολυμβητές	85,35 %	6,42 %	23,87 %	7,17 %
p-value	0,85	0,26	0,97	0,24

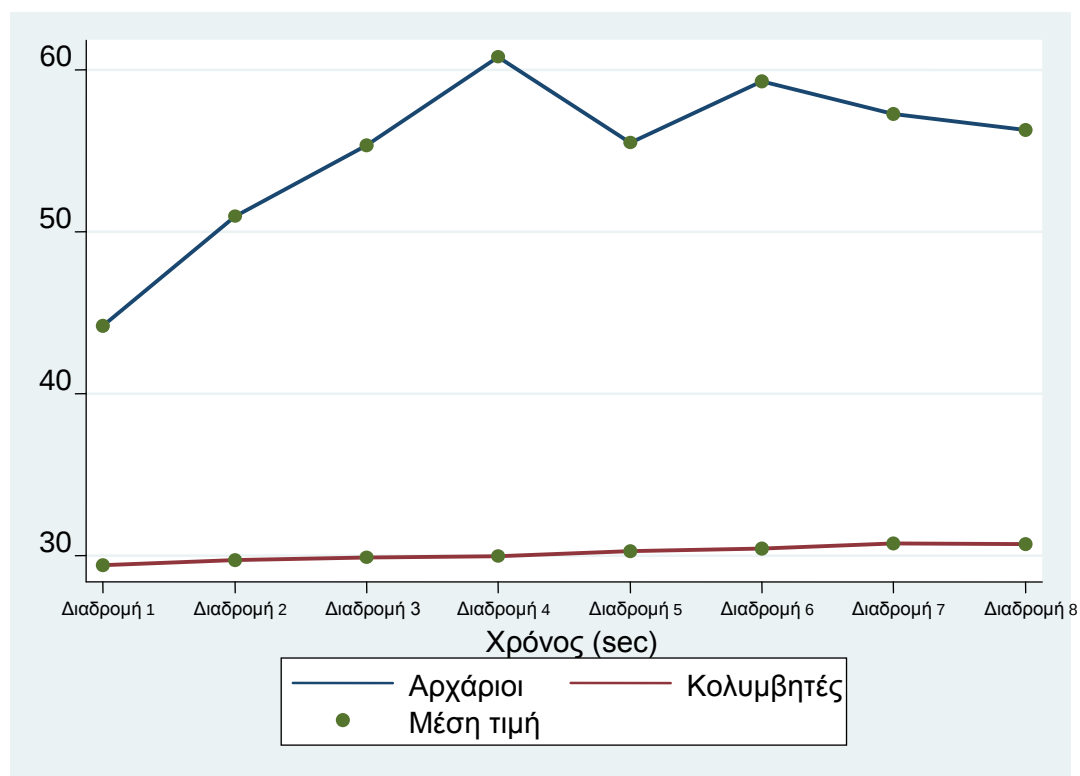
Ποσοστά λεμφοκυττάρων 1 ώρα μετά την άσκηση



Χρόνος

Υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 2 ομάδων ως προς το μέσο χρόνο στον οποίο διήνυσαν την κάθε διαδρομή των 50μ. με τους κολυμβητές να χρειάζονται πολύ λιγότερο χρόνο ($30,13 \pm 1,69$ sec) απ' όσον οι αρχάριοι ($56,23 \pm 13,72$ sec), $p < 0,001$.

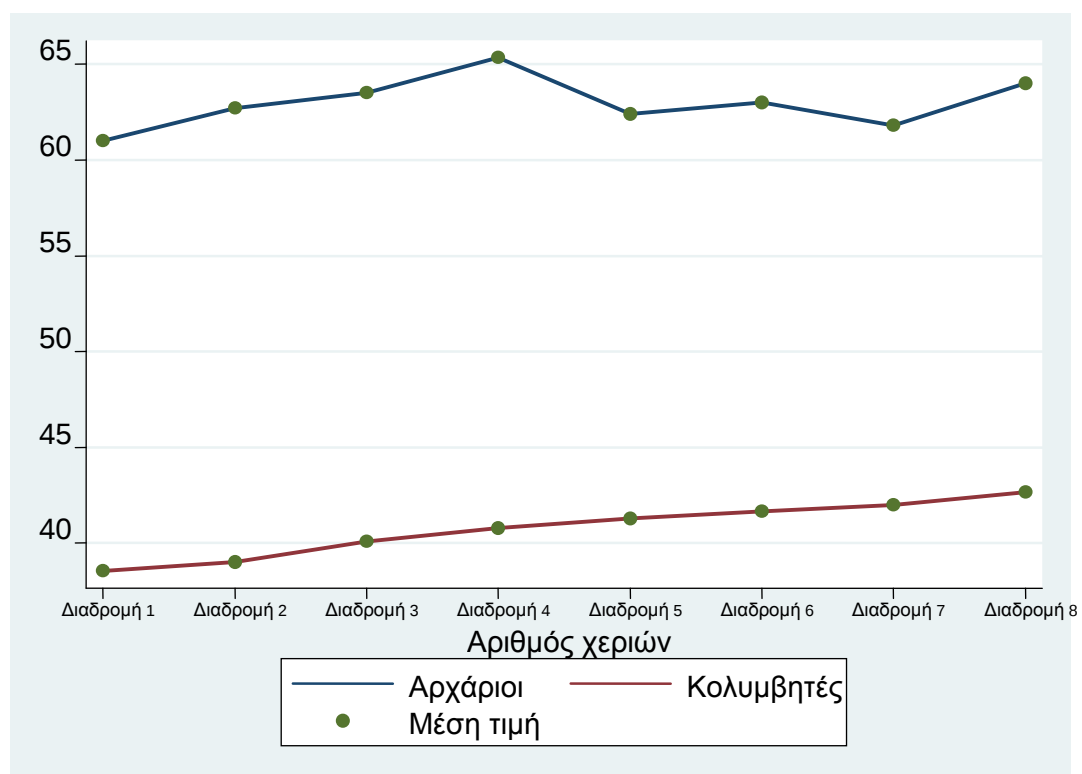
	Αρχάριοι			Κολυμβητές			<i>p</i> -value
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	
Μέσος χρόνος διαδρομής 50μ. (sec)	10	56,23	13,72	15	30,13	1,69	<0,001



Αριθμός χεριών

Υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των 2 ομάδων ως προς το μέσο αριθμό χεριών που κατέβαλαν για να διανύσουν κάθε μια από τις 8 διαδρομές των 50μ. με τους κολυμβητές να χρειάζονται πολύ λιγότερες χεριές ($40,75 \pm 6,0$) απ' όσες οι αρχάριοι ($63,92 \pm 11,11$), $p < 0,001$.

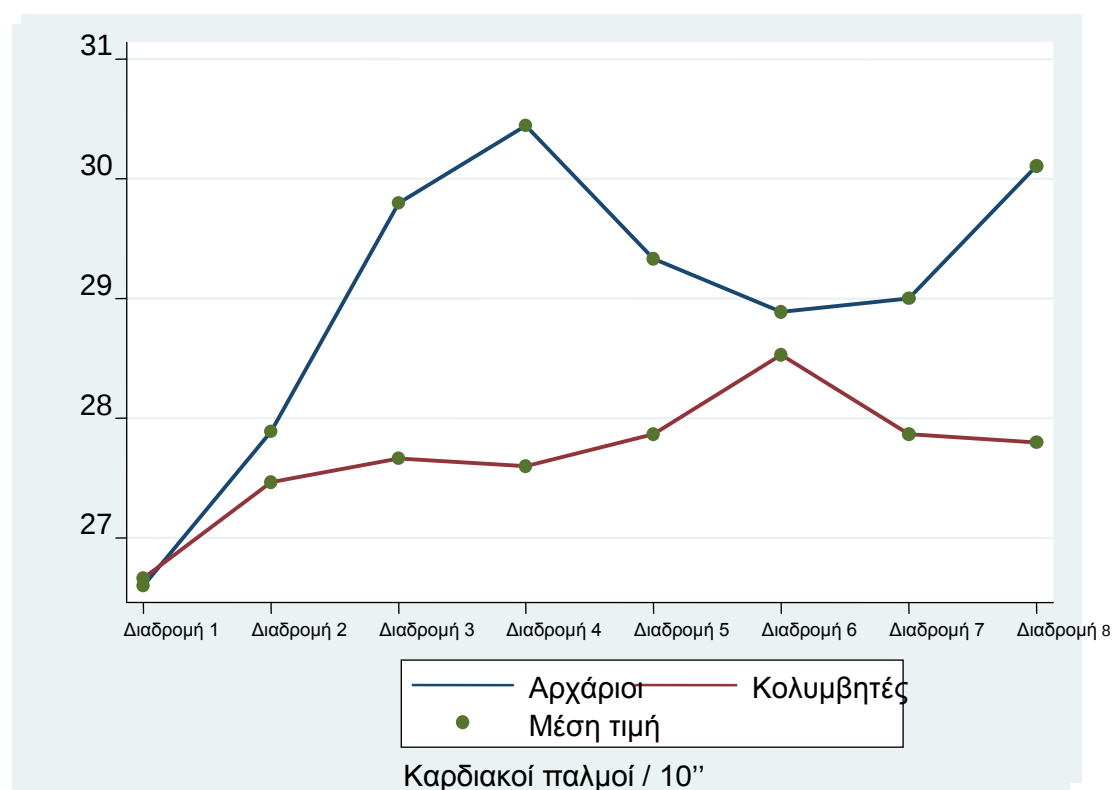
	Αρχάριοι			Κολυμβητές			p-value
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	
Αριθμός χεριών	8	63,92	11,1	15	40,75	6,0	<0,001



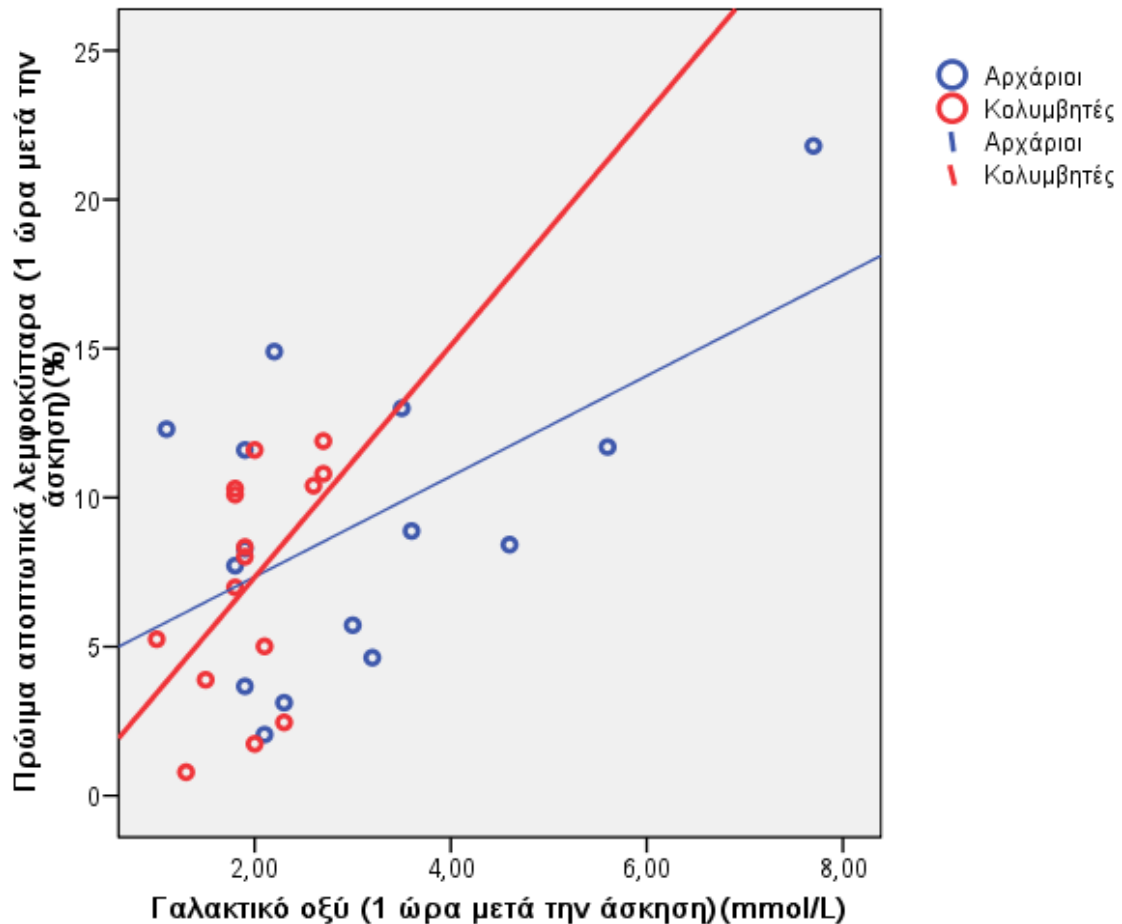
Καρδιακή συχνότητα

Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά στη μέση καρδιακή συχνότητα μεταξύ των 2 ομάδων ($174,55 \pm 14,94$ παλμοί/λεπτό για τους αρχάριους έναντι $166,10 \pm 14,51$ παλμών/λεπτό για τους κολυμβητές, $p=0,172$).

	Αρχάριοι			Κολυμβητές			<i>p</i> -value
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	
Καρδιακή συχνότητα (παλμοί/λεπτό)	10	174,5	14,94	15	166,1	14,51	0,17

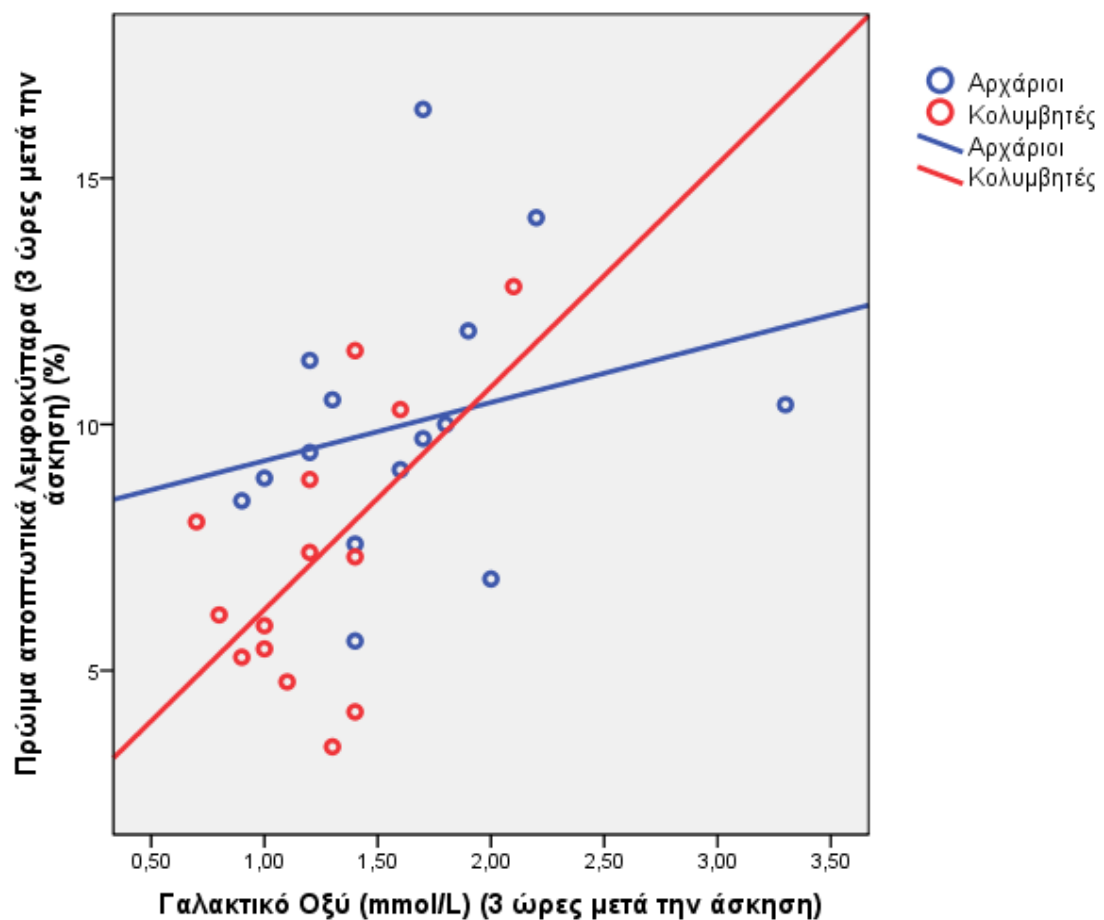


Συσχέτιση γαλακτικού οξέος με ποσοστό πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων ανά ομάδα (1 ώρα μετά την άσκηση).



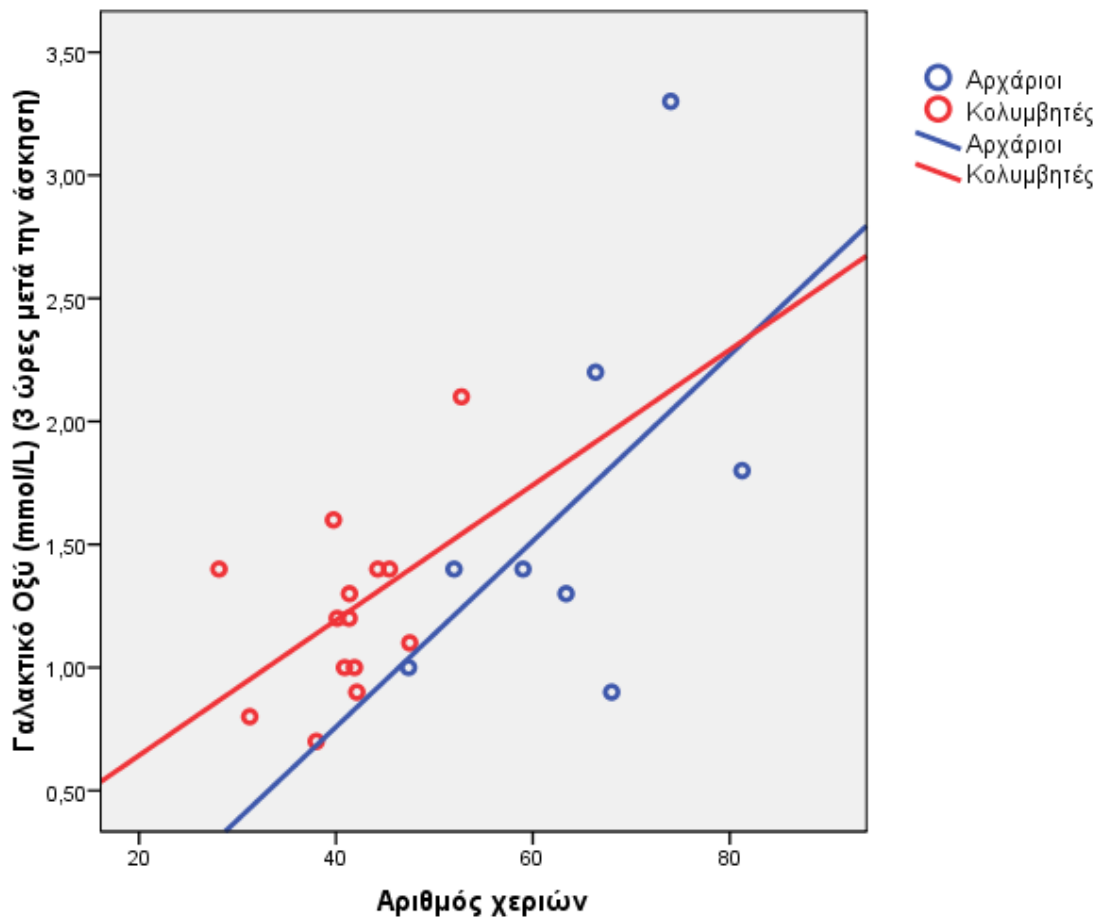
Όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση γαλακτικού οξέος την 1^η ώρα μετά την άσκηση τόσο μεγαλύτερο είναι το ποσοστό των πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων την ίδια χρονική στιγμή στην ομάδα των αρχαρίων ($r = 0,562$, $p = 0,029$). Η παραπάνω συσχέτιση είναι οριακά μη στατιστικά σημαντική στην ομάδα των κολυμβητών ($r = 0,502$, $p = 0,057$).

Συσχέτιση γαλακτικού οξέος με ποσοστό πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων ανά ομάδα (στις 3 ώρες).



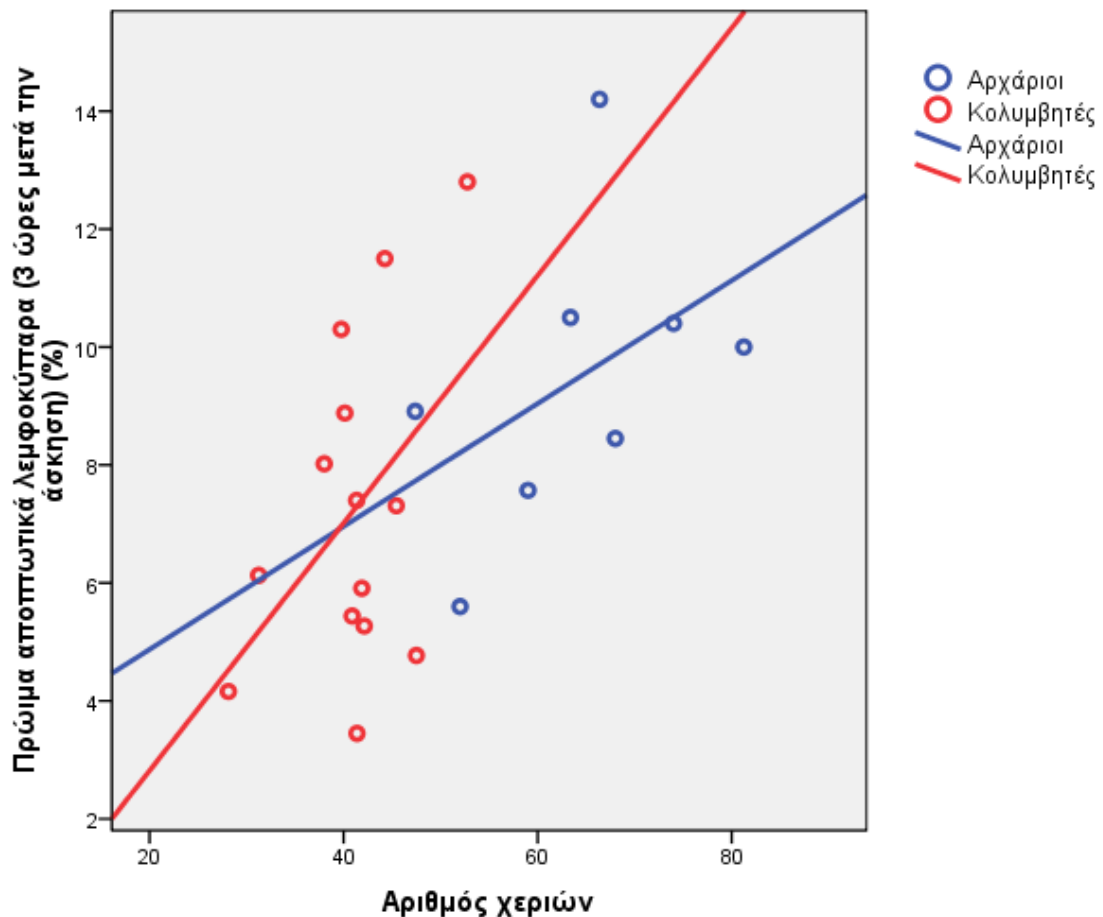
Όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση γαλακτικού οξέος στις 3 ώρες μετά την άσκηση τόσο μεγαλύτερο είναι το ποσοστό των πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων την ίδια χρονική στιγμή στην ομάδα των κολυμβητών ($r= 0,582$, $p=0,029$). Η παραπάνω συσχέτιση δεν είναι ούτε ισχυρή ούτε στατιστικά σημαντική στην ομάδα των αρχαρίων ($r= 0,256$, $p=0,36$).

Συσχέτιση γαλακτικού οξέος με μέσο αριθμό χεριών ανά ομάδα (στις 3 ώρες).



Όσες περισσότερες είναι οι χεριές των αθλητών τόσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση γαλακτικού οξέος στις 3 ώρες μετά την άσκηση συνολικά ($r= 0,583$, $p=0,004$). Ωστόσο, στις επιμέρους ομάδες η συσχέτιση αυτή, ενώ είναι γραμμική, δεν είναι στατιστικά σημαντική ούτε στην ομάδα των κολυμβητών ($r= 0,466$, $p=0,090$) ούτε στην ομάδα των αρχαρίων ($r= 0,537$, $p=0,170$). Το παραπάνω φαινόμενο αποδίδεται πιθανώς στο μικρό μέγεθος του δείγματος.

Συσχέτιση ποσοστού πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων με μέσο αριθμό χεριών ανά ομάδα (στις 3 ώρες).



Όσες περισσότερες είναι οι χεριές των αθλητών τόσο μεγαλύτερο είναι το ποσοστό των πρώιμα αποπτωτικών λεμφοκυττάρων στις 3 ώρες μετά την άσκηση συνολικά ($r= 0,543$, $p=0,009$). Ωστόσο, στις επιμέρους ομάδες η συσχέτιση αυτή, ενώ είναι γραμμική, δεν είναι στατιστικά σημαντική ούτε στην ομάδα των κολυμβητών ($r= 0,458$, $p=0,10$) ούτε στην ομάδα των αρχαρίων ($r= 0,460$, $p=0,25$). Το παραπάνω φαινόμενο ενδεχομένως να αποδίδεται επίσης στο μικρό μέγεθος του δείγματος.