



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΤΟΜΕΑΣ ΑΘΛΗΤΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΗΣ ΑΣΚΗΣΗΣ**

**«ΟΞΕΙΑ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΠΑΝΤΖΑΡΟΧΥΜΟΥ
ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΓΥΝΑΙΚΩΝ
ΣΤΗΝ ΑΣΚΗΣΗ»**

Αγγελική Τζίκα

**Μεταπτυχιακή Διατριβή
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΣΚΗΣΗΣ»**

ΑΘΗΝΑ 2021

© Copyright
Αγγελική Τζίκα
Σχολή Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού
Τμήμα Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού
Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
Εθνικής Αντιστάσεως 41, 172 37, Δάφνη, Αθήνα

Σημείωμα Συγγραφέα

Το δοκίμιο αυτό αποτελεί Μεταπτυχιακή Διατριβή που συντάχθηκε για το Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών «Βιολογία της Άσκησης», της Σχολής Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού του ΕΚΠΑ και υποβλήθηκε τον Ιούνιο του 2021.

Η συγγραφέας βεβαιώνει ότι το περιεχόμενο του παρόντος έργου είναι αποτέλεσμα προσωπικής εργασίας και ότι έχει γίνει η κατάλληλη αναφορά στην εργασία τρίτων –όπου κάτι τέτοιο ήταν απαραίτητο-, σύμφωνα με τους κανόνες της ακαδημαϊκής δεοντολογίας.

Εξεταστική Επιτροπή

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια
Μαρία Κοσκολού
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Εργοφυσιολογίας

Μέλος
Μαρία Γιαννακούλια
Καθηγήτρια Διατροφής και Διαιτητικής Συμπεριφοράς

Μέλος
Νικόλαος Γελαδάς
Καθηγητής Εργοφυσιολογίας

Πρακτικό εξέτασης

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
 **Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών**
ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών "Βιολογία της Άσκησης"

**ΠΡΑΚΤΙΚΟ
ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ
ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ**

Της Αγγελικής Τζίκα


Η τριμελής εξεταστική επιτροπή, που ορίστηκε από τη Συνέλευση του Τμήματος Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών στη συνεδρία της 5/6/2020 για την κρίση και αξιολόγηση της μεταπτυχιακής διατριβής της **κ. Αγγελικής Τζίκα** με τίτλο: «Οξεία επίδραση παντζαροχυμού σε φυσιολογικές αποκρίσεις γυναικών στην άσκηση» αποτελούμενη από τους κ.κ. **Μ. Κοσκολού**, Αναπλ. Καθηγήτρια της Σχολής Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (επιβλέπουσα), **Ν. Γελαδός**, Καθηγητή της Σχολής Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, **Μ. Γιαννακούλια**, Καθηγήτρια της Σχολής Επιστημών Υγείας και Αγωγής του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου, εκλήθησαν σήμερα 16/7/2021 ημέρα Παρασκευή και ώρα 10:30 ύστερα από επίσημη έγγραφη πρόσκληση μέσω τηλεδιάσκεψης στην ηλεκτρονική πλατφόρμα WEBEX (<https://uoa.webex.com/uoa/j.php?MTID=me9f846536512de26090480f8dc3c4a86>), προκειμένου να κρίνουν και αξιολογήσουν την παραπάνω διατριβή.

Μετά από διεξοδική συζήτηση και ανταλλαγή απόψεων μεταξύ των μελών της εξεταστικής επιτροπής κατέληξαν ότι η κρινόμενη διατριβή πληροί όλους τους όρους εκπόνησής της, είναι πρωτότυπη και προάγει την επιστημονική γνώση και ως εκ τούτου κρίνεται αποδεκτή και εγκρίνεται.

Τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής:


Μ. Κοσκολού, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών


Ν. Γελαδός, Καθηγητής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών


Μ. Γιαννακούλια, Καθηγήτρια του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου

Έκφραση ευχαριστιών

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα Καθηγήτριά μου κ. Μαρία Κοσκολού για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, την καθοδήγηση και τις υποδείξεις της, καθόλη τη διάρκεια διεκπόνησης της διατριβής. Υπήρξε πάντα διαθέσιμη να μου προσφέρει τις γνώσεις και τις παρατηρήσεις της, καθώς και προτάσεις για βελτίωση της μελέτης.

Ευχαριστώ επίσης τα μέλη της τριμελούς επιτροπής, την Καθηγήτρια κ. Μαρία Γιαννακούλια και ιδιαιτέρως τον Καθηγητή κ. Νικόλαο Γελαδά, για τις υποδείξεις και παρατηρήσεις, που συνέβαλαν στην ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας.

Τέλος, αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω μία προς μία και τις 6 δοκιμαζόμενες που συμμετείχαν στο πρωτόκολλο, καθώς και εκείνες που για προσωπικούς και άλλους λόγους δεν κατάφεραν να ολοκληρώσουν τις μετρήσεις. Τις ευχαριστώ για την προθυμία και την υπομονή που υπέδειξαν, δεδομένων των απαιτήσεων για πολύωρη και επαναλαμβανόμενη παρουσία στο εργαστήριο.

ΟΞΕΙΑ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΠΑΝΤΖΑΡΟΧΥΜΟΥ ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΓΥΝΑΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΑΣΚΗΣΗ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η προσπάθεια ανακάλυψης όλο και αποτελεσματικότερων βελτιωτικών απόδοσης, σε συνάρτηση με την ανάγκη για στροφή προς φυσικές ουσίες αποτελούν ίσως κάποιους από τους λόγους που τα τελευταία χρόνια έχουν οδηγήσει στην ανάδειξη του παντζαροχυμού ως εργογόνου συμπληρώματος, η διάδοση του οποίου ολόένα και αυξάνεται τόσο σε ερευνητικό επίπεδο, όσο και στην αθλητική πρακτική. Με τους ακριβείς μηχανισμούς δράσης του να μην έχουν πλήρως διαλευκανθεί, θεωρείται βέβαιο ότι τα φυσικά περιεχόμενα σε αυτόν νιτρικά έχουν το βασικότερο ρόλο. Τα νιτρικά του παντζαροχυμού εισερχόμενα στον οργανισμό ανάγονται σε μονοξείδιο του αζώτου, το οποίο ως δραστικό μόριο σηματοδότησης, είναι ικανό, ακόμη και μετά από μία και μόνη δόση σκευάσματος να τροποποιήσει φυσιολογικές αποκρίσεις κατά την άσκηση, επηρεάζοντας την απόδοση. Παρά την ευρεία μελέτη, που έχει αποδείξει την επίδραση του παντζαροχυμού σε διάφορα είδη άσκησης και μεταξύ διαφορετικών πληθυσμιακών ομάδων, η έρευνα που αφορά το γυναικείο φύλο παραμένει ανεπαρκής. Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με ερευνητικά δεδομένα, που υποδεικνύουν διαφορές στο μεταβολισμό του μονοξειδίου του αζώτου μεταξύ των δύο φύλων, καθιστά σημαντικό το σχεδιασμό μίας πειραματικής δοκιμής, που θα αφορά την επίδραση του παντζαροχυμού σε φυσιολογικές αποκρίσεις κατά την άσκηση, αποκλειστικά σε γυναίκες. Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν εξεταστεί η επίδραση του παντζαροχυμού σε φυσιολογικές αποκρίσεις κατά την άσκηση (υπομέγιστη, σταδιακά αυξανόμενης έντασης μέχρι εξάντλησης και σπριντ), αποκλειστικά σε γυναίκες. Επίσης διερευνήθηκε η επίδραση του παντζαροχυμού στην αρτηριακή πίεση προ- και μετά- ασκησιακά καθώς και η συσχέτιση του αιματοκρίτη με την απόδοση κατά το υπομέγιστο έργο.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Στη μελέτη συμμετείχαν 6 δοκιμαζόμενες αναπαραγωγικής ηλικίας, μέτριου προπονητικού επιπέδου. Αφού υποβλήθηκαν σε σωματομετρήσεις και εργομετρήσεις για την αξιολόγηση του αθλητικού τους προφίλ, εκτέλεσαν πρωτόκολλο με τρία είδη άσκησης: υπομέγιστο έργο, σπριντ και σταδιακά αυξανόμενης έντασης άσκηση μέχρι εξάντλησης 150 λεπτά μετά από χορήγηση παντζαροχυμού περιεκτικότητας 6-7 mmol νιτρικών. Σε επόμενη συνεδρία εκτέλεσαν πανομοιότυπο πρωτόκολλο άσκησης ακολουθούμενης από οξεία χορήγηση placebo σκευάσματος. Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν μεταξύ μέσης ωχρινικής και αρχής της επόμενης ωοθηλακικής φάσης του έμμηνου κύκλου των δοκιμαζομένων. Μετρήθηκαν ο αιματοκρίτης, η αρτηριακή πίεση (ηρεμίας πριν και μετά τη λήψη σκευάσματος και μετα-ασκησιακά), η καρδιακή συχνότητα και τα αναπνευστικά αέρια καθ' όλη τη διάρκεια του πρωτοκόλλου άσκησης, καθώς και η παραγόμενη ισχύς. Πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση *t*-test

και 2-way ANOVA επαναλαμβανόμενων μετρήσεων με διόρθωση Bonferroni και ανάλυση συσχέτισης Pearson's r. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε σε $\alpha=0,05$.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η διαφορά της αρτηριακής πίεσης 150 λεπτά μετά τη λήψη παντζαροχυμού σε σχέση με πριν (χρονική στιγμή 0) ($\Delta BP = BP_{150} - BP_0$) δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των συνθηκών παντζαροχυμού ($\Delta SBP = -0,09 \pm 3,09$, $\Delta DBP = 1,33 \pm 3,82$) και placebo ($\Delta SBP = 3,17 \pm 3,49$, $\Delta DBP = 3,75 \pm 4,30$), τόσο για τη συστολική ($p=0,259$), όσο και για τη διαστολική πίεση ($p=0,369$), ενώ για τη μέση αρτηριακή πίεση ($\Delta MBP_{BRJ} = 0,87 \pm 3,43$, $\Delta MBP_{PL} = 4,90 \pm 1,86$) οριακά δεν παρουσιάστηκε σημαντικότητα ($p=0,068$). Η μέση κατανάλωση οξυγόνου κατά το υπομέγιστο έργο μετά τη λήψη παντζαροχυμού ήταν $25,06 \pm 2,06$ ml/kg/min, ενώ στη συνθήκη placebo ήταν $25,77 \pm 3,09$ ml/kg/min χωρίς να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους ($p=0,276$). Δεν βρέθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ αιματοκρίτη και κατανάλωσης οξυγόνου κατά το υπομέγιστο έργο ($p=0,754$). Η μέγιστη ισχύς στο σπριντ στη συνθήκη λήψης παντζαροχυμού ($P_{max} = 577,9 \pm 76,32$ Watt) επίσης δεν διέφερε σημαντικά σε σύγκριση με τη συνθήκη placebo ($P_{max} = 563,96 \pm 109,18$ Watt) ($p=0,235$). Κατά τη δοκιμασία σταδιακά αυξανόμενης έντασης μέχρι εξάντλησης τόσο η μέγιστη κατανάλωση οξυγόνου (VO_{2peak}) όσο και η μέγιστη παραγόμενη ισχύς (P_{peak}) δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των συνθηκών ($p=0,691$, $p=0,235$), ενώ στατιστικά σημαντικά υψηλότερη ήταν η μέγιστη καρδιακή συχνότητα (HR_{max}) στη συνθήκη λήψης παντζαροχυμού ($179 \pm 12,65$ bpm) συγκριτικά με τη συνθήκη placebo ($176,8 \pm 12,56$ bpm) ($p=0,029$). Τέλος, δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη μετασκησιακή πίεση μεταξύ των 2 συνθηκών ($p_{treatment} = 0,138$, $p_{timextreatment} = 0,492$).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η μελέτη δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές στις περισσότερες παραμέτρους που μελετήθηκαν μεταξύ λήψης παντζαροχυμού και σκευάσματος placebo. Η σημαντικά υψηλότερη μέγιστη καρδιακή συχνότητα κατά τη λήξη του πρωτοκόλλου άσκησης μέχρι εξάντλησης, σε συνδυασμό με την ισχυρή τάση για διατήρηση της μέσης αρτηριακής πίεσης στη συνθήκη λήψης παντζαροχυμού σε σύγκριση με τη συνθήκη placebo, πιθανά υποδεικνύει αντιρροπιστική αντίδραση του οργανισμού απέναντι στην μείωση της συνολικής περιφερικής αντίστασης λόγω του αγγειοδιασταλτικού ρόλου του μονοξειδίου του αζώτου. Είναι πιθανό η λήψη παντζαροχυμού να οδήγησε σε βελτίωση της ευαισθησίας των τασεοϋποδοχέων των δοκιμαζομένων, αυξάνοντας το εύρος θετικής απόκρισης της καρδιακής τους συχνότητας κατά την άσκηση. Εντούτοις, κρίνεται αναγκαία η διεξαγωγή περαιτέρω έρευνας με μεγαλύτερο δείγμα δοκιμαζομένων για την εξαγωγή ασφαλέστερων συμπερασμάτων.

Λέξεις κλειδιά: παντζαροχυμός, νιτρικά, αρτηριακή πίεση, υπομέγιστο έργο, σπριντ, μετασκησιακή υπόταση, φυσιολογικές αποκρίσεις, γυναίκες

ACUTE EFFECT OF BEETROOT JUICE ON PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF WOMEN IN EXERCISE

ABSTRACT

INTRODUCTION

A continuing effort to discover more and more effective performance-enhancers, combined with the need to turn to natural substances, are perhaps some of the reasons that, in recent years, have led to the emergence of beetroot juice as an ergogenic supplement, the spread of which is growing on research level, as well as in sports practice. With its precise mechanisms of action being not fully elucidated yet, it is considered certain that the natural nitrate content of beetroot plays a key role. When entering the body beetroot nitrate is reduced to nitric oxide, which as an active signaling molecule and it is able, even after a single dose of the supplement, to modify normal responses during exercise, affecting performance. Despite the extensive study that has shown the effect of beetroot juice on different types of exercise and among different population groups, research on women remains insufficient. This fact, combined with research data showing differences in nitrogen monoxide metabolism between men and women, necessitates designing an experimental study of the effect of beetroot juice on normal exercise responses in women only. The purpose of this study was to examine the effect of beetroot juice on physiological responses during exercise (submaximal, gradually increasing intensity to exhaustion and sprinting), exclusively in women. The effect of beetroot juice on blood pressure pre- and post-exercise as well as the relationship between hematocrit and the effect of beetroot on performance during maximal work were also investigated.

METHOD

Six female subjects of reproductive age and moderate training level participated in the study. After undergoing body measurements and ergometric tests to evaluate their athletic profile, they performed a protocol with three types of exercise (sub-maximal work, sprinting, and incremental exercise to exhaustion), 150 minutes after ingestion of beetroot juice (6-7 mmol nitrate). At the next session, they performed an identical exercise protocol following acute placebo administration. All measurements were conducted between mean luteal and the beginning of the next ovarian phase of the subjects' cycle. Hematocrit, blood pressure (at rest before and after beetroot juice administration and post-exercise), heart rate and respiratory gases (throughout the exercise protocol) as well as the power output were measured. Statistical analysis was performed using t-test, 2-way ANOVA for repeated measurements with Bonferroni correction, and Pearson's r correlation. The level of statistical significance was set at $\alpha = 0.05$.

RESULTS

The difference in blood pressure 150 minutes after ingesting beetroot juice from baseline values (time 0) ($\Delta BP = BP_{150'} - BP_0$) did not show a significant difference between the

beetroot juice ($\Delta\text{SBP} = -0,09 \pm 3,09$, $\Delta\text{DBP} = 1,33 \pm 3,82$) and placebo ($\Delta\text{SBP} = 3.17 \pm 3.49$, $\Delta\text{DBP} = 3.75 \pm 4.30$) conditions, for both systolic ($p = 0.259$) and diastolic pressure ($p = 0.369$), while for mean blood pressure ($\text{DMBP}_{\text{BRJ}}=0.87\pm 3.43$, $\text{DMBP}_{\text{PL}}=4.90\pm 1.86$) the difference was marginally not significant ($p = 0.068$). The mean oxygen consumption during sub-maximal work did not differ ($p = 0.276$) after the ingestion of beetroot juice (25.06 ± 2.06 ml / kg / min) and placebo (25.77 ± 3.09 ml / kg / min). No significant relationship was found between hematocrit and oxygen uptake at submaximal work ($p=0.754$). Maximal power at the sprint in the beetroot condition ($P_{\text{max}} = 577.9 \pm 76.32$ Watt) also did not differ significantly ($p = 0.235$) compared to the placebo condition ($P_{\text{max}} = 563.96 \pm 109.18$ Watt). In the exercise test of gradually increasing intensity to exhaustion, both maximal oxygen consumption ($\text{VO}_{2\text{peak}}$) and maximal power (P_{peak}) did not differ significantly between conditions ($p = 0.691$; $p = 0.235$), but maximal heart rate (HR) was significantly higher in the beetroot juice condition (179 ± 12.65 bpm) compared to the placebo condition (176.8 ± 12.56 bpm) ($p = 0.029$). Finally, there was no significant difference in post-exercise blood pressure between the two conditions ($p_{\text{treatment}}= 0.138$, $p_{\text{timextreatment}}=0.492$).

CONCLUSION

The present study did not show statistically significant differences between beetroot juice and placebo conditions in most parameters examined. The statistically significantly higher maximal heart rate at the end of the incremental exercise protocol combined with the strong tendency for maintenance of mean blood pressure after beetroot ingestion as compared to the placebo condition could suggest a compensatory reaction of the body against reduction of total peripheral resistance elicited by nitric oxide acting as vasodilator. It is possible that beetroot juice ingestion led to improved baroreceptor sensitivity, increasing the range of positive heart rate response during exercise. Nevertheless, further research is needed with a larger sample in order to draw safer conclusions on this topic.

Keywords: beetroot juice, nitrates, blood pressure, submaximal work, sprint, post-hypotensive hypotension, normal responses, women.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΡΑΚΤΙΚΟ ΕΞΕΤΑΣΗΣ.....	V
ΕΚΦΡΑΣΗ ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΩΝ	VII
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	VII
ABSTRACT.....	VII
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1. 1. Σημασία της έρευνας	4
1. 2. Διατύπωση των ερευνητικών υποθέσεων.....	4
1. 3. Μεταβλητές.....	5
1. 4. Λειτουργικοί ορισμοί.....	5
1. 5. Οριοθετήσεις και περιορισμοί	5
ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ.....	7
2. 1. Μονοξείδιο του αζώτου, Νιτρώδη και Νιτρικά.....	7
2. 2. Σύνθεση μονοξειδίου του αζώτου	7
2. 2. 2. Μονοπάτι νιτρικών-νιτρωδών-μονοξειδίου του αζώτου	9
2. 3. Βιοχημεία μονοξειδίου του αζώτου.....	10
2. 3. 1. Αντίδραση με το οξυγόνο και το υπεροξείδιο	10
2. 3. 2. Αντίδραση με θειόλες	10
2. 3. 3. Αντίδραση με μεταλλοπρωτεΐνες και ομάδες αίμης.....	10
2. 4. Φυσιολογικές λειτουργίες μονοξειδίου του αζώτου.....	14
2. 4. 1. Νευρικό σύστημα.....	14
2. 4. 2. Καρδιαγγειακό σύστημα.....	14
2. 4. 3. Αναπνευστικό σύστημα	15
2. 4. 4. Γαστρεντερικό σύστημα	15
2. 4. 5. Ουρογεννητικό σύστημα.....	15
2. 4. 6. Ανοσοποιητικό σύστημα.....	16
2. 5. Μονοξείδιο του αζώτου στα δύο φύλα.....	16
2. 6. Μονοξείδιο του αζώτου στο σκελετικό μυ.....	18
2. 6. 1. Σύνθεση μονοξειδίου του αζώτου στο μυϊκό κύτταρο	18
2. 6. 2. Φυσιολογικές λειτουργίες μονοξειδίου του αζώτου στο σκελετικό μυ	20
2. 7. Συμπληρώματα μονοξειδίου του αζώτου και άσκηση.....	22
2. 7. 1. Χορήγηση L-αργινίνης	22

2. 7. 2. Νιτρικά άλατα	23
2. 7. 3. Διαιτητικά νιτρικά και νιτρώδη	23
2. 8. Παντζαροχυμός και αθλητική απόδοση	25
2. 8. 1. Φαρμακοδυναμική και σχέση δόσης αποτελέσματος.....	25
2. 8. 2. Χρόνια χορήγηση παντζαροχυμού και αθλητική απόδοση	26
2. 8. 3. Οξεία χορήγηση παντζαροχυμού και αθλητική απόδοση.....	28
2. 8. 4. Πρακτικά ζητήματα πειραματικών δοκιμών.....	41
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ.....	45
3.1. Επιλογή δείγματος	45
3.2. Περιγραφή οργάνων μέτρησης	45
3.3. Πειραματική διαδικασία	47
3.3.1. Περιβαλλοντικές συνθήκες.....	47
3.3.2. Οδηγίες στις δοκιμαζόμενες	47
3.3.3. Προκαταρκτικές διαδικασίες	48
3.3.4. Πειραματικές διαδικασίες.....	49
3.4. Στατιστική ανάλυση.....	51
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	53
4.1. Ανθρωπομετρικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά δείγματος	53
4.2. Αρτηριακή πίεση ηρεμίας.....	53
4.3. Δοκιμασία υπομέγιστου έργου	54
4.4. Δοκιμασία σπριντ.....	54
4.5. Δοκιμασία σταδιακά αυξανόμενης έντασης μέχρι εξάντλησης.....	55
4.6. Αρτηριακή πίεση μετα-ασκησιακά.....	55
4.7. Ανάλυση συσχέτισης αιματοκρίτη των δοκιμαζόμενων με τη διαφορά στην κατανάλωση οξυγόνου μεταξύ των δύο συνθηκών	57
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	59
5.1. Ανθρωπομετρικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά δοκιμαζομένων	59
5.2. Αρτηριακή πίεση πριν και μετά τη λήψη του σκευάσματος	60
5.3. Κατανάλωση οξυγόνου κατά το υπομέγιστο έργο	61
5.4. Μέγιστη αναερόβια ισχύς στο σπριντ.....	63
5.5. Μεταβλητές κατά την άσκηση σταδιακά αυξανόμενης έντασης μέχρι εξάντλησης.....	64
5.6. Μετα-ασκησιακές τιμές αρτηριακής πίεσης.....	65
5.7. Συσχέτιση αιματοκρίτη με τη διαφορά στην κατανάλωση οξυγόνου μεταξύ των δύο συνθηκών.....	66

5.8. Περιορισμοί	67
5.8.1. Μέγεθος δείγματος	67
5.8.2. Εκτίμηση βιοδιαθεσιμότητας NO	67
5.8.3. Έλεγχος της φάσης του έμμηνου κύκλου	68
5.9. Συμπεράσματα	68
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	71
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ.....	83

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα τελευταία χρόνια, η χρήση ουσιών που στοχεύουν στη βελτίωση της απόδοσης ολοένα και αυξάνεται, φαινόμενο που σημειώνεται σε όλες τις κατηγορίες -από επαγγελματίες αθλητές (Frączek, Warzecha, Tyrała and Pięta, 2016), έως ασκούμενους σε γυμναστήρια (Stubble, Frank, de Hon and van der Heijden, 2014) και φοιτητές (Ayrañci, Son and Son, 2005)- και αφορά όχι μόνο άνδρες, αλλά και αρκετές γυναίκες (Matich, 2007; Sadeghi and Arjan, 2015). Οι ουσίες αυτές συχνά περιλαμβάνουν παράνομα φάρμακα, όπως τα αναβολικά στεροειδή, με ποικίλες παρενέργειες για την υγεία και ηθικές ενστάσεις σχετικά με τη χρήση τους. Ωστόσο, σύμφωνα με πρόσφατη ανασκόπηση (Delikaris, 2017), ακόμη και οι νόμιμες εργογόνες ουσίες, που κυκλοφορούν στην αγορά (διττανθρακικό νάτριο, β-αλανίνη, β-υδροξυ-β-μεθυλοβουτυρικό οξύ, κρεατίνη, καρνιτίνη, καφεΐνη, διακλαδισμένης αλύσου αμινοξέα), μπορεί να είναι αμφιβόλου αποτελεσματικότητας, ή ακόμη και επικίνδυνες αν καταναλωθούν σε δόσεις μεγαλύτερες από τις συνιστώμενες.

Σε αντιδιαστολή με τα παραπάνω, έρχεται η ανάδειξη του παντζαροχυμού ως εργογόνου συμπληρώματος, η οποία υποστηρίζεται από όλο και περισσότερες επιστημονικές δοκιμές (Domínguez, Cuenca, Maté-Muñoz, García-Fernández, Serra-Paya, Lozano Estevan, et al., 2017). Καθώς πρόκειται για μία ουσία φυσικής προέλευσης, χωρίς παρενέργειες και με ελάχιστες πιθανότητες να αποδειχθεί επιβλαβής για την υγεία (Jones, 2014), κερδίζει όλο και περισσότερο έδαφος, όχι μόνο στην αθλητική, αλλά και στην ιατρική πρακτική. Πράγματι ο παντζαροχυμός έχει χρησιμοποιηθεί, ως θεραπευτική προσέγγιση έναντι της χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας, της υπέρτασης, της καρδιακής ανεπάρκειας και της ινσουλινο-

αντίστασης, αλλά και ως βελτιωτικό της απόδοσης, μέσω επίδρασης στη μυϊκή λειτουργία και τον αερόβιο μεταβολισμό (Domínguez, et al., 2017).

Η δράση αυτή του παντζαροχυμού φαίνεται να οφείλεται στην υψηλή του περιεκτικότητα σε ανόργανα νιτρικά (NO_3^-), τα οποία με την είσοδό τους στον οργανισμό ανάγονται σε νιτρώδη (NO_2^-) και ακολούθως σε μονοξείδιο του αζώτου (NO), αυξάνοντας τη συγκέντρωσή του στο πλάσμα (Cooper, 1999). Το NO παρουσιάζει σημαντικό ρυθμό πρόσδεσης στην αιμοσφαιρίνη, παρόμοιο με αυτόν του οξυγόνου (Cooper, 1999). Επίσης, το παραγόμενο ενδοθηλιακά ή και μυϊκά NO φαίνεται να επηρεάζει την απελευθέρωση οξυγόνου από τις ομάδες αίμας της αιμοσφαιρίνης διευκολύνοντας την απόσπαση οξυγόνου από τους ιστούς (Tengan, 2012).

Το μόριο αυτό, εμφανίζοντας υψηλή συγγένεια με τις μεταλλοπρωτεΐνες συνδέεται με πληθώρα βιολογικών διεργασιών. Πέρα από την αγγειοδιαστολή και τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης (Hermann, Flammer, and Luscher, 2006), το NO δρα και ως νευροδιαβιβαστής στο αναπνευστικό και το πεπτικό σύστημα (Higenbottam, Siddons and Demoncheaux, 2000; Kochar, Chandewal., Bakal and Kochar, 2010). Πιο πρόσφατα δεδομένα συνδέουν το NO και με ενίσχυση της μακροχρόνιας μνήμης (Paul and Ekambaram, 2011), αλλά και με παρεμπόδιση πολλαπλασιασμού παθογόνων ή καρκινικών κυττάρων (Bogdan, 2015).

Πέρα από τις γενικές φυσιολογικές του λειτουργίες, το NO έχει μεγάλη λειτουργική σημαντικότητα και σε επίπεδο σκελετικού μυός (Reid, 1998). Ένζυμα που σχετίζονται με τη σύνθεσή του και την αναγωγή των πρόδρομων του μορίων, απαντούν και εκφράζονται στους σκελετικούς μύες (Reid, 1998). Σύμφωνα με τους Stamler και Meissner (2001), η

δράση του NO στους σκελετικούς μύες έγκειται στην παραγωγή ισχύος (μέσω σύζευξης μυϊκής διέγερσης και συστολής), την αυτορρύθμιση της αιματικής ροής, τη διαφοροποίηση των μυοκυττάρων, τη μιτοχονδριακή αναπνοή και το μεταβολισμό της γλυκόζης. Επιπρόσθετα, η προκαλούμενη αγγειοδιαστολή ενισχύει την ανταλλαγή θρεπτικών ουσιών και παραπροϊόντων (Bescos, Ferrer-Roca, Galilea, Roig, Drobic, Sureda, et al., 2012), ενώ συνεισφέρει και στην ταχύτερη αποκατάσταση των ασκούμενων μυών, μέσω αναπλήρωσης φωσφοκρεατίνης και επαναφοράς του pH (Vanhatalo, Bailey, Blackwell, Winyard and Jones, 2011).

Το NO επομένως, θα μπορούσε να θεωρηθεί ευεργετικός παράγοντας στη βελτίωση της απόδοσης. Είναι γεγονός, ότι η ίδια η άσκηση μπορεί να αυξήσει τους δείκτες παραγωγής NO (Maeda, Miyauchi, Kakiyama, Sugawara, Iemitsu, Irukayama-Tomobe, et al., 2001; Maeda, Otsuki, Iemitsu, Kamioka, Sugawara, Kuno, et al., 2006; Maeda, Tanabe, Otsuki, Sugawara, Iemitsu, Miyauchi, et al., 2004), ενώ υποστηρίζεται ότι η αύξηση της παραγωγής του, ενδεχομένως αποτελεί βασικό παράγοντα βελτίωσης της απόδοσης (Gilchrist, Winyard and Benjamin, 2010). Πράγματι, σε μελέτες με υγιείς δοκιμαζόμενους, η αύξηση των δεικτών σύνθεσης του NO παρουσίασε θετική συσχέτιση με την απόδοση, ενώ διαταραγμένη σύνθεσή του σχετίστηκε με περιορισμό της ικανότητας για άσκηση σταδιακά αυξανόμενης έντασης (Rassaf, Lauer, Heiss, Balzer, Mangold, Leyendecker, et al., 2007). Ακόμη, η αυξημένη συγκέντρωση νιτρικών στο πλάσμα, φάνηκε να έχει θετική επίδραση σε άσκηση αντοχής, υψηλής έντασης (Dreissigacker, Wendt, Wittke, Tsikas and Maassen, 2010), ενώ σε δοκιμασία μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου, οι δοκιμαζόμενοι με τις καλύτερες επιδόσεις

παρουσίασαν επίσης τη μεγαλύτερη παραγωγή NO (Allen, Cobb and Gow, 2005).

Παρά την αποτελεσματικότητα της ίδιας της προπόνησης στη βελτίωση της παραγωγής NO, τα τελευταία χρόνια γίνονται προσπάθειες αύξησης της ενδογενούς σύνθεσής του και με χρήση συμπληρωμάτων. Θετικά αποτελέσματα φαίνεται να επιφέρει η διαιτητική χορήγηση νιτρικών και νιτρικών (Larsen, Weitzberg, Lundberg and Ekblom, 2007), τα οποία απαντώνται σε ικανοποιητικές ποσότητες σε διάφορα φρούτα και λαχανικά μεταξύ οποίων κατατάσσονται το σέλερυ, το μαρούλι, το σπανάκι, το παντζάρι και η ρόκα. Καθίσταται, επομένως, προφανής ο λόγος για τον οποίο ο παντζαροχυμός βρίσκεται μεταξύ των πιο ευρέως χρησιμοποιούμενων πηγών νιτρικών σε πειραματικές μελέτες. Πρόκειται για ένα φυσικό σκεύασμα, που βρίσκεται και καταναλώνεται με ευκολία, ενώ σε ποσότητα 500ml προσδίδει περίπου 300-500mg (5-8mmol) νιτρικών, ποσό επαρκές να επιφέρει αποτελέσματα (Lundberg, Carlström, Larsen and Weitzberg, 2011).

Μάλιστα, ενώ κάποιοι ερευνητές ανέδειξαν την ευεργετική του επίδραση μετά από 3 έως και 15 μέρες συνεχούς κατανάλωσής του (Fulford, Winyard, Vanhatalo, Bailey, Blackwell, and Jones, 2013; Kelly, Fulford, Vanhatalo, Blackwell, French, Bailey, et al., 2013; Vanhatalo, Bailey, Blackwell, DiMenna, Pavey, Wilkerson, et al., 2010), θετικά αποτελέσματα αναδεικνύονται ακόμη και με μία μόνη δόση παντζαροχυμού 2,5 έως 3 ώρες πριν την έναρξη της άσκησης. Συγκεκριμένα, οξεία χορήγηση νιτρικών με τη μορφή παντζαροχυμού, έχει συνδεθεί με μείωση της συστολικής πίεσης ηρεμίας (Vanhatalo, et al., 2010; Bond, Curry, Adams, Asadi, Millis and Haddad, 2013; Bond, Curry, Adams, Millis and Haddad, 2014; Rienks,

Vanderwoude, Maas, Blea and Subudhi, 2015; Flueck, Bogdanova, Mettler, and Perret, 2016), του κόστους οξυγόνου σε υπομέγιστη άσκηση (Vanhatalo, et al., 2010; Bond, et al., 2013; 2014; Muggeridge, Howe, Spendiff, Pedlar, James and Easton, 2013; 2014; Rienks, et al., 2015; Flueck, et al., 2016), καθώς και του χρόνου ολοκλήρωσης συγκεκριμένης δοκιμασίας (Lansley, Winyard, Bailey, Vanhatalo, Wilkerson, Blackwell, et al., 2011; Peeling, Cox, Bullock and Burke, 2015; Shannon, Barlow, Duckworth, Williams, Wort, Woods, Siervo, et al., 2017). Ακόμη, η οξεία χορήγηση παντζαροχυμού επέφερε αύξηση της παραγόμενης ισχύος και του λόγου της με την κατανάλωση οξυγόνου σε μελέτη με πρωτόκολλο σταδιακά αυξανόμενης έντασης (Lansley, Winyard, Fulford, Vanhatalo, Bailey, Blachwell, et al., 2011), αλλά και της μέγιστης ισχύος σε πρωτόκολλο με σπριντ (Rimer, Peterson, Coggan and Martin, 2016) ή ισομετρική συστολή (Coggan, Leibowitz, Kadkhodayan, Thomas, Ramamurthy, Anderson Spearie, et al., 2015).

Σε κάποιες περιπτώσεις, βέβαια, τα αποτελέσματα ήταν ουδέτερα. Κοινό χαρακτηριστικό τους ήταν ότι το δείγμα αποτελούσαν υψηλού επιπέδου αθλητές (Broosma, Whitfield and Spriet, 2014; MacLeod, Nugent, Barr, Khomele, Sporer and MacInnis, 2015; Arnold, James, Jones, Wylie and Macdonald, 2015; Carriker, Mermier, VanDusselsorp, Johnson, Beltz, Vaughan, et al., 2016; Lowings, Shannon, Deighton, Matu and Barlow, 2017), ενώ σε τρεις από αυτές (MacLeod, et al., 2015; Arnold, et al., 2015; Carriker, et al., 2016), τα εργομετρικά τεστ πραγματοποιήθηκαν επιπλέον σε συνθήκες υποξίας. Επίσης, αμφίβολη παραμένει και η αποτελεσματικότητα του παντζαροχυμού σε συνδυασμό με άλλα εργογόνα συμπληρώματα, όπως η καφεΐνη (Glaister, Pattison, Muniz-Pumares,

Patterson and Foley, 2015; Lane, Hawley, Desbrow, Jones, Blackwell, Ross, et al., 2013) και το φωσφορικό νάτριο (Buck, Henry, Guelfi, Dawson, McNaughton and Wallman, 2015).

Παρόλο που μέσα στην τελευταία δεκαετία έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές μελέτες σχετικά με την επίδραση της οξείας χορήγησης παντζαροχυμού στην αθλητική απόδοση, μόνο τέσσερις από αυτές (Bond, et al., 2013; 2014, Rienks, et al., 2015; Wickham, et al., 2019) αφορούν αποκλειστικά γυναίκες. Μάλιστα, οι δύο από αυτές έχουν ένα βασικό περιορισμό: παρόλο που συχνότερα χρησιμοποιούμενο ως placebo σκεύασμα στους υπόλοιπους πειραματικούς σχεδιασμούς ήταν παντζαροχυμός απεμπλουτισμένος από νιτρικά, ή χυμός cranberry, στις μελέτες των Bond et al., χρησιμοποιήθηκε πορτοκαλάδα, γεγονός που απέκλεισε τη δυνατότητα για «τυφλή» δοκιμή. Επιπρόσθετα, στις ίδιες αυτές μελέτες το δείγμα περιελάμβανε μόνο γυναίκες Αφρο-αμερικανικής καταγωγής, επομένως παρουσιάζεται περιορισμένη γενικευσιμότητα σε Καυκάσιο πληθυσμό.

Υπάρχουν πειραματικά δεδομένα που υποδηλώνουν ότι ο μεταβολισμός του NO διαφέρει ανάμεσα στα δύο φύλα (Forte, Kneale, Milne, Chovienczyk, Johnston, Benjamin, et al., 1998; Gladwin, Schnechter, Ognibene, Coles, Reiter, Schenke, et al., 2003). Επιπρόσθετα, υπάρχουν ενδείξεις, ότι ο μεταβολισμός του NO διαφοροποιείται και στα διάφορα στάδια του έμμηνου κύκλου των γυναικών (Kharitonov, Logan-Sinclair, Busset and Shinebourne, 1994; Manau, Balasch, Jimenez, Fabregues, Casamitjana, Creus, et al., 1999; Teran, Escudero and Vivero, 2001; Giusti, Fazzuoli, Cavallero and Valenti, 2002), πράγμα που σημαίνει πως η παράλειψη των ερευνητών, που έχουν συμπεριλάβει γυναίκες στο δείγμα τους (Bond, et al., 2013; 2014; Buck, et al.,

2015; Glaister, et al., 2015; Rienks, et al., 2015; Wickham, McCarthy, Pereira, Cervone, Verdijk, van Loon, et al. et al., 2019), να απομονώσουν τον παράγοντα αυτόν αποτελεί σημαντικό περιορισμό στις μελέτες τους.

Μία άλλη παράλειψη των μελετών, που εξετάζουν την επίδραση της οξειίας χορήγησης παντζαροχυμού στην αθλητική απόδοση, είναι ότι δεν περιλαμβάνουν μετα-ασκησιακές τιμές στα αναπνευστικά αέρια, την καρδιακή συχνότητα, ή την αρτηριακή πίεση. Το γεγονός αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό, αν λάβουμε υπόψη το φαινόμενο της μετα-ασκησιακής υπότασης. Συγκεκριμένα, μία και μόνη δόση άσκησης έχει φανεί ότι μπορεί να οδηγήσει σε πτώση της αρτηριακής πίεσης αμέσως μετά τη λήξη της, γεγονός που συνδέεται και με παρατεταμένη αγγειοδιαστολή, έως και 2 ώρες μετά (Halliwill, Buck, Lacombe and Romero, 2013). Πρόκειται δε, για ένα ιδιαίτερα σημαντικό φαινόμενο, μιας και θεωρείται ότι προβλέπει τη μακροχρόνια μείωση της αρτηριακής πίεσης εξαιτίας της άσκησης (Liu, Goodman, Nolan, Lacombe and Thomas, 2011). Η πτώση της αρτηριακής πίεσης μετα-ασκησιακά αποδίδεται σε κεντρικά ρυθμιζόμενη αναστολή της συμπαθητικής δράσης, σε συνδυασμό με τοπικούς αγγειοδιασταλτικούς παράγοντες. Στους παράγοντες αυτούς, περιλαμβάνεται και το NO, γεγονός που αφήνει ανοιχτό το ενδεχόμενο περαιτέρω μείωσης της αρτηριακής πίεσης μετα-ασκησιακά, με τη λήψη συμπληρώματος νιτρικών (Halliwill, et al., 2013).

Σκοπός, επομένως, της παρούσας εργασίας ήταν ο έλεγχος της οξειίας επίδρασης συμπληρώματος νιτρικών με μορφή παντζαροχυμού σε γυναίκες, κατά τη διάρκεια άσκησης, υπομέγιστης και μέγιστης έντασης. Επιπρόσθετα, μελετήθηκε και η πιθανή επίδραση του παντζαροχυμού στην αρτηριακή πίεση προ-, αλλά και μετα-ασκησιακά. Τέλος,

εξετάστηκε η πιθανότητα συσχέτισης του μεγέθους της επίδρασης του παντζαροχυμού με τον αιματοκρίτη των δοκιμαζομένων.

1. 1. Σημασία της έρευνας

Έχει αξία να μελετηθεί η επίδραση της οξειίας διαιτητικής χορήγησης συμπληρώματος νιτρικών με τη μορφή παντζαροχυμού, στις καρδιαγγειακές και αναπνευστικές αποκρίσεις γυναικών κατά την άσκηση. Η ανάγκη αυτή για εξειδίκευση ως προς το γυναικείο φύλο αποκτά μεγάλη σημασία, αν λάβουμε υπόψη ότι ο μεταβολισμός του NO διαφέρει ανάμεσα στα δύο φύλα και επίσης διαφοροποιείται στα διάφορα στάδια του έμμηνου κύκλου των γυναικών, πράγμα που σημαίνει πως η παράλειψη ελέγχου της φάσης του έμμηνου κύκλου στις έρευνες που έχουν συμπεριλάβει γυναίκες στο δείγμα τους αποτελεί σημαντικό περιορισμό στις προηγούμενες μελέτες και οδηγεί πιθανόν σε εξαγωγή επισφαλών συμπερασμάτων.

1. 2. Διατύπωση των ερευνητικών υποθέσεων

Με βάση τα παραπάνω οι ερευνητικές υποθέσεις που διατυπώνονται στην παρούσα μελέτη είναι:

1. Η αρτηριακή πίεση θα μειωθεί 2,5 ώρες μετά τη λήψη του παντζαροχυμού.
2. Η κατανάλωση οξυγόνου στη συνεχόμενη άσκηση θα είναι μικρότερη στη συνθήκη λήψης παντζαροχυμού συγκριτικά με τη συνθήκη λήψης σκευάσματος placebo.
3. Η μέγιστη αναερόβια ισχύς στο σπριντ θα είναι μεγαλύτερη στη συνθήκη λήψης παντζαροχυμού συγκριτικά με τη συνθήκη λήψης σκευάσματος placebo.
4. Η μέγιστη αερόβια ισχύς θα είναι μεγαλύτερη στη συνθήκη λήψης

παντζαροχυμού συγκριτικά με τη συνθήκη λήψης σκευάσματος placebo.

5. Η αρτηριακή πίεση μετα-ασκησιακά θα είναι χαμηλότερη στη συνθήκη λήψης παντζαροχυμού συγκριτικά με τη συνθήκη λήψης σκευάσματος placebo.
6. Οι τιμές του αιματοκρίτη θα παρουσιάσουν θετική συσχέτιση με την αναμενόμενη ελάττωση του κόστους οξυγόνου κατά την υπομέγιστη άσκηση στη συνθήκη με τη λήψη παντζαροχυμού.

1. 3. Μεταβλητές

Οι ανεξάρτητες μεταβλητές στην παρούσα έρευνα είναι οι ακόλουθες:

- Το είδος του πόσιμου σκευάσματος που θα ληφθεί πριν την άσκηση (παντζαροχυμός ή placebo-παντζαροχυμός χωρίς νιτρικά)
- Χρόνος (πριν και μετά τη λήψη σκευάσματος)
- Οι εξαρτημένες μεταβλητές είναι οι ακόλουθες:
- Αρτηριακή πίεση (προ- και μετα-ασκησιακή)
- Κατανάλωση οξυγόνου σε υπομέγιστο έργο
- Μέγιστη αναερόβια ισχύς
- Μέγιστη αερόβια ισχύς
- Καρδιακή συχνότητα

1. 4. Λειτουργικοί ορισμοί

Συμπλήρωμα διατροφής: προϊόν που προορίζεται για πέψη και περιέχει κάποιο θρεπτικό συστατικό με σκοπό να προσθέσει επιπλέον διατροφική αξία στη διατροφή. Δεν πρόκειται για φάρμακο, αλλά θεωρείται «τρόφιμο» (U.S. Food and Drug Administration, 2008).

- Μέγιστη αναερόβια ισχύς: Η μέγιστη τιμή παραγόμενης ισχύος κατά τη διάρκεια σπριντ.
- Μέγιστη αερόβια ισχύς: Η μέγιστη τιμή παραγόμενης ισχύος κατά τα τελευταία 30 δευτερόλεπτα πρωτοκόλλου σταδιακά αυξανόμενης έντασης μέχρι εξάντλησης.

1. 5. Οριοθετήσεις και περιορισμοί

Η παρούσα έρευνα οριοθετείται ως προς το φύλο και την ηλικία των δοκιμαζόμενων, καθώς εξετάστηκαν μόνο γυναίκες ηλικίας 18-30 ετών. Επίσης, οι δοκιμαζόμενες ήταν υγιείς, αλλά με χαμηλή έως μέτρια φυσική κατάσταση.

Ένας περιορισμός του ερευνητικού πρωτοκόλλου έγκειται στην απουσία εκτίμησης των επιπέδων νιτρικών μετά τη λήψη παντζαροχυμού, καθώς δεν έλαβε χώρα άμεση ή έμμεση μέτρηση των νιτρικών στο αίμα, στη σίελο ή στα εκπνεόμενα αέρια. Ακόμη ένας περιορισμός αφορά τη διεκπεραίωση της δοκιμασίας της άσκησης σε εργαστηριακό περιβάλλον και σε κυκλοεργόμετρο, γεγονός που περιορίζει τη γενικευσιμότητα σε πραγματικές συνθήκες άσκησης.

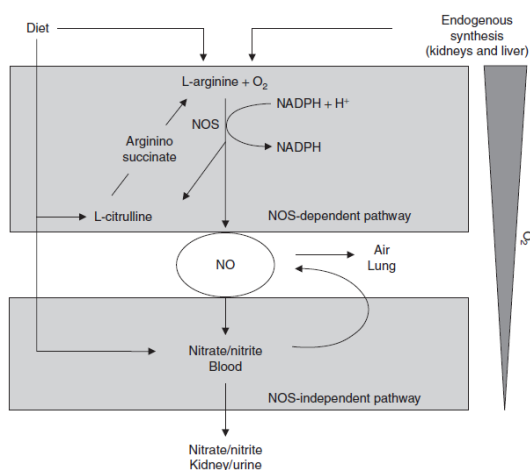
Παντζαροχυμός και άσκηση σε γυναίκες

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

2. 1. Μονοξείδιο του αζώτου, Νιτρώδη και Νιτρικά

Το μονοξείδιο του αζώτου (NO) είναι ένα ασταθές λιποδιαλυτό αέριο, που συντίθεται σε διάφορα σημεία του σώματος. Η ενδογενής σύνθεσή του και η βιολογική του σημασία, ανακαλύφθηκαν τη δεκαετία του 1980, οδηγώντας σε βράβευση με Νόμπελ Φυσιολογίας και Ιατρικής τριών Αμερικανών επιστημόνων (Bescos, et al., 2012). Σήμερα, είναι γνωστή η συμμετοχή του μορίου σε ποικίλες φυσιολογικές λειτουργίες, καθώς έχοντας ένα ελεύθερο ηλεκτρόνιο, αποτελεί μία ελεύθερη ρίζα, γεγονός που το καθιστά το μικρότερο μόριο σηματοδότησης.

Το NO συντίθεται ενδογενώς μέσω δύο οδών (Εικόνα 2.1.). Η πρώτη αφορά το μεταβολισμό του αμινοξέος L-αργινίνη προς κιτρουλλίνη, μια αντίδραση που



Εικόνα 2. 1. Σύνθεση μονοξειδίου του αζώτου (Bescos, 2012)

προϋποθέτει τη συμμετοχή οξυγόνου και NADPH και καταλύεται από μια ομάδα άλλων ενζύμων, τις συνθάσες του NO (NOS) (Reid, 1998). Συγκεκριμένα, οι συνθάσες του NO συναντώνται σε τρεις ισομορφές, ανάλογα με τα κύτταρα, όπου

κυρίως εκφράζονται. Ωστόσο, μονοξείδιο του αζώτου μπορεί να προκύψει και από νιτρώδη και νιτρικά, μέσω αναγωγής τους, μια διεργασία που δεν απαιτεί παρουσία των ενζύμων NOS, ή οξυγόνου (Hord, 2011).

Τα νιτρώδη (NO₂⁻) και τα νιτρικά (NO₃⁻) είναι πολυατομικά ιόντα, προϊόντα οξειδωσίας του ασταθούς NO. Βασικές πηγές νιτρικών αποτελούν τα λαχανικά και πιθανά, ανάλογα με τα επίπεδα νιτρικών, το πόσιμο νερό. Αντίθετα, τα νιτρώδη, απαντούν σε πολύ μικρότερες ποσότητες στα λαχανικά, καθώς και σε είδη επεξεργασμένου κρέατος (Hord, et al., 2009). Τα διαιτητικά νιτρικά, φαίνεται να είναι αδρανή και να αποκτούν βιολογική σημασία, μόνο αφότου αναχθούν σε νιτρώδη. Έτσι, τα νιτρικά, μέσω επιτυχούς αναγωγής τους, αποτελούν μία πηγή νιτρώδων και κατ' επέκταση μονοξειδίου του αζώτου (Hord, et al., 2009). Γίνεται επομένως προφανές, ότι η διατροφή είναι ένας παράγοντας ικανός να επιδράσει στα επίπεδα NO στον ανθρώπινο οργανισμό.

2. 2. Σύνθεση μονοξειδίου του αζώτου

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η παραγωγή του NO επιτυγχάνεται μέσω δύο οδών ενδογενώς. Η πρώτη περιλαμβάνει την εμπλοκή συνθασών του NO και οξυγόνου, ενώ η δεύτερη συμβαίνει ανεξάρτητα από αυτούς τους παράγοντες. Μάλιστα, έχει προταθεί, ότι η παραγωγή NO μέσω αναγωγής των νιτρώδων συμβαίνει συμπληρωματικά της ενζυματικής παραγωγής του με υπόστρωμα την L-αργινίνη, σε περιπτώσεις μειωμένης συγκέντρωσης οξυγόνου, όπου η δραστηριότητα των συνθασών του NO είναι περιορισμένη (Lundberg, et al., 2008).

2. 2. 1. Συνθάσες μονοξειδίου του αζώτου

Στα θηλαστικά το NO μπορεί να παραχθεί με τη δράση τριών

διαφορετικών ισομορφών του ενζύμου συνθάση του NO (NOS). Τα τρία αυτά ισοένζυμα αναφέρονται, ανάλογα με τα κύτταρα στα οποία εντοπίζεται η δράση τους κατά κύριο λόγο, ως νευρονικές NOS (nNOS, ή NOS I), ενδοθηλιακές NOS (eNOS, ή NOS II) και επαγόμενες NOS (iNOS, ή NOS III) (Forstermann and Sessa, 2012). Πρόκειται στην ουσία για οξυγενάσες, οι οποίες δομικά αποτελούνται από δύο περιοχές: την περιοχή προς το καρβοξυ- τελικό άκρο, που εμφανίζει τη δράση αναγωγάσης και στην οποία συνδέονται οι προσθετικές ομάδες FAD και FMN καθώς και το συνένζυμο NADPH, το οποίο αφυδρογονώνεται, παρέχοντας τα απαραίτητα ηλεκτρόνια για τη σύνθεση του NO και το αμινο- τελικό άκρο, όπου και βρίσκονται οι προσθετικές ομάδες αίμης, με δράση οξυγενάσης. Εκεί προσδέεται η L-αργινίνη και το οξυγόνο, καθώς και ο συμπαράγοντας τετραϋδρο-βιοπτερίνη (BH₄). Ενδιάμεσα, βρίσκεται μία περιοχή όπου συνδέεται καλμοδουλίνη, επιτρέποντας τη μεταφορά ηλεκτρονίων από το καρβοξυ- στο αμινο- τελικό άκρο. Στις nNOS και eNOS απαιτείται αύξηση της συγκέντρωσης του ενδοκυττάρου Ca⁺⁺, προκειμένου να συνδεθεί η καλμοδουλίνη, ενώ στις iNOS συνδέεται ακόμα και σε αρκετά χαμηλές συγκεντρώσεις. Τα ηλεκτρόνια που μεταφέρονται, χρησιμοποιούνται για να ανάγουν και να ενεργοποιήσουν το οξυγόνο και να οξειδώσουν την L-αργινίνη προς L-κιτρουλίνη και NO (Forstermann and Sessa, 2012; Tousoulis, et al., 2012).

Η διαφορά των τριών ισοενζύμων, πέρα από τα σημεία όπου εκφράζονται, έγκειται στη φυσιολογική τους λειτουργία. Οι νευρονικές συνθάσες (nNOS), συντίθενται ως δομικό συστατικό σε συγκεκριμένους νευρώνες του εγκεφάλου και η δραστηριότητά τους ρυθμίζεται από το ενδοκυττάριο ασβέστιο

και την καλμοδουλίνη. Πέρα από τον ιστό του εγκεφάλου, nNOS εντοπίζονται και σε άλλους νευρώνες του κεντρικού και περιφερικού νευρικού συστήματος, ενώ στα θηλαστικά η μεγαλύτερη πηγή nNOS, από άποψη μάζας του ιστού είναι οι σκελετικοί μύες (Nakane, et al., 1993; Forstermann, et al., 1994). Όσον αφορά στη φυσιολογική τους λειτουργία, οι nNOS φαίνεται να έχουν σημαντικό ρόλο στη μάθηση, τη μνήμη και τη νευρογένεση (Zhou and Zhu, 2009), ενώ υπάρχουν στοιχεία ότι το NO που παράγεται από τους νευρώνες του εγκεφάλου συμμετέχει στην κεντρική ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης (Forstermann and Sessa, 2012).

Οι ενδοθηλιακές συνθάσες NO (eNOS) εκφράζονται κυρίως στα ενδοθηλιακά κύτταρα, ωστόσο το ένζυμο έχει εντοπιστεί και σε κύτταρα του μυοκαρδίου, σε αιμοπετάλια και στον ανθρώπινο πλακούντα (Forstermann and Sessa, 2012). Όπως και στις nNOS, η δράση των eNOS ρυθμίζεται από τη σύνδεση με την ενεργοποιημένη από το ενδοκυττάριο ασβέστιο καλμοδουλίνη, ενώ και άλλες πρωτεΐνες έχουν φανεί να επηρεάζουν τη δράση τους. Οι φυσιολογικές λειτουργίες των eNOS, αποδίδονται στο παραγόμενο από αυτές NO και συνοψίζονται στις ακόλουθες: αγγειοδιαστολή και παρεμπόδιση της συσσώρευσης και συγκόλλησης αιμοπεταλίων, παρεμπόδιση της συγκόλλησης λευκοκυττάρων και της αγγειακής φλεγμονής, ενεργοποίηση της αγγειογένεσης και των ενδοθηλιακών πρόδρομων κυττάρων (Forstermann and Sessa, 2012).

Τέλος, οι επαγόμενες συνθάσες (iNOS) οφείλουν την ονομασία τους στο γεγονός ότι η έκφρασή τους δεν είναι συνεχής, όπως στις δύο άλλες ισομορφές, αλλά επάγεται από λιποπολυσακχαρίδια, κυτοκίνες και άλλες ενώσεις. Αν και πρωταρχικά είχαν εντοπιστεί στα μακροφάγα, οι iNOS μπορούν πρακτικά

να παραχθούν από κάθε κύτταρο, ή ιστό, όπου εντοπίζονται οι παραπάνω ενώσεις. Άλλη μία διαφορά με τις προηγούμενες isoμορφές είναι ότι οι iNOS μόλις εκφραστούν είναι διαρκώς ενεργοποιημένες, ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση ασβεστίου, παράγοντας πολύ μεγάλες ποσότητες NO (Forstermann and Sessa, 2012). Οι συνθήκες αυτές συμβάλουν στην παθοφυσιολογία της φλεγμονής, ενώ το παραγόμενο από αυτές NO έχει κυτταροτοξική και κυτταροστατική δράση απέναντι στα παθογόνα και καρκινικά κύτταρα, παρεμβαίνοντας τόσο στη λειτουργία των μιτοχονδρίων, όσο και στην έκφραση του γενετικού τους υλικού (Forstermann and Sessa, 2012).

2. 2. 2. Μονοπάτι νιτρικών-νιτρώδων-μονοξειδίου του αζώτου

Σχετικά πρόσφατα ανακαλύφθηκε ότι σε υγιείς ιστούς λαμβάνει χώρα παραγωγή NO ανεξάρτητη από τα ένζυμα NOS και το αμινοξύ L-αργινίνη (Jansson, et al., 2008). Στην πραγματικότητα, η διαιτητική πρόσληψη νιτρικών και νιτρώδων μπορεί να ευθύνεται έως και για τη μισή από τη συγκέντρωση NO σε σταθερή κατάσταση του οργανισμού. Καθώς τα διαιτητικά νιτρικά θεωρούνται αδρανή βιολογικά, απαιτείται η αναγωγή τους σε νιτρώδη, τα οποία ακολούθως θα λειτουργήσουν ως υπόστρωμα για την παραγωγή NO.

Η παραγωγή NO στους ιστούς επομένως, μπορεί να προκύψει μέσω αναγωγής των νιτρικών σε νιτρώδη και ακόλουθη αναγωγή αυτών σε NO. Ο Janssen και οι συνεργάτες του (2008) για πρώτη φορά έδειξαν ότι ένζυμα θηλαστικών μπορούν να ανάγουν νιτρώδη, μία διεργασία, η οποία ως τότε θεωρούσαν ότι αφορά μόνο βακτηριακά ένζυμα. Έτσι, μεταξύ των πρωτεϊνών και ενώσεων που μπορούν να ανάγουν τα νιτρώδη σε NO περιλαμβάνονται η αιμοσφαιρίνη και η δεοξυαιμοσφαιρίνη, η

οξειδορεντουκτάση της ξανθίνης (XOR), η βιταμίνη C και οι πολυφαινόλες (Tousoulis, et al., 2012). Μάλιστα, η αναγωγή αυτή εντείνεται σε καταστάσεις στρες, υποξίας και ισχαιμίας (Lundberg and Weitzberg, 2005).

Όσον αφορά την αναγωγή των νιτρικών σε νιτρώδη, δύο συστήματα έχουν εντοπιστεί σε θηλαστικά (Tousoulis, et al., 2012). Το πρώτο, σχετίζεται με τη δράση συμβιωτικών αναερόβιων βακτηρίων στη γλώσσα, τα οποία ανάγουν τα νιτρικά της σιέλου. Περίπου 25% της ποσότητας νιτρικών εκκρίνεται στη σιέλο μετά την πέψη, από το οποίο το 20% περίπου ανάγεται σε νιτρώδη. Πράγματι, έχει βρεθεί ότι η χρήση αντιβακτηριδιακού στοματικού διαλύματος πριν την κατανάλωση συμπληρώματος με νιτρικά, μείωσε την αναμενόμενη μεταγευματική αύξηση της συγκέντρωσης νιτρώδων στο πλάσμα. Το δεύτερο σύστημα, λαμβάνει χώρα στο γαστρεντερικό σωλήνα με απορρόφηση των νιτρικών από το εγγύς λεπτό έντερο με μεγάλη βιοδιαθεσιμότητα (100%).

2. 2. 2. 1. Πηγές νιτρικών και νιτρώδων

Μέρος των νιτρικών και των νιτρώδων που συγκεντρώνονται στο πλάσμα υγιούς οργανισμού προέρχονται από τον ενδογενή μεταβολισμό του NO. Είναι γεγονός όμως, πως η συγκέντρωσή τους μπορεί να αυξηθεί σε σημαντικά υψηλότερα επίπεδα με εξωγενή λήψη τους από διατροφικές πηγές στις οποίες συναντώνται.

Σύμφωνα με ανασκόπηση του Hord και των συνεργατών του (2009), περίπου το 80% των διαιτητικών νιτρικών προέρχονται από κατανάλωση λαχανικών, μεταξύ των οποίων υψηλότερες συγκεντρώσεις σημειώνουν τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά, όπως το σπανάκι, η ρόκα και το μαρούλι, ενώ αυξημένη συγκέντρωση παρουσιάζουν και τα παντζάρια. Αντίθετα, τα νιτρώδη, απαντούν σε πολύ μικρότερες ποσότητες

σε λαχανικά και φρούτα, καθώς και σε επεξεργασμένο κρέας. Ενδεικτικά, αναφέρονται κάποια λαχανικά με πολύ χαμηλή έως πολύ υψηλή περιεκτικότητα σε νιτρικά στον Πίνακα 2. 1.

2. 3. Βιοχημεία μονοξειδίου του αζώτου

Το NO είναι ένα μόριο με μεγάλο χημικό ενδιαφέρον, ωστόσο στην παρούσα ενότητα θα εξετασθούν οι κυριότερες βιοχημικές διεργασίες στις οποίες συμμετέχει, ρυθμίζοντας φυσιολογικές λειτουργίες του οργανισμού.

Πίνακας 2. 1. Κατάταξη λαχανικών ανάλογα με την περιεκτικότητά τους σε νιτρικά (Santamaria, 2006)

Περιεκτικότητα σε νιτρικά (mg/100g)	Ποικιλίες λαχανικών
Πολύ χαμηλή, <20	Αγκινάρα, σπαράγγια, πλατιά φασόλια, μελιτζάνα, σκόρδο, κρεμμύδι, πράσινα φασόλια, μανιτάρια, αρακάς, πιπεριά, πατάτα, γλυκοκολοκύθα, γλυκοπατάτα, τομάτα, καρπούζι
Χαμηλή, 20 με <50	Μπρόκολο, καρότο, κουνουπίδι, αγγούρι, κολοκύθα, ραδίκια
Μέτρια, 50 με <100	Λάχανο, άνηθος, γογγύλια
Υψηλή, 100 με <250	Σελινόριζα, κινέζικο λάχανο, αντίδι, μάραθο, πράσο, μαϊντανός
Πολύ υψηλή, >250	Σέλερυ, κάρδαμο, μαρούλι, σπανάκι, παντζάρι, ρόκα

2. 3. 1. Αντίδραση με το οξυγόνο και το υπεροξειδίο

Η αντίδραση του NO με το μοριακό οξυγόνο σε αέρια κατάσταση καταλήγει στο σχηματισμό διοξειδίου του αζώτου (NO₂), μια αντίδραση που συμβαίνει με μεγάλη ταχύτητα. Αντίθετα, σε υδατικό διάλυμα, το NO₂ αποσυντίθεται, δίνοντας ίσες ποσότητες NO₂⁻ και NO₃⁻ (2NO₂ → N₂O₄, N₂O₄ → NO₂⁻ + NO₃⁻ + 2H⁺). Σε υδατικό αλλά αερόβιο διάλυμα, το μοναδικό προϊόν είναι το NO₂⁻ σύμφωνα με τις ακόλουθες αντιδράσεις: NO₂ + NO → N₂O₃, N₂O₄ → 2NO₂⁻ + 2H⁺.

Ως ελεύθερη ρίζα, το NO αντιδρά και με άλλες ελεύθερες ρίζες, όπως το υπεροξειδίο (O₂⁻), προς σχηματισμό υπεροξειδίου του αζώτου (OONO⁻). Η συγκεκριμένη ελεύθερη ρίζα είναι ιδιαίτερα σταθερή και έχει βρεθεί ότι μπορεί να οξειδώσει ποικίλα βιολογικά μόρια, χαρακτηριστικό στο οποίο μπορεί να οφείλεται μέρος της προκαλούμενης τοξικότητας από το NO (Fukuto, 1995).

2. 3. 2. Αντίδραση με θειόλες

Το NO μπορεί να οξειδώσει σουλφιδρυλομάδες (RS⁻) υπό συγκεκριμένες συνθήκες, προς δισουλφίδιο (RS) και υπονιτρώδες οξύ (NOH). Επιπλέον, το NO₂ μπορεί να αναχθεί από σουλφιδρυλομάδα, προς NO με ενδιάμεσο προϊόν νιτροζοθειόλης (RS-NO), αφού ο δεσμός S-NO είναι αρκετά ασθενής. Οι αντιδράσεις αυτές είναι σημαντικές βιολογικά, καθώς παρεμβαίνουν στη δράση αρκετών πρωτεϊνών και φαίνεται να σχετίζονται με αρκετές φυσιολογικές διεργασίες, όπως η νευροδιαβίβαση και η αντιμικροβιακή άμυνα (Gaston, 1999).

2. 3. 3. Αντίδραση με μεταλλοπρωτεΐνες και ομάδες αίμης

Μεταξύ των βασικότερων βιολογικών αντιδράσεων του NO, συγκαταλέγονται οι αντιδράσεις του με το σίδηρο, ενώ οι αντιδράσεις του με τα ένζυμα που

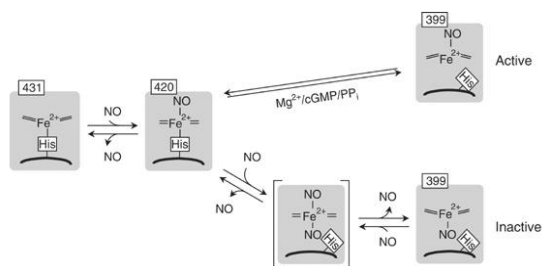
περιέχουν ομάδες αίμης έχουν προφανή βιολογική σημασία (Cooper, 1999). Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οι συνθέσεις του NO, τόσο στα θηλαστικά, όσο και οι βακτηριακές, συνδέονται με ομάδες αίμης. Το ένζυμο διαλυτή γουανυλική κυκλάση, όπου αποδίδονται οι κυριότερες δράσεις του NO, όπως η αγγειοδιαστολή, επίσης περιέχει προσθετική ομάδα αίμης. Άλλες πρωτεΐνες με ομάδες αίμης, όπως η αιμοσφαιρίνη, η μυοσφαιρίνη, η κυτοχρωμική C οξειδάση και ακόμη η καταλάση και η κυκλοοξυγενάση, επίσης παρουσιάζουν αυξημένο ρυθμό σύνδεσης με το NO.

2. 3. 3. 1. Διαλυτή γουανυλική κυκλάση

Ένας από τους σημαντικότερους υποδοχείς, υπεύθυνος για τη δράση του μονοξειδίου του αζώτου, είναι η διαλυτή γουανυλική κυκλάση (Russwurm and Koesling, 2004). Το ένζυμο αυτό, εμπλέκεται σε ποικίλες φυσιολογικές λειτουργίες, όπως η χαλάρωση λείων μυών, η αναστολή της συσσώρευσης αιμοπεταλίων και η συναπτική πλαστικότητα και ενεργοποιείται από τη σύνδεση με το μονοξείδιο του αζώτου. Συγκεκριμένα, το NO παραγόμενο στα ενδοθηλιακά, ή τα νευρικά κύτταρα, διαχέεται ελεύθερα και συνδέεται με διαλυτή γουανυλική κυκλάση, οδηγώντας σε μια αλληλουχία σηματοδότησης, που ξεκινά με τη μετατροπή του μορίου GTP σε κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη (cGMP) και καταλήγει σε αγγειοδιαστολή (Russwurm and Koesling, 2004).

Η διαλυτή γουανυλική κυκλάση (sGC) είναι μία ετεροδιμερής πρωτεΐνη, που αποτελείται από δύο πολυπεπτιδικές υπομονάδες, α και β και μία προσθετική ομάδα αίμης, η οποία συγκρατείται με δεσμό ιστιδίνης. Η σύνδεση του NO με το σίδηρο της αίμης φαίνεται να οδηγεί σε απελευθέρωσή της από το την ιστιδίνη. Η απελευθέρωση αυτή επάγει

άγνωστες μέχρι στιγμής διαμορφικές αλλαγές, που οδηγούν στην ενεργοποίηση του ενζύμου, η οποία μάλιστα, όπως φαίνεται και στην Εικόνα 2.2., επηρεάζεται και από την παρουσία των προϊόντων της αντίδρασης (Russwurm and Koesling, 2004).



Εικόνα 2. 2. Ενεργοποίηση διαλυτής γουανυλικής κυκλάσης από NO, μέσω σύνδεσης στο σίδηρο της αίμης και απελευθέρωσή του από την ιστιδίνη, παρουσία των προϊόντων της αντίδρασης (cGMP, PPi). Οι αριθμοί υποδηλώνουν το μήκος κύματος της απορρόφησης, βάσει του οποίου προσδιορίστηκαν οι ενώσεις (Russwurm & Koesling, 2004).

2. 3. 3. 2. Αιμοσφαιρίνη και μυοσφαιρίνη

Η αιμοσφαιρίνη (Hb) είναι μία σφαιρική πρωτεΐνη, που αποτελείται από τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες ανά δύο όμοιες, κάθε μία από τις οποίες έχει μία προσθετική ομάδα αίμης συνδεδεμένη στο αμινοξύ ιστιδίνη. Ο σίδηρος της αίμης αποτελεί το βασικό σημείο πρόσδεσης της αιμοσφαιρίνης, μέσω του οποίου επιτελείται η λειτουργία της, δηλαδή η μεταφορά οξυγόνου από τους πνεύμονες στους ιστούς (Helms and Kim-Shapiro, 2013). Μάλιστα, η μορφή της αλλάζει αλλοστερικά, με την πρόσδεση του οξυγόνου σε μία ομάδα αίμης να οδηγεί σε μία πιο «χαλαρή» δομή (Relaxed), που ευνοεί την περαιτέρω πρόσδεση, και την αποξυγωνομένη μορφή της να περιγράφεται ως «τεταμένη» (Tense) με μικρότερη συγγένεια προς το οξυγόνο. Ωστόσο, πέρα από οξυγόνο, και άλλα διατομικά αέρια είναι δυνατό να προσδεθούν στην αίμη, όπως το μονοξείδιο του άνθρακα και το μονοξείδιο του αζώτου.

Όσον αφορά το NO μάλιστα, αυτό παρουσιάζει παρόμοιο ρυθμό πρόσδεσης στην αιμοσφαιρίνη με το οξυγόνο, ενώ ο ρυθμός πρόσδεσής του στην αιμοσφαιρίνη είναι μεγαλύτερος, ακόμη και από το ρυθμό πρόσδεσης στη διαλυτή γουανυλική κυκλάση (Cooper, 1999). Αναπτύσσεται, επομένως, μία σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ NO και αιμοσφαιρίνης, η οποία δεν αφορά μόνο στη δέσμευση και απενεργοποίηση του NO, όπως πιστευόταν αρχικά, αλλά και σε συντήρηση της δράσης του, καθώς και μεταφορά του με τη μορφή νιτροδών (Kim-Shapiro, et al., 2006).

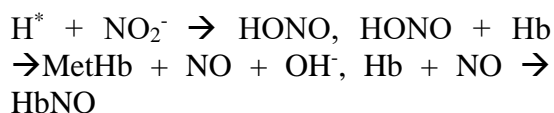
Η βασικότερη αντίδραση απενεργοποίησης του NO από την αιμοσφαιρίνη, είναι η αντίδραση διοξυγόνωσης ($\text{HbO}_2 + \text{NO} \rightarrow \text{MetHb} + \text{NO}_3^-$), κατά οποία το NO αντιδρά με την οξυαιμοσφαιρίνη (HbO_2) προς νιτρικά (NO_3^-) και μεθαιμοσφαιρίνη (MetHb). Στη μεθαιμοσφαιρίνη, ο σίδηρος της αίμης έχει οξειδωθεί σε τρισθενή μορφή και δεν έχει πλέον τη δυνατότητα σύνδεσης και μεταφοράς οξυγόνου, ενώ τα νιτρικά αποτελούν «αδιέξοδο» στη δράση του NO (Helms and Kim-Shapiro, 2013). Παρόλο που η αντίδραση διοξυγόνωσης με ελεύθερη αιμοσφαιρίνη είναι τόσο γρήγορη, ώστε να καθιστά αδύνατη τη διάχυση του NO από τα ενδοθηλιακά προς τα λεία μυϊκά κύτταρα, όπου γίνεται η ενεργοποίηση της γουανυλικής κυκλάσης, εντούτοις η ενεργοποίηση αυτή, με αποτέλεσμα την αγγειοδιαστολή, πράγματι συμβαίνει. Το παραπάνω οφείλεται στο ότι η αιμοσφαιρίνη βρίσκεται εντός των ερυθρών αιμοσφαιρίων, γεγονός που καθυστερεί την αντίδραση διοξυγόνωσης, μέσω τριών μηχανισμών (Kim-Shapiro, et al., 2006). Ο πρώτος περιγράφεται ως μια ζώνη ελεύθερη κυττάρων, η οποία δημιουργείται κοντά στα τοιχώματα των αγγείων. Σύμφωνα με το νόμο Bernoulli, η μειωμένη ταχύτητα του αίματος κοντά στα τοιχώματα, λόγω της τριβής, ωθεί τα

ερυθρά αιμοσφαίρια προς το κέντρο του αγγείου, απομακρύνοντάς τα από το ενδοθήλιο, όπου παράγεται το NO (Kim-Shapiro, et al., 2006). Παρόμοια, ο δεύτερος μηχανισμός καθυστέρησης της αντίδρασης, οφείλεται στην παρουσία ενός στρώματος ελεύθερου NO γύρω από το ερυθροκύτταρο, γεγονός που σε συνδυασμό με το φυσικό εμπόδιο της πλασματικής μεμβράνης, καθυστερεί τη διάχυση του NO εντός του κυττάρου. Τέλος, προστατευτικά δρα και το γεγονός ότι η αιμοσφαιρίνη που βρίσκεται στα ερυθρά αιμοσφαίρια, σε αντίθεση με την ελεύθερη, δεν έχει τη δυνατότητα εξαγωγής στο ενδοθήλιο και απενεργοποίησης του NO που παράγεται εκεί (Kim-Shapiro, et al., 2006).

Η αιμοσφαιρίνη ωστόσο, μπορεί να αντιδράσει με το NO και στη μη οξυγονωμένη της μορφή, προς σχηματισμό σιδηρο-νιτροζυλιωμένης αιμοσφαιρίνης (HbNO), μια δομή που συντηρεί τη βιοδραστικότητα του NO (Kim-Shapiro, et al., 2006). Ωστόσο, ο αργός ρυθμός απελευθέρωσης του NO, συγκριτικά με το ρυθμό πρόσδεσής του, καθώς και η αυξημένη πιθανότητα εμπλοκής του σε αντίδραση διοξυγόνωσης αμέσως μετά την απελευθέρωσή του, καθιστά σχεδόν αδύνατη την παραπάνω υπόθεση. Περισσότερο πιθανοί μηχανισμοί, με τους οποίους η αιμοσφαιρίνη προστατεύει τη δραστηριότητα του NO, είναι ο ρόλος της ως αναγωγάσης των νιτροδών, καθώς και η υπόθεση σχηματισμού θειο-νιτροζούχας αιμοσφαιρίνης (SNO-Hb).

Σχετικά με τον πρώτο μηχανισμό, τα νιτρώδη συγκεντρώνονται στο αίμα μέσω αντίδρασης του NO με οξυγόνο, ή από διατροφικές πηγές και έχουν φανεί, να προκαλούν αγγειοδιαστολή, ακόμη και σε πειραματικές συνθήκες με απενεργοποιημένες τις συνθάσες του NO (Cosby, et al. 2003). Το φαινόμενο αυτό, εξηγείται, σύμφωνα με ανασκόπηση

(Kim-Shapiro, et al., 2006) από την δράση της αιμοσφαιρίνης, ως αναγωγάσης των νιτρωδών, μέσω των ακόλουθων αντιδράσεων:



Μάλιστα, η παραπάνω αντίδραση φαίνεται, σύμφωνα με την ίδια ανασκόπηση, να ευνοείται από την παρουσία μερικώς οξυγονωμένης αιμοσφαιρίνης (Relaxed). Όσον αφορά την τελική απελευθέρωση του NO έξω από το ερυθροκύτταρο, προτείνεται ότι η αναγωγή των νιτρωδών ενδεχομένως πραγματοποιείται με

διαμερισματοποιημένο τρόπο, κοντά στη μεμβράνη, ώστε να ευνοείται η απομάκρυνση του NO (Kim-Shapiro, et al., 2006). Ωστόσο, πιθανολογείται και η ύπαρξη ενός διάμεσου προϊόντος στην αντίδραση της αιμοσφαιρίνης με τα νιτρώδη, όπως νιτροζοθειόλες, υπεροξυνιτρώδη, διοξείδιο του αζώτου κ.λπ., τα οποία διαχέονται εντός του κυττάρου, μετάγοντας στην ουσία το NO.

Ο δεύτερος μηχανισμός στον οποίο αποδίδεται η προστατευτική δράση της αιμοσφαιρίνης απέναντι στο NO, περιγράφει το σχηματισμό θειο-νιτροζούχας αιμοσφαιρίνης στη β-93 κυστεΐνη (SNO-Hb). Συγκεκριμένα, σύμφωνα με την υπόθεση αυτή, μία ομάδα αίμης της αιμοσφαιρίνης δεσμεύει αλλοστερικά το NO και με την οξυγόνωση μιας άλλης ομάδας αίμης, η οποία θα επιφέρει μετατροπή της αιμοσφαιρίνης από την τεταμένη στη χαλαρή δομή, το NO⁺ μεταφέρεται στην κυστεΐνη, από όπου μπορεί να απελευθερωθεί ευκολότερα εκτός κυττάρου, με τη μορφή X-NO, η οποία δεν έχει πλήρως διαλευκανθεί (Kim-Shapiro, et al., 2006).

Σε αντιστοιχία με τις αντιδράσεις του NO με την αιμοσφαιρίνη, είναι και οι αντιδράσεις του με τη μυοσφαιρίνη (Mb),

παρόλο που η δεύτερη αποτελείται από μία μόνο πολυπεπτιδική αλυσίδα και μία ομάδα αίμης. Έτσι, το NO επίσης αντιδρά με την οξυγονωμένη Mb προς σχηματισμό νιτρικών (NO₃⁻), αλλά και με τη μη οξυγονωμένη της μορφή προς σχηματισμό ενώσεων σιδηρο-νιτροζυλιωμένης μυοσφαιρίνης (MbNO). Επιπρόσθετα, το NO αντιδρά και αερόβια με τη συλφυδρυλομάδα της κυστεΐνης προς σχηματισμό θειο-νιτροζούχας μυοσφαιρίνης (SNO-Mb), μια αντίδραση που ευνοείται από υψηλές συγκεντρώσεις Mb και φαίνεται να προφυλάσσει τη βιοδραστικότητα του NO (Witting, et al., 2001).

2. 3. 3. 3. Κυτοχρωμική C οξειδάση

Η κυτοχρωμική C οξειδάση (CcOX) είναι το τελικό διαμεμβρανικό ένζυμο της αναπνευστικής αλυσίδας. Βρίσκεται στη μιτοχονδριακή μεμβράνη και καταλύει την οξείδωση του κυτοχρώματος C²⁺ σε κυτόχρωμα C³⁺, και την αναγωγή του οξυγόνου σε νερό, αντλώντας πρωτόνια εκτός του μιτοχονδρίου. Αποτελείται από δύο όμοια μονομερή και περιέχει δύο ομάδες αίμης και δύο κέντρα χαλκού. Το οξυγόνο προσδέεται σε κέντρο που αποτελείται από μία ομάδα αίμης και ένα κέντρο χαλκού (Brown, 2001).

Στο ίδιο σημείο, με παρόμοια συγγένεια μπορεί να προσδεθεί και το NO, πράγμα που αυξάνει τις πιθανότητες το NO να έχει ανταγωνιστική δράση απέναντι στο οξυγόνο, παρεμποδίζοντας τη δραστηριότητα του ενζύμου. Ωστόσο σε πειράματα in vivo μεγάλο μέρος του NO έχει φανεί να δεσμεύεται από την αιμοσφαιρίνη και τη μυοσφαιρίνη. Επιπλέον, προτείνεται ότι σε μικρές συγκεντρώσεις η παρεμπόδιση της CcOX από το NO αυξάνει τη σταθερά της μιτοχονδριακής αναπνοής σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις οξυγόνου, αυξάνοντας έτσι την ευαισθησία στο οξυγόνο. Έτσι, θεωρείται ότι οι nNOS και οι eNOS, που σχετίζονται με οξεία

και παροδική παραγωγή NO προκαλούν μια παροδική παρεμπόδιση της μιτοχονδριακής αναπνοής, που μπορεί να λειτουργεί ως θερμορυθμιστικός μηχανισμός, ή ως μηχανισμός ρύθμισης της ευαισθησίας στο οξυγόνο. Από την άλλη, οι iNOS, όταν ενεργοποιηθούν, παράγουν συνεχόμενα μεγάλες ποσότητες NO, ικανές να εμποδίσουν ισχυρότερα την αναπνοή, προκαλώντας κυτταροτοξική επίδραση. Το τελευταίο αποδίδει στο NO κυτταροτοξική δράση απέναντι σε παθογόνα κύτταρα, δεν αποκλείεται ωστόσο να εμπλέκεται και σε παθοφυσιολογικές διεργασίες (Brown, 2001).

2. 4. Φυσιολογικές λειτουργίες μονοξειδίου του αζώτου

Η δράση του μονοξειδίου του αζώτου στον ανθρώπινο οργανισμό φαίνεται να είναι διττή. Ενώ σε χαμηλές συγκεντρώσεις ρυθμίζει αρκετές από τις φυσιολογικές διεργασίες, η υπερπαραγωγή του παίζει ρόλο στην παθογένεση αρκετών ασθενειών. Αρκετές φορές η υπερπαραγωγή αυτή είναι θεμιτή, έχοντας αντιπαρασιτική, αντιβακτηριδιακή και αντιική δράση, άλλες όμως όχι, έχοντας προ-φλεγμονώδη δράση. Είναι επομένως αναγκαίο να γνωρίζουμε τις ακριβείς δράσεις του στα διάφορα συστήματα του οργανισμού, ώστε να επιτευχθεί η βέλτιστη δυνατή φαρμακολογική του εφαρμογή (Antosova, et al., 2012).

2. 4. 1. Νευρικό σύστημα

Το NO είναι ένας από τους σημαντικότερους νευροδιαβιβαστές, τόσο στο κεντρικό όσο και στο περιφερικό νευρικό σύστημα, ενώ ο ρόλος του μπορεί να περιγραφεί ως νευρορυθμιστικός, νευροπροστατευτικός, αλλά και νευροτοξικός σε κάποιες περιπτώσεις.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οι nNOS είναι κατά βάση υπεύθυνες για την

παραγωγή NO στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Οι βασικές του λειτουργίες εκεί περιλαμβάνουν νευρωνική μορφογένεση, ρύθμιση της σεξουαλικής και επιθετικής συμπεριφοράς, της πρόσληψης τροφής και της αντίληψης του πόνου, καθώς και της αιματικής ροής στον εγκέφαλο. Σε παθολογικές συνθήκες, η δράση του NO μπορεί να θεωρηθεί υπεύθυνη για νευρωνική καταστροφή και νευροεκφυλιστικές ασθένειες, όπως το Parkinson's, το Alzheimer's και η ασθένεια Huntington (Calabrese, et al., 2007).

Η δράση του NO στο περιφερικό νευρικό σύστημα, επηρεάζει διάφορα συστήματα (γαστρεντερικό, αναπνευστικό, ουρογεννητικό). Σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις, προκαλεί χαλάρωση των λείων μυών και των μυών των αγγείων, ρυθμίζοντας έτσι την αιματική ροή, ενώ ρυθμίζει επίσης το βρογχικό τόνο και τη φλεγμονώδη διεργασία. Υπό παθολογικές συνθήκες, μπορεί να προκαλέσει σκλήρυνση κατά πλάκας (Bult, 1990).

2. 4. 2. Καρδιαγγειακό σύστημα

Η δράση του NO στο αγγειακό σύστημα έχει μεγάλο ενδιαφέρον, τόσο σε επίπεδο βασικής έρευνας, όσο και για την κλινική πρακτική. Βασικό ρόλο στην παραγωγή του έχουν οι ενδοθηλιακές συνθάσες του NO, ενώ η βασικότερη λειτουργία του είναι η αγγειοδιαστολή. Επιπρόσθετα, η συνήθης παραγωγή NO ρυθμίζει την αιμάτωση των αγγείων του εγκεφάλου, της στεφανιαίας κυκλοφορίας, του γαστρεντερικού συστήματος και των νεφρών. Σε περιπτώσεις μειωμένης βιοδιαθεσιμότητάς του ωστόσο, μπορεί να προκληθεί ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Το φαινόμενο αυτό εμφανίζεται σε άτομα που πάσχουν από σακχαρώδη διαβήτη τύπου II, υπερχοληστερολαιμία, ή υπέρταση, ακόμα και σε καπνιστές, αποτελώντας ένα βασικό πρόδρομο της αθηροσκλήρωσης (Ignarro, 2002).

Στην καρδιά έχουν εντοπιστεί και τα τρία διαφορετικά ισοένζυμα NOS. Ο ρόλος τους εκεί, είναι λιγότερο καθορισμένος, όμως εξαρτάται από την ισομορφή που θα ενεργοποιηθεί. Σε φυσιολογικές συνθήκες παραγωγής του από τις nNOS, ή τις eNOS, το NO σχετίζεται με τη στεφανιαία κυκλοφορία (αιμάτωση, αντιθρομβωτική και αντιφλεγμονώδης δράση), τα κύτταρα του μυοκαρδίου (μείωση απόπτωσης, μείωση της κατανάλωσης οξυγόνου) και το ίδιο το μυοκάρδιο (εμβρυϊκή ανάπτυξη, αύξηση της ισχαιμικής ανοχής) (Strijdom, et al., 2009). Αυξημένη παραγωγή του έχει σχετιστεί με αρρυθμίες, καταστροφή μυοκαρδίου μετά από ισχαιμία και προαγωγή της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας στα στεφανιαία αγγεία (Lv, et al., 2012).

2. 4. 3. Αναπνευστικό σύστημα

Η παραγωγή NO τόσο από τις NOS, όσο και από την αναγωγή νιτρωδών, έχει μεγάλη σημασία για το αναπνευστικό σύστημα με βασική λειτουργία του τη βρογχοδιαστολή. Οι πνεύμονες παράγουν NO μέσω νευρωνικών και ενδοθηλιακών συνθασών, το οποίο πιθανά συμβάλλει στην αγγειογένεση, και την εμβρυϊκή ανάπτυξη των πνευμόνων και την ενεργοποίηση υποβλεννογόνιων αδένων προς παραγωγή βλέννας. Από την άλλη μεριά, υπερβολικές συγκεντρώσεις NO μπορεί να επιφέρουν υπερπολλαπλασιασμό των βρογχικών λείων μυϊκών κυττάρων, στένωση των αεραγωγών και περιορισμό της εκπνευστικής ροής. Ο ρόλος του NO στο άσθμα και τη χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια είναι διαπιστωμένος (Ricciardolo, et al., 2004).

2. 4. 4. Γαστρεντερικό σύστημα

Οι βασικές λειτουργίες του γαστρεντερικού σωλήνα περιλαμβάνουν την πέψη, την απορρόφηση και την έκκριση θρεπτικών συστατικών. Η δράση του NO σε αυτόν έγκειται στη μείωση της

κινητικότητας του εντέρου και τη χαλάρωση των σφιγκτήρων (οισοφαγικός, σφιγκτήρας του Oddi, πρωκτικός), ενώ παίζει ρόλο και στην παραγωγή βλέννας. Επιπρόσθετα, το NO παραγόμενο από τις επαγόμενες συνθάσες παρουσιάζει έντονη αμυντική λειτουργία. Επίσης, μελετάται η εμπλοκή του στον καρκίνο του γαστρεντερικού, τόσο στο σχηματισμό όγκων, όσο και στην καταστροφή τους. Άλλες διαταραχές που σχετίζονται με μη φυσιολογική παραγωγή NO περιλαμβάνουν οισοφαγικούς σπασμούς και γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση, γαστροπάρεση, ειλεό και άλλες (Stanek, et al., 2008).

2. 4. 5. Ουρογεννητικό σύστημα

Στο ουροποιητικό σύστημα έχουν εντοπιστεί επίσης και τα τρία είδη NOS. Οι φυσιολογικές λειτουργίες του NO στους νεφρούς περιλαμβάνουν ρύθμιση της σπειραματικής αιμάτωσης, της μυελώδους έκκρισης ρενίνης, της σωληνοειδούς ανατροφοδότησης και του όγκου εξωκυττάρου υγρού. Φαίνεται ακόμη να ενεργοποιεί την απορρόφηση νατρίου, HCO_3^- , και νερού στο εγγύς σωληνάριο και την επαναρρόφησή τους στο απομακρυσμένο σωληνάριο με αποτέλεσμα την αύξηση της αιματικής ροής στους νεφρούς, της σπειραματικής διήθησης, της διούρησης και της νατριούρησης. Από παθολογική σκοπιά, αυξημένες συγκεντρώσεις του NO έχουν σχετιστεί με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (Sharma, 2004).

Το NO όμως, συμμετέχει και στο αναπαραγωγικό σύστημα τόσο των γυναικών, όσο και των ανδρών. Στα θήλυα, το NO προωθεί την ωορρηξία, ενώ φαίνεται να σχετίζεται και με τα επίπεδα οιστρογόνων, τα οποία, μεταξύ άλλων, ενεργοποιούν τις νευρωνικές και τις ενδοθηλιακές συνθάσες. Επίσης, θεωρείται ότι το NO συμμετέχει και στη γονιμοποίηση, διεγείροντας την κίνηση

του σπέρματος. Ακόμη, δεδομένης της επίδρασης του NO στους λείους μύες, φαίνεται να παίζει ρυθμιστικό ρόλο στις αλλαγές της διαμόρφωσης της μήτρας κατά την εγκυμοσύνη, ενώ μειωμένα επίπεδα NO σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης προεκλαμψίας (Momohara, et al., 2004).

Στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα, ο ρόλος του NO έχει μελετηθεί ευρέως, ως προς τη συμβολή του στη διαδικασία της στύσης. Το NO συμμετέχει επίσης στη σπερματογένεση, ενώ ρυθμίζει και την αιματική ροή, την κυτταρική διαπερατότητα και τη συσταλτικότητα των όρχεων. Υψηλές συγκεντρώσεις NO σχετίζονται τέλος με μειωμένη κινητικότητα σπέρματος, τουλάχιστον σε πειραματόζωα (Davidoff, et al., 1997).

2. 4. 6. Ανοσοποιητικό σύστημα

Ο σχηματισμός NO είναι μια από τις βασικές λειτουργίες του ανοσοποιητικού συστήματος, το οποίο διαθέτει κυρίως iNOS. Το NO που παράγεται έχει αντιμικροβιακή, αντικαρκινική, κυτταροστατική και κυτταροτοξική δράση, που βασίζονται κυρίως στην παραγωγή ελεύθερων ριζών (υπεροξειδίου και υπεροξειδίου του αζώτου). Τα μόρια αυτά απενεργοποιούν ένζυμα που περιέχουν σίδηρο και μετασχηματίζουν πρωτεΐνες για να αντιμετωπισθούν τα παθογόνα κύτταρα. Επιπρόσθετα, το NO ελέγχει και άλλες λειτουργίες του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως η διαφοροποίηση, ο πολλαπλασιασμός και η απόπτωση των κυττάρων, η παραγωγή κυττοκινών και άλλες (Bogdan, 2001). Ωστόσο, σε περίπτωση που η κυτταροτοξική δράση δεν είναι αποτέλεσμα ανοσολογικής διεργασίας, το NO μπορεί να λειτουργήσει ως προφλεγμονώδης παράγοντας. Ακόμη, σε ορισμένες περιπτώσεις, διαταραγμένος μεταβολισμός του ενδέχεται να ευθύνεται για την εμφάνιση αυτοάνοσων νοσημάτων, όπως η σκλήρυνση κατά

πλάκας, ο διαβήτης τύπου I, ο συστηματικός ερυθματώδης λύκος, και ακόμα για απόρριψη μεταμοσχευμένου οργάνου και σηπτικού σοκ (Karpuzoglu and Ahmed, 2006).

2. 5. Μονοξειδίου του αζώτου στα δύο φύλα

Αναφέρθηκε παραπάνω ότι το NO αλληλεπιδρά με τις ορμόνες του φύλου. Το ίδιο φαίνεται να προάγει την ωορρηξία, και να μειώνει την κινητικότητα του σπέρματος, ενώ έχει αναφερθεί ότι τα οιστρογόνα προωθούν την ενεργοποίηση της σύνθεσής του (Davidoff, et al., 1997; Momohara, et al., 2004). Ο Forte και οι συνεργάτες του (1998) συγκρίνοντας τη μέση ουρική έκκριση νιτρικού (¹⁵N) ανάμεσα σε άνδρες και γυναίκες (μεταξύ 7^{ης} και 14^{ης} ημέρας του κύκλου), κατέληξαν πως η συνολική παραγωγή NO είναι μεγαλύτερη στις προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες συγκριτικά με τους άνδρες, γεγονός που πιθανά αφορά την ενδοθηλιακή του παραγωγή. Ακόμη, σε άλλη μελέτη μεταξύ ατόμων με δρεπανοκυτταρική αναιμία (Gladwin, et al., 2003), φάνηκε διαφορετική βιοδιαθεσιμότητα NO μεταξύ των δύο φύλων, όπως εκφράστηκε μέσω της απόκρισης της αιματικής ροής σε ανταγωνιστή της δράσης της συνθάσης του NO. Συγκεκριμένα, η αιματική ροή των γυναικών επηρεάστηκε λιγότερο από τη δράση του ανταγωνιστή, με τους συγγραφείς να εξηγούν πως το φαινόμενο αυτό καταδεικνύει την υψηλότερη βιοδιαθεσιμότητα και απόκριση στο NO από τις γυναίκες ασθενείς.

Σε μελέτη του Kharitonov και των συνεργατών του (1994), οι γυναίκες, αν και δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά διαφορετική περιεκτικότητα NO στον εκπνεόμενο αέρα συγκριτικά με τους άνδρες, εντούτοις εμφάνισαν μεγαλύτερη μεταβλητότητα, γεγονός που οφείλεται μάλλον στις διαφορετικές του

συγκεντρώσεις ανάλογα με τη φάση του έμμηνου κύκλου τους. Πράγματι, τα επίπεδα NO φαίνεται να παρουσιάζουν τις υψηλότερες τιμές κοντά στην ωορρηξία, ή προς το τέλος της ωοθηλακικής φάσης. Στα μέσα της ωχρινικής φάσης τα επίπεδά του μειώνονται, ωστόσο είναι υψηλότερα από αυτά της προωορρηκτικής περιόδου. Προς το τέλος της ωχρινικής φάσης (21^η ημέρα έμμηνου κύκλου) έως τις αρχές της επόμενης ωοθηλακικής (6^η ημέρα), παρουσιάζονται τα χαμηλότερα επίπεδα NO (Kharitonov, et al., 1994; Manau, et al., 1999; Teran, et al., 2001; Giusti, et al., 2002).

Εξετάζοντας το θέμα πιο διεξοδικά, η αλληλεπίδραση του NO με την αιμοσφαιρίνη, σε συνδυασμό με τις διαφορετικές τιμές αιματοκρίτη μεταξύ των δύο φύλων (Zeng, Jankovitz, Widness and Strauss, 2001), είναι πιθανό να συμβάλουν επίσης στη διαφοροποίηση του μεταβολισμού του NO μεταξύ ανδρών και γυναικών. Η δράση της αιμοσφαιρίνης απέναντι στο NO είναι διττή. Ενώ στην οξυγονωμένη της μορφή αντιδρά με αυτό, προς σχηματισμό μεθαιμοσφαιρίνης και νιτρικών, που αποτελούν «αδιέξοδο» στη δράση του (Helms, et al., 2013), οι μη οξυγονωμένες ομάδες αίμης, φαίνεται να συντηρούν και να μεταφέρουν τη δράση του NO, κυρίως μέσω της δράσης αυτών ως αναγωγασών των νιτρικών (Kim-Shapiro, et al., 2006). Επιπλέον, υπάρχουν ενδείξεις, ότι τα ίδια τα ερυθρά αιμοσφαίρια διαθέτουν ένζυμα παρόμοια με τις ενδοθηλιακές συνθάσες NO, τα οποία βρίσκονται κοντά στην πλασματική μεμβράνη, αυξάνοντας τα αποθέματα NO στο αίμα (Kleinbongard, et al., 2006). Δεδομένα νεότερων ερευνών φανερώνουν πως η αύξηση του αιματοκρίτη μπορεί να επιφέρει βελτίωση της διαθεσιμότητας του NO στο φλεβικό τοίχωμα (Sriram, et al., 2011; Deonikar and Kavdia, 2013), ενώ χορήγηση νιτρικών μετά από

αιμοδοσία, φάνηκε να αναστέλλει την αρνητική επίδραση της επερχόμενης μείωσης του αιματοκρίτη στην απόδοση (McDounagh, et al., 2016). Σύμφωνα με τα παραπάνω, μπορεί να υποτεθεί ότι οι γυναίκες θα αποκριθούν διαφορετικά σε εξωγενή χορήγηση νιτρικών, ενώ λόγω της ήδη μεγαλύτερης ενδογενούς σύνθεσης και του χαμηλότερου αιματοκρίτη, πιθανά θα είναι λιγότερο ευαίσθητες στο εξωγενές NO, σε σύγκριση με τους άνδρες.

Ακόμη ένας λόγος, που μπορεί να διαφοροποιήσει τη δράση του NO ανάμεσα στα δύο φύλα, αφορά τη δραστηριότητα των διαιτητικών νιτρικών, ανάλογα με τον τύπο των μυϊκών ινών. Συγκεκριμένα, σύμφωνα με πρόσφατη ανασκόπηση (Jones, et al., 2016), καθώς η αναγωγή νιτρικών σε NO ευνοείται από υποξικό περιβάλλον, η χαμηλότερη μερική πίεση οξυγόνου στις μυϊκές ίνες τύπου II, συγκριτικά με τις τύπου I, οδηγεί σε μεγαλύτερη παραγωγή NO σε αυτές και επομένως σε καλύτερη τοπική αιμάτωση, μεγαλύτερο κλάσμα παροχής προς κατανάλωση οξυγόνου και βελτιωμένη αντοχή στην κόπωση, μυϊκή συσταλτικότητα και τελικά απόδοση. Ωστόσο, πειραματικά δεδομένα, φανερώνουν πως οι μυϊκές ίνες του πλατύ μηριαίου μυός γυναικών εκφράζουν τις βαριές αλυσίδες μυοσίνης τύπου I 35% περισσότερο, ενώ τύπου II_A και II_X, 30% και 15%, αντίστοιχα, λιγότερο από ότι των ανδρών (Welle, et al., 2008). Ακόμη, οι μυϊκές ίνες τύπου II_A και II_X καταλαμβάνουν το 36% και 23% της συνολικής μυϊκής βιομίας από πλατύ μηριαίο γυναικών, όταν τα αντίστοιχα ποσοστά για τους άνδρες φθάνουν το 46% και 20% (Staron, et al., 2000). Τα παραπάνω υποστηρίζουν επίσης τη θεωρία ότι η ευαισθησία των γυναικών σε εξωγενές NO είναι μικρότερη από των ανδρών.

2. 6. Μονοξειδίο του αζώτου στο σκελετικό μυ

Πέρα από τις γενικές φυσιολογικές του λειτουργίες, το NO παρουσιάζει μεγάλο φυσιολογικό ενδιαφέρον και σε επίπεδο σκελετικού μυός (Reid, 1998). Τόσο οι συνθήκες του μονοξειδίου του αζώτου, όσο και οι αναγωγάσες των νιτρικών και νιτρωδών, απαντούν και εκφράζονται στους σκελετικούς μύες (Reid, 1998). Επιπρόσθετα, η άσκηση φαίνεται να αυξάνει τα επίπεδά του στο αίμα (Maeda, et al., 2001; 2004; 2006), ενώ η αύξηση αυτή θεωρείται ότι παρουσιάζει και θετική συσχέτιση με την απόδοση (Gilchrist, et al., 2010). Έχει σημασία, επομένως, να μελετηθεί η φυσιολογία του NO στο σκελετικό μυ, καθώς και οι μηχανισμοί, μέσω των οποίων αυτό μπορεί να σχετίζεται με βελτίωση της απόδοσης.

2. 6. 1. Σύνθεση μονοξειδίου του αζώτου στο μυϊκό κύτταρο

2. 6. 1. 1. Συνθήκες μονοξειδίου του αζώτου στο μυ

Και οι τρεις ισομορφές συνθασών του NO έχουν εντοπιστεί στο μυϊκό κύτταρο με κυρίαρχες τις νευρωνικές συνθήσες (nNOS), συνεισφέροντας στην αύξηση των επιπέδων NO στο μυ παράλληλα με τη μετατροπή της L-αργινίνης σε L-κιτρουλλίνη. Συγκεκριμένα, mRNA νευρωνικής συνθήσης εντοπίστηκε πρώτη φορά σε ανθρώπινο σκελετικό μυ το 1993 (Nakane, et al., 1993). Μέχρι σήμερα, έχουν εντοπιστεί nNOS σε διάφορους μύες, όπως ο γαστροκνήμιος, ο τετρακέφαλος, ο πλατύς μηριαίος και ο σφιγκτήρας της ουρήθρας, καθώς και σε αρκετούς άλλους μύες άλλων θηλαστικών. Επίσης, εκφράζονται τόσο στις τύπου I, όσο και στις τύπου II μυϊκές ίνες, ενώ η έκφραση και κατ' επέκταση η ενεργοποίησή τους, τουλάχιστον σε τρωκτικά, παρουσιάζει συσχέτιση με το ποσοστό των μυϊκών ινών τύπου II (Kobzik, et al., 1994), αν και σε

ανθρώπους η έκφραση τουλάχιστον των nNOS είναι μάλλον πιο ομοιόμορφη (Gossrau, 1998). Πιθανολογείται ακόμη ότι η ενεργοποίησή τους είναι εν μέρει επαγόμενη από την προπόνηση αντοχής, τουλάχιστον σε τρωκτικά (Balon and Nadler, 1997). Το παραπάνω είναι λογικό, καθώς πρόκειται για ένζυμα που ενεργοποιούνται σε αυξημένες συγκεντρώσεις ασβεστίου, πράγμα που συμβαίνει κατά τη μυϊκή δραστηριότητα, οπότε απελευθερώνεται ασβέστιο από το σαρκοπλασματικό δίκτυο των μυϊκών ινών.

Τα δύο άλλα ισοένζυμα NOS, επίσης έχουν εντοπιστεί σε σκελετικούς μύες. Οι ενδοθηλιακές συνθήσες (eNOS), σε αντίθεση με τις νευρωνικές, δεν παρουσίασαν εντοπισμένες ποσοτικές διαφορές ανάλογα με τον τύπο των μυϊκών ινών (Kobzik, et al., 1994). Ωστόσο, μόνο οι τύπου II μυϊκές ίνες έχει βρεθεί ότι μπορούν ταυτόχρονα να εκφράζουν nNOS και eNOS. Όπως και οι nNOS, η παραγωγή NO από τις eNOS επάγεται επίσης από την αυξημένη συγκέντρωση ασβεστίου κατά την άσκηση, οδηγώντας σε συνολική αύξηση της παραγωγής κατά 50% έως και 200% (Balon and Nadler, 1997). Από την άλλη, οι επαγόμενες συνθήσες του NO (iNOS) ενεργοποιούνται κατά τη διαδικασία της φλεγμονής, ως απάντηση στην αυξημένη συγκέντρωση κυττοκινών (Thompson, et al., 1996).

2. 6. 1. 2. Μονοπάτι νιτρικών-νιτρωδών-μονοξειδίου του αζώτου στο μυ

Όπως αναπτύχθηκε παραπάνω, τα τελευταία χρόνια έχει εδραιωθεί η παραγωγή NO αναερόβια και ανεξάρτητα των NOS, με υπόστρωμα τα νιτρώδη του πλάσματος. Η αύξηση στη συγκέντρωση των νιτρωδών επιτυγχάνεται επί το πλείστον μέσω διαιτητικής πρόσληψης νιτρικών, τα οποία αφού απορροφηθούν, επανέρχονται στη στοματική κοιλότητα μέσω των σιελογόνων αδένων και

ανάγονται σε νιτρώδη με τη δράση βακτηρίων της γλώσσας. Ακολούθως, τα νιτρώδη με αφαίρεση ενός ακόμα ηλεκτρονίου, ανάγονται σε NO.

Στις πρωτεΐνες που μπορούν να παίξουν ρόλο αναγωγής των νιτρικών, περιλαμβάνεται και η μυοσφαιρίνη, αλλά και ένζυμα που εντοπίζονται στις μυϊκές ίνες, όπως τα μιτοχονδριακά ένζυμα της αναπνευστικής αλυσίδας. Η αντίδραση αυτή, μάλιστα, ευνοείται από υποξικό και όξινο περιβάλλον, ακριβώς δηλαδή από τις συνθήκες που επικρατούν στο μυϊκό κύτταρο κατά την άσκηση. Παρέχει έτσι ένα εναλλακτικό μονοπάτι παραγωγής NO υπό συνθήκες υποξίας και χαμηλού pH, καθώς παρόλο που, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η αύξηση του ενδοκυττάριου ασβεστίου κατά την άσκηση ευνοεί την ενεργοποίηση των μη επαγόμενων NOS, εντούτοις είναι γνωστό, πως απαραίτητη προϋπόθεση για τη δράση τους είναι και η ύπαρξη οξυγόνου. Επιπλέον, το υποξικό περιβάλλον των συστελλόμενων μυών ευνοεί τη δημιουργία ελεύθερων ριζών, που μπορεί να αποτελούν ένα πρόσθετο εμπόδιο της δράσης των NOS. Γίνεται επομένως προφανές, ότι το μυϊκό κύτταρο είναι ικανό να παράγει NO σε ένα μεγάλο εύρος συγκέντρωσης οξυγόνου (Bailey, 2012).

2. 6. 1. 3. Σχέση της άσκησης με τη σύνθεση μονοξειδίου του αζώτου

Σύμφωνα με τα παραπάνω, η φυσιολογία της άσκησης στο σκελετικό μυ φαίνεται να υποστηρίζει την αύξηση της παραγωγής NO. Τόσο η απελευθέρωση ενδοκυττάριου ασβεστίου κατά τη μυϊκή συστολή, όσο και η μείωση του pH σε συνθήκες μυϊκής υποξίας, εντείνουν την ενεργοποίηση είτε των συνθασών του NO, ή του μονοπατιού αναγωγής των νιτρωδών.

Πράγματι, επαναλαμβανόμενα πειράματα του Maeda και των συνεργατών του (Maeda, et al., 2001; 2004; 2006)

φανερώνουν πως διάφορα πρωτόκολλα προπόνησης είναι ικανά να επιφέρουν τέτοια επίδραση σε όλους τους δοκιμαζόμενους. Συγκεκριμένα, πρωτόκολλο 8 εβδομάδων με άσκηση σε κυκλοεργόμετρο (70%VO_{2max} για 1 ώρα, 3-4 φορές/ εβδομάδα) αύξησε σημαντικά τα επίπεδα νιτρικών και νιτρωδών στο αίμα, ένδειξη αυξημένης σύνθεσης NO. Τα επίπεδα αυτά διατηρήθηκαν σταθερά έως και 4 εβδομάδες μετά τη λήξη του πρωτοκόλλου, ενώ 8 εβδομάδες αργότερα επανήλθαν στα αρχικά επίπεδα, με τους ερευνητές να υπογραμμίζουν τα οφέλη που μπορεί αυτό να έχει σε καρδιαγγειακούς μηχανισμούς, όπως η αγγειοδιαστολή και η πρόληψη της αρτηριοσκλήρυνσης (Maeda, et al., 2001).

Στη συνέχεια, αναγνωρίζοντας πως τα επίπεδα σύνθεσης NO μειώνονται με την πάροδο της ηλικίας, πραγματοποίησαν μελέτες και σε ηλικιωμένο πληθυσμό. Έτσι, έδειξαν ότι ακόμα και ήπια αερόβια άσκηση σε κυκλοεργόμετρο (80% του αναερόβιου καταφυλιού για 30 λεπτά, 5 μέρες/ εβδομάδα), είναι ικανή να αυξήσει την παραγωγή NO, αλλά και τη συγκέντρωση διαλυτής γουανυλικής κυκλάσης (cGMP) σε ηλικιωμένες γυναίκες μέσα σε διάστημα 3 μηνών (Maeda, et al., 2004). Αντίστοιχα αποτελέσματα ως προς την παραγωγή NO βρέθηκαν και σε ηλικιωμένους άντρες, οι οποίοι ακολούθησαν πρωτόκολλο ήπιας προπόνησης με αντιστάσεις (κάμψη και έκταση γόνατος, 3 σετ/ ημέρα, 2 φορές/ εβδομάδα) για 12 εβδομάδες. Πέρα από την αύξηση της μέγιστης ισχύος, οι ερευνητές επεσήμαναν ότι η προπόνηση με αντιστάσεις δεν αύξησε την αρτηριακή σκληρότητα. Πρότειναν, επομένως, ότι τόσο ήπια αερόβια προπόνηση, όσο και προπόνηση με αντιστάσεις, μπορεί να αμβλύνει τους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, μέσω της αύξησης

της ενδογενούς σύνθεσης NO σε ηλικιωμένα άτομα (Maeda, et al., 2006).

Σε άλλες μελέτες, η αύξηση της παραγωγής NO μετά από άσκηση σχετίστηκε με την απόδοση στην ίδια την άσκηση (Allen, et al., 2005; Rassaf, et al., 2007). Ο Allen και οι συνεργάτες του (2005) μέτρησαν τη συγκέντρωση νιτρικών και νιτρωδών στο πλάσμα μετά από μία μονή δόση άσκησης σε υγιείς δοκιμαζόμενους και σε δοκιμαζόμενους με καρδιαγγειακά προβλήματα. Παρόλο που στους πρώτους η αύξηση της συγκέντρωσης βρέθηκε στατιστικά σημαντική μετα-ασκησιακά, οι δεύτεροι δεν παρουσίασαν σημαντική αύξηση. Σχετίζοντας οι ερευνητές την αύξηση στη συγκέντρωση νιτρικών και νιτρωδών με την απόδοση στο πρωτόκολλο άσκησης, ανέδειξαν σημαντική συσχέτιση μεταξύ τους, προτείνοντας ότι τα άτομα που μπορούσαν να ασκηθούν εντονότερα, εμφάνιζαν και την υψηλότερη παραγωγή NO. Σε μελέτη με υγιείς 55 δοκιμαζόμενους ο Rassaf και οι συνεργάτες του (2007) ανέδειξαν επίσης αυξημένη παραγωγή NO μετά από μία δόση άσκησης. Η μετα-ασκησιακή συγκέντρωση νιτρωδών, όπως και προηγουμένως, σχετίστηκε σημαντικά με την απόδοση μέγιστης ισχύος, όπως και με την αντοχή. Μάλιστα πιθανολόγησαν ότι διαταραγμένη σύνθεση του NO θα περιορίσει την ικανότητα για άσκηση.

2. 6. 2. Φυσιολογικές λειτουργίες μονοξειδίου του αζώτου στο σκελετικό μυ

Η σχέση της άσκησης με την παραγωγή NO είναι μια σχέση αλληλεξάρτησης, παρά αιτίου αποτελέσματος. Η χρόνια άσκηση έχει φανεί ότι οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή NO, που διαρκεί για αρκετές εβδομάδες μετά την παύση της άσκησης, ενώ τα επίπεδα NO αυξάνονται ακόμα και μετά από μία μόνη δόση άσκησης. Από την άλλη, αυξημένη παραγωγή NO μετα-ασκησιακά

παρουσιάζει σημαντική θετική συσχέτιση με την απόδοση, τέτοια ώστε το NO να προτείνεται ως βασικός παράγοντας βελτίωσης της απόδοσης (Gilchrist, 2010). Αναπτύχθηκαν παραπάνω, οι μηχανισμοί στους οποίους πιθανά οφείλεται η αυξημένη σύνθεση NO κατά την άσκηση. Στη συνέχεια, θα αναλυθούν οι πιθανοί φυσιολογικοί μηχανισμοί, μέσω των οποίων το NO δύναται να βελτιώσει την απόδοση.

2. 6. 2. 1. Αιματική ροή

Η αυτο-ρύθμιση της αιματικής ροής αναφέρεται στη συνεχή προσαρμογή της παροχής αίματος σε διάφορα όργανα ανάλογα με τις μεταβολικές ανάγκες τους (Stamler and Meissner, 2001). Το NO φαίνεται να εμπλέκεται σε αυτή τη μικροαγγειακή προσαρμογή, ως απάντηση στη μυϊκή συστολή (Fujii, et al., 1998), την υποξία (Ward, 1996), ή την αγγειακή απόφραξη (Bjornberg, et al., 1990). Ως πιθανός μηχανισμός αύξησης της αιματικής ροής προτείνεται η λειτουργική συμπαθόλυση (Stamler and Meissner, 2001). Συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι τα κύτταρα που εκφράζουν nNOS παρεμποδίζουν την α-αδρενεργικά ρυθμιζόμενη αγγειοσυστολή, κατά τη συστολή των μυϊκών ινών τύπου II σε τρωκτικά, πράγμα το οποίο δε συμβαίνει σε περίπτωση λήψης αναστολέων της δράσης των nNOS (Thomas and Victor, 1998). Χωρίς, επομένως, να έχει επιβεβαιωθεί ότι η αγγειοδιαστολή στο μυ οφείλεται στη δράση των nNOS της μυϊκής ίνας, η επίδραση των nNOS στη συγκεκριμένη δράση είναι βέβαιη (Stamler and Meissner, 2001).

2. 6. 2. 2. Κυτταρική αναπνοή

Η χρησιμοποίηση οξυγόνου από τα κύτταρα είναι μια πολύπλοκη διεργασία που σχετίζεται με την ικανότητα της αιμοσφαιρίνης για μεταφορά οξυγόνου, την αιματική ροή, την απόσπαση οξυγόνου από το κύτταρο, καθώς και την κατανάλωσή του από το μιτοχόνδριο.

Δεδομένης της πολυπλοκότητας της παραπάνω λειτουργίας, καθώς και της ποικιλότητας των φυσιολογικών δράσεων του NO, ενώ είναι φανερό πως ευνοεί την κυτταρική αναπνοή, μειώνοντας το κόστος οξυγόνου για την εκτέλεση μιας δραστηριότητας, υπάρχουν διάφορα μοντέλα, που εξηγούν τον υποκείμενο μηχανισμό (Andrew, 2014).

Αρχικά, όπως έχει αναφερθεί, το NO, είτε παραγόμενο ενδοθηλιακά, ή ακόμα και μυϊκά, παρεμβαίνει στη χάλαση των λείων μυών, οδηγώντας σε αγγειοδιαστολή και κατ' επέκταση αύξηση της αιματικής ροής στο μυ. Ακόμη, αντιδρώντας με τις ομάδες αίμης της αιμοσφαιρίνης και της μυοσφαιρίνης, επηρεάζει την πρόσδεση και απελευθέρωση οξυγόνου σε αυτές, ρυθμίζοντας την απόσπαση οξυγόνου από τους ιστούς, καθώς και στα μιτοχόνδρια (Tengan, et al., 2012).

Σε μιτοχονδριακό επίπεδο, έχει προταθεί, ότι το NO παρεμβαίνει στην αναπνευστική αλυσίδα (Larsen, et al., 2011). Σύμφωνα με τα παραπάνω, το NO έχει τη δυνατότητα να προσδέεται στην κυτοχρωμική C οξειδάση, στη θέση πρόσδεσης του οξυγόνου, παρεμποδίζοντας τη σύνδεσή της με αυτό και την επακόλουθη αναγωγή του σε νερό με παραγωγή ιόντων υδρογόνου, τα οποία ακολούθως θα χρησιμοποιηθούν στην παραγωγή ATP. Έτσι, σε καταστάσεις αυξημένης συγκέντρωσης NO, η μεγάλη παρεμπόδιση των ενζύμων της αναπνευστικής αλυσίδας, πιθανά εκλαμβάνεται από το κύτταρο ως υποξία, επιφέροντας αναστολή της δράσης μιας πρωτεΐνης (ANT) που παρεμβαίνει στην πρωτονιακή αγωγιμότητα της μιτοχονδριακής μεμβράνης, ελαττώνοντας δηλαδή τη διαρροή πρωτονίων κατά τη διαδικασία της κυτταρικής αναπνοής και αυξάνοντας έτσι την αποτελεσματικότητα της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης, ή του λόγου P/O (παραγόμενα ATP προς καταναλισκόμενο οξυγόνο).

Πέρα από την άμεση επίδραση του NO στην κυτταρική αναπνοή, υπάρχουν ενδείξεις ότι το NO έχει σημαντικό ρόλο και στη βιογένεση των μιτοχονδρίων. Σύμφωνα με την ανασκόπηση της Tengan και των συνεργατών της (2012), θεραπεία με πρόδρομο του NO αυξάνει τη συγκέντρωση δεικτών που επάγουν τη βιογένεση λειτουργικών μιτοχονδρίων, ικανών να παράγουν ATP, μέσω της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Οι ακριβείς μηχανισμοί στους οποίους βασίζεται η δράση αυτή δεν είναι πλήρως κατανοητοί, ωστόσο πιθανολογείται η εμπλοκή του παράγοντα PGC-1α.

2. 6. 2. 3. Μυϊκή σύσπαση

Η σύζευξη διέγερσης-συστολής της μυϊκής ίνας είναι η διαδικασία, με την οποία χημικά και ηλεκτρικά σήματα στη μεμβράνη του κυττάρου προωθούν την απελευθέρωση ιόντων ασβεστίου από το σαρκοπλασματικό δίκτυο, το οποίο με τη σειρά του επάγει την σύνδεση ακτίνης-μυοσίνης με κατανάλωση ATP, οδηγώντας σε μυϊκή σύσπαση. Στη συνέχεια, αντλίες εξαρτώμενες επίσης από ATP (Ca^{++} -ATPάσες) επαναφέρουν τα ιόντα στο σαρκοπλασματικό δίκτυο, ενώ σε περίπτωση που το ασβέστιο παραμείνει ελεύθερο, παράγονται οι τετανικές συσπάσεις (Stamler and Meissner, 2001). Το NO φαίνεται να επηρεάζει τη διαδικασία διέγερσης-συστολής, μειώνοντας το κόστος σε ενέργεια.

Συγκεκριμένα, αυξημένα επίπεδα NO στο αίμα, λόγω εξωγενούς χορήγησης, φαίνεται να επιφέρουν βελτίωση της συσταλτικής αποτελεσματικότητας των μυών με παράλληλη μείωση της ποσότητας ATP που υδρολύεται (Bailey, et al., 2010). Οι ερευνητές πρότειναν ότι το παραπάνω οφείλεται πιθανά σε καλύτερη διαχείριση των ιόντων ασβεστίου, καθώς συγκεκριμένα για τις μυϊκές ίνες τύπου II, η συγκέντρωση των ελεύθερων ιόντων ασβεστίου βρέθηκε

αυξημένη στο σαρκόπλασμα. Έτσι, θεώρησαν ότι μειώνεται το κατώφλι διέγερσης των ινών αυτών με αποτέλεσμα τη μείωση της προσπάθειας, ή την επιστράτευση μικρότερου αριθμού μυϊκών ινών για την εκτέλεση του ίδιου έργου (Haider and Folland, 2014).

2. 6. 2. 4. Μεταβολισμός υδατανθράκων

Η επίδραση του NO στις μυϊκές ίνες τείνει να συντηρεί τα αποθέματα ενέργειας του μυ. Σχετικά με το μεταβολισμό των υδατανθράκων, το NO φαίνεται να αυξάνει την πρόσληψη γλυκόζης από το μυϊκό κύτταρο, κατά τη διαδικασία διέγερσης-συστολής (Hong, et al., 2014). Σύμφωνα με την ανασκόπηση του Hong και των συνεργατών του, κοινό εύρημα μεταξύ μελετών τόσο σε τρωκτικά, όσο και σε ανθρώπους αποτελεί η αναστολή της αύξησης στην πρόσληψη γλυκόζης από τους μύες κατά τη συστολή τους. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί μειωμένη πρόσληψη γλυκόζης κατά την άσκηση σε υγιείς δοκιμαζόμενους με χρήση αναστολέων των NOS, η οποία μάλιστα ήταν ανεξάρτητη της αιματικής ροής (Bradley, et al., 1999; Mortensen, et al., 2007). Η αύξηση της προσλαμβανόμενης γλυκόζης από το μυϊκό κύτταρο εξαιτίας του NO πιθανολογείται ότι οφείλεται όχι τόσο στην αυξημένη αιματική ροή, άρα μεγαλύτερη παροχή γλυκόζης στο κύτταρο, αλλά σε ενδομυϊκή σηματοδότηση, που αυξάνει τη μετατόπιση του υποδοχέα γλυκόζης στις μυϊκές ίνες (GLUT4) (Hong, et al., 2014). Στη σηματοδότηση εμπλέκονται, σύμφωνα με την ανασκόπηση του Hong και των συνεργατών του (2014), το μονοπάτι διαλυτής γουανυλικής κυκλάσης/ κυκλικής μονοφωσφορικής γουανοσίνης/ πρωτεϊνικής κινάσης G (sGC/ cGMP/ PKG), καθώς και μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των πρωτεϊνών αυτών, με τους ακριβείς μηχανισμούς να μην έχουν πλήρως διαλευκανθεί.

Άλλος ένας μηχανισμός συντήρησης των μυϊκών αποθεμάτων σε υδατάνθρακα είναι η παρεμπόδιση της γλυκόλυσης από το NO. Η συγκεκριμένη λειτουργία ρυθμίζεται από το ένζυμο αφυδρογονάση της 3-φωσφορικής γλυκεραλδεϋδης (GAPDH), του οποίου τη δράση αναστέλλει το NO μέσω S-νιτροζυλίωσης της 149 κυστεΐνης (Mohr, et al., 1996). Η αναστολή του συγκεκριμένου ενζύμου είναι αναστρέψιμη, γιατί και η δραστηριότητά του επανέρχεται σε καταστάσεις αυξημένης ενεργειακής απαίτησης, υπό εξάντληση του μυϊκού γλυκογόνου, όπως είναι για παράδειγμα η παρατεταμένη άσκηση.

2. 7. Συμπληρώματα μονοξειδίου του αζώτου και άσκηση

Στην ενότητα 2.6.1.3. παρουσιάστηκε η συσχέτιση της άσκησης με τη βιοδοθεσιμότητα του ενδογενούς NO και υπογραμμίστηκε πως οι δύο αυτοί παράγοντες είναι αλληλεξαρτώμενοι. Δηλαδή, η άσκηση αυξάνει τα επίπεδα δεικτών του NO στο αίμα (Maeda, et al., 2001; 2004; 2006), ενώ η αύξηση αυτή παρουσιάζει μία αναλογία με την απόδοση (Allen, et al., 2005; Dreissigacker, et al., 2010; Gilchrist, et al., 2010). Έχει προταθεί μάλιστα ότι διαταραγμένη σύνθεση NO σχετίζεται με μειωμένη απόδοση (Rassaf, et al., 2007). Ωστόσο, παρά την αποτελεσματικότητα της ίδιας της προπόνησης στη βελτίωση της παραγωγής NO, τα τελευταία χρόνια γίνονται προσπάθειες αύξησης της ενδογενούς σύνθεσής του και με χρήση συμπληρωμάτων. Καθώς το NO αποτελεί ένα αέριο και ιδιαίτερα ασταθές μόριο, η αύξηση της βιοδοθεσιμότητάς του επιχειρείται με συμπληρωματική χορήγηση πρόδρομων του μορίων.

2. 7. 1. Χορήγηση L-αργινίνης

Όπως προαναφέρθηκε, η αργινίνη αποτελεί υπόστρωμα παραγωγής NO, με τη δράση των συνθασών του NO. Σύμφωνα με ανασκόπηση των Cheng και

Baldwin (2001), η από του στόματος χορήγηση συμπληρώματος αργινίνης έχει φανεί να βελτιώνει την ικανότητα για άσκηση σε μερικές μικρού εύρους μελέτες μεταξύ ασθενών με καρδιαγγειακά νοσήματα, σημειώνοντας ότι απαιτούνται μεγαλύτερου εύρους μελέτες πριν υιοθετηθεί η πρακτική αυτή. Πιο πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η αργινίνη μπορεί να βελτιώσει την απόδοση σε ασθενείς με χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια (Doutreleau, et al., 2006), καθώς και σε άτομα που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση καρδιάς (Doutreleau, et al., 2010).

Ωστόσο, η πλειοψηφία των μελετών σε υγιή πληθυσμό υποδηλώνει πως η συμπληρωματική χορήγηση L-αργινίνης δεν βελτιώνει την απόδοση, καθώς ενώ αυξάνει τη συγκέντρωση της L-αργινίνης στο πλάσμα, συχνά δεν οδηγεί σε αύξηση της συγκέντρωσης NO, ή σε βελτίωση της αιματικής ροής (Bescos, et al., 2009; Tang, et al., 2011; Willoughby, et al., 2011). Πράγματι, μελέτες με πρωτόκολλα αντοχής με έγχυση αργινίνης κατά τη διάρκεια του πρωτοκόλλου (McConnell, et al., 2006), ή χορήγηση συμπληρώματος πριν την έναρξή του (Abel, et al., 2005) απέτυχαν να αναδείξουν στατιστικά σημαντική διαφορά στη μέγιστη ισχύ και στο χρόνο εξάντλησης. Παρόμοια, 3-ήμερη (Liu, et al., 2009), ή οξεία χορήγηση συμπληρώματος αργινίνης (Olek, et al., 2010) πριν από αναερόβια διαλειμματικά πρωτόκολλα δε φάνηκε να επιφέρει κάποια σημαντική βελτίωση της απόδοσης. Αντίστοιχα, καμία βελτίωση στην απόδοση δεν αναδείχθηκε ούτε σε πρωτόκολλο με αντιστάσεις, παρόλο που το συμπλήρωμα αύξησε την αιματική ροή των ασκούμενων μυών (Alvares, et al., 2012).

2. 7. 2. Νιτρικά άλατα

Τα νιτρικά άλατα επίσης έχουν χρησιμοποιηθεί ως μέσα αύξησης της βιοδιαθεσιμότητας του NO. Τρεις

μελέτες σε υγιείς ενήλικες δοκιμαζόμενους χορήγησαν νιτρικό νάτριο (NaNO₃) για 2 (Larsen, et al., 2007; 2010), ή 3 ημέρες (Bescos, et al., 2012) και εξέτασαν την επίδρασή του σε πρωτόκολλο σταδιακά αυξανόμενης άσκησης μέχρι εξάντλησης σε κυκλοεργόμετρο (Larsen, et al., 2007), ή σε άσκηση με χέρια και πόδια (Larsen, et al., 2010), αλλά και σε δοκιμασία απόστασης σε χρόνο 40 λεπτών (Bescos, et al., 2012). Τα αποτελέσματά των δύο πρώτων έδειξαν αντίστοιχα μείωση της κατανάλωσης οξυγόνου στην υπομέγιστη άσκηση και μείωση της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου, ενώ και στις τρεις αυξήθηκαν σημαντικά τα επίπεδα νιτρικών στο αίμα. Καμία αλλαγή δεν παρατηρήθηκε στους παράγοντες καρδιακή συχνότητα, αντιλαμβανόμενη κόπωση, ολικό έργο, απόσταση σε 40 λεπτά. Ανάλογα αποτελέσματα με τις παραπάνω μελέτες έδειξε και η οξεία χορήγηση NaNO₃ τρεις ώρες πριν από πρωτόκολλο με υπομέγιστη και σταδιακά αυξανόμενης έντασης άσκηση σε επαγγελματίες ποδηλάτες (Bescos, et al., 2011). Παρόλα αυτά, οι ερευνητές προτείνουν ότι τα αποτελέσματα αυτά μπορεί να σχετίζονται με βελτίωση της απόδοσης.

Ο Peacock και οι συνεργάτες του (2012) χορήγησαν ως συμπλήρωμα νιτρικό κάλιο σε παιδιά, ελίτ αθλητές του σκι. Το συμπλήρωμα χορηγήθηκε 2,5 ώρες πριν την έναρξη του πρωτοκόλλου, το οποίο περιελάμβανε υπομέγιστη άσκηση σε διαφορετικές εντάσεις καθώς και μία δοκιμασία δρόμου 5km. Τα αποτελέσματα της χορήγησης KNO₃ δε διέφεραν από εκείνα του placebo σε καμία από τις μεταβλητές που μέτρησαν οι ερευνητές.

2. 7. 3. Διαιτητικά νιτρικά και νιτρώδη

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τα νιτρώδη, και ιδιαίτερα τα νιτρικά, απαντώνται φυσικά σε αρκετά λαχανικά.

Είναι εύλογο επομένως, το γεγονός ότι τα τελευταία χρόνια γίνονται αρκετές πειραματικές δοκιμές, που στοχεύουν σε βελτίωση της απόδοσης, μέσω αύξησης της συγκέντρωσης νιτρικών και νιτροδών στο πλάσμα από διατροφικές πηγές. Μεταξύ των πιο ευρέως χρησιμοποιούμενων πηγών μάλιστα, βρίσκεται ο παντζαροχυμός, καθώς αποτελεί ένα σκεύασμα, που βρίσκεται και καταναλώνεται με σχετική ευκολία, ενώ σε ποσότητα 500ml προσδίδει περίπου 300-500mg (5-8mmol) νιτρικών και φαίνεται να αυξάνει τη συγκέντρωση νιτροδών, ενός καλού δείκτη NO, στο πλάσμα, τόσο μετά από χρόνια (Bailey, et al., 2009), όσο και μετά από οξεία χορήγηση (Vanhatalo, et al., 2010; Lansley, et al., 2011; Wilkerson, et al., 2012).

2. 7. 3. 1. Αυτούσιες τροφές

Παρά τη λογική συνάφεια, σύμφωνα με όσα προαναφέρθηκαν, που θα παρουσίαζε η εξέταση της κατανάλωσης των ίδιων των λαχανικών με υψηλή περιεκτικότητα σε νιτρικά ως μέσο βελτίωσης της απόδοσης, τα ερευνητικά δεδομένα πάνω στο συγκεκριμένο θέμα είναι ελλιπή. Το γεγονός αυτό πιθανά οφείλεται στην ευκολία των συμπληρωμάτων ως προς την κατανάλωσή τους, ή και στην αδυναμία άμεσης μέτρησης της ακριβούς ποσότητας νιτρικών και νιτροδών κάθε τροφίμου, για την εκτίμηση της οποίας οι ερευνητές δεν μπορούν παρά να βασίζονται σε υπάρχοντες πίνακες ανάλυσης τροφίμων (Authority, 2008). Αξίζει ωστόσο να σημειωθεί, ότι οι περιεκτικότητες των πινάκων είναι μάλλον ενδεικτικές καθώς η πραγματική συγκέντρωση νιτρικών και νιτροδών κάθε λαχανικού μπορεί να παρουσιάσει μεγάλο εύρος, αφού επιδρούν σε αυτή διάφοροι παράγοντες, όπως ο γονότυπος, το χρώμα και οι συνθήκες ανάπτυξης, αποθήκευσης και μεταφοράς (Anjana and Abrol, 2007).

Στην πραγματικότητα, δύο μόνο ερευνητικές ομάδες εξέτασαν την παραπάνω υπόθεση. Στην πρώτη περίπτωση, η Murphy και οι συνεργάτες της (2012), εξέτασαν την οξεία επίδραση της κατανάλωσης 200g πλούσιων σε νιτρικά ($\geq 500\text{mg}$) ψημένων παντζαριών, σε σύγκριση με μια φτωχή σε νιτρικά και νιτροδών πούλπα από κράνμπερις, σε δοκιμασία δρόμου 5km σε δαπεδοεργόμετρο. Οι ερευνητές παρατήρησαν ότι στην περίπτωση των παντζαριών, παρόλο που η διαφορά στη μέση ταχύτητα δεν έδειξε παρά μία τάση για στατιστική σημαντικότητα, τα τελευταία 2 περίπου χιλιόμετρα η ταχύτητα ήταν σημαντικά αυξημένη, ενώ ο δείκτης αντιλαμβανόμενης κόπωσης φάνηκε σημαντικά μειωμένος. Καταλήγουν επομένως ότι η βελτίωση της απόδοσης σε συνδυασμό με τα γενικότερα οφέλη από την κατανάλωση λαχανικών, την καθιστούν μια συνετή σύσταση, έναντι των διατροφικών συμπληρωμάτων.

Η δοκιμή που εφάρμοσαν η Porcelli και οι συνεργάτες της (2016) ήταν αρκετά πιο περίπλοκη. Οι ερευνητές υπέβαλαν τους δοκιμαζόμενους τους σε πρωτόκολλο άσκησης μετά από 6-ήμερη ελεγχόμενη διαίτα πλούσια σε νιτρικά ($\sim 8,2\text{mmol/ημέρα}$), καθώς και μετά από διαίτα φτωχή σε νιτρικά ($\sim 2,9\text{mmol/ημέρα}$) αναλόγου διάρκειας. Το πρωτόκολλο περιελάμβανε υπομέγιστη άσκηση, ισομετρικές συστολές και επαναλαμβανόμενα σπριντ. Τα αποτελέσματα μετά από 6 ημέρες διαίτας υψηλής σε νιτρικά έδειξαν σημαντικά υψηλότερη συγκέντρωση νιτρικών και νιτροδών στο πλάσμα, σημαντική μείωση του κόστους οξυγόνου κατά την υπομέγιστη δραστηριότητα και αύξηση του συνολικού μυϊκού έργου κατά τις ισομετρικές συστολές, αλλά και βελτιωμένη απόδοση στα σπριντ. Η διαίτα πλούσια σε νιτρικά συστήνεται

επομένως ως μια εφικτή στρατηγική βελτίωσης της απόδοσης.

2. 7. 3. 2. Παντζαροχυμός

Τα τελευταία χρόνια πλούσια βιβλιογραφία υποστηρίζει τη χορήγηση παντζαροχυμού, ως μέσου αύξησης της βιοδιαθεσιμότητας του NO, με σκοπό τη βελτίωση της απόδοσης (Zafeiridis, 2014). Ενδεικτικά αναφέρεται πως η θετική αυτή επίδραση έχει σημειωθεί σε υπομέγιστες (Bond, et al., 2013; 2014; Wickham, et al., 2019), αλλά και σε μέγιστες δοκιμασίες (Vanhatalo, et al., 2010), σε δοκιμασίες δρόμου συγκεκριμένης απόστασης (Lansley, et al., 2011; Wilkerson, et al., 2012), ή χρόνου (Peeling, et al., 2015), σε ασκήσεις με αντιστάσεις (Coggan, et al., 2015) και σε σπριντ (Rimer, et al., 2013), ενώ έχουν πραγματοποιηθεί πρωτόκολλα με ποδηλάτηση (Vanhatalo, et al., 2010), τρέξιμο (Broosma, et al., 2014), κολύμβηση (Lowings, et al., 2017), κωπηλασία (Hoon, Hopkins, Jones, Martin, Halson, West, et al., 2014), ακόμη και εξομοιωμένο γύρο ομαδικού παιχνιδιού (Buck, et al., 2015).

Η πλειοψηφία των ερευνητών χρησιμοποιεί σκευάσματα συμπυκνωμένου παντζαροχυμού, με αναγραφόμενη την ακριβή περιεκτικότητα σε νιτρικά, ή και νιτρώδη (Zafeiridis, 2014), αποφεύγοντας την ανακρίβεια που αναφέρθηκε, όσον αφορά τη χορήγηση αυτούσιων τροφών. Επιπρόσθετα, υψηλές περιεκτικότητες νιτρικών και νιτρωδών συγκεντρώνονται συχνά σε μικρό όγκο πόσιμου διαλύματος (70ml) (Arnold, et al., 2015; Glaister, et al., 2015; Hoon, et al., 2014; MacLeod, et al., 2015; Muggeridge, et al., 2013; 2014), πράγμα που καθιστά τον παντζαροχυμό μια προσιτή και εύκολα καταναλώσιμη φυσική πηγή αύξησης της βιοδιαθεσιμότητας του NO. Ακόμα πιο ενθαρρυντικά, ως προς την ευκολία στην κατανάλωση, είναι τα αποτελέσματα

σχετικά με τη θετική επίδραση όχι μόνο της χρόνιας, αλλά και της οξείας κατανάλωσης του συμπληρώματος, μόλις μερικές ώρες πριν την έναρξη της άσκησης, όπως θα παρουσιαστούν αναλυτικά στην ενότητα που ακολουθεί.

2. 8. Παντζαροχυμός και αθλητική απόδοση

2. 8. 1. Φαρμακοδυναμική και σχέση δόσης αποτελέσματος

Ο Wylie και οι συνεργάτες του (2013) πραγματοποίησαν μια εκτεταμένη πειραματική δοκιμή, σχετικά με τη φαρμακοδυναμική του παντζαροχυμού, αλλά και τη σχέση δόσης-αποτελέσματος, όσον αφορά την αρτηριακή πίεση και την απόδοση σε υπομέγιστη και μέγιστη άσκηση. Συγκεκριμένα, χορήγησαν παντζαροχυμό περιεκτικότητας 4,2, 8,4 και 16,8 mmol σε νιτρικά, ή placebo σε άνδρες δοκιμαζόμενους με crossover σχεδιασμό και παρατήρησαν την αύξηση των δεικτών βιοδιαθεσιμότητας του NO (συγκέντρωση νιτρικών και νιτρωδών) στο πλάσμα για διάστημα 24 ωρών. Σε άλλη δοκιμασία και έχοντας λάβει τα ίδια συμπληρώματα, οι δοκιμαζόμενοι υποβλήθηκαν σε κυκλοεργομέτρηση υπομέγιστης και μέγιστης έντασης.

Από την παραπάνω μελέτη, καθώς και από προηγούμενες, καθίσταται σαφές ότι η κατανάλωση παντζαροχυμού, αυξάνει τη συγκέντρωση νιτρικών και νιτρωδών στα ούρα (Baião Ddos, Conte-Junior, Paschoalin and Alvares, 2016) και στο πλάσμα (Jonvik, Nyakayiru, Pinckaers, Senden, van Loon and Verdijk, 2016; Wylie, Kelly, Bailey, Blackwell, Skiba, Winyard, et al., 2013), σε γυναίκες και άνδρες. Μάλιστα, οι συγκεντρώσεις στο πλάσμα ανδρών δοκιμαζόμενων φαίνονται να εξαρτώνται από την περιεκτικότητά του παντζαροχυμού σε νιτρικά (Wylie, et al., 2013). Συγκεκριμένα, η συγκέντρωση νιτρικών αυξήθηκε κατά 5, ή 8 φορές, 1 ώρα μετά την κατανάλωση παντζαροχυμού με 4,2,

ή 8,4 mmol νιτρικών αντίστοιχα, και κατά 18 φορές, 2 ώρες μετά τον παντζαροχυμό με 16,8 mmol νιτρικών. Η αύξηση της συγκέντρωσης νιτρικών ήταν μικρότερη και πιο καθυστερημένη φθάνοντας σε 2-2,5 ώρες στις δύο πρώτες περιπτώσεις και σε 3 ώρες στην τελευταία, επίπεδα κατά 2,5 έως 8 φορές άνω των αρχικών. Η καθυστέρηση αυτή είναι δικαιολογημένη, λαμβανομένου υπόψη του μονοπατιού μεταβολισμού των νιτρικών προς μονοξειδίο του αζώτου. Σε όλες σχεδόν τις περιπτώσεις πάντως, τα επίπεδα ήταν σημαντικά υψηλότερα των αρχικών για έως και 12 ώρες μετά την κατανάλωση του διαλύματος. Όσον αφορά την επίδραση των ίδιων σκευασμάτων στην αρτηριακή πίεση, η δράση τους φάνηκε επίσης να είναι δόσοεξαρτώμενη, ωστόσο πάνω από τα 8,4 mmol νιτρικών δε φάνηκε κάποιο επιπρόσθετο όφελος. Οι μέγιστες διαφορές με την αρχική συστολική πίεση έφθασαν τα 10mmHg και εμφανίστηκαν επίσης 2-4 ώρες μετά τη λήψη του συμπληρώματος.

Σχετικά με τη φαρμακοδυναμική του παντζαροχυμού, αξίζει να αναφερθεί ότι ο μεταβολισμός των νιτρικών προς NO ενισχύεται από διατροφικές ουσίες, όπως οι πολυφαινόλες, που απαντώνται για παράδειγμα στο κρασί, ή τα μήλα (Gago, Pietraforte, Scorza, Napolitano, Fogliano and Minetti, 2007; Peri, Pietraforte, Scorza, Napolitano, Fogliano and Minetti, 2005). Ο χυμός ρόδι, επίσης έχει βρεθεί ότι προστατεύει το NO από την οξείδωση, ενώ παράλληλα βελτιώνει και τη βιολογική του δραστηριότητα (Ignarro, Byrns, Sumi, de Nigris and Napoli, 2006). Το παραπάνω, εξηγεί την εντονότερη επίδραση του παντζαροχυμού στην αρτηριακή πίεση (Wylie, et al., 2013), συγκριτικά με το νιτρικό κάλιο (Kapil, Milsom, Okorie, Maleki-Toyserkani, Akram, Rehman, et al., 2010). Ο Wylie και οι συνεργάτες του δηλαδή, εξηγούν

πως το παραπάνω μπορεί να οφείλεται στην υπεροχή του παντζαροχυμού απέναντι στα νιτρικά άλατα, όσον αφορά στην περιεκτικότητά του σε πολυφαινόλες και αντιοξειδωτικά, ουσίες που πιθανά ευνοούν μια πιο αποτελεσματική μετατροπή των νιτρικών σε νιτρώδη στο στομάχι (Lundberg, et al., 2011).

Όσον αφορά τη σχέση δόσης και αποτελέσματος στην απόδοση, η μικρότερη δόση νιτρικών στην πειραματική δοκιμή του Wylie και των συνεργατών του (2013) δεν επέφερε καμία σημαντική αλλαγή, ενώ οι δύο μεγαλύτερες δόσεις αύξησαν παρόμοια και στατιστικά σημαντικά το χρόνο μέχρι εξάντλησης στη μέγιστη δοκιμασία. Αντίθετα, στην υπομέγιστη άσκηση, μόνο η μεγαλύτερη δόση νιτρικών επέφερε σημαντική μείωση του κόστους οξυγόνου, με τους ερευνητές να υπογραμμίζουν πως και με τα 8,4 mmol νιτρικών οι δοκιμαζόμενοι παρουσίασαν μία τάση για μείωση της παραμέτρου αυτής (Wylie, et al., 2013). Γίνεται φανερό επομένως η ύπαρξη δόσοεξαρτώμενης σχέσης της προσλαμβανόμενης ποσότητας νιτρικών, με τη βελτίωση τόσο της αρτηριακής πίεσης, όσο και της απόδοσης. Είναι σημαντικό ωστόσο να σημειωθεί, πως παρά την επίδραση ακόμη μικρών δόσεων νιτρικών με τη μορφή παντζαροχυμού στην αρτηριακή πίεση και τη βιοδιαθεσιμότητα NO στο πλάσμα, τέτοιες δόσεις μάλλον αδυνατούν να επιφέρουν θετικά αποτελέσματα σε άσκηση. Ακόμη, υποστηρίζεται μάλλον η ύπαρξη ενός πλατώ, πάνω από το οποίο δεν παρατηρείται επιπρόσθετη βελτίωση, ούτε στην αρτηριακή πίεση, ούτε σε μέγιστες δοκιμασίες.

2. 8. 2. Χρόνια χορήγηση παντζαροχυμού και αθλητική απόδοση

Σύμφωνα με τις ανασκοπήσεις του Zafeiridis (2014) και του Dominguez και

των συνεργατών του (2017), η επίδραση της χρόνιας χορήγησης παντζαροχυμού στην αθλητική απόδοση οφείλεται πιθανά στην αυξημένη μιτοχονδριακή αποτελεσματικότητα. Πράγματι, έχει φανεί ότι πάνω από 6 ημέρες συνεχόμενης χορήγησης συμπληρώματος νιτρικών, είναι δυνατό να αυξήσει το ρυθμό βιογένεσης των μιτοχονδρίων (Clementi and Nisoli, 2005), ενώ παράλληλα βελτιώνονται τόσο η μιτοχονδριακή αναπνοή, όσο και η οξειδωτική φωσφορυλίωση (Clerc, Milsom, Okorie, Maleki-Toyserkani, Akram, Rehman, et al., 2007). Από την άλλη, τέτοια αποτελέσματα είναι σχεδόν απίθανο να παρατηρηθούν με μία και μόνη δόση συμπληρώματος (Zafeiridis, 2014). Αρκετοί ερευνητές, επομένως, έχουν μελετήσει την επίδραση της χρόνιας (2-15 ημέρες) χορήγησης παντζαροχυμού στην αθλητική απόδοση δοκιμαζόμενων από διαφορετικά επίπεδα φυσικής κατάστασης.

Σε μη αθλητές, ο Bailey και οι συνεργάτες του (2009) ήταν οι πρώτοι που εξέτασαν την επίδραση της χρόνιας χορήγησης συμπληρώματος νιτρικών με τη μορφή παντζαροχυμού. Οι ερευνητές, χορηγώντας συμπλήρωμα περιεκτικότητας 11,2 mmol σε νιτρικά για 6 ημέρες έδειξαν ότι μειώνει την απόσπαση οξυγόνου και την κατανάλωση οξυγόνου κατά την υπομέγιστη άσκηση, υπογραμμίζοντας ότι η ενεργειακή οικονομία που επέφερε ο παντζαροχυμός, αποδίδεται σε ενδοκυτταρικούς μηχανισμούς του μυϊκού κυττάρου. Σε ακόλουθη μελέτη, εξέτασαν την επίδραση 6-ήμερης κατανάλωσης παντζαροχυμού μικρότερης περιεκτικότητας (5,1 mmol νιτρικών) σε έκταση γόνατος (Bailey, et al., 2010). Παρατήρησαν ότι υπήρχε ξεκάθαρη εξοικονόμηση φωσφοκρεατίνης (PCr) μετά τη λήψη του συμπληρώματος, πράγμα που τους έφερε σε διαφωνία με επόμενες μελέτες σε ηλικιωμένους και

νέους δοκιμαζόμενους, οι οποίοι δεν έδειξαν σημαντική διαφορά στο μεταβολισμό της PCr σε ήπια (περπάτημα) ή έντονη (τρέξιμο) δραστηριότητα μετά από 3-6 ημέρες χορήγησης του παντζαροχυμού (Kelly, et al., 2013; Lansley, et al., 2011). Ο Bailey και οι συνεργάτες του (2010) παρατήρησαν επίσης μειωμένο καταβολισμό του ATP μετά τη χορήγηση του παντζαροχυμού, προτείνοντας ότι το μειωμένο κόστος οξυγόνου κατά την άσκηση είναι πιθανότερο να αποδίδεται σε καλύτερο ταίριασμα του υδρολυόμενου ATP με την παραγόμενη δύναμη, παρά σε βελτιωμένη μιτοχονδριακή αποτελεσματικότητα. Σε άλλη μελέτη, η χρόνια λήψη παντζαροχυμού συνδέθηκε επίσης με βελτίωση των συστατικών ιδιοτήτων του μυός (Haider and Folland, 2014), ενώ η εργογόνος δράση του παντζαροχυμού φάνηκε και σε μελέτες με πρωτόκολλα άσκησης υψηλής έντασης. Συγκεκριμένα, 15, ή 5 ημέρες παντζαροχυμού (5,2 ή 8,2 mmol νιτρικών) επέφεραν μειωμένο κόστος οξυγόνου προς το αντίστοιχο έργο (Vanhatalo, et al., 2010) και αύξηση της αντοχής (Kelly, et al., 2013), χωρίς όμως αύξηση της μέγιστης ισχύος. Μειωμένο κόστος οξυγόνου μετά από ήπια και έντονη άσκηση, παρατήρησαν και ο Lansley και οι συνεργάτες του (2011), των οποίων η ερευνητική δοκιμή παρουσίασε την πρωτοτυπία ότι ως placebo σκεύασμα χρησιμοποίησαν τον ίδιο τον παντζαροχυμό, απαλλαγμένο από νιτρικά, φανερώνοντας έτσι ότι η εργογόνος δράση του οφείλεται ξεκάθαρα σε αυτά και όχι σε άλλα συστατικά του. Τέλος, θετικά αποτελέσματα ως προς τη χρόνια επίδραση των διαιτητικών νιτρικών σε μη αθλητές έχουν φανεί και σε υπομέγιστη άσκηση, υπό συνθήκες υποξίας (Masschelein, Van Thienen, Wang, Van Schepdael, Thomis and Hespel, 2012).

Μεταξύ των μελετών που έχουν εξετάσει τη χρόνια επίδραση παντζαροχυμού σε αθλητικό πληθυσμό, λιγότερες είναι εκείνες που ανέδειξαν σημαντικές διαφορές. Ανάμεσά τους, δύο μελέτες με καλά προπονημένο δείγμα, έδειξαν ότι η λήψη παντζαροχυμού (5,5-8mmol νιτρικά) για 6 ημέρες βελτίωσε την απόδοση σε ποδηλάτηση (Cermak, Gibala and van Loon, 2012) και σε κωπηλάτηση (Bond, et al., 2012) συγκεκριμένης απόστασης. Σε μελέτη με κολυμβητές, παρόμοια χορήγηση συμπληρώματος μείωσε το ενεργειακό κόστος στο αναερόβιο κατώφλι (Pinna, Roberto, Milia, Marongiu, Olla, Loi, et al., 2014), ενώ αρκετά μεγαλύτερη δόση (19,5 mmol νιτρικά) για 8 μέρες, βελτίωσε το παραγόμενο έργο. Πολλές είναι όμως οι μελέτες εκείνες, στις οποίες καμία σημαντική διαφορά δεν αναδείχθηκε με τη λήψη του παντζαροχυμού σε παραμέτρους που μετρήθηκαν όπως η μέση και μέγιστη ισχύς (Crhistensen, et al., 2013; Puype, et al., 2015), η υπομέγιστη κατανάλωση οξυγόνου (Broosma, et al., 2014), η συγκέντρωση γαλακτικού (Puype, et al., 2015), ή η απόδοση σε επαναλαμβανόμενα σπριντ (Crhistensen, et al., 2013). Καμία επίδραση δε φάνηκε επίσης σε υποξικό περιβάλλον (Puype, et al., 2015).

2. 8. 3. Οξεία χορήγηση παντζαροχυμού και αθλητική απόδοση

Πέρα από τη χρόνια λήψη παντζαροχυμού, η λήψη μίας δόσης πριν την έναρξη της άσκησης φαίνεται να έχει επίσης εργογόνο δράση (Zafeiridis, 2014; Dominguez, et al., 2017). Πράγματι, 2 χρόνια αφού είχαν ξεκινήσει να διαφαίνονται τα θετικά αποτελέσματα της χρόνιας χορήγησης του συμπληρώματος, η Vanhatalo και οι συνεργάτες της (2010) πραγματοποιώντας μια μελέτη με 6-ήμερη χορήγηση παντζαροχυμού, συμπεριέλαβαν στο πρωτόκολλό τους και ένα πρόγραμμα άσκησης μετά από την

πρώτη δόση, επιβεβαιώνοντας την οξεία επίδραση του παντζαροχυμού στην απόδοση. Σύμφωνα με τα υπάρχοντα ερευνητικά δεδομένα, η θετική αυτή επίδραση είναι φανερή σε διάφορες παραμέτρους βελτίωσης της απόδοσης, που σχετίζονται με το καρδιαγγειακό και το αναπνευστικό σύστημα. Ο παντζαροχυμός συχνά οδηγεί σε ενεργειακή οικονομία, δηλαδή ίση ή και μικρότερη κατανάλωση οξυγόνου για παραγωγή μεγαλύτερου έργου. Επιπρόσθετα, σχετίζεται και με αύξηση της αιματικής ροής στους ασκούμενους μύες, επομένως καλύτερη κατανομή οξυγόνου, αλλά και με βελτίωση της συσταλτικής τους ικανότητας (Dominguez, et al., 2017). Μελέτες που εξετάζουν την οξεία επίδραση του παντζαροχυμού στην αθλητική απόδοση έχουν πραγματοποιηθεί σε αθλητικό και μη πληθυσμό, σε νορμοξικό και υποξικό περιβάλλον, αλλά και σε συνδυασμό με άλλες εργογόνες ουσίες. Παρακάτω θα παρουσιαστούν οι μελέτες που αφορούν χορήγηση παντζαροχυμού έως 3 ώρες προ-ασκησιακά σε υγιές δείγμα ενηλίκων.

2. 8. 3. 1. Οξεία χορήγηση παντζαροχυμού σε μη αθλητές

Έως σήμερα, όλες σχεδόν οι πειραματικές δοκιμές σε υγιείς, μη αθλητές δοκιμαζόμενους αναφέρουν μείωση της συστολικής αρτηριακής πίεσης ηρεμίας και του κόστους οξυγόνου σε υπομέγιστη άσκηση, όπως φαίνεται στον Πίνακα 2.2. Η Vanhatalo και οι συνεργάτες της (2010) ήταν οι πρώτοι που επιβεβαίωσαν την οξεία επίδραση του παντζαροχυμού στη βελτίωση της απόδοσης. Οι ερευνητές χορήγησαν σε δείγμα ανδρών και γυναικών με τυφλό crossover σχεδιασμό 500 ml παντζαροχυμού, περιεκτικότητας 5,2 mmol σε νιτρικά, ή placebo και 2,5 ώρες αργότερα, τους υπέβαλαν σε πρωτόκολλο με υπομέγιστη και σταδιακά αυξανόμενη ένταση άσκησης, μέχρι

εξάντλησης. Η λήψη παντζαροχυμού οδήγησε σε πτώση της συστολικής αρτηριακής πίεσης κατά 5mmHg αμέσως πριν την έναρξη της άσκησης, καθώς και σε μειωμένο, κατά 10%, κόστος οξυγόνου για το υπομέγιστο έργο. Σε μελέτη με δείγμα αποκλειστικά ανδρικό πληθυσμό, παρόμοια δόση παντζαροχυμού χορηγήθηκε 2 ώρες πριν την έναρξη άσκησης σε κυκλοεργόμετρο με υπομέγιστη ένταση, την οποία ακολούθησε ποδηλάτηση σε υψηλή ένταση μέχρι εξάντλησης. Η λήψη παντζαροχυμού, μείωσε τη συστολική πίεση ηρεμίας (-4mmHg) και έδειξε μόνο μία τάση για μείωση του κόστους οξυγόνου στην υπομέγιστη άσκηση. Ωστόσο, αύξησε σημαντικά το χρόνο εξάντλησης, κατά 16% (Thompson, et al., 2014).

Σε δύο μελέτες με δείγμα αποκλειστικά γυναίκες Αφροαμερικανικής καταγωγής, που υποβλήθηκαν σε πρωτόκολλο με τρεις διαφορετικές εντάσεις υπομέγιστης άσκησης δύο ώρες μετά τη λήψη παντζαροχυμού με περίπου 11 mmol (750 mg) νιτρικών, επίσης παρουσιάστηκε πτώση της συστολικής αρτηριακής πίεσης, αλλά και του κόστους οξυγόνου, περισσότερο μάλιστα στη λιγότερο έντονη άσκηση (Bond, et al., 2013; 2014). Βασικός περιορισμός της συγκεκριμένης μελέτης, ήταν η αδυναμία για τυφλή δοκιμή, με αποτέλεσμα οι δοκιμαζόμενες να γνωρίζουν ποιας δοκιμασίας είχε προηγηθεί η λήψη εργογόνου ουσίας και ποιας placebo σκευάσματος.

Σε άλλη μελέτη με γυναίκες, η Rienks και οι συνεργάτες της (2015), χρησιμοποίησαν ένα πρωτόκολλο άσκησης, βάσει του δείκτη αντιλαμβανόμενης κόπωσης. Οι δοκιμαζόμενες 2,5 ώρες μετά τη λήψη παντζαροχυμού (12,9 mmol νιτρικών) πραγματοποίησαν άσκηση σε κυκλοεργόμετρο, βάσει συγκεκριμένης τιμής του δείκτη αντιλαμβανόμενης κόπωσης (κάπως

δύσκολο), αλλά και με συγκεκριμένο φορτίο (75 Watt). Αν και ο παντζαροχυμός μείωσε την αρτηριακή πίεση, το κόστος οξυγόνου περιορίστηκε μόνο στην περίπτωση της άσκησης συγκεκριμένου φορτίου, με τους ερευνητές να αναφέρουν ότι η επίδραση του παντζαροχυμού ενδέχεται να επικαλύφθηκε από την ημερήσια μεταβλητότητα, που παρουσιάζει ο «αυτο-καθορισμός» της έντασης, βάσει του δείκτη κόπωσης. Σε πιο πρόσφατη μελέτη (Wickham, et al., 2019) με δοκιμαζόμενες μέτριας προπονητικής κατάστασης που έκαναν χρήση αντισυλληπτικής αγωγής, οι ερευνητές απέτυχαν να αποδείξουν σημαντική διαφορά τόσο στην οικονομία της άσκησης και όσο στην απόδοση σε πρωτόκολλο μέτριας έντασης άσκησης (50% και 70% της VO_{2max}) μετά από οξεία χορήγηση παντζαροχυμού. Αξίζει να σημειωθεί, βέβαια, ότι στα δύο τελευταία πειραματικά μοντέλα οι δοκιμαζόμενες δεν ελέγχθηκαν ως προς την ημέρα του έμμηνου κύκλου, κατά την οποία συμμετείχαν στις δοκιμές. Δεν αποκλείεται, επομένως, οι μετρήσεις να επηρεάστηκαν από τη μεταβλητότητα τόσο της απόδοσης κατά τη διάρκεια του κύκλου (Samsudeen and Rajagopalan, 2016), όσο και του μεταβολισμού του NO (Kharitonov, et al., 1994; Manau, et al., 1999; Teran, et al., 2001; Giusti, et al., 2002), όπως αναπτύχθηκε στην ενότητα 2.6.

Συγγραφέας	Έτος	Δείγμα	Παντζαροχομός	Δοκιμασία	ΑΠ	Κόστος O ₂	Χρόνος ολοκλήρωσης	Ισχύς	ΡΟ/VO ₂
Vanhatalo	2010	8 (5A, 3Γ)	500ml (5,2mmol NO ₃ ⁻) 150' πριν	2x5' λεπτά (90% αναπνευστικό κατώφλι) + τεστ σταδιακά αυξανόμενης έντασης	-5mmHg (ΣΑΠ)	-10%	-	-	-
Bond	2013	12 (Γ)	500ml (750mg NO ₃ ⁻) 120' πριν	5' (40% VO _{2max}) + 5' (60% VO _{2max}) + 5' (80% VO _{2max})	-5mmHg (ΣΑΠ)	-22% (40% VO _{2max}) -14% (60% VO _{2max}) -13,7% (80% VO _{2max})	-	-	-
Bond	2014	12 (Γ)	500ml (750mg NO ₃ ⁻) 120' πριν	5' (40% VO _{2max}) + 5' (60% VO _{2max}) + 5' (80% VO _{2max})	-5mmHg (ΣΑΠ)	↓	-	-	-
Thompson	2014	16 (A)	500ml (5mmol NO ₃ ⁻) 120' πριν	3' (20Watt) + 20' (50% VO _{2peak}) + 20' (70% VO _{2peak}) + 90% VO _{2peak} μέχρι εξάντλησης	-4mmHg (ΣΑΠ)	↓ (NS)	-	-	+16%
Bienks <i>et al</i>	2015	10 (Γ)	140ml (12,9mmol NO ₃ ⁻) 150' πριν	2x20' (13RPE) + 5' (75W)	-5mmHg (ΣΑΠ)	-4% (75W)	-	-	-
Wickham	2019	12 (Γ)	280ml (26mmol NO ₃ ⁻) 150' πριν	10' (50% VO _{2max}) + 10' (70% VO _{2max}) + 10' (80% VO _{2max}) + ΤΤ (4kJ/kgBM)	-	-	-	-	-

Πίνακας 2. Περιληπτική παρουσίαση πειραματικών μελετών, που έχουν αξιολογήσει την αθλητική απόδοση μετά από οξεία χορήγηση συμπληρωμάτων νιτρικών με τη μορφή παντζαροχομού σε μη αθλητές. (Α: άνδρες, Γ: γυναίκες, ΑΠ: αρτηριακή πίεση πριν την άσκηση, ΡΟ/VO₂: λόγος παραγόμενης ισχύος προς καταπόληση οξυγόνου, ΤΤ: time trial, ΡΟ: παραγόμενη ισχύς, P_{max}: μέγιστη ισχύς, RPE: δείκτης αντιλαμβανόμενης κόπωσης)

2. 8. 3. 2. Οξεία χορήγηση παντζαροχυμού σε αθλητές

Σε αντίθεση με τα αποτελέσματα του παντζαροχυμού στο γενικό πληθυσμό, η δράση του σε αθλητές φαίνεται λιγότερο αποτελεσματική (Πίνακας 2.3). Δύο μελέτες σε άνδρες ποδηλάτες, εξέτασαν την επίδραση λήψης παντζαροχυμού (5,2 mmol νιτρικών) 2 με 2,5 ώρες πριν από δοκιμασία ποδηλάτησης 4 km, 16,1 km (Lansley, et al., 2011) και 50 μιλίων (Wilkerson, et al., 2012). Στις δύο πρώτες δοκιμασίες, ο παντζαροχυμός μείωσε σημαντικά το χρόνο ολοκλήρωσης και αύξησε τη συνολική παραγόμενη ισχύ, ενώ στη δοκιμασία των 4 km και των 50 μιλίων παρατηρήθηκε επίσης αύξηση του λόγου της παραγόμενης ισχύος προς την κατανάλωση οξυγόνου, ένδειξη, την οποία οι ερευνητές ερμηνεύουν ως καλύτερη ενεργειακή οικονομία (Lansley, et al., 2011; Wilkerson, et al., 2012). Στη δοκιμασία των 50 μιλίων, ωστόσο, παρουσιάστηκε μόνο μία τάση για μείωση του χρόνου ολοκλήρωσης, η οποία, όπως αναφέρεται, μπορεί να έχει σημασία στον αγωνιστικό χώρο (Wilkerson, et al., 2012). Άλλη μελέτη σε ποδηλάτες εξέτασε την επίδραση του παντζαροχυμού σε δύο μέγιστες δοκιμασίες διάρκειας 2 λεπτών η μία, υπό τρεις συνθήκες. Οι δύο πρώτες περιελάμβαναν λήψη παντζαροχυμού (4,1 mmol νιτρικών) 2,5 ώρες πριν το πρωτόκολλο, με και χωρίς συμπληρωματική λήψη μισής δόσης, 75 λεπτά πριν τη δεύτερη δοκιμασία και η τρίτη, λήψη παντζαροχυμού 75 λεπτά πριν την πρώτη δοκιμασία. Σε καμία από τις παραπάνω συνθήκες ωστόσο, δεν αναδείχθηκαν σημαντικές διαφορές, σε σύγκριση με το placebo σκεύασμα (Hoon, et al., 2014).

Μελέτες με πρωτόκολλα, που περιλαμβάνουν μέγιστες δοκιμασίες συγκεκριμένης απόστασης έχουν πραγματοποιηθεί επίσης σε άνδρες δρομείς (Broosma, et al., 2014; Shannon,

Barlow, Duckworth, Williams, Wort, Woods, Siervo, et al., 2017), τριαθλητές (Shannon, et al., 2017) και κολυμβητές (Lowings, et al., 2017). Οι δύο πρώτες περιελάμβαναν δοκιμασία δρόμου 1,5 km (Broosma, et al., 2014; Shannon, et al., 2017) και η τελευταία, δοκιμασία 10 km (Shannon, et al., 2017), μετά από χορήγηση 6,5 mmol (Broosma, et al., 2014), ή 12,5 mmol νιτρικών με την μορφή παντζαροχυμού (Shannon, et al., 2017). Μόνο η μεγαλύτερη δόση βελτίωσε τη δοκιμασία του 1,5 km (Shannon, et al., 2017). Ωστόσο, και στη μελέτη του Broosma και των συνεργατών του (2014) δύο από τους 8 δοκιμαζόμενους παρουσίασαν, σύμφωνα με τους συγγραφείς, βελτίωση στην τελευταία μόνο δοκιμασία. Ο Lowings και οι συνεργάτες του (2017) χορήγησαν 12,5 mmol νιτρικών με μορφή παντζαροχυμού σε δείγμα ανδρών κολυμβητών, οι οποίοι στη συνέχεια υποβλήθηκαν σε δοκιμασία κολύμβησης 168 m. Ούτε σε αυτή την περίπτωση, όμως, αναδείχθηκαν σημαντικές διαφορές, σε σύγκριση με το placebo σκεύασμα.

Τρεις ξεχωριστοί ερευνητές, έχουν ασχοληθεί με την οξεία επίδραση του παντζαροχυμού σε αθλητές καγιάκ (Muggeridge, et al., 2013; Peeling, et al., 2015), ή κωπηλασίας (Hoon, et al., 2014). Σχετικά με την επίδρασή του στο καγιάκ, ο Muggeridge και οι συνεργάτες του (2013) εξέτασαν τις αλλαγές στην απόδοση υπομέγιστης άσκησης, σπριντ και μέγιστης δοκιμασίας 1 km σε εργόμετρο καγιάκ, 3 ώρες μετά τη λήψη παντζαροχυμού (5 mmol νιτρικών). Το συμπλήρωμα βελτίωσε μόνο την υπομέγιστη σταθερή άσκηση, μειώνοντας το κόστος οξυγόνου, δεν προκάλεσε όμως καμία σημαντική μεταβολή στις υπόλοιπες δοκιμασίες. Μειωμένη κατανάλωση οξυγόνου σε μέγιστη δοκιμασία 4 λεπτών, σε άνδρες αθλητές καγιάκ, μετά από παρόμοια λήψη

παντζαροχυμού, αναδείχθηκε και σε πιο πρόσφατη μελέτη, χωρίς να συνοδεύεται από άλλες μεταβολές (Peeling, et al., 2015). Σε δείγμα γυναικών, ο Peeling και οι συνεργάτες του (2015) χορήγησαν τη διπλάσια ποσότητα παντζαροχυμού πριν από μέγιστη δοκιμασία 500 m σε εργόμετρο καγιάκ. Οι ερευνητές παρατήρησαν ότι βελτιώθηκε η απόδοση κατά 1,7%. Από την άλλη μεριά, παντζαροχυμός με 4,1, ή 8,4 mmol νιτρικών δεν κατάφερε να βελτιώσει δοκιμασία κωπηλάτησης 2 km μεταξύ ανδρών δοκιμαζόμενων, με τον Hoop και τους συνεργάτες του (2014) να αναφέρουν μόνο μία τάση για μείωση του χρόνου ολοκλήρωσής της, αποκλειστικά στην περίπτωση της μεγαλύτερης δόσης νιτρικών.

Όσον αφορά την επίδραση της λήψης παντζαροχυμού σε υπομέγιστη άσκηση, πέρα από τη δοκιμασία του Muggerridge (2014), έχουν πραγματοποιηθεί επίσης μία μελέτη σε δρομείς υψηλού επιπέδου (Broosma, et al., 2014) και δύο μελέτες σε καλά προπονημένους δοκιμαζόμενους (Betteridge, Barlow, Duckworth, Williams, Wort, Woods, Siervo, et al., 2016; Flueck, et al., 2016). Η πρώτη περιελάμβανε χορήγηση 210 ml παντζαροχυμού (6,4 mmol νιτρικών) 2,5 ώρες πριν από δοκιμασία με μη συνεχόμενη άσκηση στο 50%, 65% και 80% της μέγιστης έντασης. Ο παντζαροχυμός δεν επέφερε καμία αλλαγή στις παραμέτρους που εξετάστηκαν. Στις μελέτες σε καλά προπονημένους άνδρες εξετάστηκε η επίδραση διάφορων δόσεων παντζαροχυμού (3, 6, 8, 12 mmol νιτρικών) σε άσκηση με ένταση 50%, 65% και 80% της μέγιστης (Betteridge, et al., 2016; Flueck, et al., 2016). Μάλιστα ο Flueck και οι συνεργάτες του (2016) μελέτησαν και την επίδραση αντίστοιχων δόσεων νιτρικού νατρίου. Μεταξύ των παραπάνω, μόνο η δόση των 6 mmol με τη μορφή παντζαροχυμού μείωσε το

κόστος οξυγόνου στην άσκηση με ένταση 80% της μέγιστης, ενώ οι υπόλοιπες συνθήκες δε διέφεραν σημαντικά από το placebo (Betteridge, 2016; Flueck, 2016). Η μεγαλύτερη δόση, ωστόσο, φάνηκε να ελαττώνει και τη συστολική πίεση ηρεμίας (Flueck, et al., 2016). Το νιτρικό νάτριο, δεν επέφερε κάποια σημαντική μεταβολή (Flueck, et al., 2016).

Τέλος, η οξεία επίδραση του παντζαροχυμού σε αθλητές έχει μελετηθεί και σε πρωτόκολλα με σπριντ. Αναφέρθηκε προηγουμένως, ότι καμία σημαντική επίδραση δεν παρουσιάστηκε σε σπριντ σε εργόμετρο καγιάκ (Muggerridge, et al., 2013). Τα αποτελέσματα δύο ακόμη ερευνών είναι αντικρουόμενα. Συγκεκριμένα, σε μικτό δείγμα, παντζαροχυμός περιεκτικότητας 11,2 mmol νιτρικών βελτίωσε την απόδοση σε πρωτόκολλο με 4 σπριντ των 3-4 δευτερολέπτων, όπως αυτό εκφράστηκε με την αύξηση της μέγιστης ισχύος (Rimer, et al., 2016). Αντίθετα, σε μελέτη με αθλητές ομαδικών αγωνισμάτων, παντζαροχυμός, μισής περίπου περιεκτικότητας σε νιτρικά, ελάττωσε τον αριθμό των σπριντ σε πρωτόκολλο με συνεχόμενα σπριντ, διάρκειας 8 δευτερολέπτων με 30 δευτερόλεπτα διάλειμμα) μέχρι εξάντλησης (Martin, 2014). Οι ερευνητές ανέφεραν ότι η δράση του δεν είναι ευεργετική για τέτοιες δοκιμασίες.

Συγγραφέας	Έτος	Δοσολογία	Πρωτόκολλο	Δοκιμασία	ΑΠ	Κόστος O ₂	Χρόνος ολοκλήρωσης	Ισχύς	ΡΟ/VO ₂
Lansley	2011	9 (Α ποδηλάτες)	500ml (6,2mmol NO ₃) 120' πριν	TT 4km TT 16,1km	-	-	-2,87% (TT 4km) -2,7% (TT 16,1km)	+5% PO (TT 4km) +6% PO (TT 16,1km)	+11% (TT 4km)
Wilkerson	2012	8 (Α ποδηλάτες)	500ml (6,2mmol NO ₃) 150' πριν	TT 50mile	-	-	-0,8% (NS)	-	+3,2%
Muggeridge	2013	8 (Α αθλητές καργιάς)	70ml (5mmol NO ₃) 180' πριν	15' κάρφιακ (50% $\dot{V}O_{2max}$) + 10 sprint 10s + TT 1km	-	-3,3%	-	-	-
Broosma	2014	8 (Α δρομείς)	210ml (6,5mmol NO ₃) 150' πριν	7' (50% $\dot{V}O_{2max}$) + 7' (65% $\dot{V}O_{2max}$) + 5' (80% $\dot{V}O_{2max}$) + TT 1500m	-	-	-	-	-
Martin	2014	16 (9Α, 7Γ ομαδικών αθλημάτων)	70ml (~300mg NO ₃) 120' πριν	8'' sprint 30'' διαλύμα μέγρι εξάντλησης	-	-	↓ αριθμού sprint	-	-
Hoon	2014	10 (Α κωπηλάτες)	70ml / 140ml (4,2/8,4 mmol NO ₃) 120' πριν	2000m κωπηλασία	-	-	↓ (NS) (8,4mmol NO ₃)	-	-
Hoon	2014	26 (Α ποδηλάτες)	70ml (4,1mmol NO ₃) 150/75' πριν το 1 ^ο TT + 35ml (75' πριν το 2 ^ο TT)	2x4' TT	-	-	-	-	-

Peeling	2015	6 (Α αθλητές καγιάκ)	70ml (4,8mmol NO ₃ ⁻) 150' πριν	TT 4'	-2%	-
		5 (Γ αθλήτριες καγιάκ)	140ml (9,6mmol NO ₃ ⁻) 150' πριν	TT 500m	-1,7%	-
Betteridge	2016	8 (Α προπονημένοι)	140ml (8mmol NO ₃ ⁻) 150' πριν	60' (65% VO _{2peak})	-	-
Rimer	2016	13 (11Α, 2Γ αθλητές)	2x70ml (11,2mmol NO ₃ ⁻) 150' πριν			+6%P _{max}
Flueck	2016	12 (Α προπονημένοι)	Παντζαροχυμός 3mmol NO ₃ ⁻ 6mmol NO ₃ ⁻ 12mmol NO ₃ ⁻ Διάλυμα NaNO ₃ ⁻ 3mmol NO ₃ ⁻ 6mmol NO ₃ ⁻ 12mmol NO ₃ ⁻ 180' πριν	5' (50% VO _{2peak}) 8' (80% VO _{2peak})	(παντζαρ. 6mmol NO ₃ ⁻) (παντζαρ. 12mmol NO ₃ ⁻) -6mmHg VO _{2peak})	-4,2% (80%)
Shannon	2017	8 (Α αθλητές)	140ml (12,5mmol NO ₃ ⁻) 120' πριν	TT 1,5km TT 10 km	-	-6s (TT 1,5km)
Lowings	2017	10 (5Α, 5Γ κολυμβητές)	140ml (12,5mmol NO ₃ ⁻) 180' πριν	TT 168m κολύμβηση	-	-

Πίνακας 2.3. Περιληπτική παρουσίαση πειραματικών μελετών, που έχουν αξιολογήσει την αθλητική απόδοση μετά από οξεία χορήγηση συμπληρώματος νιτρικών με τη μορφή παντζαροχυμού, σε αθλητές (Α: άνδρες, Γ: γυναίκες, ΑΠ: αρτηριακή πίεση πριν την άσκηση, ΡΟ/VO₂: λόγος παραγόμενης ισχύος προς κατανάλωση οξυγόνου, TT: time trial, ΡΟ: παραγόμενη ισχύς, P_{max}: μέγιστη ισχύς)

2. 8. 3. 3. Οξεία χορήγηση παντζαροχυμού σε συνθήκες υποξίας

Αρκετά είναι τα αθλήματα εκείνα, τα οποία πραγματοποιούνται σε κάποιο υψόμετρο, όπου η καρδιαγγειακή αντοχή, φαίνεται να ελαττώνεται σε σύγκριση με το επίπεδο της θάλασσας (Koehle, Cheng and Sporer, 2014). Μεταξύ των βασικότερων παραγόντων στους οποίους οφείλεται το φαινόμενο αυτό συμπεριλαμβάνεται η μειωμένη παροχή οξυγόνου στους μύες, εξαιτίας της μειωμένης μερικής πίεσης οξυγόνου. Από την άλλη μεριά, είναι γνωστό ότι το μονοπάτι παραγωγής του, μέσω αναγωγής των νιτρικών και των νιτρωδών, ενισχύεται από την έλλειψη οξυγόνου (van Faassen, Bahrami, Feelisch, Hogg, Kelm, Kim-Shapiro, et al., 2009), ενώ η επίδραση του εξωγενώς χορηγούμενου NO ευνοείται από συνθήκες χαμηλού pH και υποξίας, τουλάχιστον από εκείνες που προκαλούνται στο μυ εξαιτίας της άσκησης (Totzeck, Hendgen-Cotta, Luedike, Berenbrink, Klare, Steinhoff, et al., 2012). Η αγγειοδιασταλτική δράση του NO επομένως, ευνοεί τη διανομή οξυγόνου (Casey, Madery, Curry, Eisenach, Wilkins and Joyner, 2010), για αυτό το λόγο και αρκετοί ερευνητές έχουν ασχοληθεί με την επίδραση του παντζαροχυμού στην άσκηση σε υποξικό περιβάλλον (Πίνακας 2.4.).

Ο Muggeridge και οι συνεργάτες του (2014) εξέτασαν την επίδραση συμπληρώματος νιτρικών με μορφή παντζαροχυμού σε άνδρες ερασιτέχνες ποδηλάτες. Οι δοκιμαζόμενοι 3 ώρες πριν την κατανάλωση παντζαροχυμού 5mmol νιτρικών υποβλήθηκαν σε 15 λεπτά υπομέγιστης άσκησης με ένταση στο 60% της μέγιστης, τα οποία ακολούθησε μία μέγιστη δοκιμασία 16,1 km. Οι δύο δοκιμασίες πραγματοποιήθηκαν σε συνθήκες υποξίας, που αντιστοιχούσαν σε υψόμετρο 2.500 μέτρων. Ο παντζαροχυμός οδήγησε σε μείωση του

κόστους οξυγόνου κατά την υπομέγιστη και του χρόνου ολοκλήρωσης κατά τη μέγιστη δοκιμασία σε σύγκριση με το placebo, τέτοια ώστε οι ερευνητές να τον προτείνουν ως ένα πρακτικό και αποτελεσματικό εργογόνο βοήθημα για άσκηση αντοχής σε υψόμετρο. Οι μελέτες που ακολούθησαν, όμως, δεν υποστηρίζουν το παραπάνω εύρημα. Ο MacLeod και οι συνεργάτες του (2015) σε πρωτόκολλο με παρόμοιο σχεδιασμό, μεταξύ καλά προπονημένων ποδηλατών, απέτυχαν να αναδείξουν σημαντική επίδραση παντζαροχυμού με 6 mmol νιτρικών σε υπομέγιστη (50% μέγιστης ισχύος) και σε μέγιστη δοκιμασία 10 km. Αξίζει βέβαια να σημειωθεί ότι στη συγκεκριμένη μελέτη, καμία επίδραση δεν αναδείχθηκε ούτε σε νορμοξικό περιβάλλον, δεν αποκλείεται επομένως να ευθύνεται το γεγονός ότι ο χρόνος που μεσολάβησε ανάμεσα στη λήψη του συμπληρώματος και την άσκηση ήταν μόλις 2 ώρες, καθώς και ότι η προπονητική κατάσταση του δείγματος ήταν υψηλότερη. Το τελευταίο επιβεβαιώνεται και από άλλη μελέτη σε καλά προπονημένους δρομείς (Arnold, et al., 2015). Συγκεκριμένα 10 άνδρες δρομείς υψηλού επιπέδου κλήθηκαν να ολοκληρώσουν ένα τεστ σταδιακά αυξανόμενης έντασης μέχρι εξάντλησης σε εξομοιωμένο υψόμετρο 4.000 μέτρων και μία μέγιστη δοκιμασία 10 km σε υψόμετρο 2.500 μέτρων, 2,5 ώρες μετά την κατανάλωση 7 mmol νιτρικών με μορφή παντζαροχυμού. Όπως και στην προηγούμενη μελέτη, καμία σημαντική διαφορά δεν αναδείχθηκε ανάμεσα στον παντζαροχυμό και το placebo σκεύασμα. Τέλος, σε 10 άνδρες υψηλού προπονητικού επιπέδου ο Carriker και οι συνεργάτες του (2016) χορήγησαν μεγαλύτερης περιεκτικότητας παντζαροχυμό (12,6 mmol νιτρικών), για να ελέγξουν την επίδρασή του σε διάφορες εντάσεις άσκησης (40-80% της μέγιστης) σε συνθήκες υποξίας (3.500 μέτρα

Παντζαροχυμός και άσκηση σε γυναίκες

υπόμετρο). Καμία σημαντική βελτίωση δεν αναδείχθηκε, ωστόσο οι ερευνητές παρατήρησαν μία μείωση της συγκέντρωσης γαλακτικού στις εντάσεις 40% και 60% της μέγιστης, αναφέροντας ότι η δράση του παντζαροχυμού σε υποξικές συνθήκες είναι ευεργετική στις χαμηλότερες εντάσεις άσκησης.

Συγγραφέας	Έτος	Δείγμα	Παντζόροζοι	Δοκιμασία	ΑΠ	Κόστος O ₂	Χρόνος ολοκλήρωσης	Ισχύς	ΡΟ/VO ₂
Muggeridge	2014	9 (Α ποδηλάτες)	70ml (5mmol NO ₃ ⁻) 180' πριν	15' (60% VO _{2max}) + TT 16,1km (υποξία 2.500m υψόμετρο)		-6,8%	-2,2%		
MacLeod	2015	11 (Α ποδηλάτες)	70ml (6,5mmol NO ₃ ⁻) 120' πριν	15' ποδηλάτηση (50% max) + 10km TT (νορμoxία & υποξία 2.500m)	-	-	-	-	-
Arnold	2015	10 (Α δρομείς)	70ml (7mmol NO ₃ ⁻) 150' πριν	τεστ σταδιακά αυξανόμενης έντασης μέχρι εξάντλησης (υποξία 4.000 m) + TT 10km (υποξία 2.500 m)					
Carriker	2016	10 (Α προπονημένοι)	(12,8mmol NO ₃ ⁻) 150' πριν	4x5' (40, 50, 60, 70% VO _{2max}) Υποξία 3.500m					

Πίνακας 2. 4. Περιληπτική παρουσίαση πειραματικών μελετών, που έχουν αξιολογήσει την αθλητική απόδοση μετά από οξεία χορήγηση συμπληρωμάτων νιτρικών με τη μορφή παντζόροζοι, σε συνθήκες υποξίας. (Α: άνδρες, Γ: γυναίκες, ΑΠ: αρτηριακή πίεση πριν την άσκηση, ΡΟ/VO₂: λόγος παραγόμενης ισχύος προς κατανάλωση οξυγόνου, TT: time trial, ΡΟ: παραγόμενη ισχύς, F_{max}: μέγιστη ισχύς)

2. 8. 3. 4. Οξεία χορήγηση μονοξειδίου του αζώτου σε συνδυασμό με άλλες εργογόνες ουσίες

Μία από τις ευρύτερα γνωστές εργογόνες ουσίες είναι η καφεΐνη, γεγονός που την κατατάσσει μεταξύ των συχνότερα χρησιμοποιούμενων βοηθημάτων από αθλητές (Hoffman, Kang, Ratamess, Jennings, Mangine and Faigenbaum, 2007). Η δράση της, σύμφωνα με ανασκόπηση (Magkos and Kavouras, 2007), έχει αποδοθεί σε διάφορους μηχανισμούς, όπως η ενίσχυση της μυϊκής συσταλτικότητας, μέσω επαγωγής της απελευθέρωσης ασβεστίου από το σαρκοπλασματικό δίκτυο, η αναστολή του ενζύμου φωσφορυλάση του γλυκογόνου στο ήπαρ και τους μύες, ο μη επιλεκτικός ανταγωνισμός των υποδοχέων αδενosίνης, η διέγερση της αντλίας νατρίου / καλίου κυτταρικής μεμβράνης και άλλοι. Συνήθη δόση καφεΐνης αποτελούν τα 3-6 mg ανά κιλό σωματικού βάρους, δόση πάνω από την οποία συνήθως δεν υπάρχει επιπρόσθετο όφελος (Magkos and Kavouras, 2007).

Τρεις διαφορετικοί ερευνητές έχουν εξετάσει τη συνδυαστική επίδραση του παντζαροχυμού με την καφεΐνη σε σύγκριση τόσο με placebo σκεύασμα, όσο και με την κάθε εργογόνο ουσία χωριστά. Ο Handzlik και οι συνεργάτες του χορήγησαν σε άνδρες ποδηλάτες 4 mmol νιτρικών ως παντζαροχυμό 2,5 ώρες πριν και 5 mg καφεΐνης ανά κιλό σωματικού βάρους 75 λεπτά πριν από 30 λεπτά υπομέγιστης άσκησης, την οποία ακολούθησε δοκιμασία υψηλότερης έντασης μέχρι εξάντλησης, είτε σε συνδυασμό, είτε μεμονωμένα. Τα αποτελέσματά τους έδειξαν ότι παρόλο που ο συνδυασμός παντζαροχυμού και καφεΐνης βελτίωσε το χρόνο μέχρι την εξάντληση στη δεύτερη δοκιμασία συγκριτικά με το placebo, εντούτοις δεν εντοπίστηκε σημαντική διαφορά από τις περιπτώσεις στις οποίες η κάθε ουσία δόθηκε χωριστά. Σε άλλη μελέτη με

μικτό δείγμα, έγινε προσπάθεια εξομοίωσης ενός Ολυμπιακού ποδηλατικού γύρου για τις γυναίκες και τους άνδρες αντίστοιχα, ο οποίος ακολούθησε τη λήψη παντζαροχυμού, καφεΐνης, συνδυασμού τους, ή placebo σκεύασματος (Lane, et al., 2013). Συγκριτικά με το placebo, ο συνδυασμός των ουσιών και η μεμονωμένη λήψη καφεΐνης βελτίωσαν σημαντικά το χρόνο ολοκλήρωσης της δοκιμασίας. Ωστόσο, ο παντζαροχυμός δε φάνηκε να βελτιώνει στατιστικά σημαντικά την απόδοση, ούτε να προσδίδει κάποιο επιπρόσθετο όφελος σε αυτό της καφεΐνης. Οι ερευνητές αναφέρουν ότι πιθανά οι συνθήκες άσκησης που εφαρμόστηκαν δεν ευνοούν την ανάδειξη της εργογόνου δράσης των νιτρικών. Τέλος, πιο πρόσφατα, πραγματοποιήθηκε μια μελέτη με δείγμα αποκλειστικά γυναίκες ποδηλάτες (Glaister, et al., 2015). Οι δοκιμαζόμενες υποβλήθηκαν σε δοκιμασία 20 km υπό τις διαφορετικές συνθήκες που περιγράφηκαν και για τα προηγούμενα πρωτόκολλα. Όπως και στην προηγούμενη μελέτη, έτσι και σε αυτή, ενώ η εργογόνος δράση της καφεΐνης έγινε φανερή, ο παντζαροχυμός δε βελτίωσε σημαντικά την απόδοση και δε φάνηκε να προσθέτει κάτι στην ευεργετική επίδραση της καφεΐνης. Αξίζει να σημειωθεί βέβαια, ότι η περιεκτικότητα του παντζαροχυμού ήταν αρκετά μικρότερη συγκριτικά με άλλες μελέτες σε γυναικείο πληθυσμό (Bond, 2013; 2014, Rienks, 2015), καθώς και ότι, όπως και όλες οι προηγούμενες μελέτες με γυναίκες, οι δοκιμαζόμενες δεν ελέγχθηκαν ως προς τη μέρα του έμμηνου κύκλου, κατά την οποία συμμετείχαν στις δοκιμές.

Άλλη μία μελέτη σε γυναίκες, αθλήτριες ομαδικών αγωνισμάτων έχει ελέγξει το συνδυασμό του παντζαροχυμού με εργογόνο ουσία. Στην περίπτωση αυτή, η δεύτερη εργογόνο ουσία ήταν το φωσφορικό νάτριο (Buck, et al., 2015).

Το φωσφορικό νάτριο, αν και έχει βρεθεί να ενισχύει την απόδοση από κάποιους ερευνητές (Buck, et al., 2014; West, Ayton, Wallman and Guelfi, 2012), σε άλλες μελέτες φαίνεται να έχει ουδέτερα αποτελέσματα (Brewer, Dawson, Wallman and Guelfi, 2013; Folland, Stern, and Brickley, 2008). Το γεγονός όμως ότι σχετίστηκε με βελτιωμένη επίδοση σε σπριντ (Brewer, et al., 2014), ώθησε τον Buck και τους συνεργάτες του (2015) να εξετάσουν την επίδρασή του σε συνδυασμό με τον παντζαροχυμό, σε πρωτόκολλο με σπριντ, πριν και κατά τη διάρκεια ενός εξομοιωμένου ομαδικού παιχνιδιού. Η επίδραση του μεμονωμένου φωσφορικού καλίου ήταν θετική, χωρίς όμως σημαντικά αποτελέσματα για τον παντζαροχυμό. Όπως και στην προηγούμενη μελέτη, σημειώνεται ότι η δόση νιτρικών ήταν αρκετά μικρότερη από άλλες μελέτες και οι δοκιμαζόμενες δεν εξετάστηκαν σε συγκεκριμένη μέρα του κύκλου, μιας και η μελέτη πραγματοποιήθηκε κατά την αγωνιστική περίοδο κάθε δοκιμαζόμενης.

Συγγραφέας	Έτος	Δείγμα	Παντζαροχυμός	Δοκιμασία	ΑΠ	Κόστος O ₂	Χρόνος ολοκλήρωσης	Ισχύς	PO/VO ₂
Lane	2013	24 (12Α, 12Γ ποδηλάτες)	140ml (8,4mmol NO ₃ ⁻) 120' πριν +3mg/kg καφεΐνη 40' πριν	TT 43,83km (Α) TT 29,35km (Γ)			-	-	
Handzlik	2013	14 (Α ποδηλάτες)	70ml (4mmol NO ₃ ⁻) 150' πριν +70ml (4mmol NO ₃ ⁻) 5mg/kg καφεΐνη 75' πριν	30' (60% VO _{2max}) + 80% VO _{2max} μέχρι εξάντλησης			-	-	
Glaister	2015	14 (Γ ποδηλάτες)	70ml (7,3mmol NO ₃ ⁻) 150' πριν +5mg/kg καφεΐνη 60' πριν	TT 20km			-	-	
Buck	2015	13 (Γ ερασιτέχνες αθλήτριες)	70ml (6mmol NO ₃ ⁻) 180' πριν + 50mg/kg FFM Na ₃ PO ₄ (σε 4 δόσεις)	6x20s sprint πριν το παιχνίδι + πριν το ημίχρονο + στο τέλος του παιχνιδιού			-	-	

Πίνακας 2. 5. Περιληπτική παρουσίαση περιφερειακών μελετών, που έχουν αξιολογήσει την αθλητική απόδοση μετά από οξεία χορήγηση συμπληρωματος νιτρικών με τη μορφή παντζαροχυμού, σε συνδυασμό με άλλη εργογόνο ουσία. (Α: άνδρες, Γ: γυναίκες, ΑΠ: αρτηριακή πίεση πριν την άσκηση, PO/VO₂: λόγος παραγόμενης ισχύος προς κατανάλωση οξυγόνου, TT: time trial, PO: παραγόμενη ισχύς, F_{max}: μέγιστη ισχύς)

2. 8. 4. Πρακτικά ζητήματα πειραματικών δοκιμών

Όπως αναφέρθηκε στο πρώτο κεφάλαιο, η παρούσα εργασία αφορά στην οξεία χορήγηση παντζαροχυμού, γεγονός που καθιστά χρήσιμη την παρουσίαση ορισμένων πρακτικών ζητημάτων, που προκύπτουν από τις προηγηθείσες σχετικές πειραματικές δοκιμές. Η μεγάλη πλειοψηφία των μελετών, που εξετάζουν την οξεία επίδραση του παντζαροχυμού στην αθλητική απόδοση, ακολούθησαν τυχαιοποιημένο crossover τυφλό σχεδιασμό και χρησιμοποίησαν ένα placebo σκεύασμα, για να συγκρίνουν με αυτό την επίδραση του παντζαροχυμού. Ακόμη, οι περισσότεροι ερευνητές πραγματοποίησαν μετρήσεις για τον προσδιορισμό της βιοδιαθεσιμότητας του NO μετά τη χορήγηση των συμπληρωμάτων. Τέλος, αξίζει να παρουσιαστεί και η συνέπεια των δοκιμαζομένων ως προς την κατανάλωση του παντζαροχυμού και οι πιθανές παρενέργειες, που σχετίζονται με τη λήψη του.

2. 8. 4. 1. Σκεύασμα placebo

Το φαινόμενο placebo, η απόρροια δηλαδή ενός θετικού ή αρνητικού αποτελέσματος μόνο από την πεποίθηση ότι έχει ληφθεί μία αντίστοιχη παρέμβαση, συνδέεται στενά με την αθλητική απόδοση (Beedie and Foad, 2009). Το παραπάνω καθιστά τη χρήση placebo αναγκαία στην έρευνα, προκειμένου να υπάρχει μια βεβαιότητα σχετικά με την απόδοση των μεταβολών στην παρέμβαση που μελετάται και όχι σε άλλες, μη σχετικές παραμέτρους. Για τον ίδιο λόγο, θεωρείται αρκετά σημαντική και η τυφλή χορήγηση placebo και σκευάσματος – παρέμβαση (Berdi, Koteles, Szabo and Bardos, 2011), πράγμα όμως, το οποίο δεν είναι πάντοτε εφικτό στην ερευνητική πρακτική.

Συγκεκριμένα για τις μελέτες με οξεία χορήγηση παντζαροχυμού, ως placebo έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορα σκευάσματα, κάποια από τα οποία δεν επέτρεπαν στους ερευνητές την τυφλή τους χορήγηση, λόγω διαφορετικών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών. Στα τελευταία περιλαμβάνεται η χορήγηση ως placebo πορτοκαλάδας (Bond, et al., 2013; 2014) και τοματοχυμού (Muggeridge, et al., 2013), που επιλέχθηκαν έχοντας παρόμοια μακροθρεπτική σύσταση με τον παντζαροχυμό, ενώ έχει χρησιμοποιηθεί ακόμη και νερό σε μελέτη, στην οποία εκτός από παντζαροχυμό, οι δοκιμαζόμενοι κατανάλωσαν και διάλυμα φωσφορικού νατρίου (Flueck, et al., 2016).

Μεταξύ των σκευασμάτων που επέτρεπαν τυφλή δοκιμή συγκαταλέγονται διάφορα τονωτικά ποτά (Vanhatalo, et al., 2010) παρόμοιας σύστασης, χρώματος και υφής με τον παντζαροχυμό, όπως ο χυμός φραγκοστάφυλου (Thompson, et al., 2014). Ωστόσο, η επανάσταση στα placebo σκευάσματα, όσον αφορά την έρευνα στον παντζαροχυμό, ήρθε το 2011 με τη μελέτη του Lansley και των συνεργατών του, οι οποίοι χρησιμοποίησαν ως placebo σκεύασμα τον ίδιο τον παντζαροχυμό, από τον οποίο είχαν αφαιρέσει τα νιτρικά, με κατάλληλο φιλτράρισμα, μέσα από ειδική ρητίνη. Ακολούθησε η διανομή στο εμπόριο συσκευασμένου παντζαροχυμού, απαλλαγμένου από νιτρικά, με αποτέλεσμα οι περισσότεροι ερευνητές μετά το 2011 να χρησιμοποιούν το συγκεκριμένο σκεύασμα για τις μελέτες τους (Arnold, et al., 2015; Broosma, et al., 2014; Buck, et al., 2015; Carriker, et al., 2016; Glaister, et al., 2015; Handzlik, et al., 2013; Hoon, et al., 2014; Lansley, et al., 2011; Lowings, et al., 2017; MacLeod, et al., 2015; Martin, et al., 2014; Muggeridge, et al., 2014; Peeling, et al., 2015; Rienks, et al., 2015; Rimer,

et al., 2015; Shannon, et al., 2017; Wickham, et al., 2019; Wilkerson, et al., 2012), το οποίο παρέχει το επιπρόσθετο όφελος της πανομοιότυπης σύστασης με τον παντζαροχυμό σε μακρο- και μικρο-θρεπτικό επίπεδο, απομονώνοντας την επίδραση των νιτρικών, που περιέχονται φυσικά σε αυτόν.

2. 8. 4. 2. Εκτίμηση βιοδιαθεσιμότητας μονοξειδίου του αζώτου μετά το συμπλήρωμα

Άλλη μία σημαντική παράμετρος των μελετών, που εξετάζουν την οξεία επίδραση του παντζαροχυμού στην αθλητική απόδοση, είναι ο έλεγχος των επιπέδων NO στην κυκλοφορία, πριν και μετά τη χορήγηση του συμπληρώματος, προκειμένου να διαπιστωθεί, αν τελικά τα νιτρικά που περιέχονται σε αυτόν οδήγησαν σε αύξηση της βιοδιαθεσιμότητάς του στον οργανισμό. Η μέτρηση αυτή, αποκτά ακόμη μεγαλύτερο ενδιαφέρον, αν λάβουμε υπ' όψιν ότι κάποιοι ερευνητές κάνουν λόγο για δοκιμαζόμενους, που αποκρίνονται περισσότερο, ή λιγότερο στο συγκεκριμένο σκεύασμα (Broosma, et al., 2014; Lowings, et al., 2017; Wilkerson, et al., 2012). Παρ' όλα αυτά, αρκετοί ερευνητές δεν έχουν συμπεριλάβει τέτοια μέτρηση στο πρωτόκολλό τους, υποστηρίζοντας, ότι η αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας του NO μετά τη λήψη παντζαροχυμού είναι δεδομένη, από τις προηγούμενες μελέτες (Martin, et al., 2015; Peeling, et al., 2015; Rienks, et al., 2015; Rimer, et al., 2016; Wickham, et al., 2019).

Το NO είναι ένα ιδιαίτερα ασταθές αέριο, του οποίου η άμεση μέτρηση στην κυκλοφορία δεν είναι πάντοτε εφικτή, λόγω του σχετικά χαμηλού ρυθμού παραγωγής του σε σταθερή κατάσταση, σε συνδυασμό με τον υψηλό ρυθμό καταβολισμού του (Kim-Shapiro and Gladwin, 2015). Επομένως, σύμφωνα με τους Kim-Shapiro και Gladwin (2015), η

εκτίμηση της βιοδιαθεσιμότητάς του επιτυγχάνεται μέσω μέτρησης βιοδεικτών του, όπως είναι τα νιτρικά και τα νιτρώδη. Η μέτρηση νιτρικών και νιτρωδών ως δεικτών του ενδογενούς NO έχει προταθεί και από άλλους ερευνητές (Ishibashi, Yoshida and Nishio, 2003), με τα νιτρώδη να θεωρούνται μάλλον καταλληλότερος δείκτης (Lauer, Preik, Rassaf, Strauer, Deussen, Feelisch, et al., 2001).

Πράγματι, οι περισσότεροι ερευνητές έχουν αξιολογήσει τη συγκέντρωση νιτρωδών (Betteridge, et al., 2016; Broosma, et al., 2014; Carriker, et al., 2016; Lansley, et al., 2011; Thompson, et al., 2012; Shannon, et al., 2017; Vanhatalo, et al., 2010; Wilkerson, et al., 2012) ή και νιτρικών (Arnold, et al., 2015; Flueck, et al., 2016; Glaister, et al., 2015; Hoon, et al., 2014; Muggeridge, et al., 2013; 2014) στο πλάσμα του αίματος των δοκιμαζομένων πριν και μετά τη λήψη του παντζαροχυμού ή του placebo σκευάσματος. Και στις δύο περιπτώσεις απαιτείται λήψη φλεβικού αίματος, το οποίο αφού φυγοκεντρηθεί, καταψύχεται και σε δεύτερο χρόνο προσδιορίζεται η περιεκτικότητα του πλάσματος σε νιτρώδη, ή και νιτρικά με μέθοδο χημειοφωταύγειας. Αν και σημαντική αύξηση των δεικτών αυτών παρατηρήθηκε σε όλες τις παραπάνω περιπτώσεις, η αύξηση αυτή άλλοτε παρουσίασε (Broosma, et al., 2014) και άλλοτε δεν παρουσίασε (Muggeridge, et al., 2013) σημαντική συσχέτιση με τη βελτίωση της απόδοσης. Μόνο σε δύο μελέτες έχει πραγματοποιηθεί άμεση μέτρηση του NO σε τριχοειδικό αίμα από τα ακροδάκτυλα των δοκιμαζομένων, το οποίο αφού αναμίχθηκε με διάλυμα συντήρησης νιτρωδών, επίσης φυγοκεντρήθηκε και χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση του NO με ηλεκτροχημική μέθοδο (Bond, et al., 2013; 2014). Τα επίπεδα NO στο τριχοειδικό αίμα, αν και αυξήθηκαν μετά τη λήψη παντζαρο-

χυμού, δεν παρουσίασαν σημαντική συσχέτιση με τις υπόλοιπες παραμέτρους που αξιολογήθηκαν (Bond, et al., 2013; 2014).

Ο προσδιορισμός των νιτρικών και των νιτρωδών του πλάσματος, αλλά και του NO σε τριχοειδικό αίμα, αποτελούν παρεμβατικές μεθόδους εκτίμησης της βιοδιαθεσιμότητας του NO. Σε κάποιες περιπτώσεις ωστόσο, έχουν προτιμηθεί μη παρεμβατικές μέθοδοι, οι οποίες, αν και λιγότερο αξιόπιστες (Lowings, et al., 2017), επιλέχθηκαν για την πρακτικότητά τους. Δύο ερευνητές έχουν χρησιμοποιήσει το κλάσμα εκπνεόμενου NO (FeNO) (Lowings, et al., 2017; MacLeod, et al., 2015), με τον MacLeod και τους συνεργάτες του (2015) να μετρούν επίσης τα νιτρικά του πλάσματος, προσφέροντας και έναν έλεγχο της μεταξύ τους συσχέτισης. Παρόλο που και στις δύο δοκιμές η λήψη παντζαροχυμού αύξησε το κλάσμα εκπνεόμενου NO, η αύξηση αυτή δεν παρουσίασε σημαντική συσχέτιση με την αύξηση της συγκέντρωσης νιτρικών στο πλάσμα (MacLeod), ή με την απόδοση (Lowings, et al., 2017). Μια άλλη μη παρεμβατική μέθοδο για την εκτίμηση της βιοδιαθεσιμότητας του NO υιοθέτησαν ο Handzlik και οι συνεργάτες του (2013). Πρόκειται για την εκτίμηση της περιεκτικότητας της σιέλου των δοκιμαζομένων σε νιτρικά και νιτρώδη, μέθοδος, η οποία βασίζεται στη μετατροπή των νιτρικών σε νιτρώδη, προτού αναχθούν σε NO, που λαμβάνει χώρα στη στοματική κοιλότητα, όπως αναπτύχθηκε στην υποενότητα 2.2.2. Οι ερευνητές, αφού έλαβαν τα δείγματα και τα φυγοκέντησαν, κατέψυξαν το υπερκείμενο υγρό. Σε δεύτερο χρόνο προσδιόρισαν την περιεκτικότητά του σε νιτρικά και νιτρώδη με χρωματομετρική ανάλυση (Handzlik, et al., 2013). Τόσο τα νιτρικά, όσο και τα νιτρώδη της σιέλου, παρουσίασαν σημαντική αύξηση 2,5 ώρες μετά τη λήψη παντζαροχυμού.

2. 8. 4. 3. Ασφάλεια στη χρήση και προσκόλληση δείγματος

Όπως συμβαίνει με όλα τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά, έτσι και με τα νιτρικά, η υπερβολική πρόσληψη, ή έκθεση σε αυτά, μπορεί να σχετιστεί με αρνητικές επιπτώσεις για την υγεία (Hord, 2011). Προκειμένου να αποφευχθούν τέτοια ζητήματα, έχουν οριστεί κάποιες τιμές αναφοράς διαιτητικής πρόσληψης, ώστε να καθορίζεται τόσο η υπερβολική, όσο και η ανεπαρκής λήψη κάθε ουσίας. Έτσι, η αποδεκτή διαιτητική πρόσληψη νιτρικών και νιτρωδών φθάνει τα 3,7 mg και 0,06 mg ανά κιλό σωματικού βάρους, αντίστοιχα, τιμές, που για άτομο 70 κιλών μεταφράζονται ως 259 mg, ή περίπου 3,5 mmol και 4,2 mg αντίστοιχα (Hord, 2011). Ωστόσο, όλες οι πειραματικές δοκιμές, τόσο με χρόνια, όσο και με οξεία χορήγηση παντζαροχυμού, χαρακτηρίζονται από αρκετά μεγαλύτερη ποσότητα νιτρικών ανά δόση του συμπληρώματος, γεγονός, που θα μπορούσε να εγείρει αμφιβολίες σχετικά με την ασφάλειά του.

Δύο είναι οι περιπτώσεις τοξικότητας, που έχουν αναφερθεί και οφείλονται σε υπερβολική έκθεση σε νιτρικά, ή νιτρώδη (Hord, 2011). Η πρώτη αφορά νεογνά κάτω των 6 μηνών, τα οποία αν εκτεθούν σε μολυσμένο από βακτήρια νερό, παρουσιάζουν μεθαιμοσφαιριναιμία, γνωστή και ως «σύνδρομο του μπλε νεογνού», λόγω της οξειδωσης από νιτρώδη του δισθενούς σιδήρου της αιμοσφαιρίνης, που οδηγεί σε υποξία και κυάνωση (Johnson and Kross, 1990). Συμπτώματα μεθαιμοσφαιριναιμίας, βέβαια, δεν παρατηρούνται με έκθεση στα ίδια τα νιτρικά (Kortboyer, Olling and Zeilmaker, 1997). Η δεύτερη περίπτωση σχετίζεται με την κατανάλωση επεξεργασμένων κρεάτων, που περιέχουν μεγάλες ποσότητες νιτρωδών ως νιτρώδες νάτριο (Norat, Bingham, Ferrari, Sinami, Jenab,

Mazuir, et al., 2005) και η οποία έχει σχετιστεί με κάποια είδη καρκίνου, καθώς και με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (Norat, et al., 2005; Varraso, Jiang, Barr, Willett and Camargo, 2007). Οι υπάρχουσες μελέτες, βέβαια, υπολείπονται στοιχείων, τα οποία να αποδεικνύουν την εμπλοκή νιτρικών και νιτρωδών σε αυτό (Powlson, Addiscott, Benjamin, Cassman, de Kok, van Grinsven, et al., 2008). Σε κάθε περίπτωση, η τοξικότητα νιτρικών και νιτρωδών δεν αφορά τη λήψη παντζαροχυμού και όσο για τη μεγαλύτερη πρόσληψη, συγκριτικά με τη συνιστώμενη ημερήσια, ο Hord (2011) αναφέρει ότι ακόμη και μία μερίδα σπανάκι, που καταναλώνεται ως γεύμα, ενδέχεται να ξεπερνά τη συγκεκριμένη δόση, πράγμα που καθιστά αναγκαία την αναθεώρηση των συστάσεων. Ο παντζαροχυμός επομένως, φαίνεται να αποτελεί μία ουσία φυσικής προέλευσης, με ελάχιστες πιθανότητες να αποδειχθεί επιβλαβής για την υγεία (Jones, 2014).

Η επίδραση του παντζαροχυμού έχει ελεγχθεί σε πολλές και διαφορετικές πληθυσμιακές ομάδες, από απροπόνητους ηλικιωμένους (Lansley, et al., 2011), μέχρι και αθλητές υψηλού επιπέδου, πλήρως εξοικειωμένους με τη χρήση συμπληρωμάτων διατροφής (Wilkerson, et al., 2012). Σε καμία από τις μελέτες, που εξετάζουν την οξεία επίδραση του συγκεκριμένου σκευάσματος, δεν έχει αναφερθεί κάποια επιπλοκή, ή παρενέργεια, τέτοια ώστε να διαταράξει την προσκόλληση των δοκιμαζομένων σε αυτή. Η Vanhatalo και οι συνεργάτες της (2010) αναφέρουν 100% προσκόλληση σε μελέτη με οξεία και χρόνια χορήγηση παντζαροχυμού σε μικτό δείγμα μη αθλητών. Μάλιστα, ο Flueck και οι συνεργάτες του (2016) συμπεριέλαβαν στο πρωτόκολλό τους και μία αυτοαξιολόγηση της γαστρεντερικής ανοχής αμέσως μετά τη λήξη της άσκησης σε δεκαβάθμια κλίμακα. Ο

παράγοντας αυτός βαθμολογήθηκε πολύ υψηλά, με τιμές από 6 έως 10 και δε σχετίστηκε με καμία παρενέργεια, πέρα από το κόκκινο χρώμα των ούρων και των κοπράνων, το οποίο αναφέρεται στις περισσότερες σχετικές μελέτες.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

Η παρούσα έρευνα εξέτασε την επίδραση μίας δόσης συμπληρώματος νιτρικών, με τη μορφή παντζαροχυμού, σε φυσιολογικές αποκρίσεις γυναικών, κατά τη διάρκεια υπομέγιστης και σταδιακά αυξανόμενης έντασης άσκησης. Ακόμη, διερευνήθηκε η σχέση μεταξύ αιματοκρίτη των δοκιμαζομένων και βελτίωσης της επίδοσης μετά τη λήψη νιτρικών. Τέλος, μετρήθηκαν και οι μετα-ασκησιακές τιμές αρτηριακής πίεσης, οι οποίες συγκρίθηκαν μεταξύ των συνθηκών λήψης συμπληρώματος νιτρικών και μη.

Για το σκοπό αυτό, οι δοκιμαζόμενες υποβλήθηκαν αρχικά σε μία εργοσπιρομέτρηση κατά τη διάρκεια δοκιμασίας σταδιακά αυξανόμενης έντασης μέχρι εξάντλησης σε κυκλοεργόμετρο, ώστε να προσδιοριστεί η VO_{2max} και το αναερόβιο κατώφλι. Σε δύο διαφορετικές μέρες, ακολούθησαν δύο πανομοιότυπες δοκιμασίες, που περιελάμβαναν συνδυασμό υπομέγιστου έργου, σπριντ και σταδιακά αυξανόμενης έντασης έργου, οι οποίες διέφεραν μόνο ως προς το πόσιμο διάλυμα, που χορηγήθηκε πριν την έναρξή τους. Στη μία περίπτωση χορηγήθηκε παντζαροχυμός και στην άλλη placebo σκεύασμα (παντζαροχυμός χωρίς νιτρικά). Οι δοκιμασίες πραγματοποιήθηκαν με τυχαίοποιημένο crossover σχεδιασμό, ώστε να αποφευχθούν σφάλματα οφειλόμενα σε πιθανό μαθησιακό αποτέλεσμα από την εκτέλεση των δοκιμασιών, καθώς και στην ετερογένεια μεταξύ των δοκιμαζομένων που κατανάλωσαν τον παντζαροχυμό και εκείνων που κατανάλωσαν το placebo.

3.1. Επιλογή δείγματος

Στη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν ως δείγμα ευκολίας γυναίκες, 18 έως 35 ετών. Οι δοκιμαζόμενες ήταν χαμηλής έως μέτριας

προπονητικής κατάστασης, μιας και στις περισσότερες μελέτες με δείγμα υψηλού επιπέδου αθλητές, το συμπλήρωμα δε φάνηκε να οδηγεί σε περαιτέρω βελτίωση της απόδοσης (Broosma, et al., 2014; Arnold, et al., 2015; Glaister, et al., 2015). Η αξιολόγηση του προπονητικού επιπέδου πραγματοποιήθηκε με το ερωτηματολόγιο φυσικής κατάστασης IPAQ, βάσει του οποίου επιλέχθηκαν οι δοκιμαζόμενες της Κατηγορίας 2 (Craig, Marshall, Sjostrom, Baumann, Booth, Ainsworth, et al., 2003). Το προπονητικό επίπεδο αξιολογήθηκε και βάσει της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου, η οποία μετρήθηκε στη συνέχεια ώστε να αποκλειστούν όσες δοκιμαζόμενες είχαν τιμή $VO_{2max} \geq 40 \text{ml/kg/min}$ (Decroix, De Pauw, Foster and Meeusen, 2016; American College of Sports Medicine, 2018). Όλες οι δοκιμαζόμενες ήταν υγιείς, μη καπνίστριες και δε λάμβαναν κάποια φαρμακευτική αγωγή, ή διατροφικό συμπλήρωμα. Επίσης, παρακολουθείτο ο έμμηνος κύκλος τους με τεστ ωορρηξίας, έτσι ώστε να πραγματοποιηθούν όλες οι δοκιμασίες στο διάστημα μεταξύ μέσης ωχρινικής (21^η ημέρα) και αρχής της επόμενης ωοθηλακικής φάσης (6^η ημέρα) του έμμηνου κύκλου τους, οπότε και φαίνεται σύμφωνα με τη βιβλιογραφία να παρουσιάζονται τα χαμηλότερα επίπεδα NO (Kharitonov, et al., 1994; Manau, et al., 1999; Teran, et al., 2001; Giusti, et al., 2002). Αφού ενημερώθηκαν για τη φύση του πειράματος, υπέγραψαν αυτόβουλα έγγραφο έντυπο συγκατάθεσης.

3.2. Περιγραφή οργάνων μέτρησης

3.2.1. Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά

Πριν την έναρξη της πρώτης δοκιμασίας, οι δοκιμαζόμενες ζυγίστηκαν σε ζυγαριά με ακρίβεια 100 γραμμαρίων και μετρήθηκε το ύψος τους με ακρίβεια εκατοστού. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν μηχανική ζυγαριά και

αναστημόμετρο (Bilance Salus, Milan).

3.2.2. Ερωτηματολόγιο φυσικής δραστηριότητας

Όπως προαναφέρθηκε, στην έρευνα συμμετείχαν γυναίκες μέτριας φυσικής κατάστασης. Η αξιολόγησή τους, αν και επιβεβαιώθηκε με τη μέτρηση της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου, αρχικά πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της μεταφρασμένης έκδοσης του διεθνούς ερωτηματολογίου φυσικής δραστηριότητας “International Physical Activity Questionnaire – Gr” (Papathanasiou, Georgoudis, Papandreou, Spyropoulos, Georgakopoulos, Kalfakakou, et al., 2009). Το ερωτηματολόγιο αυτό αξιολογεί τη φυσική δραστηριότητα της τελευταίας εβδομάδας, η οποία, αφού ποσοτικοποιηθεί σε MET-min/εβδομάδα, χρησιμοποιείται για την κατάταξη του ερωτώμενου σε μία από τις τρεις κατηγορίες: χαμηλό, μέτριο και υψηλό επίπεδο φυσικής δραστηριότητας. Από την παρούσα μελέτη αποκλείστηκαν οι δοκιμαζόμενες της τρίτης κατηγορίας. Το συγκεκριμένο ερωτηματολόγιο παρουσιάζει υψηλή εγκυρότητα (ICC 0,84-0,93) σε ελληνικό πληθυσμό ενηλίκων (Papathanasiou, et al., 2009).

3.2.3. Εργοσπιρομέτρηση

Τα πρωτόκολλα άσκησης και προσδιορισμού της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου πραγματοποιήθηκαν σε ηλεκτρονικό κυκλοεργόμετρο (Lode B.V., Japan). Η λήψη των τιμών των αναπνευστικών παραμέτρων πριν, κατά τη διάρκεια και μετά από τις δοκιμασίες μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου πραγματοποιήθηκε με αναλυτή αερίων (Ultima Series Med Graphics, USA) και με τη χρήση του λογισμικού Breeze, όπου καταγράφονταν οι τιμές των παραμέτρων κάθε 10 δευτερόλεπτα. Πριν από κάθε δοκιμασία προηγήθηκε βαθμονόμηση του πνευμοταχογράφου (Ultima Series Med Graphics, USA) με σύριγγα 3 λίτρων (Hans Rudolph Inc, Kansas).

Ακολούθησε βαθμονόμηση αερίων με τη χρήση δύο φιαλών αερίων με αντίστοιχες συγκεντρώσεις O₂-CO₂: 12,02%-5,03% και 21%-0,03% και το υπόλοιπο σε άζωτο.

3.2.4. Αξιολόγηση αντιλαμβανόμενης κόπωσης

Η εργοσπιρομέτρηση συνοδευόταν καθ' όλη τη διάρκεια από αξιολόγηση της αντιλαμβανόμενης κόπωσης των δοκιμαζομένων. Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιήθηκε η 15βάθμια κλίμακα Borg (Borg, 1970) με κατάταξη από 6 βαθμούς: καθόλου προσπάθεια, έως 20 βαθμούς: μέγιστη προσπάθεια.

3.2.5. Αιμοδυναμικές παράμετροι

Καθ' όλη τη διάρκεια και των τριών δοκιμασιών στις οποίες υποβλήθηκαν οι δοκιμαζόμενες μετρούνταν η καρδιακή συχνότητα με τηλεμετρία (Polar, China), ενώ η αρτηριακή πίεση μετρήθηκε με ηλεκτρονικό πιεσόμετρο (Critikon Dinamap Vital Signs Monitor 1846 SX, USA) πριν τη λήψη του σκευάσματος καθώς και πριν και μετά το πρωτόκολλο άσκησης. Τέλος, πριν την έναρξη των δοκιμασιών πραγματοποιήθηκε και λήψη τριχοειδικού αίματος από τα ακροδάκτυλα, σε 3 τριχοειδή μήκους 75 mm για κάθε δοκιμαζόμενη, το οποίο αφού υποβλήθηκε σε φυγοκέντρηση (3000 στροφές/min για 5') μετρήθηκε με ειδικό χάρακα (Haematocrit Reader Hawksley Inc., UK) για τον προσδιορισμό του αιματοκρίτη (ελήφθη ο μέσος όρος των δύο πλησιέστερων μετρήσεων από τα 3 τριχοειδή).

3.2.6. Τεστ ωορρηξίας

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οι δοκιμαζόμενες υποβλήθηκαν στα πρωτόκολλα μεταξύ μέσης ωχρινικής περιόδου και αρχής της επόμενης ωοθηλακικής φάσης του έμμηνου κύκλου τους. Μια εύχρηστη και αξιόπιστη μέθοδος για να προσδιοριστεί η περίοδος αυτή, περιλαμβάνει τη χρήση ενός τεστ

ωορρηξίας (One Step Ovulation Test). Τα συγκεκριμένα τεστ, ανιχνεύοντας τα επίπεδα της ωχρινοτρόπου ορμόνης προσδιορίζουν την ύπαρξη, ή μη ωορρηξίας, με ακρίβεια 24-36 ωρών (Behre, Kuhlaje, Gaßner, Sonntag, Schem, Schneider, et al., 2000; Miller and Soules, 1996). Έτσι, με δεδομένο ότι η ωορρηξία λαμβάνει χώρα στο μέσο του καταμήνιου κύκλου, καθώς και ότι η διάρκεια της ωχρινικής περιόδου είναι κατά μέσο όρο 14 ημέρες μετά την ωορρηξία (11-17 ημέρες) (Mesen and Young, 2015), προβλέφθηκε βάσει του συγκεκριμένου τεστ το μέσο της ωχρινικής περιόδου, 7 μέρες μετά την ημέρα κατά την οποία το τεστ έδωσε θετικό αποτέλεσμα (ωορρηξία) για την κάθε δοκιμαζόμενη χωριστά. Με τον τρόπο αυτό και με δεδομένο ότι τα πειραματικά πρωτόκολλα πραγματοποιήθηκαν με απόσταση μίας εβδομάδας μεταξύ τους, οι δοκιμαζόμενες διένυαν την περίοδο που ορίστηκε εξαρχής ανεξάρτητα από τη διάρκεια του κύκλου τους (με δεδομένο ότι το 95% των κύκλων έχουν διάρκεια μεταξύ 22 και 36 ημερών) (Fehring, Schneider and Raviele, 2006).

3.3. Πειραματική διαδικασία

Οι δοκιμαζόμενες προσήλθαν στο εργαστήριο τρεις φορές, εκ των οποίων στην πρώτη κλήθηκαν να συμπληρώσουν το ερωτηματολόγιο φυσικής δραστηριότητας (IPAQ-Gr) και εφόσον ανήκαν σε μία από τις δύο πρώτες κατηγορίες, ακολούθησε εξοικείωση με τις δοκιμασίες και τα όργανα, καθώς και μία δοκιμασία προσδιορισμού της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου. Επίσης, τους ζητήθηκε να ανακαλέσουν την πρώτη ημέρα της προηγούμενης περιόδου τους, καθώς και να αναφέρουν τη μέση διάρκεια του έμμηνου κύκλου τους. Τα δεδομένα αυτά χρησιμοποιήθηκαν στον προσδιορισμό της ωχρινικής φάσης. Στο τέλος της πρώτης επίσκεψης στο εργαστήριο οι δοκιμαζόμενες ενημερώ-

θηκαν εκτενώς για τη φύση του πειράματος και υπέγραψαν έγγραφο συγκατάθεσης για τη συμμετοχή τους στη μελέτη. Κατόπιν, τους παρασχέθηκαν από 5 τεστ ωορρηξίας με την οδηγία όταν η ένδειξη είναι θετική, να έρθουν σε επικοινωνία με τους ερευνητές. Τις δύο επόμενες φορές υποβλήθηκαν σε πανομοιότυπα πρωτόκολλα, από τα οποία του ενός προηγήθηκε χορήγηση παντζαροχυμού και του άλλου placebo σκευάσματος. Κατά τα πρωτόκολλα αυτά, οι δοκιμαζόμενες διένυαν το δεύτερο μισό της ωχρινικής φάσης έως το πρώτο μισό της επόμενης ωοθηλακικής φάσης του καταμήνιου κύκλου τους. Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν την ίδια ώρα της ημέρας (± 1 ώρα) και οι δύο τελευταίες απήχαν μία εβδομάδα.

3.3.1. Περιβαλλοντικές συνθήκες

Όλες οι δοκιμασίες διεξήχθησαν σε κλειστό εργαστήριο, υπό παρόμοιες περιβαλλοντικές συνθήκες. Η θερμοκρασία είχε ρυθμιστεί ανάμεσα στους 22 και 25 °C, ενώ η υγρασία κυμαινόταν μεταξύ 30 και 50%.

3.3.2. Οδηγίες στις δοκιμαζόμενες

Πριν την προκαταρκτική δοκιμασία για τον προσδιορισμό της πρόσληψης οξυγόνου, ζητήθηκε από τις δοκιμαζόμενες να έχουν καταναλώσει το τελευταίο γεύμα τους τουλάχιστον 3 ώρες νωρίτερα, να είναι καλά ενυδατωμένες και να απέχουν από καφεΐνη τις τελευταίες 6 ώρες και από αλκοόλ και οποιαδήποτε κουραστική δραστηριότητα τις τελευταίες 24 ώρες. Τις επόμενες δύο φορές οι δοκιμαζόμενες κλήθηκαν να τηρήσουν όλες τις παραπάνω οδηγίες, με τη διαφορά ότι πριν τα πρωτόκολλα χρειάστηκε 1 και όχι 3 ώρες νηστεία, καθώς μεταξύ λήψης του σκευάσματος και άσκησης μεσολάβησαν επιπλέον 2,5 ώρες αναμονής. Επιπρόσθετα, τους ζητήθηκε να κρατήσουν ένα 24ωρο ημερολόγιο καταγραφής τροφίμων και ποτών, που κατανάλωσαν την ημέρα πριν

το πρώτο πρωτόκολλο, χωρίς να διαφοροποιήσουν τη συνήθη τους δίαιτα και ακολούθως να το ακολουθήσουν κατά το δυνατό, πριν από το δεύτερο πρωτόκολλο. Τέλος, σε όλες τις δοκιμαζόμενες δόθηκε η οδηγία να απέχουν από τη χρήση στοματικού διαλύματος ή τσίγλας 24 ώρες πριν από κάθε πειραματικό πρωτόκολλο, ώστε να αποφευχθεί η διατάραξη των βακτηρίων της στοματικής κοιλότητας, που ευθύνονται για την αναγωγή των νιτρικών σε νιτρώδη (Gononi, Jansson, Weitzberg and Lundberg, 2008).

3.3.3. Προκαταρκτικές διαδικασίες

3.3.3.1. Δοκιμασία προσδιορισμού μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου

Κατά την πρώτη τους επίσκεψη στο εργαστήριο, οι δοκιμαζόμενες υποβλήθηκαν σε εργοσπιρομέτρηση κατά τη διάρκεια δοκιμασίας σταδιακά αυξανόμενης έντασης μέχρι εξάντλησης σε κυκλοεργόμετρο, για τον προσδιορισμό της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου και του αναπνευστικού κατωφλιού τους. Η δοκιμασία συνοδεύταν από συνεχή παρακολούθηση της καρδιακής συχνότητας με παλμογράφο, καθώς και αξιολόγηση της κόπωσης, βάσει της κλίμακας Borg (Borg, 1970). Αρχικά, κάθε δοκιμαζόμενη κάθισε στο κυκλοεργόμετρο και προσαρμόστηκε το ύψος της σέλας. Στη συνέχεια, τους τοποθετήθηκε το καρδιοσυχνόμετρο, καθώς και το κατάλληλο επιστόμιο με το βαθμονομημένο πνευμοταχογράφο, συνδεδεμένο με τον αναλυτή αερίων. Αφού ελήφθησαν οι πρώτες τιμές αναπνευστικών αερίων (30 δευτερόλεπτα), οι δοκιμαζόμενες πραγματοποίησαν προθέρμανση διάρκειας 5 λεπτών στα 20 Watt και ακολούθως 10 λεπτά παθητική αποκατάσταση σε καθιστή θέση. Η δοκιμασία ξεκίνησε με αρχικό φορτίο στα 20 Watt (Bond, et al., 2013), το οποίο αυξανόταν με ρυθμό 15

Watt/λεπτό (Glaister, et al., 2015), μέχρι εξάντλησης της δοκιμαζόμενης, ενώ τους ζητήθηκε να διατηρούν σταθερό ρυθμό ποδηλάτησης μεταξύ 60 και 70 rpm. Η εξάντληση θεωρήθηκε ότι επήλθε εφόσον πληρούνταν τρία τουλάχιστον από τα ακόλουθα κριτήρια (Glaister, et al., 2015):

1. Πλατώ στην πρόσληψη οξυγόνου, όπως ορίζεται με αύξηση λιγότερη από 2ml/kg/λεπτό από το προηγούμενο στάδιο
2. Αναπνευστικό πηλίκιο $\geq 1,15$
3. Καρδιακή συχνότητα ± 10 παλμοί από τη μέγιστη προβλεπόμενη (220-ηλικία)
4. Αδυναμία διατήρησης περιστροφών στις 50/λεπτό

Ως VO_{2max} θεωρήθηκε η μέγιστη μέση τιμή των τελευταίων 30 δευτερολέπτων κάθε λεπτού, που είχε καταγραφεί (Glaister, et al., 2015).

3.3.3.2. Προσδιορισμός αναπνευστικού κατωφλιού

Με βάση τα δεδομένα της εργοσπιρομέτρησης υπολογίστηκε το αναερόβιο κατώφλι κάθε δοκιμαζόμενης. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε παρουσιάζει αρκετά μεγάλη συμφωνία αποτελεσμάτων (90,3%) με την άμεση μέθοδο μέτρησης γαλακτικού στο αίμα και περιλαμβάνει συνδυασμό τριών ξεχωριστών μεθόδων (Gaskill, 2001). Οι επιμέρους μέθοδοι είναι οι εξής:

1. Μέθοδος Αναπνευστικών Ισοδυνάμων (VEQ method): Κατά την οποία το αναπνευστικό κατώφλι συμπίπτει με την ένταση της άσκησης, κατά την οποία παρατηρείται αύξηση του αναπνευστικού ισοδύναμου του οξυγόνου (VE/VO_2) με το αναπνευστικό ισοδύναμο του διοξειδίου του άνθρακα

- (VE/VCO₂) να παραμένει σταθερό.
2. Μέθοδος Περίσσειας Διοξειδίου του Άνθρακα (ExCO₂ method): Το αναπνευστικό κατώφλι αντιστοιχεί στην ένταση της άσκησης, όπου η περίσσεια διοξειδίου του άνθρακα αυξάνεται απότομα από τη σταθερότητα (όπου $ExCO_2 = (VCO_2^2 / VO_2) - VCO_2$)
 3. Τροποποιημένη μέθοδος V-slope: Σε διάγραμμα που απεικονίζει την παραγωγή ανά λεπτό διοξειδίου του άνθρακα (VCO₂) σε συνάρτηση με την ανά λεπτό κατανάλωση οξυγόνου (VO₂), το αναπνευστικό κατώφλι συμπίπτει με την ένταση της άσκησης, όπου η κλίση της καμπύλης παραγωγής διοξειδίου του άνθρακα αυξάνεται πάνω από τη μονάδα.

Το αναπνευστικό κατώφλι προσδιορίστηκε με κάθε μία από τις παραπάνω μεθόδους για κάθε δοκιμαζόμενη, και ακολούθως ελήφθη ο μέσος όρος.

3.3.4. Πειραματικές διαδικασίες

3.3.4.1. Προσδιορισμός του μέσου της ωχρινικής φάσης του έμμηνου κύκλου

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, κατά τη διάρκεια των πρωτοκόλλων, οι δοκιμαζόμενες βρίσκονταν μεταξύ μέσης ωχρινικής και αρχής επόμενης ωθηλακικής φάσης του κύκλου τους. Με δεδομένο ότι το διάστημα αυτό διαρκεί 11-18 ημέρες (Fehring, 2006), καθώς και ότι τα δύο πρωτόκολλα (πειραματικό και placebo) χρειαζόταν να απέχουν μεταξύ τους μία εβδομάδα, εντοπίζοντας το μέσο της ωχρινικής φάσης για κάθε δοκιμαζόμενη, κατέστη δυνατό να πραγματοποιηθούν και τα δύο πρωτόκολλα μέσα στο ίδιο διάστημα δύο διαδοχικών κύκλων, χωρίς να απαιτείται η αναμονή ενός μήνα, έως την επόμενη ωθηλακική φάση. Ο εντοπισμός της

συγκεκριμένης ημέρας έγινε με τη βοήθεια του τεστ ωορρηξίας, το οποίο ξεκίνησαν να πραγματοποιούν οι δοκιμαζόμενες τόσες μέρες μετά την έναρξη της περιόδου τους, όσες αντιστοιχούσαν στο μισό της μέσης διάρκειας του έμμηνου κύκλου τους μείον 2 ημέρες. Το τεστ θα εφαρμοζόταν καθημερινά από την ημέρα εκείνη, έως ότου έδινε θετικό αποτέλεσμα. Πέντε έως επτά μέρες μετά τη θετική ένδειξη του τεστ (όπως εξηγείται παραπάνω) ξεκίνησαν οι δοκιμαζόμενες με ένα από τα δύο πρωτόκολλα (πειραματικό, ή placebo) και ακόμη επτά μέρες αργότερα, υποβλήθηκαν και στο άλλο πρωτόκολλο. Η χρονική απόσταση μεταξύ των δύο μετρήσεων επιλέχθηκε ώστε να εξασφαλιστεί η «έκπλυση» (washout) του οργανισμού από νιτρικά, καθώς στις περισσότερες μελέτες η απόσταση αυτή κυμαίνεται μεταξύ 2 και 7 ημερών (Lansley, 2011; MacLeod, 2015; Rimer, 2015; Wilkerson, 2012).

3.3.4.2. Χορήγηση συμπληρώματος

Πριν από τα δύο πειραματικά πρωτόκολλα, χορηγήθηκε στις δοκιμαζόμενες συμπλήρωμα νιτρικών με μορφή παντζαροχυμού, ή placebo σκεύασμα με τυχαίοποιημένο crossover σχεδιασμό. Όσον αφορά τον παντζαροχυμό, και την περιεκτικότητά του σε νιτρικά, από τις μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί, φαίνεται πως οι γυναίκες παρουσιάζουν απόκριση μόνο σε υψηλές συγκεντρώσεις. Συγκεκριμένα, ενώ σε συμπλήρωμα με 6, 7,3, και 9,6 mmol δε φάνηκε επιπρόσθετο όφελος σε επαναλαμβανόμενα σπριντ (Buck, 2015), ή σε δοκιμασία 20 km (Glaister, 2015) και 5 km (Peeling, 2015), αντίστοιχα, σε αθλήτριες, οι μελέτες της Bond (2013; 2014) δείχνουν θετική απόκριση μετά από χορήγηση 750 mg (~12 mmol) νιτρικών με τη μορφή παντζαροχυμού, σε προπονημένες γυναίκες. Επίσης, σε άλλη μελέτη, παντζαροχυμός περιεκτικότητας 12,9 mmol νιτρικών μείωσε το κόστος

οξυγόνου σε σταθερό έργο σε δείγμα γυναικών, παρόλο που απέτυχε να βελτιώσει την απόδοση σε άσκηση με σταθερή τιμή του δείκτη αντιλαμβανόμενης κόπωσης (Rienks, 2015). Η περιεκτικότητα του παντζαροχυμού επομένως, έπρεπε να κυμαίνεται μεταξύ 12 και 13 mmol νιτρικών. Για το λόγο αυτό οι δοκιμαζόμενες κλήθηκαν να καταναλώσουν δύο δόσεις των 70 ml συμπυκνωμένου παντζαροχυμού (Beet-It, James White Drinks Ltd, Ashbocking, UK), κάθε μια από τις οποίες περιέχει τουλάχιστον 400 mg νιτρικών (6-7mmol). Το συμπλήρωμα τους δόθηκε με την οδηγία να καταναλωθεί μέσα σε 15 λεπτά, ενώ θα ακολουθήσουν άλλα 150 λεπτά, έως την έναρξη του πρωτοκόλλου, διάστημα κατά το οποίο οι δοκιμαζόμενες είχαν τη δυνατότητα να απομακρυνθούν από το εργαστήριο, χωρίς όμως να εκτελέσουν κάποια κουραστική δραστηριότητα, ή να καταναλώσουν φαγητό, ενώ μπορούσαν να καταναλώνουν νερό, κατά βούληση. Τα 150 λεπτά επιλέχθηκαν ως το βέλτιστο διάστημα για κορύφωση των επιπέδων νιτρικών στο αίμα (Broosma, 2014; Peeling, 2015; Rimer, 2016; Vanhatalo, 2010; Wilkerson, 2012).

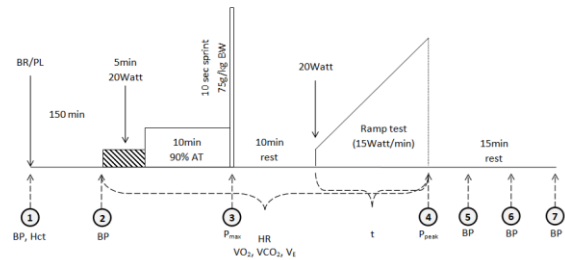
Όσον αφορά το placebo σκεύασμα (Beet-It, James White Drinks Ltd, Ashbocking, UK), αυτό χορηγήθηκε εν γνώσει μόνο του ερευνητή και όχι των δοκιμαζομένων (αφού είχε ίδιο χρώμα και γεύση), για να εξασφαλιστεί η τυφλή δοκιμή. Για τον ίδιο λόγο, δόθηκαν οι ίδιες οδηγίες στις δοκιμαζόμενες, σχετικά με τον τρόπο κατανάλωσής του και το διάστημα έως την έναρξη της άσκησης.

3.3.4.3. Πειραματικό πρωτόκολλο

Αφού ολοκλήρωσαν τις προκαταρκτικές διαδικασίες οι δοκιμαζόμενες και προσδιορίστηκε η επιθυμητή ημέρα του κύκλου τους, όπως έχει οριστεί προηγουμένως, προχώρησαν στην

εκτέλεση δύο πανομοιότυπων πρωτοκόλλων άσκησης, μετά από λήψη παντζαροχυμού, ή placebo σκευάσματος, με χρονική απόσταση μίας εβδομάδας μεταξύ τους. Οι δοκιμαζόμενες προσήλθαν στο εργαστήριο πρωινή ώρα έχοντας καταναλώσει το πρωινό τους τουλάχιστον μία ώρα νωρίτερα και αφού παρέμειναν για 10 λεπτά σε ήρεμη, καθιστή θέση πραγματοποιήθηκε μέτρηση της πίεσης και λήψη αίματος από τα ακροδάκτυλα, για τον προσδιορισμό του αιματοκρίτη. Ακολούθως, τους χορηγήθηκε το σκεύασμα προς κατανάλωση, το οποίο τη μία φορά ήταν παντζαροχυμός και την άλλη placebo με τυχαία σειρά, με την οδηγία να καταναλωθεί εντός 15 λεπτών. Δύομιση ώρες αργότερα, και αφού είχαν προηγηθεί 10 λεπτά ηρεμίας σε καθιστή θέση, μετρήθηκε ξανά η αρτηριακή τους πίεση και τους τοποθετήθηκε το καρδιοσυχνόμετρο. Οι δοκιμαζόμενες μεταφέρθηκαν στο κυκλοεργόμετρο, όπου η θέση είχε προσαρμοστεί, βάσει της προκαταρκτικής δοκιμασίας και τους τοποθετήθηκε το κατάλληλο επιστόμιο με τον βαθμονομημένο πνευμοταχογράφο, συνδεδεμένο με τον αναλυτή αερίων, μέσω του οποίου καταγράφονταν οι αναπνευστικές παράμετροι (πρόσληψη οξυγόνου, αποβολή διοξειδίου του άνθρακα, αερισμός) κάθε 10 δευτερόλεπτα, έως τη λήξη ολόκληρης της δοκιμασίας. Ακολούθησε 5λεπτη προθέρμανση στο κυκλοεργόμετρο, με φορτίο 20 Watt. Σχετικά με το πρωτόκολλο άσκησης, φαίνεται από ανασκόπηση (Jones, 2014) ότι η εργογόνος δράση των νιτρικών μπορεί να εντοπιστεί σε πρωτόκολλο συνεχόμενης άσκησης διάρκειας από 5 έως 30 λεπτά, ενώ δεν υπάρχουν επαρκείς ενδείξεις για τη δράση τους σε συνεχόμενη άσκηση διάρκειας πάνω από 40 λεπτά. Με βάση τη διαπίστωση αυτή, σχεδιάστηκε ένα πρωτόκολλο, που συνδυάζει συνεχή σταθερή και σταδιακά αυξανόμενης

έντασης άσκηση (στην οποία η επίδραση των νιτρικών δεν έχει εξετασθεί σε γυναίκες), παρόμοιο με αυτό της Vanhatalo (2010), ενώ προστέθηκε και μια δοκιμασία σπριντ για τον προσδιορισμό της μέγιστης αναερόβιας ισχύος. Συγκεκριμένα, οι δοκιμαζόμενες αμέσως μετά την προθέρμανση συνέχισαν την ποδηλάτηση με ρυθμό 60-70 rpm, αλλά το φορτίο αυξήθηκε στο 90% του αερόβιου κατώφλιού, όπως είχε υπολογιστεί για την κάθε μία χωριστά, στην ένταση αυτή συνεχίστηκε για 10 συνεχόμενα λεπτά. Ακολούθησε ένα σπριντ 10 δευτερολέπτων με επιβάρυνση 75 g ανά κιλό σωματικού βάρους των δοκιμαζομένων και στην συνέχεια παρέμειναν σε καθιστή θέση προκειμένου να παρέλθουν τα 10 λεπτά παθητικής αποκατάστασης. Το πρωτόκολλο ολοκληρώθηκε με τη δοκιμασία σταδιακά αυξανόμενης έντασης, ίδια με την προκαταρκτική, με αρχικό φορτίο στα 20 Watt και ρυθμό 15 Watt/λεπτό, μέχρι εξάντλησης της κάθε δοκιμαζόμενης. Το σημείο εξάντλησης καθόρισαν τα ίδια κριτήρια που χρησιμοποιήθηκαν και στη δοκιμασία μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου. Η δοκιμασία χρονομετρήθηκε και καταγράφηκε η μέγιστη αερόβια ισχύς (μέγιστη τιμή κατά τα τελευταία 30 δευτερόλεπτα της δοκιμασίας). Το πρωτόκολλο ολοκληρώθηκε με 3 λεπτά αποκατάστασης χωρίς φορτίο και ακολούθως οι δοκιμαζόμενες μεταφέρθηκαν σε καθιστή θέση ηρεμίας για 15 λεπτά. Από τη θέση αυτή μετρήθηκε η αρτηριακή πίεση κατά το 5°, 10° και 15° λεπτό της ανάπαυσης. Τα πρωτόκολλα παρουσιάζονται στην Εικόνα 3.1.



Εικόνα 3. 1. Σχηματική παρουσίαση πρωτοκόλλου άσκησης και μετρήσεων που πραγματοποιήθηκαν σε 7 διαφορετικές χρονικές στιγμές (1-7). BR/PL: παντζαροχυμός/placebo, AT: αναπνευστικό κατώφλι, Ramp test: δοκιμασία σταδιακά αυξανόμενης έντασης μέχρι εξάντλησης, BW: σωματικό βάρος, BP: αρτηριακή πίεση, Hct: αιματοκρίτης, HR: καρδιακή συχνότητα, P_{max} : μέγιστη αναερόβια ισχύς, P_{peak} : μέγιστη αερόβια ισχύς.

3.4. Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πακέτο SPSS 21.0. Στην επόμενη ενότητα παρουσιάζονται τα περιγραφικά χαρακτηριστικά των δοκιμαζομένων (Σωματικό βάρος, Ύψος, Ηλικία, Hct, VO_{2max}). Χρησιμοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης 2-way ANOVA επαναλαμβανόμενων μετρήσεων με διόρθωση Bonferroni για τις εξαρτημένες μεταβλητές με περισσότερες από μία μετρήσεις σε κάθε συνθήκη και έλεγχος t -test για εξαρτημένα δείγματα, για τη σύγκριση των μεταβλητών με μία μέτρηση για κάθε συνθήκη. Τέλος, υπολογίστηκε ο συντελεστής συσχέτισης (Pearson's r) μεταξύ του αιματοκρίτη και της κατανάλωσης οξυγόνου κατά το υπομέγιστο έργο. Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε στο $p \leq 0,05$.

Παντζαροχυμός και άσκηση σε γυναίκες

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στην ενότητα αυτή θα παρουσιαστούν τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής. Αρχικά θα παρουσιαστούν τα ανθρωπομετρικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά των δοκιμαζομένων. Ακολουθούν οι μετρήσεις αρτηριακής πίεσης πριν και μετά τη λήψη συμπληρώματος καθώς και οι κύριες παράμετροι που μετρήθηκαν ανά συνθήκη [παντζαροχυμού (BRJ) vs placebo (PL)] για κάθε μία από τις δοκιμασίες με τη σειρά: δοκιμασία υπομέγιστου έργου, σπριντ και σταδιακά αυξανόμενης έντασης μέχρι εξάντλησης. Στη συνέχεια παρουσιάζονται οι τιμές αρτηριακής πίεσης μετα-ασκησιακά και τέλος η ανάλυση συσχέτισης μεταξύ του αιματοκρίτη των δοκιμαζόμενων και της διαφοράς στην κατανάλωση οξυγόνου αλλά και της διαφοράς στην κατανάλωση οξυγόνου ανά μονάδα ισχύος (ανάμεσα στις συνθήκες παντζαροχυμού και placebo).

4.1. Ανθρωπομετρικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά δείγματος

Στον πίνακα 4.1 παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά του δείγματος που συμμετείχε στην παρούσα μελέτη καθώς και ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση για το καθένα από αυτά.

Πίνακας 4.1.1. Ανθρωπομετρικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά δείγματος

A/A	ΒΑΡΟΣ (kg)	ΥΨΟΣ (cm)	ΗΛΙΚΙΑ (years)	HCT (%)	VO ₂ max (ml/kg/min)
1	53,8	154	19	38,5	31,8
2	79,5	168	21	40,5	36,3
3	58,5	166	25	42,5	28
4	59	166	35	38	29,9
5	65,3	171	23	39,5	28,5
6	52,6	165	22	40,5	32,3
M.O.	61,45	165,00	24,17	39,92	31,13
σ (±)	4,05	2,37	2,32	0,67	1,25

4.2. Αρτηριακή πίεση ηρεμίας

Στον πίνακα 4.2.1 παρουσιάζονται οι τιμές συστολικής διαστολικής και μέσης αρτηριακής πίεσης κατά τις χρονικές στιγμές 0 και 150' μετά την λήψη του σκευάσματος τόσο για τη συνθήκη λήψης παντζαροχυμού όσο και για τη συνθήκη λήψης σκευάσματος placebo. Παρουσιάζονται επίσης οι τιμές ΔSBP (SBP150-SBP0), ΔDBP (DBP150-DBP0) και ΔMBP (MBP150'- MBP0'), όπου φαίνονται οι διαφορές στη συστολική, διαστολική και μέση αρτηριακή πίεση, αντίστοιχα, στα 150' μετά την λήψη σκευάσματος συγκριτικά με τη χρονική στιγμή 0.

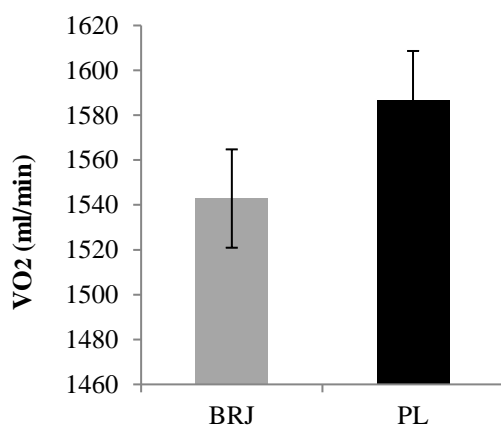
Σύμφωνα με τη στατιστική ανάλυση *t*-test δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά της ΔSBP μεταξύ παντζαροχυμού και placebo ($p=0,259$), ομοίως και για τη μεταβλητή ΔDBP ($p=0,369$). Όσον αφορά τη διαφορά μέσης αρτηριακής πίεσης αξίζει να αναφερθεί ότι οριακά δεν παρουσιάστηκε στατιστική σημαντικότητα ανάμεσα στις δύο συνθήκες ($p=0,068$).

Πίνακας 4.2.1. Συστολική, διαστολική και μέση αρτηριακή πίεση (μ.ο.±σ, n=6) τις χρονικές στιγμές 0 και 150' μετά από τη λήψη παντζαροχυμού (BRJ) και placebo (PL).

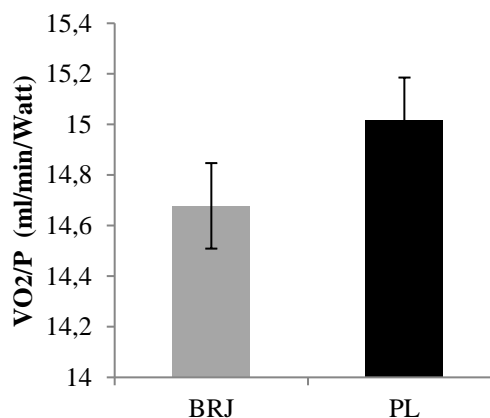
		BP0'	BP150'	ΔBP (BP150'-BP0')	P
SBP	BRJ	105,08±5,10	105,00±4,97	-0,09±3,09	0,259
	PL	102,17±4,86	105,33±5,17	3,17±3,49	
DBP	BRJ	59,59±6,59	60,92±6,61	1,33±3,82	0,369
	PL	58,08±8,06	61,83±5,55	3,75±4,30	
MBP	BRJ	74,75±5,68	75,62±5,86	0,87±3,43	0,068
	PL	71,43±5,28	76,33±5,27	4,90±1,86	

4.3. Δοκιμασία υπομέγιστου έργου

Η μέση κατανάλωση οξυγόνου (VO_2) για την εκτέλεση υπομέγιστου έργου διάρκειας 10 λεπτών στο 90% του αερόβιου κατωφλιού δεν διέφερε σημαντικά ανάμεσα στις συνθήκες κατανάλωσης παντζαροχυμού και placebo ($p=0,276$). Παρόμοια μη στατιστικά σημαντική ήταν η διαφορά και στο κόστος οξυγόνου (VO_2/P) ($p=0,370$). Στη συνθήκη λήψης παντζαροχυμού η μέση κατανάλωση οξυγόνου και το κόστος οξυγόνου (κατανάλωση οξυγόνου ανά μονάδα παραγόμενης ισχύος) αντίστοιχα ήταν $25,07 \pm 2,06$ ml/kg/min και $14,49 \pm 1,24$ ml/min/Watt, ενώ στη συνθήκη λήψης placebo $25,77 \pm 3,08$ ml/kg/min και $14,82 \pm 0,66$ ml/min/Watt.



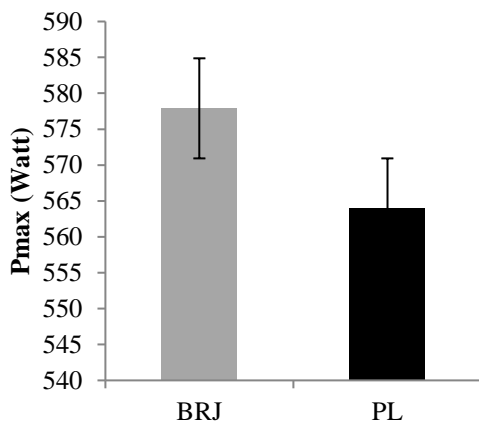
Σχήμα 4.3.1. Μέση κατανάλωση O_2 ($p=0,276$) κατά το υπομέγιστο έργο για τις δύο συνθήκες: λήψη παντζαροχυμού (BRJ) και placebo (PL).



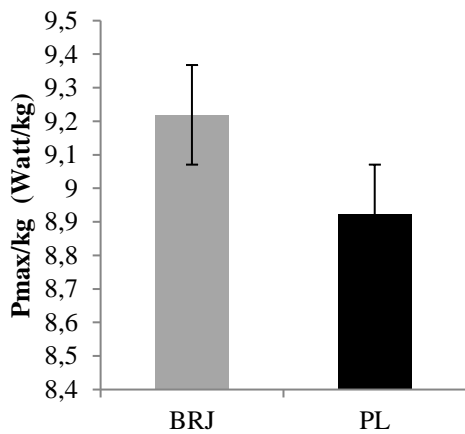
Σχήμα 4.3.2. Κόστος O_2 ($p=0,370$) κατά το υπομέγιστο έργο για τις δύο συνθήκες: λήψη παντζαροχυμού (BRJ) και placebo (PL).

4.4. Δοκιμασία σπριντ

Η μέγιστη ισχύς σε σπριντ που ακολούθησε τη δοκιμασία υπομέγιστου έργου μετά από κατανάλωση παντζαροχυμού και placebo δεν διέφερε σημαντικά ($p=0,483$) ούτε όταν αναλύθηκε ως P_{max}/kg σωματικού βάρους ($p=0,396$). Συγκεκριμένα, η μέγιστη ισχύς στη συνθήκη λήψης παντζαροχυμού ήταν $577,9 \pm 76,32$ Watt ($9,22 \pm 0,59$ Watt/kg) ενώ αντίστοιχα στη συνθήκη λήψης placebo $563,96 \pm 109,18$ Watt ($8,92 \pm 0,46$ Watt/kg).



Σχήμα 4.4.1. Μέγιστη ισχύς ($p=0,483$) στο σπριντ για τις δύο συνθήκες: λήψη παντζαροχυμού (BRJ) και placebo (PL).



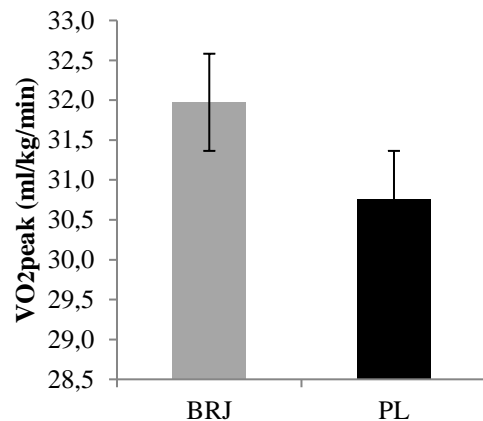
Σχήμα 4.4.2. Μέγιστη ισχύς ανά κιλό σωματικού βάρους ($p=0,396$) στο σπριντ για τις δύο συνθήκες: λήψη παντζαροχυμού (BRJ) και placebo (PL).

4.5. Δοκιμασία σταδιακά αυξανόμενης έντασης μέχρι εξάντλησης

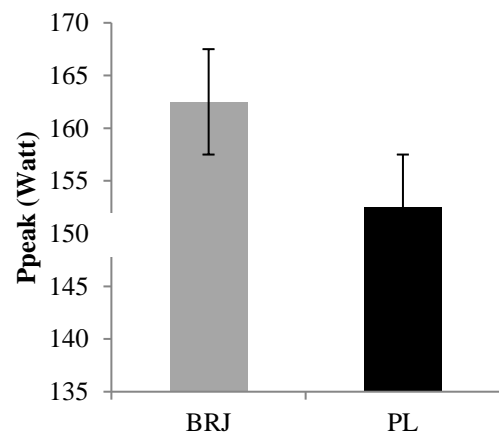
Κατά τη δοκιμασία σταδιακά αυξανόμενης έντασης μέχρι εξάντλησης συγκρίθηκαν οι τιμές τριών μεταβλητών για τις συνθήκες λήψης παντζαροχυμού και placebo: της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου VO_{2peak} , της μέγιστης αερόβιας ισχύος P_{peak} και της μέγιστης καρδιακής συχνότητας HR_{peak} .

Δεν παρουσιάστηκε στατιστική σημαντικότητα στη διαφορά μεταξύ των συνθηκών για τη μεταβλητή VO_{2peak} ($p=0,691$) στη συνθήκη λήψης παντζαροχυμού ($31,97 \pm 5,52$ ml/kg/min) και placebo ($30,76 \pm 4,41$ ml/kg/min).

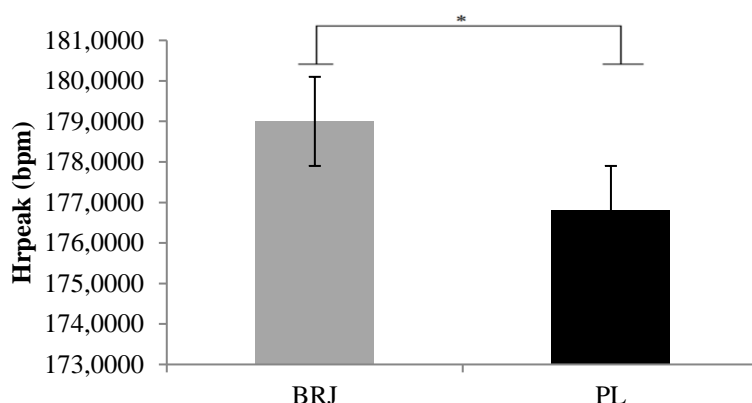
Παρόμοια, δεν εντοπίστηκε στατιστική σημαντικότητα ούτε στη διαφορά μεταξύ των συνθηκών για τη μεταβλητή P_{peak} ($p=0,235$) ($P_{peak_{BRJ}}=142,5 \pm 46,23$ Watt και $P_{peak_{PL}}=152,5 \pm 52,45$ Watt). Αντιθέτως, όσον αφορά τη μέγιστη καρδιακή συχνότητα, είχε υψηλότερες τιμές ($p=0,029$) στη συνθήκη λήψης παντζαροχυμού ($179 \pm 12,65$ bpm) συγκριτικά με τη λήψη placebo ($176,8 \pm 12,56$ bpm).



Σχήμα 4.5.1. Μέγιστη κατανάλωση O_2 ($p=0,691$) στη σταδιακά αυξανόμενης έντασης άσκηση για τις δύο συνθήκες: λήψη παντζαροχυμού (BRJ) και placebo (PL).



Σχήμα 4.5.2. Μέγιστη αερόβια ισχύς ($p=0,235$) στη σταδιακά αυξανόμενης έντασης άσκηση για τις δύο συνθήκες: λήψη παντζαροχυμού (BRJ) και placebo (PL).



Σχήμα 4.5.1. Μέγιστη καρδιακή συχνότητα στη σταδιακά αυξανόμενης έντασης άσκηση για τις δύο συνθήκες: λήψη παντζαροχυμού (BRJ) και placebo (PL) ($p=0,029$).

4.6. Αρτηριακή πίεση μετα-ασκησιακά

Η μέτρηση της αρτηριακής πίεσης μετα-ασκησιακά πραγματοποιήθηκε στο 5^ο, 10^ο και 15^ο λεπτό μετά την λήξη του πρωτοκόλλου άσκησης και συγκρίθηκαν οι τιμές της κάθε χρονικής στιγμής μεταξύ τους όσο και ανάμεσα στις δύο διαφορετικές συνθήκες με 2-way ANOVA 2x3. Όσον αφορά τη συστολική αρτηριακή πίεση, από την ανάλυση προέκυψε ότι, ενώ δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο διαφορετικές συνθήκες ($p_{\text{treatment}}=0,138$), και στην αλληλεπίδραση μεταξύ συνθήκης και χρόνου ($p_{\text{time} \times \text{treatment}}=0,492$), οι τιμές της συστολικής αρτηριακής πίεσης παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους ως προς την επίδραση του χρόνου ($p_{\text{time}}=0,002$).

Συγκεκριμένα μάλιστα, φάνηκε ότι μειώνονταν στατιστικά σημαντικά οι τιμές της συστολικής αρτηριακής πίεσης μεταξύ 5^{ου} και 10^{ου} λεπτού ($p=0,009$) καθώς και μεταξύ 5^{ου} και 15^{ου} λεπτού ($p=0,019$). Καμία στατιστική σημαντικότητα δεν παρουσιάστηκε στις αντίστοιχες αναλύσεις για τη διαστολική και τη μέση αρτηριακή πίεση. Επιπρόσθετα, όταν συγκρίθηκε η διαφορά της αρτηριακής πίεσης πριν την έναρξη της άσκησης (BP150') με την ελάχιστη τιμή αρτηριακής πίεσης μετα-ασκησιακά (minBPpost-ex.) ανάμεσα στις δύο συνθήκες ($\Delta\text{BP}_{\text{BRJ}}$ vs $\Delta\text{BP}_{\text{PL}}$) δε βρέθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά όπως φαίνεται στον πίνακα που ακολουθεί.

Πίνακας 4.6.1. Τιμές συστολικής, διαστολικής και μέση αρτηριακής πίεσης ($\mu.o. \pm \sigma$, $n=6$) τις χρονικές στιγμές 5', 10' και 15' μετα-ασκησιακά για τις συνθήκες λήψης παντζαροχυμού και placebo.

		BP5'	BP10'	BP15'	p	p	p
					time	treatment	time x treatment
SBP	BRJ	107,33±8,86	101,92±6,00	102,08±7,05	0,002	0,138	0,492
	PL	111,58±8,68	105,83±9,29	103,83±8,01			
DBP	BRJ	61,00±5,29	61,17±4,89	62,08±4,09	0,461	0,786	0,374
	PL	60,00±7,64	61,83±6,74	61,17±6,74			
MBP	BRJ	76,44±5,29	74,75±4,70	75,41±3,75	0,305	0,555	0,220
	PL	77,19±6,84	76,50±6,91	75,39±6,02			

Πίνακας 4.6.2. Τιμές συστολικής, διαστολικής και μέσης αρτηριακής πίεσης (μ.ο.±σ, n=6) τη χρονική στιγμή 150' μετά τη λήψη παντζαροχυμού και placebo συγκριτικά με τις ελάχιστες τιμές τους μετα-ασκησιακά.

		BP150'	minBPpost-ex.	ΔBP	p
SBP	BRJ	105,00±4,97	100,42±5,65	4,58±2,89	0,237
	PL	105,33±5,17	103,00±8,72	2,17±7,02	
DBP	BRJ	60,92±6,61	60,00±4,74	4,62±1,88	0,262
	PL	61,83±5,55	58,85±6,61	5,41±2,21	
MBP	BRJ	75,62±5,86	73,47±4,13	3,22±1,32	0,917
	PL	76,33±5,27	73,57±6,00	4,74±1,93	

4.7. Ανάλυση συσχέτισης αιματοκρίτη των δοκιμαζόμενων με τη διαφορά στην κατανάλωση οξυγόνου μεταξύ των δύο συνθηκών

Δεν παρουσιάστηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ κατανάλωσης οξυγόνου κατά το υπομέγιστο έργο και αιματοκρίτη των δοκιμαζόμενων (Pearson's $r=0,165$, $p=0,754$). Παρόμοια, δεν ήταν σημαντική η συσχέτιση ανάμεσα στην κατανάλωση οξυγόνου ανά μονάδα ισχύος και τον αιματοκρίτη των δοκιμαζόμενων (Pearson's $r=0,187$, $p=0,722$).

Παντζαροχυμός και άσκηση σε γυναίκες

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να εξετάσει την επίδραση της οξείας χορήγησης νιτρικών (NO_3^-) με τη μορφή παντζαροχυμού στις φυσιολογικές αποκρίσεις γυναικών κατά τη διάρκεια άσκησης. Συγκεκριμένα εξετάστηκε η επίδραση λήψης σκευάσματος παντζαροχυμού και placebo κατά τη διάρκεια υπομέγιστου, σταδιακά αυξανόμενης έντασης έργου και σπριντ.

Για το σκοπό αυτό συμμετείχαν 6 δοκιμαζόμενες οι οποίες κλήθηκαν να εκτελέσουν το πρωτόκολλο άσκησης ενώ βρίσκονταν μεταξύ μέσης ωχρινικής και αρχής επόμενης ωθηλακικής φάσης του κύκλου τους υπό δύο συνθήκες: 2,5 ώρες μετά την κατανάλωση παντζαροχυμού περιεκτικότητας 800 mg NO_3^- και 2,5 ώρες μετά την κατανάλωση παντζαροχυμού απεμπλουτισμένου από NO_3^- (placebo). Το πρωτόκολλο αποτελούσαν τρεις φάσεις άσκησης: υπομέγιστο έργο διάρκειας 10 λεπτών σε ένταση 90% του αερόβιου κατωφλιού, σπριντ 10 δευτερολέπτων με επιβάρυνση 75 g ανά κιλό σωματικού βάρους των δοκιμαζομένων και, τέλος, σταδιακά αυξανόμενης έντασης άσκηση (15 Watt/λεπτό) μέχρι εξάντλησης.

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έδειξαν ότι η πρόσληψη νιτρικών με τη μορφή παντζαροχυμού δεν επηρέασε σημαντικά την κατανάλωση οξυγόνου στο υπομέγιστο έργο ή τη μέγιστη αναερόβια ισχύ στο σπριντ. Όσον αφορά το σταδιακά αυξανόμενης έντασης έργο αν και δε φάνηκε να επηρεάζει τη μέγιστη αερόβια ικανότητα ή τη μέγιστη αερόβια ισχύ, εντούτοις η λήψη παντζαροχυμού οδήγησε τις δοκιμαζόμενες σε σημαντικά υψηλότερη μέγιστη καρδιακή συχνότητα κατά τη λήξη της δοκιμασίας εξάντλησης.

Όσον αφορά τη μετα-ασκησιακή υπόταση η λήψη παντζαροχυμού

πλούσιου σε νιτρικά δε φάνηκε να επηρεάζει στατιστικά σημαντικά την αρτηριακή πίεση στα 5, 10 και 15 λεπτά μετά τη λήξη του πρωτοκόλλου άσκησης συγκριτικά με το placebo σκεύασμα, ενώ, τέλος, καμία συσχέτιση δεν παρουσιάστηκε μεταξύ του αιματοκρίτη των δοκιμαζομένων και κατανάλωσης οξυγόνου στο υπομέγιστο έργο.

Παρακάτω θα γίνει προσπάθεια να ερμηνευτούν τα ευρήματα της εργασίας που αφορά στην οξεία επίδραση της πρόσληψης νιτρικών με τη μορφή παντζαροχυμού στο πρωτόκολλο άσκησης που εφαρμόστηκε αναφορικά τόσο με τις ερευνητικές υποθέσεις όσο και με προηγούμενες σχετικές μελέτες.

5.1. Ανθρωπομετρικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά δοκιμαζομένων

Όπως αναφέρθηκε και στις προηγούμενες ενότητες, ορμονικές διαφορές (Davidoff, et al., 1997; Zeng, Jankovitz, Widness and Strauss, 2001; Momohara, et al., 2004) όσο και διαφορές ως προς τη σύνθεση, τη βιοδιαθεσιμότητα και το μεταβολισμό των νιτρικών στον οργανισμό ανάμεσα στα δύο φύλα, αλλά και μεταξύ γυναικών στην αναπαραγωγική και προ-/μεμνηνοπαυσιακή ηλικία (Kharitonov, et al., 1994; Forte, et al., 1998) καθιστούν αναγκαία την ξεχωριστή μελέτη της επίδρασης των νιτρικών στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας. Μάλιστα είναι ιδιαίτερα σημαντικό η μελέτη της επίδρασης αυτής να πραγματοποιηθεί με έλεγχο της φάσης του έμμηνου κύκλου των γυναικών κατά τη διάρκεια του οποίου επίσης έχουν παρατηρηθεί διαφορές στο μεταβολισμό των νιτρικών (Kharitonov, et al., 1994; Manau, et al., 1999; Teran, et al., 2001; Giusti, et al., 2002). Με βάση τα παραπάνω, στη μελέτη αυτή συμμετείχαν γυναίκες ηλικίας $24,17 \pm 2,32$ ετών, οι οποίες υποβλήθηκαν στις δοκιμασίες μεταξύ μέσης ωχρινικής και αρχής της επόμενης

ωοθηλακικής φάσης του κύκλου τους όπως προσδιορίστηκε με τεστ ωορρηξίας για την κάθε μία χωριστά.

Επιπρόσθετα, η απόκριση του οργανισμού σε ανάλογα σκευάσματα έχει βρεθεί ότι διαφοροποιείται ανάλογα με την προπονητική κατάσταση του δείγματος με τους υψηλού επιπέδου αθλητές να παρουσιάζουν μικρή ή και καθόλου απόκριση στον παντζαροχυμό (Broosma, et al., 2014; Arnold, et al., 2015; Glaister, et al., 2015). Επομένως η προπονητική κατάσταση ήταν άλλος ένας παράγοντας που ελέγχθηκε για τις δοκιμαζόμενες που έλαβαν μέρος στη μελέτη τόσο με το ερωτηματολόγιο φυσικής κατάστασης IPAQ αρχικά (Craig, Marshall, Sjostrom, Baumann, Booth, Ainsworth, et al., 2003), όσο και με βάση τη μετρηθείσα τιμή της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου (Decroix, Marshall, Sjostrom, Baumann, Booth, Ainsworth, et al., 2016). Το παρόν δείγμα με βάση τα παραπάνω είχε χαμηλή έως μέτρια προπονητική κατάσταση (μέση $VO_{2peak}=31,13\pm 1,25$ ml/kg/min), όπως ορίζεται από το Αμερικάνικο Κολέγιο Αθλητιατρικής (American College of Sports Medicine, 2018).

Τέλος, ο αιματοκρίτης των δοκιμαζομένων ήταν εντός των φυσιολογικών ορίων ($HCT=39,92\pm 0,67\%$), ενώ το ύψος και το βάρος τους, αντίστοιχα, κατά μέσο όρο ήταν $165\pm 2,37$ cm και $61,45\pm 4,05$ kg.

5.2. Αρτηριακή πίεση πριν και μετά τη λήψη του σκευάσματος

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφική ανασκόπηση διατυπώθηκε η ερευνητική υπόθεση ότι η συστολική αρτηριακή πίεση θα μειονόταν σημαντικά 2,5 ώρες μετά τη λήψη παντζαροχυμού σε σύγκριση με τη λήψη placebo (Vanhatalo, et al., 2010; Bond, et al., 2013; 2014; Thompson, et al., 2014; Rienks, et al., 2015; Flueck, et al., 2016). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της

στατιστικής ανάλυσης, όμως, η μεταβολή της συστολικής, όπως και της διαστολικής αρτηριακής πίεσης, από τις αρχικές τιμές ηρεμίας (ΔSBP και ΔDBP) μετά τη λήψη παντζαροχυμού ή placebo δε διέφεραν σημαντικά μεταξύ των συνθηκών ($p=0,259$, $p=0,369$). Μόνο η αντίστοιχη διαφορά της μέσης αρτηριακής πίεσης (ΔMBP) έτεινε να διαφέρει ανάμεσα στις δύο συνθήκες, $p=0,068$). Ενώ αυξήθηκε κατά ~ 5 mmHg μετά τη λήψη placebo, δεν έδειξε αντίστοιχη αύξηση μετά τη λήψη παντζαροχυμού.

Υπάρχουν κάποιες έρευνες στη βιβλιογραφία στις οποίες έχουν αναφερθεί παρόμοια ευρήματα. Σε μελέτη με μετεμμηνοπαυσιακές υπερτασικές γυναίκες η διαφορά τόσο της συστολικής όσο και της διαστολικής αρτηριακής πίεσης μετά τη λήψη του σκευάσματος από την αρχική πίεση δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των συνθηκών παντζαροχυμού και placebo (Amaral, et al., 2019). Σε μελέτες με υψηλού επιπέδου άνδρες αθλητές επίσης δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά των αντίστοιχων τιμών ανάμεσα στις δύο συνθήκες τόσο για τη συστολική όσο και για τη διαστολική και τη μέση αρτηριακή πίεση (Wilkerson, et al., 2012; Shannon, et al., 2017). Τέλος, και σε μελέτη με μικτό δείγμα ανδρών και γυναικών μετρίου προπονητικού επιπέδου δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στη συστολική αρτηριακή πίεση μετά τη λήψη παντζαροχυμού και μετά τη λήψη placebo σκευάσματος, ενώ αντιθέτως, σημαντική αύξηση παρουσίασαν η διαστολική αλλά και η μέση αρτηριακή πίεση (Lee, et al., 2019).

Η θεωρία σχετικά με την αναμενόμενη μείωση της συστολικής αρτηριακής πίεσης μετά από τη λήψη παντζαροχυμού στηρίζεται στην αγγειοδιασταλτική δράση του NO (Ignarro, 2002; Antosova,

et al., 2012; Tengan, et al., 2012). Πιο συγκεκριμένα το μονοξειδίο του αζώτου (NO) προερχόμενο από τα νιτρικά του παντζαροχυμού (NO_3^-) αναμένεται, ομοίως με τη φυσιολογική του δράση στον ανθρώπινο οργανισμό, να ενεργοποιήσει το ένζυμο διαλυτή γλουανυλική κυκλάση. Η ενεργοποίηση του ενζύμου ακολούθως θα οδηγήσει σε μια αλληλουχία σηματοδότησης, που ξεκινά με τη μετατροπή του μορίου GTP σε κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη (cGMP), μειώνοντας την ενδοκυτταρική συγκέντρωση ιόντων ασβεστίου (Ca^{2+}) και καταλήγει σε αγγειοδιαστολή (Omer, 2014). Η χάλαση των λείων μυών των αγγείων και η επακόλουθη μείωση του αρτηριακού και φλεβικού τόνου θα οδηγήσουν σε μείωση της αρτηριακής πίεσης.

Πράγματι, μελέτες σε παρόμοιο δείγμα με την παρούσα έδειξαν ότι η κατανάλωση σκευάσματος παντζαροχυμού πλούσιου σε νιτρικά οδήγησε σε μείωση της συστολικής και της μέσης αρτηριακής πίεσης μετά από διάστημα 2,5 ωρών (Bond, et al, 2013; 2014). Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας παρόλο που δεν έδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στα δύο σκευάσματα παρουσίασαν μια τάση προς συμφωνία με τα ευρήματα αυτά. Μπορεί να θεωρηθεί ότι το μικρό μέγεθος του δείγματος αποτέλεσε σημαντικό περιορισμό για την εύρεση σημαντικότητας. Επιπλέον, με βάση τη βιβλιογραφία έχει φανεί πως η μείωση της αρτηριακής πίεσης μετά από κατανάλωση συμπληρώματος πλούσιου σε νιτρικά σχετίζεται με την αρχική αρτηριακή πίεση του δείγματος (Ashworth, et al., 2015). Είναι πιθανό οι σχετικά χαμηλές αρχικές τιμές συστολικής αρτηριακής πίεσης ηρεμίας (M.O. SBP=103,63±4,98) στο δείγμα της παρούσας μελέτης να ελαχιστοποιήσαν την επίδραση των νιτρικών σε αυτή την παράμετρο.

5.3. Κατανάλωση οξυγόνου κατά το υπομέγιστο έργο

Με βάση τη δεύτερη ερευνητική υπόθεση της παρούσας εργασίας η κατανάλωση οξυγόνου κατά το υπομέγιστο έργο αναμενόταν να μειωθεί μετά την κατανάλωση παντζαροχυμού συγκριτικά με την κατανάλωση placebo (Vanhatalo, et al., 2010; Muggeridge, et al., 2013; Bond, et al., 2013; 2014; Peeling, et al., 2015; Rienks, et al., 2015; Flueck, et al., 2016). Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι κατά το υπομέγιστο έργο η κατανάλωση οξυγόνου στη συνθήκη λήψης παντζαροχυμού ήταν κατά ~45 ml/min μικρότερη από ότι στη συνθήκη λήψης placebo σκευάσματος (1543±305 vs 1587±355 ml/min), χωρίς ωστόσο η διαφορά να είναι σημαντική στατιστικά ($p=0,276$). Όμοια και το κόστος οξυγόνου δεν διέφερε στη συνθήκη λήψης παντζαροχυμού σε σύγκριση με τη συνθήκη placebo (14,49±1,24 vs 14,82±0,66 ml/min/Watt, $p=0,370$).

Ανάλογα ευρήματα συναντώνται στη βιβλιογραφία σε έρευνες με γυναίκες δοκιμαζόμενες. Η Rienks και οι συνεργάτες της σε μελέτη με δείγμα γυναικών, οι οποίες υποβλήθηκαν σε υπομέγιστο έργο διάρκειας 20 λεπτών σε ένταση με βαθμό δυσκολίας 13 στην κλίμακα αντιλαμβανόμενης κόπωσης (RPE) μετά από λήψη παντζαροχυμού και placebo, επίσης δεν βρήκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς την κατανάλωση οξυγόνου μεταξύ των δύο συνθηκών. Αντιθέτως, στατιστικά σημαντικά χαμηλότερη κατανάλωση οξυγόνου στη συνθήκη λήψης παντζαροχυμού βρέθηκε στην ίδια μελέτη κατά τη διάρκεια άσκησης διάρκειας 5 λεπτών με μικρότερη επιβάρυνση (75 Watt) (Rienks, et al., 2015). Μη στατιστικά σημαντική διαφορά στην κατανάλωση οξυγόνου κατά τη διάρκεια υπομέγιστου έργου στο 50 και 70% της μέγιστης αερόβιας ικανότητας ανάμεσα σε παντζαροχυμό και placebo

παρουσίασαν και τα αποτελέσματα άλλης μελέτης με δείγμα υγιείς γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας, με τη διαφορά ότι οι συγκεκριμένες δοκιμαζόμενες έκαναν χρήση αντισυλληπτικών χαπιών (Wickham, et al., 2019). Μάλιστα στη συγκεκριμένη μελέτη ούτε η χρόνια χορήγηση παντζαροχυμού μείωσε στατιστικά σημαντικά την κατανάλωση οξυγόνου στο υπομέγιστο έργο. Παρόμοια μη στατιστικά σημαντική διαφορά σε ανάλογες εντάσεις άσκησης βρέθηκε και σε μελέτες με άνδρες δοκιμαζόμενους (Thompson, et al., 2014; Betteridge, et al., 2016), όπως και σε πρωτόκολλο Time Trial (TT) σε καλά προπονημένους ποδηλάτες (Wilkerson, et al., 2012).

Αντιθέτως, η Bond και οι συνεργάτες της σε μελέτες με δείγμα γυναίκες αфро-αμερικανικής καταγωγής έδειξαν ότι η λήψη παντζαροχυμού μείωσε σημαντικά την κατανάλωση οξυγόνου σε υπομέγιστο έργο στο 40, 60 και 80% της μέγιστης αερόβιας ικανότητας (Bond, et al., 2013; 2014). Φυσικά, όπως έχει προαναφερθεί οι συγκεκριμένες μελέτες παρουσιάζουν το βασικό περιορισμό μη ελέγχου της φάσης του έμμηνου κύκλου των γυναικών όπως και της χρήσης πορτοκαλάδας στη θέση του placebo, γεγονός που αποκλείει την τυφλή δοκιμή. Επιπρόσθετα, όπως αναφέρεται στις ίδιες μελέτες η τάση που παρουσιάζουν οι Αφρο-αμερικανοί για υψηλότερη αρτηριακή πίεση, που εξηγείται από την ενδοθηλιακή κυτταρική δυσλειτουργία (Kalinowski, et al., 2004), πιθανώς να οφείλεται εν μέρει σε γενετική διαφοροποίηση που ελαττώνει τη φυσιολογική παραγωγή NO (Martinez Cantarin, et al., 2010). Ως αποτέλεσμα των παραπάνω είναι πιθανό η συγκεκριμένη φυλή να παρουσιάζει μεγαλύτερη ευαισθησία από την Καυκάσια ως προς την έκθεση σε νιτρικά.

Όπως έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφική ανασκόπηση το NO και κατ' επέκταση, όπως αναμένεται και ο πλούσιος σε νιτρικά παντζαροχυμός, φαίνεται να αυξάνει την αποτελεσματικότητα της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης, ή του λόγου P/O (παραγόμενα ATP προς καταναλισκόμενο οξυγόνο) με τους παρακάτω μηχανισμούς: α) προκαλώντας αγγειοδιαστολή αυξάνει την αιματική ροή στο μυϊκό κύτταρο, β) αντιδρώντας με τις ομάδες αίμης της αιμοσφαιρίνης και της μυοσφαιρίνης, επηρεάζει την πρόσδεση και απελευθέρωση οξυγόνου σε αυτές, ρυθμίζοντας την απόσπαση οξυγόνου από τους ιστούς, καθώς και στα μιτοχόνδρια (Tengan, et al., 2012), γ) παρεμβαίνοντας στην αναπνευστική αλυσίδα και παρεμποδίζοντας τη σύνδεση της κυτοχρωμικής C οξειδάσης με το οξυγόνο με αποτέλεσμα αυξημένες συγκεντρώσεις NO πιθανά να εκλαμβάνονται από το κύτταρο ως υποξία, επιφέροντας αναστολή της πρωτεΐνης ANT και αυξάνοντας έτσι την αποτελεσματικότητα της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης (Larsen, et al., 2011). Επομένως, η χορήγηση νιτρικών αναμένεται να ευνοήσει την κυτταρική αναπνοή, μειώνοντας το κόστος οξυγόνου για την εκτέλεση μιας δραστηριότητας (Andrew, et al., 2014).

Η απουσία συμφωνίας των αποτελεσμάτων της παρούσας εργασίας με την πλειοψηφία των μελετών ως προς τη μείωση της κατανάλωσης οξυγόνου μετά την οξεία χορήγηση παντζαροχυμού θα μπορούσε να εξηγηθεί με βάση τις διαφορές που παρουσιάζει ο μεταβολισμός του NO ανάμεσα στα δύο φύλα. Πράγματι η μοναδική μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε παρόμοιο δείγμα και με παρόμοια επιβάρυνση παρουσίασε αποτελέσματα όμοια με την παρούσα (Wickham, et al., 2019). Οι ερευνητές μάλιστα προτείνουν ότι η έλλειψη στατιστικά σημαντικής διαφοράς σε αντίθεση με προηγούμενες μελέτες με

μικτό δείγμα (Vanhatalo, et al., 2010; Peeling, et al., 2015) ή άνδρες δοκιμαζόμενους (Muggeridge, et al., 2013; Flueck, et al., 2016) υποδεικνύει την παρουσία διαφορών μεταξύ των δύο φύλων στην ολική απόκριση του σώματος στη χορήγηση συμπληρώματος νιτρικών. Δεν είναι σαφές αν η έλλειψη στατιστικά σημαντικής επίδρασης οφείλεται στη διαφορετική αντιοξειδωτική ικανότητα του σκελετικού μύος ανάμεσα στα δύο φύλα (Barp, et al., 2002; Borrás, et al., 2003), τη διαφορετική μιτοχονδριακή ικανότητα (Miotto, et al., 2018) ή τις διαφορές ως προς τον τύπο μυϊκών ινών (Staron et al., 2000; Welle, et al., 2008; Haizlip, et al., 2015) και τις συστατικές τους ιδιότητες (Wüst, et al., 2008). Επίσης θα πρέπει να ληφθεί υπόψη ο περιορισμός της παρούσας μελέτης όσον αφορά το μέγεθος του δείγματος ως πιθανού παράγοντα που δεν επέτρεψε την εύρεση στατιστικής σημαντικότητας στα αποτελέσματα.

5.4. Μέγιστη αναερόβια ισχύς στο σπριντ

Στο πρωτόκολλο άσκησης της παρούσας εργασίας το υπομέγιστο έργο ακολούθησε σπριντ διάρκειας 10 δευτερολέπτων με επιβάρυνση 75 g/kg σωματικού βάρους για κάθε δοκιμαζόμενη. Η μέγιστη αναερόβια ισχύς που παράχθηκε σύμφωνα με την ερευνητική υπόθεση θα ήταν μεγαλύτερη κατά τη συνθήκη κατανάλωσης παντζαροχυμού συγκριτικά με τη λήψη placebo. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα η μέγιστη ισχύς στη συνθήκη λήψης παντζαροχυμού ήταν $578 \pm 76,3$ Watt και στη συνθήκη λήψης placebo $564 \pm 109,2$ Watt, ενώ όταν αναλύθηκε ως Pmax/kg σωματικού βάρους οι αντίστοιχες τιμές για παντζαροχυμό και placebo ήταν $9,2 \pm 0,59$ Watt/kg και $8,9 \pm 0,46$ Watt/kg. Σε καμία από τις δύο περιπτώσεις η διαφορά μεταξύ των δύο συνθηκών δεν

ήταν σημαντική στατιστικά ($p=0,483$, $p=0,396$).

Η πλειοψηφία των μελετών που έχουν συμπεριλάβει σπριντ στο πρωτόκολλο άσκησης για τη μελέτη της επίδρασης του παντζαροχυμού έχουν διεξαχθεί σε υψηλού προπονητικού επιπέδου δοκιμαζόμενους, άνδρες και γυναίκες (Muggeridge, et al., 2013; Martin, et al., 2014; Rimer, et al., 2016; Cuenca, et al., 2018). Από τις μελέτες αυτές οι περισσότερες περιλαμβάνουν επαναλαμβανόμενα σπριντ (Muggeridge, et al., 2013; Martin, et al., 2014; Rimer, et al., 2016) και μόνο μία ένα μόνο σπριντ 30 δευτερολέπτων (Wingate test) (Cuenca, et al., 2018). Σε δύο από τις μελέτες η μέγιστη και η μέση παραγόμενη ισχύς αντίστοιχα παρέμεινε αμετάβλητη μεταξύ των δύο συνθηκών (Muggeridge, et al., 2013; Martin, et al., 2014). Στη μελέτη του Rimer και των συνεργατών του (2016), ενώ η παραγόμενη ισχύς βρέθηκε υψηλότερη στη συνθήκη λήψης παντζαροχυμού σε μια σειρά 4 σπριντ διάρκειας 3-4 δευτερολέπτων, η μέγιστη ισχύς στο Wingate test που ακολούθησε δεν παρουσίασε σημαντική διαφορά μεταξύ παντζαροχυμού και placebo. Τέλος, στη μελέτη του Cuenca και των συνεργατών (2018) φάνηκε ότι η παραγόμενη ισχύς σε ένα σπριντ 30 δευτερολέπτων ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη κυρίως κατά το πρώτο μισό του σπριντ στη συνθήκη λήψης παντζαροχυμού συγκριτικά με το placebo.

Ο μηχανισμός στον οποίο βασίζεται η καλύτερη απόδοση σε σπριντ μετά τη λήψη παντζαροχυμού σχετίζεται πιθανά με την ιδιότητα του NO να επηρεάζει τη διαδικασία διέγερσης-συστολής, μειώνοντας το κόστος σε ενέργεια. Συγκεκριμένα, όπως έχει προαναφερθεί, η χορήγηση συμπληρώματος που οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων NO στο αίμα φαίνεται να βελτιώνει τη συσταλτική αποτελεσματικότητα των μυών με

παράλληλη μείωση της ποσότητας ATP που υδρολύεται (Bailey, 2010). Το γεγονός αυτό οφείλεται πιθανά σε καλύτερη διαχείριση των ιόντων ασβεστίου ειδικότερα από τις μυϊκές ίνες τύπου II, για τις οποίες θεωρείται ότι μειώνεται το κατώφλι διέγερσης με αποτέλεσμα τη μείωση της προσπάθειας, ή την επιστράτευση μικρότερου αριθμού μυϊκών ινών για την εκτέλεση του ίδιου έργου (Haider and Folland, 2014).

Ωστόσο, σύμφωνα με πειραματικά δεδομένα οι μυϊκές ίνες των γυναικών εκφράζουν λιγότερο τις αλυσίδες μυοσίνης τύπου II συγκριτικά με των ανδρών και όπως φαίνεται οι μυϊκές ίνες τύπου II καταλαμβάνουν μικρότερο ποσοστό στο συνολικό μυ των γυναικών, πράγμα που μπορεί να ερμηνεύσει το γεγονός ότι πιθανά η ευαισθησία τους σε εξωγενές NO είναι μικρότερη από εκείνη των ανδρών (Staron, et al., 2000; Welle, et al., 2008). Επομένως, η απουσία σημαντικής διαφοράς στη μέγιστη ισχύ ανάμεσα στα δύο σκευάσματα στην παρούσα μελέτη μπορεί να αποδοθεί στη διαφορετική σύσταση του σκελετικού μυός ανάμεσα στα δύο φύλα, παρόλα αυτά αξίζει να αναφερθεί και πάλι η ανάγκη για περαιτέρω διερεύνηση σε μεγαλύτερο δείγμα δοκιμαζομένων προκειμένου να εξαχθούν ασφαλέστερα συμπεράσματα.

5.5. Μεταβλητές κατά την άσκηση σταδιακά αυξανόμενης έντασης μέχρι εξάντλησης

Σύμφωνα με την ερευνητική υπόθεση και με βάση τις φυσιολογικές λειτουργίες του NO στο σκελετικό μυ, ο παντζαροχυμός αναμενόταν να βελτιώσει την απόδοση στην άσκηση σταδιακά αυξανόμενης έντασης μέχρι εξάντλησης. Παρόλα αυτά τα αποτελέσματα της εργασίας δεν έδειξαν κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά στη μέγιστη αερόβια ισχύ ούτε στη μέγιστη κατανάλωση οξυγόνου των δοκιμαζομένων ανάμεσα στις δύο

συνθήκες. Αντιθέτως, η μέγιστη καρδιακή συχνότητα κατά τη λήξη του πρωτοκόλλου άσκησης παρουσίασε σημαντικά υψηλότερες τιμές μετά τη λήψη παντζαροχυμού συγκριτικά με τη λήψη placebo.

Μια μελέτη έχει καταγράψει τις αποκρίσεις δοκιμαζομένων (ανδρών και γυναικών) κατά τη διάρκεια δοκιμασίας εξάντλησης (Vanhatalo, et al., 2010). Οι ερευνητές στη συγκεκριμένη δοκιμή δεν βρήκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη μέγιστη ισχύ, κατανάλωση οξυγόνου ή καρδιακή συχνότητα ανάμεσα στις συνθήκες λήψης παντζαροχυμού και placebo. Μάλιστα καμία διαφορά δεν αναδείχθηκε όχι μόνο με την οξεία χορήγηση αλλά ούτε και με χρόνια χορήγηση διάρκειας 5 ημερών. Μόνο μετά από 15 ημέρες συνεχούς χορήγησης του συμπληρώματος η μέγιστη αερόβια ισχύς ήταν μεγαλύτερη με τη λήψη παντζαροχυμού σε σύγκριση με placebo και η μέγιστη κατανάλωση οξυγόνου ήταν μεγαλύτερη σε σύγκριση με την αρχική. Παρόμοια, σε άλλη μελέτη με 7 ημέρες συνεχούς χορήγησης παντζαροχυμού δεν παρουσιάστηκαν σημαντικά αποτελέσματα στη μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου σε δοκιμασία εξάντλησης (Perez, et al., 2019).

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η οξεία χορήγηση συμπληρώματος νιτρικών μπορεί να βελτιώσει την επίδοση με τους παρακάτω μηχανισμούς: α) αύξηση της αιματικής ροής με αποτελεσματικότερη μεταφορά οξυγόνου και ταχύτερη αποβολή παραπροϊόντων μέσω αγγειοδιαστολής (Stamler and Meissner, 2001), β) βελτίωση της αποτελεσματικότητας της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης με αποτέλεσμα την καλύτερη οικονομία οξυγόνου κατά την παραγωγή ενέργειας (Larsen, 2011), γ) βελτίωση της συσταλτικής αποτελεσματικότητας των μυϊκών ινών (Haider and Folland, 2014) και δ) αύξηση της πρόσληψης γλυκόζης από τα μυϊκά

κύτταρα όχι τόσο χάρη στην αυξημένη αιματική ροή αλλά κυρίως εξαιτίας ενδομυϊκής σηματοδότησης (Hong, 2014). Και οι τέσσερις αυτοί μηχανισμοί είναι δυνατό να επιδρούν θετικά τόσο στις φυσιολογικές παραμέτρους κατά τη δοκιμασία εξάντλησης όσο και στη μέγιστη παραγόμενη ισχύ. Ωστόσο, σύμφωνα με τη Vanhatalo και τους συνεργάτες της (2010), πιθανότερος μηχανισμός που ερμηνεύει την ύπαρξη στατιστικά σημαντικής διαφοράς μεταξύ των δύο σκευασμάτων μόνο μετά από 15 ημέρες χρόνιας χορήγησης και όχι μετά από 5 ημέρες ή μετά από οξεία χορήγηση, είναι η αύξηση της μιτοχονδριακής μάζας, την οποία σύμφωνα με μελέτες μπορεί να επιφέρει η εξωγενής χορήγηση NO (Tengan et al., 2012). Ένας τέτοιος μηχανισμός θα μπορούσε πράγματι να αποτελέσει χρόνια προσαρμογή της μυϊκής ίνας που θα έχει ως συνέπεια καλύτερη απόδοση σε τέτοιου είδους δοκιμασίες.

Τα παραπάνω εξηγούν την απουσία στατιστικά σημαντικών διαφορών στη μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου και τη μέγιστη ισχύ κατά τη δοκιμασία εξάντλησης.

Η σημαντικά υψηλότερη μέγιστη καρδιακή συχνότητα που παρουσίασαν οι δοκιμαζόμενες μετά τη λήψη παντζαροχυμού σε σύγκριση με τη λήψη placebo κατά τη δοκιμασία ($p=0,029$) αποτελεί ένα ενδιαφέρον εύρημα που διαφέρει με τα αποτελέσματα της μελέτης των Vanhatalo και συνεργατών (2010). Λαμβάνοντας υπόψη τον προαναφερθέντα περιορισμό σχετικά με τον αριθμό των δοκιμαζομένων είναι πιθανό η απουσία στατιστικής σημαντικότητας στις μεταβλητές που σχετίζονται με την επίδοση των δοκιμαζομένων να οφείλεται στο μικρό αριθμό δείγματος. Με αυτή την επισήμανση η υψηλότερη μέγιστη καρδιακή συχνότητα θα μπορούσε να αιτιολογηθεί ως αποτέλεσμα μεγαλύτερης παραγωγής συνολικού έργου.

Τελικά, τόσο η μέγιστη ισχύς όσο και η μέγιστη κατανάλωση οξυγόνου δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις δύο συνθήκες, που μπορεί να σημαίνει ότι η στατιστικά υψηλότερη καρδιακή συχνότητα μπορεί να αποδοθεί στην στατιστικά χαμηλότερη συστολική πίεση κατά τη συνθήκη λήψης παντζαροχυμού, όπως αυτή τουλάχιστον καταγράφηκε κατά τη φάση της μετασκησιακής αποκατάστασης.

Σύμφωνα με τη σχετική βιβλιογραφία για την επίδραση του παντζαροχυμού, το σκεύασμα αναμένεται να οδηγεί σε αγγειοδιαστολή, επομένως μείωση της συνολικής περιφερικής αντίστασης (Ignarro, 2002). Με βάση τα παραπάνω, η στατιστικά σημαντικά υψηλότερη μέγιστη καρδιακή συχνότητα κατά τη λήξη του πρωτοκόλλου άσκησης μέχρι εξάντλησης στην περίπτωση λήψης παντζαροχυμού σε σύγκριση με το placebo πιθανά αποτελεί αντιρροπιστική αντίδραση του οργανισμού απέναντι στη μείωση της συνολικής περιφερικής αντίστασης και κατ' επέκταση της μειωμένης μέσης αρτηριακής πίεσης. Επομένως, μπορεί να υποτεθεί ότι η λήψη παντζαροχυμού πιθανά οδήγησε σε βελτίωση της ευαισθησίας των τασεοϋποδοχέων των δοκιμαζομένων, αυξάνοντας το εύρος θετικής απόκρισης της καρδιακής τους συχνότητας (Wehrwein & Joyner, 2013), προκειμένου να υπάρξει βέλτιστος έλεγχος των τιμών της μέσης αρτηριακής πίεσης με δεδομένη και τη μείωση της συνολικής περιφερικής αντίστασης από το ίδιο το σκεύασμα.

5.6. Μετα-ασκησιακές τιμές αρτηριακής πίεσης

Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενες ενότητες, η αγγειοδιαστολή που προκαλείται από την εξωγενή χορήγηση νιτρικών έχει αποδειχθεί ότι μειώνει τη συστολική αρτηριακή πίεση. Επιπρόσθετα, σύμφωνα με το φαινόμενο

της μετα-ασκησιακής υπότασης μία και μόνη δόση άσκησης, έχει φανεί ότι μπορεί να οδηγήσει σε πτώση της αρτηριακής πίεσης αμέσως μετά τη λήξη της, γεγονός που συνδέεται και με παρατεταμένη αγγειοδιαστολή, έως και 2 ώρες μετά (Halliwill, et al, 2013). Βάσει των δεδομένων αυτών υποτέθηκε ότι η οξεία χορήγηση παντζαροχυμού θα οδηγούσε σε εντονότερη υπόταση μετα-ασκησιακά, με τα αποτελέσματα ωστόσο της εργασίας να μην επιβεβαιώνουν την παραπάνω υπόθεση.

Μεταξύ των μελετών που εξετάζουν την οξεία χορήγηση παντζαροχυμού και τις φυσιολογικές αποκρίσεις κατά την άσκηση σε υγιή πληθυσμό, καμία δεν έχει εξετάσει την επίδραση του σκευάσματος στη μετα-ασκησιακή αρτηριακή πίεση. Μόνο σε μια μελέτη με μετεμμηνοπαυσιακές υπερτασικές γυναίκες παρουσιάζονται αποτελέσματα της παραμέτρου αυτής (Amaral, et al., 2019). Συγκεκριμένα οι ερευνητές έλαβαν τιμές αρτηριακής πίεσης ανά 15 λεπτά για διάστημα 90 λεπτών συνολικά, μετά τη λήξη άσκησης υπομέγιστου έργου διάρκειας 40 λεπτών. Τα αποτελέσματα, αν και παρουσίασαν σημαντικές διαφορές της αρτηριακής πίεσης μετα-ασκησιακά σε σύγκριση με την αρτηριακή πίεση ηρεμίας, δεν εμφάνισαν καμία σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο συνθήκες (παντζαροχυμού vs. placebo). Το εύρημα αυτό συμφωνεί με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, όπου η επίδραση του χρόνου στη συστολική αρτηριακή πίεση ήταν στατιστικά σημαντική ($p=0,002$), ωστόσο ούτε η επίδραση του σκευάσματος ($p=0,138$), αλλά ούτε και η αλληλεπίδρασή του με το χρόνο ($p=0,492$), παρουσίασαν στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα.

Η απουσία επίδρασης της εξωγενούς χορήγησης νιτρικών στη μείωση της αρτηριακής πίεσης μετά την άσκηση είναι πιθανό να οφείλεται στον ίδιο το μηχανισμό που προκαλεί το φαινόμενο

της μετα-ασκησιακής υπότασης. Συγκεκριμένα, η πτώση της αρτηριακής πίεσης μετά την άσκηση αποδίδεται σε κεντρικά ρυθμιζόμενη αναστολή της συμπαθητικής δράσης, σε συνδυασμό με τοπικούς αγγειοδιασταλτικούς παράγοντες μεταξύ των οποίων περιλαμβάνεται και το ενδογενώς παραγόμενο από το ενδοθήλιο NO (Halliwill, et al., 2013). Επομένως, ενδέχεται η μία και μόνη δόση συμπληρώματος νιτρικών να μην προκάλεσε σημαντική περαιτέρω μείωση της αρτηριακής πίεσης μετά την άσκηση εξαιτίας ελλιπούς ευαισθησίας του συμπαθητικού νευρικού συστήματος στην επιπλέον ποσότητα του NO. Ακόμη, η σύντομη περίοδος αποκατάστασης (μόνο 15 λεπτά) και ο μικρός αριθμός δοκιμαζομένων στην παρούσα μελέτη ενδέχεται να συνέβαλαν στη μη εμφάνιση εντονότερης μετασκησιακής υπότασης μετά τη λήψη παντζαροχυμού.

5.7. Συσχέτιση αιματοκρίτη με τη διαφορά στην κατανάλωση οξυγόνου μεταξύ των δύο συνθηκών

Η τελευταία ερευνητική υπόθεση της παρούσας εργασίας ήταν ότι ο αιματοκρίτης των δοκιμαζομένων θα παρουσιάσει θετική συσχέτιση με τη μείωση της κατανάλωσης οξυγόνου ανάμεσα στις συνθήκες λήψης παντζαροχυμού και placebo. Τα αποτελέσματα ωστόσο δεν έδειξαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των δύο παραμέτρων.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφική ανασκόπηση, το NO παρουσιάζει σημαντικό ρυθμό πρόσδεσης στην αιμοσφαιρίνη, παρόμοιο μάλιστα με αυτόν του οξυγόνου (Cooper, 1999). Φαίνεται επίσης πως αναπτύσσεται μία σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ NO και αιμοσφαιρίνης, η οποία μάλλον συντηρεί τη δράση του, και ευνοεί τη μεταφορά του με τη μορφή νιτρωδών (Kim-Shapiro, Schechter and Gladwin,

2006). Επίσης έχει αναφερθεί ότι το NO παραγόμενο ενδοθηλιακά ή και μυϊκά αντιδρά με τις ομάδες αίμας της αιμοσφαιρίνης επηρεάζοντας την πρόσδεση σε αυτές και την απελευθέρωση οξυγόνου από αυτές διευκολύνοντας την απόσπαση οξυγόνου από τους ιστούς (Tengan, 2012). Με βάση τα παραπάνω θεωρήθηκε πιθανό και το εξωγενώς χορηγούμενο NO με τη μορφή συμπληρώματος να παρουσιάσει παρόμοια δράση οδηγώντας σε καλύτερη οικονομία οξυγόνου για την εκτέλεση συγκεκριμένου έργου.

Στην παρούσα μελέτη δεν μετρήθηκε η συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης, αλλά ο αιματοκρίτης. Στην ουσία, όμως, οι δύο αυτές παράμετροι είναι απολύτως αλληλοεξαρτώμενες και παρέχουν την ίδια πληροφορία εκτός από περιπτώσεις αναιμίας (μακροκυτταρικής ή πολυκυτταρικής) και αιμόλυσης (Nijboer, van der Horst, Hendriks, ten Duis and Nijsten 2007). Η μη επιβεβαίωση της ερευνητικής υπόθεσης από τα αποτελέσματα της μελέτης είναι πιθανό να οφείλεται στο μικρό εύρος που είχαν οι τιμές αιματοκρίτη των δοκιμαζόμενων ($\sigma=0,67$), το οποίο ίσως οδήγησε στην απουσία συσχέτισης με την κατανάλωση οξυγόνου κατά το υπομέγιστο έργο. Παρόμοια, δεν υπήρξε σημαντική συσχέτιση του αιματοκρίτη των δοκιμαζόμενων ούτε με την κατανάλωση οξυγόνου ανά μονάδα ισχύος κατά το υπομέγιστο έργο.

Αξίζει, ωστόσο, με βάση τον υποκείμενο φυσιολογικό μηχανισμό που τεκμηριώνεται στη βιβλιογραφία και αναφέρθηκε παραπάνω, να πραγματοποιηθεί περαιτέρω έλεγχος της σχέσης των δύο παραμέτρων σε μεγαλύτερο δείγμα δοκιμαζόμενων με μεγαλύτερο εύρος στις τιμές του αιματοκρίτη ή της αιμοσφαιρίνης, ώστε να εξαχθούν ασφαλέστερα συμπεράσματα.

5.8. Περιορισμοί

5.8.1. Μέγεθος δείγματος

Όπως έχει αναφερθεί στις παραπάνω ενότητες, βασικός περιορισμός της παρούσας εργασίας είναι το μέγεθος του δείγματος που έλαβε μέρος στο ερευνητικό πρωτόκολλο. Ο μικρός αριθμός δοκιμαζόμενων ίσως να μην επέτρεψε την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων όσον αφορά στα ερωτήματα που διερευνήθηκαν στη μελέτη, καθώς για κάποιες από τις εξεταζόμενες μεταβλητές, ενώ παρουσιάστηκε μια τάση για συμφωνία με την ερευνητική υπόθεση, η διαφορά ανάμεσα στις δύο συνθήκες δεν αναδείχθηκε σημαντική στατιστικά. Πράγματι, οι περισσότερες μελέτες περιλαμβάνουν μετρήσεις σε δείγμα 8-12 ατόμων (Vanhatalo, et al., 2010; Bond, et al., 2013;2014; Rienks, et al., 2015; Wickham, et al., 2019), σε αντίθεση με την παρούσα η οποία εξέτασε την επίδραση του συμπληρώματος παντζαροχυμού σε 6 μόνο δοκιμαζόμενες.

5.8.2. Εκτίμηση βιοδιαθεσιμότητας NO

Μία αδυναμία της έρευνας είναι η απουσία κάποιας μεθόδου εκτίμησης της βιοδιαθεσιμότητας του μονοξειδίου του αζώτου μετά τη λήψη του συμπληρώματος. Πράγματι, δε διεξήχθη έλεγχος των επιπέδων NO στον οργανισμό πριν και μετά τη χορήγηση του συμπληρώματος, ώστε να διαπιστωθεί αν τελικά τα νιτρικά που περιέχονται σε αυτό οδήγησαν σε αύξηση της βιοδιαθεσιμότητάς του στον οργανισμό. Βέβαια, όπως αναφέρεται στην ενότητα 2.8.4.2., αρκετοί ερευνητές έχουν παραλείψει τη συγκεκριμένη μέτρηση από το πρωτόκολλό τους, υποστηρίζοντας ότι η αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας του NO μετά τη λήψη παντζαροχυμού μπορεί να θεωρηθεί δεδομένη από προηγούμενες μελέτες (Martin, et al., 2015; Peeling, et al., 2015;

Rienks, et al., 2015; Rimer, et al., 2016; Wickham, et al., 2019).

5.8.3. Έλεγχος της φάσης του έμμηνου κύκλου

Όπως έχει προαναφερθεί, στόχος της μελέτης ήταν η συμμετοχή των δοκιμαζόμενων στο πρωτόκολλο σε συγκεκριμένη φάση του έμμηνου κύκλου τους. Ασφαλέστερες μέθοδοι για τον προσδιορισμό της φάσης αυτής είναι η αξιολόγηση των ορμονών του φύλου (προγεστερόνη και οιστραδιόλη) σε δείγμα αίματος, καθώς και ο έλεγχος των επιπέδων της ωχρινότροπου ορμόνης σε δείγμα ούρων (Allen, et al., 2016). Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε στη συγκεκριμένη μελέτη σχετίζεται με τη δεύτερη, ωστόσο εφαρμόστηκε με τη χρήση τεστ ωορρηξίας σε μορφή αυτο-ελέγχου από τις ίδιες τις δοκιμαζόμενες και όχι στο εργαστήριο γεγονός που, παρά την αξιοπιστία των ίδιων των τεστ (Behre, Kuhlaje, Gafner, Sonntag, Schem, Schneider, et al., 2000; Miller and Soules, 1996) και των οδηγιών που δόθηκαν στις δοκιμαζόμενες, δεν αποκλείει την ύπαρξη σφαλμάτων.

5.8.4. Τυφλή διαδικασία

Στην εργασία ακολουθήθηκε μονά τυφλή διαδικασία. Οι ιδανικές συνθήκες για να διεξαχθεί μια δοκιμή που περιλαμβάνει χρήση εργογόνου συμπληρώματος και placebo απαιτεί την διεξαγωγή τυφλών δοκιμών προκειμένου να αποφευχθούν μεροληψίες από την πλευρά τόσο των ερευνητών όσο και των δοκιμαζόμενων (Katch, et al., 2011). Συνεπώς με την διεξαγωγή μονά τυφλής δοκιμής εξασφαλίζεται η αποφυγή μεροληψίας μόνο για τους δεύτερους.

5.9. Συμπεράσματα

Για το σκοπό της παρούσας εργασίας 6 νεαρές δοκιμαζόμενες χαμηλής έως μέτριας προπονητικής κατάστασης κλήθηκαν να συμμετάσχουν σε πρωτόκολλο άσκησης που περιελάμβανε

10 λεπτά υπομέγιστης άσκησης, σπριντ 10 δευτερολέπτων και μια δοκιμασία σταδιακά αυξανόμενης έντασης μέχρι εξάντλησης σε δύο διαφορετικές ημέρες, 2,5 ώρες μετά από κατανάλωση παντζαροχυμού και placebo σκευάσματος αντίστοιχα. Τα συμπεράσματα που εξήχθησαν είναι τα ακόλουθα:

- Η οξεία χορήγηση παντζαροχυμού δεν οδήγησε σε μείωση της συστολικής, διαστολικής ή μέσης αρτηριακής πίεσης 2,5 ώρες μετά.
- Μια δόση παντζαροχυμού δε βελτίωσε την κατανάλωση οξυγόνου κατά την εκτέλεση υπομέγιστου έργου, ούτε τη μέγιστη αναερόβια παραγόμενη ισχύ στο σπριντ.
- Η κατανάλωση παντζαροχυμού πριν από δοκιμασία σταδιακά αυξανόμενης έντασης μέχρι εξάντλησης δεν επηρέασε τη μέγιστη κατανάλωση οξυγόνου ή τη μέγιστη αερόβια ισχύ, οδήγησε όμως σε υψηλότερη μέγιστη καρδιακή συχνότητα.
- Η μετα-ασκησιακή υπόταση δεν επηρεάστηκε από την προηγηθείσα κατανάλωση σκευάσματος παντζαροχυμού.
- Οι τιμές του αιματοκρίτη δεν παρουσίασαν συσχέτιση με την επίδραση του παντζαροχυμού στην εκτέλεση υπομέγιστου έργου.

Με βάση τα παραπάνω αλλά και την υπάρχουσα βιβλιογραφία, αξίζει να αναφερθεί για ακόμη μια φορά η ανάγκη για περαιτέρω έρευνα με μεγαλύτερο αριθμό δοκιμαζόμενων προκειμένου να επιτευχθεί η διεξαγωγή ασφαλέστερων συμπερασμάτων.

Παντζαροχυμός και άσκηση σε γυναίκες

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abel, T., Knechtle, B., Peret, C., Eset, P., von Arx, P. and Knecht, H. (2005). Influence of chronic supplementation of arginine aspartate in endurance athletes on performance and substrate metabolism- a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Int J Sports Med*, 26(5), 344-349.
- Allen, J., D., Cobb, F., R. and Gow, A., J. (2005). Regional and whole- body markers of nitric oxide production following hyperemic stimuli. *Free Radic Biol Med*, 38(9), 1164-1169.
- Allen, A., M., McRae-Clark, A., L., Carlson, S., Saladin, M., E., Gray, K., M., Lee Wetherington, C., et al. (2016). Determining Menstrual Phase in Human Biobehavioral Research: A Review with Recommendations. *Exp Clin Psychopharmacol*, 24(1), 1-11.
- Alvares, T., S., Conte, C., A., Paschoalin, V., M., Silva, J., T., Meirelles, C., D., Bhambhani, Y., N., et al. (2012). Acute L-arginine supplementation increases muscle blood volume but not strength performance. *Appl Physiol Nutr Metab*, 37(1), 115-126.
- Amaral, A., L., Mariano, I., M., Carrijo, V., H., de Souza, T., C., Batista, J., P., Mendonça, A., M., et al. (2019). A Single Dose of Beetroot Juice Does Not Change Blood Pressure Response Mediated by Acute Aerobic Exercise in Hypertensive Postmenopausal Women. *Nutrients*, 11(6), 1327.
- American College of Sports Medicine. ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription, 10th edition (2018). Philadelphia, PA: Wolters Kluwer Health.
- Andrew, M., J. (2014). Dietary Nitrate Supplementation and exercise performance. *Sports Med*, 44(1), 35-45.
- Anjana, S., U., I., M. and Abrol, Y., P. (2007). Are nitrate concentrations in leafy vegetables within safe limits? *Curr Sci*, 92, 355-360.
- Antosova, M., Plevkova, J., Strapkova, A. and Buday, T. (2012). Nitric oxide - Important messenger in human body. *OJMIP*, 2, 98-106.
- Arnold, J., James, L., Jones, T., Wylie, L. and Macdonald, J. (2015). Beetroot juice does not enhance altitude running performance in well-trained athletes. *Appl Physiol Nutr Metab*, 40, 590-595.
- Authority E., F., S. (2008). Nitrate in vegetables: scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. *The EFSA Journal*, 689, 1-79.
- Ayranci, U., Son, N. and Son, O. (2005). Prevalence of nonvitamin, nonmineral supplement usage among students in a Turkish university. *BMC Public Health*, 5(47).
- Bailey, S., J., Fullford, J., Vanhatalo, A., Winyard, P., J., Blackwell, J., R., Dimenna, F., J., et al. (2010). Dietary nitrate supplementation enhances muscle contractile efficiency during knee-extensor exercise in humans. *J Appl Physiol* (1985), 109(1), 135-48.
- Bailey, S., J., Vanhatalo, A., Winyard, P., J. and Jones, A., M. (2012). The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway: Its role in human exercise physiology. *European Journal of Sport Science*, 12(4), 309-320.
- Bailey, S., J., Winyard, P., Vanhatalo, A., Blackwell, J., R., Dimenna, F., J., Wilkerson D., P., et al. (2009). Dietary nitrate supplementation reduces the O₂ cost of low- intensity exercise and enhances tolerance to high- intensity exercise in humans. *J Appl Physiol*, 107(4), 1144-1155.
- Baião Ddos, S., Conte-Junior, C., A., Paschoalin, V., M. and Alvares, T., S. (2016). Beetroot juice increase nitric oxide metabolites in both men and women regardless of body mass. *Int J Food Sci Nutr*, 67(1), 40-46.
- Balon, T., W. and Nadler, J., L. (1997). Evidence that nitric oxide increases glucose transport in skeletal muscle. *J Appl Physiol*, 82, 359-363.
- Beedie, C. and Foad, A. (2009). The Placebo Effect in Sports Performance. *Sports Med*, 39(4), 313-329.
- Behre, H., M., Kuhlaje, J., Gaßner, C., Sonntag, B., Schem, C., Schneider, H., P., G., et al., (2000). Prediction of ovulation by

- urinary hormone measurements with the home use ClearPlan® Fertility Monitor: comparison with transvaginal ultrasound scans and serum hormone measurements. *Hum Reprod*, 15(12), 2478-2482.
- Berdi, M., Koteles, F., Szabo, A. and Bardos, G. (2011). Placebo effects in sports and exercise. *Eur J of Ment Health*, 6, 196-212.
- Bescos, R., Ferrer-Roca, V., Galilea, P., A., Roig, A., Drobnic, F., Sureda, A., et al. (2012). Sodium nitrate supplementation does not enhance performance of endurance athletes. *Med Sci Sports Exerc*, 44(12), 2400-2409.
- Bescos, R., Gonzalez-Haro, C., Pujol, P., Drobnic, F., Alonso, E., Santolaria, M., L., et al. (2009). Effects of dietary L-arginine intake on cardiorespiratory and metabolic adaptation in athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 19(4), 355-365.
- Bescos, R., Rodriguez, F., A., Iglesias, X., Ferrer, M., D., Iborra, E., Pons, A. (2011). Acute administration of inorganic nitrate reduces VO₂peak in endurance athletes. *Med Sci Sports Exerc*, 43(10), 1979-1986.
- Bescos, R., Sureda, A., A Tur, J. and Pons, A. (2012). The Effect of Nitric-Oxide-Related Supplements on Human Performance. *Sports Med*, 42(2), 99-117.
- Betteridge, S., Bescós, R., Martorell, M., Pons, A., Garnham, A., P., Stathis, C., C., et al. (2016). No effect of acute beetroot juice ingestion on oxygen consumption, glucose kinetics, or skeletal muscle metabolism during submaximal exercise in males. *J Appl Physiol*, 120, 391–398.
- Bjornberg, J, Albert, U, and Mellander, S. (1990). Resistance responses in proximal arterial vessels, arterioles and veins during reactive hyperaemia in skeletal muscle and their underlying regulatory mechanisms. *Acta Physiol Scand*, 139, 535–550.
- Bogdan, C. (2001). Nitric oxide and the immune response. *Nature Immunology*, 2, 907-916.
- Bogdan, C. (2015). Nitric oxide synthase in innate and adaptive immunity: an update. *Trends Immunol*, 36(3), 161-178.
- Bond, V., Jr., Curry, B., H., Adams, R., G., Asadi, M., S., Millis, R., M. and Haddad, G, E. (2013). Effects of dietary nitrates on systemic and cerebrovascular hemodynamics. *Cardiol Res Pract*, 2013.
- Bond, V., Jr., Curry, B., H., Adams, R., G., Millis, R., M. and Haddad, G., E. (2014). Cardiorespiratory function associated with dietary nitrate supplementation. *Appl Physiol Nutr Metab*, 39(2), 168-72.
- Bond, H., Morton, L. and Braakhuis, A., J. (2012). Dietary nitrate supplementation improves rowing performance in well-trained rowers. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 22(4), 251-256.
- Borg, G. (1970). Perceived exertion as an indicator of somatic stress. *Scand J Rehabil Med*, 2(2), 92–8.
- Bradley, S., J., Kingwell, B., A. and McConell, G., K. (1999). Nitric oxidesynthase inhibition reduces leg glucose uptake but not blood flow during dynamic exercise in humans. *Diabetes*, 48,1815–1821.
- Brewer, C., P., Dawson, B., Wallman, K. and Guelfi, K. (2013). Effect of repeated sodium phosphate loading on cycling time-trial performance and VO₂peak. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 23, 187–194.
- Brewer, C., P., Dawson, B., Wallman, K. and Guelfi, K. (2014). Effect of sodium phosphate supplementation on repeated high intensity cycling efforts. *J Sports Sci*, 10, 1–8.
- Broosma, R., K., Whitfield, J. and Spriet, L., L. (2014). Beetroot juice supplementation does not improve performance of elite 1500-m runners. *Med Sci Sports Exerc*, 46(12), 2326–2334.
- Brown, G., C (2001). Regulation of mitochondrial respiration by nitric oxide inhibition of cytochrome c oxidase. *BBA-Bioenergetics*, 1504, 1, 46-57.
- Buck, C., L., Henry, T., Guelfi, K., Dawson, B., McNaughton, L., R. and Wallman, K. (2015). Effects of sodium phosphate and beetroot juice supplementation on repeated-sprint ability in females. *Eur J Appl Physiol*, 115(10), 2205-2013.
- Buck, C., L., Wallman, K., E., Dawson, B., McNaughton, L. and Guelfi, K. (2014). Sodium phosphate supplementation and time trial performance in female cyclists. *J Sports Sci Med*, 13(3), 469–475.

- Bult, H., Boeckstaens, G., E., Pelckmans, P., A., Jordaens, F., H., Van Maercke, Y., M. and Herman, A.,G. (1990). Nitric oxide as an inhibitory non-adrenergic noncholinergic neurotransmitter. *Nature*, 345, 346-347.
- Calabrese, V., Mancuso, C., Calvani, C., Rizzarelli, E., Butterfield, D. and Stella, A., M. (2007). Nitric oxide in the central nervous system: Neuroprotection versus neurotoxicity. *Nat Rev Neurosci*, 10, 766-775.
- Carriker, C., R., Mermier, C., M., VanDusselsorp, T., A., Johnson, K., E., Beltz, N., M., Vaughan, R., et al. (2016). Effect of acute dietary nitrate consumption on oxygen consumption during submaximal exercise in hypobaric hypoxia. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 26, 315 -322.
- Casey, D., P., Madery, B., D., Curry, T., B., Eisenach, J., H., Wilkins, B., W. and Joyner, M., J. (2010). Nitric oxide contributes to the augmented vasodilation during hypoxic exercise. *J Physiol*, 588, 373–385.
- Cermak, N., M., Gibala, M., J. and van Loon, L., J. (2012). Nitrate supplementation's improvement of 10-km time-trial performance in trained cyclists. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 22(1), 64-71.
- Cermak, N., M., Res, P., Stinkens, R., Lundberg, J., O., Gibala, M., J. and van Loon, L., J. (2012). No improvement in endurance performance after a single dose of beetroot juice. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 22(6), 470-478.
- Cheng, J., W. and Baldwin, S., N. (2001). L-arginine in the management of cardiovascular diseases. *Ann Pharmacother*, 35(6), 755-764.
- Christensen, P., M., Nyberg, M. and Bangsbo, J. (2013). Influence of nitrate supplementation on VO₂ kinetics and endurance of elite cyclists. *Scand J Med Sci Sports*, 23(1), 21-31.
- Clementi, E. and Nisoli, E. (2005). Nitric oxide and mitochondrial biogenesis: a key to long-term regulation of cellular metabolism. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 142(2), 102-110.
- Clerc, P., Rigoulet, M., Leverve, X. and Fontaine, E. (2007). Nitric oxide increases oxidative phosphorylation efficiency. *J Bioenerg Biomembr*, 39, 158–166.
- Coggan, A., R., Leibowitz, J., L., Kadhodayan, A., Thomas, D., T., Ramamurthy, S., Anderson Spearie, C., et al. (2015). Effect of acute dietary nitrate intake on maximal knee extensor speed and power in healthy men and women. *Nitric Oxide*, 48, 16-21.
- Cooper, C., E. (1999). Nitric oxide and iron proteins. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1411, 290-309.
- Cosby, K., Partovi, K., S., Crawford, J., H., Patel, R., P., Reiter, C., D., Martyr, S., et al. (2003). Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation. *Nat Med*, 9, 1498 – 1505.
- Craig, C., L., Marshall, A., Sjostrom, M., Baumann, A., E., Booth, M., L., Ainsworth, B., E., et al. (2003). International Physical Activity Questionnaire: 12 country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc*, 35(8), 1381-1395.
- Cuenca, E., Jodra, P., Pérez-López, A., González-Rodríguez, L., G., Fernandes da Silva S., Veiga-Herreros, P., et al. (2018). Effects of Beetroot Juice Supplementation on Performance and Fatigue in a 30-s All-Out Sprint Exercise: A Randomized, Double-Blind Cross-Over Study. *Nutrients*, 10(9), 1222.
- Cunha, F., A., Midgley, A., Soares, P. and Farinatti, P., T., V. (2015). Postexercise hypotension after maximal short-term incremental exercise depends on exercise modality. *Appl Physiol Nutr Metab*, 40(6), 605-614.
- Davidoff, M., S., Middendorff, R., Mayer, B., de Vente, J., Koesling, D. and Holstein, A. F. (1997). Nitric oxide/ cGMP pathway components in the Leydig cells of the human testis. *Cell Tissue*, 287, 161-170.
- Decroix, L., De Pauw, K., Foster, C. and Meeusen, R. (2016). Guidelines to Classify Female Subject Groups in Sport-Science Research. *Int J Sports Physiol Perform*, 11, 204 -213.
- Delikaris, I. (2017). The role of legally available “ergogenic” nutritional supplements in exercise performance: a biochemical and physiological approach. *Anatomy Physiol Biochem Int J*, 2(1), 555576.
- Deonikar, P. and Kavdia, M. (2013). P55: Effect of haematocrit and oxygen saturation on

- nitric oxide and nitrite interactions with red blood cell in a single RBC: A computational analysis. *Nitric Oxide*, 31, 36-37.
- Domínguez, R., Cuenca, E., Maté-Muñoz, J., L., García-Fernández, P., Serra-Paya, N., Lozano Estevan, M., C., et al. (2017). Effects of beetroot juice supplementation on cardiorespiratory endurance in athletes. A systematic review. *Nutrients*, 9(43).
- Dreissigacker, u., Wendt, M., Wittke, T., Tsikas, D. and Maassen, N. (2010). Positive correlation between plasma nitrite and performance during high-intensive exercise but not oxidative stress in healthy men. *Nitric Oxide*, 23(2), 128-135.
- Dulić, Z., Ivancev, V., Valic, Z., Bakovic, D., Marinović-Terzić, I., Eterović, D., et al. (2006). Postexercise hypotension in moderately trained athletes after maximal exercise. *Med Sci Sports Exerc*, 38(2), 318-22.
- Fehring, R., J., Schneider, M. and Raviele, K. (2006). Variability in the phases of the menstrual cycle. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs*, 35(3), 376-84.
- Flueck, J., L., Bogdanova, A., Mettler, S. and Perret, C. (2016). Is beetroot juice more effective than sodium nitrate? The effects of equimolar nitrate dosages of nitrate-rich beetroot juice and sodium nitrate on oxygen consumption during exercise. *Appl Physiol Nutr Metab*, 41(4), 421-429.
- Folland, J., P., Stern, R. and Brickley, G. (2008). Sodium phosphate loading improves laboratory cycling time-trial performance in trained cyclists. *J Sci Med Sport*, 11(5), 464–468.
- Forstermann, U., Closs, E., I., Pollock, J., S., Nakane, M., Schwarz, P., Gath, I., et al. (1994). Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension*, 23, 1121–1131.
- Forstermann, U. and Sessa, W., C. (2012). Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*, 33, 829–837.
- Forte, P., Kneale, B., J., Milne, E., Chovienczyk, P., J., Johnston, A., Benjamin, N., et al. (1998). Evidence for a difference in nitric oxide biosynthesis between healthy women and men. *Hypertension*, 32, 730-734.
- Frączek, B., Warzecha, M., Tyrała, F. and Pięta, A. (2016). Prevalence of the use of effective ergogenic aids among professional athletes. *Rocz Panstw Zakl Hig*, 67(3), 271-278.
- Fujii, Y, Guo, Y, and Hussain, S., N. (1998). Regulation of nitric oxide production in response to skeletal muscle activation. *J Appl Physiol*, 85, 2330–2336.
- Fukuto, J., M. (1995). Chemistry of nitric oxide: Biologically relevant aspects. In L., Ignarro and F., Murad (Eds.), *Nitric Oxide. Biochemistry, Molecular Biology and Therapeutic Implications* (pp. 1-13). United Kingdom: Academic Press.
- Fulford, J., Winyard, P., J., Vanhatalo, A., Bailey, S., J., Blackwell, J., R. and Jones, A., M. (2013). Influence of dietary nitrate supplementation on human skeletal muscle metabolism and force production during maximum voluntary contractions. *Pflugers Arch*, 465(4), 517-528.
- Gago, B., Lundberg, J., O., Barbosa, R., M. and Laranjinha, J. (2007). Red wine-dependent reduction of nitrite to nitric oxide in the stomach. *Free Radic Biol Med*, 43, 1233–1242.
- Gaskill, S., E., Ruby, B., C., Walker, A., J., Sanchez, O., A., Serfass, R., C. and Leon, A., S. (2001). Validity and reliability of combining three methods to determine ventilatory threshold. *Med Sci Sports Exerc*, 33(11), 1841-1848.
- Gaston, B. (1999). Nitric Oxide and thiol groups. *Biochim Biophys Acta*, 1411(2-3), 323-33.
- Gilchrist, M., Winyard, P., G. and Benjamin, N. (2010). Dietary nitrate -good or bad? *Nitric Oxide*, 22(2), 104-109.
- Giusti, M., Fazzuoli, L., Cavallero, D. and Valenti, S. (2002). Circulating nitric oxide changes throughout the menstrual cycle in healthy women and women affected by pathological hyperprolactinemia on dopamine agonist therapy. *Gynecol Endocrinol*, 16(5), 407-412.
- Gladwin, M., T., Schneckter, A., N., Ognibene, F., P., Coles, W., A., Reiter, C., D., Schenke, W., H., et al. (2003). Divergent nitric oxide bioavailability in men and

- women with sickle cell disease. *Circulation*, 107, 271-278.
- Glaister, M., Pattison, J., R., Muniz-Pumares, D., Patterson, S., D. and Foley, P. (2015). Effects of dietary nitrate, caffeine, and their combination on 20-km cycling time trial performance. *J. Strength Cond. Res*, 29, 165–174.
- Gossrau, R. (1998). Caveolin-3 and nitric oxide synthase I in healthy and diseased skeletal muscle. *Acta Histochem*, 100, 99–112.
- Govoni, M., Jansson, E., A., Weitzberg, E. and Lundberg, J., O. (2008). The increase in plasma nitrite after a dietary nitrate load is markedly attenuated by an antibacterial mouthwash. *Nitric Oxide*. 19, 333–337.
- Haider, G. and Folland, J., P. (2014). Nitrate supplementation enhances the contractile properties of human skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc*, 46(12), 2234-2243.
- Halliwill, J., R., Buck T., Lacewell, A., N. and Romero, S. (2013). Post-exercise hypotension and sustained post-exercise vasodilation: What happens after we exercise? *Exp Physiol*, 98(1), 7-18.
- Handzlik, L. and Gleeson, M. (2013). Likely Additive Ergogenic Effects of Combined Preexercise Dietary Nitrate and Caffeine Ingestion in Trained Cyclists. *ISRN Nutr*, 2013 Dec 14; 2013:396581.
- Helms, C. and Kim-Shapiro, D., B. (2013). Hemoglobin-mediated nitric oxide signaling. *Free Radic Biol Med*, 61, 464-472.
- Hermann, M., Flammer, A. and Luscher, T., F. (2006). Nitric oxide in Hypertension. *J Clin Hypertens*, 12(4), 17-29.
- Higenbottam, T., Siddons, T. and Demoncheaux, E. (2000). A therapeutic role for chronic inhaled nitric oxide? *Lancet*, 356(9228), 446-457.
- Hoffman, J., R., Kang, J., Ratamess, N., A., Jennings, P., F., Mangine, G., T. and Faigenbaum, A., D. (2007). Effect of nutritionally enriched coffee consumption on aerobic and anaerobic exercise performance. *J Strength Cond Res*, 21, 456–459.
- Hong, Y., H., Betik, A., C. and McConnel, G., K. (2014). Role of nitric oxide in skeletal muscle glucose uptake during exercise. *Exp Physiol*, 99(12), 1569-1573.
- Hoon, M., W., Hopkins, W., G., Jones, A., M., Martin, D., T., Halson, S., L., West, N., et al. (2014). Nitrate supplementation and high-intensity performance in competitive cyclists. *Appl Physiol Nutr Metab*, 39(9), 1043-1049.
- Hoon, M., W., Jones, A., M., Johnson, N., A., Blackwell, J., R., Broad, E., M., Lundy, B., et al. (2014). The Effect of Variable Doses of Inorganic Nitrate-Rich Beetroot Juice on Simulated 2,000-m Rowing Performance in Trained Athletes. *Int J Sports Physiol Perform*, 9(4), 615-620.
- Hord, N., G. (2011). Dietary nitrates, nitrites, and cardiovascular health. *Curr Atheroscler Rep*, 13(6), 484-492.
- Hord, N., G., Tang, Y. and Bryan, N., S. (2009). Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. *J Clin Nutr*, 90, 1-10.
- Ignarro, L., J. (2002). Nitric oxide as a unique signaling molecule in the vascular system: A historical overview. *J Physiol Pharmacol*, 53, 503-514.
- Ignarro, L., J., Byrns, R., E., Sumi, D., de Nigris, F. and Napoli, C. (2006). Pomegranate juice protects nitric oxide against oxidative destruction and enhances the biological actions of nitric oxide. *Nitric Oxide*, 15, 93–102.
- Ishibashi, T., Yoshida, J. and Nishio, M. (2003). New methods to evaluate endothelial function: a search for a marker of nitric oxide (NO) in vivo: re-evaluation of NOx in plasma and red blood cells and a trial to detect nitrosothiols. *J Pharm Sci*, 93, 409–416.
- Jansson, E., A., Huang, L., Malkey, R., Govoni, M., Nihlen, C., Olsson, A., et al. (2008). A mammalian functional nitrate reductase that regulates nitrite and nitric oxide homeostasis. *Nat Chem Biol*, 4, 411–417.
- Johnson, C., J. and Kross, B., C. (1990). Continuing importance of nitrate contamination of groundwater and wells in rural areas. *Am J Ind Med*, 18, 449–456.

- Jones, A., M. (2014). Dietary nitrate supplementation and exercise performance. *Sports Med*, 44(1), 35-45.
- Jones, A., M., Ferguson, S., K., Bailey, S., J., Vanhatalo, A. and Poole, D., C. (2016). Fiber Type-Specific Effects of Dietary Nitrate. *Exerc Sport Sci Rev*, 44(2), 53-60.
- Jonvik, K., L. Nyakayiru, J., Pinckaers, P., J., K., Senden, J., M., G., van Loon, L., J., C. and Verdijk, L., B. (2016). Nitrate-Rich Vegetables Increase Plasma Nitrate and Nitrite Concentrations and Lower Blood Pressure in Healthy Adults. *J Nutr*, 146(5), 986-993.
- Kapil, V., Milsom, A., B., Okorie, M., Maleki-Toyserkani, S., Akram, F., Rehman, F., et al. (2010). Inorganic nitrate supplementation lowers blood pressure in humans: role for nitrite-derived NO. *Hypertension*, 56, 274–281.
- Karpuzoglu, E. and Ahmed, S., A. (2006). Estrogen regulation of nitric oxide and inducible nitric oxide synthase (iNOS) in immune cells: Implications for immunity, autoimmune diseases, and apoptosis. *Nitric Oxide*, 15, 177- 186.
- Katch, V., L., McArdle, W., D. and Katch, F., I. (2011). Essentials of exercise physiology. 4th ed. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins.
- Kelly, J., Fulford, J., Vanhatalo, A., Blackwell, J., R., French, O., Bailey, S., J., et al. (2013). Effects of short-term dietary nitrate supplementation on blood pressure, O₂ uptake kinetics, and muscle and cognitive function in older adults. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 15, 304(2), 73-83.
- Kharitonov, S., A., Logan-Sinclair, R., B., Busset, C., M. and Shinebourne, E., A. (1994). Peak expiratory nitric oxide differences in men and women: relation to the menstrual cycle. *Br Heart J*, 72, 243-245.
- Kim-Shapiro, D., B. and Gladwin, M., T. (2015). Pitfalls in Measuring NO Bioavailability using NO_x. *Nitric Oxide*, 44, 1–2.
- Kim-Shapiro, D., B., Schechter, A., N. and Gladwin, M., T. (2006). Unraveling the reactions of nitric oxide, nitrite and hemoglobin in physiology and therapeutics. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 26, 697-705.
- Kleinbongard, P., Schulz, R., Rassaf, T., Lauer, T., Dejam, A., Jax, T., et al. (2006). Red blood cells express a functional endothelial nitric oxide synthase. *Blood*, 107(7), 2943-2951.
- Kobzik, L., Reid, M., B., Bredt, D., S. and Stamler, J., S. (1994). Nitric oxide in skeletal muscle. *Nature*, 372, 546-548.
- Kochar, N., I., Chandewal, A., V., Bakal, R., L. and Kochar, P, N. (2010). Nitric oxide and the gastrointestinal tract. *Int J Pharmacol*, 7(1), 31-39.
- Koehle, M., S., Cheng, I. and Sporer, B. (2014). Canadian academy of sport and exercise medicine position statement: Athletes at high altitude. *Clin J Sport Med*, 24, 120–127.
- Kortboyer, J., Olling, M. and Zeilmaker, M., J. (1997). The oral bioavailability of sodium nitrite investigated in healthy adult volunteers. Bilthoven, Netherlands: National Institute of Public Health and the Environment.
- Lane, S., C., Hawley, J., A., Desbrow, B., Jones, A., M., Blackwell, J., R., Ross, M., L., et al. (2013). Single and combined effects of beetroot juice and caffeine supplementation on cycling time trial performance. *Appl Physiol Nutr Metab*, 39(9), 1050-1057.
- Lansley, K., E., Winyard, P., G., Bailey, S., J., Vanhatalo, A., Wilkerson, D., P., Blackwell, J., R., et al. (2011). Acute dietary nitrate supplementation improves cycling time trial performance. *Med Sci Sports Exerc*, 43(6), 1125-31.
- Lansley, K., Winyard, P., G., Fulford, J., Vanhatalo, A., Bailey, S., J., Blackwell, J., R., et al. (2011). Dietary nitrate supplementation reduces the O₂ cost of walking and running: a placebocontrolled study. *J Appl Physiol*, 110, 591–600.
- Larsen, F., J., Schiffer, T., A., Borniquel, S., Sahlin, K., Ekblom, B., Lundberg, J., O. et al. (2011). Dietary inorganic nitrate improves mitochondrial efficiency in humans. *Cell Metab*, 13, 149–159.
- Larsen, F., J., Weitzberg, E., Lundberg, J., O. and Ekblom, B. (2007). Effects of dietary nitrate on oxygen cost during exercise. *Acta Physiol (Oxf)*, 191, 59– 66.

- Larsen, F., J., Weitzberg, E., Lundberg, J., O., Ekblom, B. (2010). Dietary nitrate reduces maximal oxygen consumption while maintaining work performance in maximal exercise. *Free Radic Biol Med*, 48(2), 342-347.
- Lauer, T., Preik, M., Rassaf, T., Strauer, B., E., Deussen, A., Feelisch, M., et al. (2001). Plasma nitrite rather than nitrate reflects regional endothelial nitric oxide synthase activity but lacks intrinsic vasodilator action. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98, 12814–12819.
- Liu, S., Goodman, J., Nolan, R., Lacombe, S., and Thomas, S., G. (2011). Blood pressure responses to acute and chronic exercise are related in prehypertension. *Med Sci Sports Exerc*, 44(9), 1644-1652.
- Liu, S., Wu, C., L., Chiang, Lo, Y., W., Tseng, H., F. and Chang, C., K. (2009). No effects of short-term arginine supplementation on nitric oxide production, metabolism and performance in intermittent exercise in athletes. *J Nutr Biochem*, 20(6), 462-468.
- Lowings, S., Shannon, O., M., Deighton, K., Matu, J. and Barlow, J., M. (2017). Effect of dietary nitrate supplementation on swimming performance in trained swimmers. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 27(4), 377-388.
- Lundberg, J., O., Carlström, M., Larsen, F., J. and Weitzberg, E. (2011). Roles of dietary inorganic nitrate in cardiovascular health and disease. *Cardiovasc Res*, 89, 525–532.
- Lundberg, J., O., Larsen, F., J. and Weitzberg, E. (2011). Supplementation with nitrate and nitrite salts in exercise: a word of caution. *J Appl Physiol*, 111(2), 616-7.
- Lundberg, J., O. and Weitzberg, E. (2005). NO generation from nitrite and its role in vascular control. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 25, 915–22.
- Lundberg, J., O., Weitzberg, E. and Gladwin, M., T. (2008). The nitrate–nitrite– nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nat Rev Drug Discov*, 7, 156–167.
- Lv, L., Jiang, S., S., Xu, J., Gong, J., B. and Cheng, Y. (2012). Protective effect of ligustrazine against myocardial ischaemia reperfusion in rats: The role of endothelial nitric oxide synthase. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 39, 20-27.
- MacDonald, J., R., MacDougal., J., D. and Hogben, C., D. (2000). The effects of exercise duration on postexercise hypotension. *Journal of Human Hypertension*, 14, 125–129.
- MacLeod, K., E., Nugent, S., F., Barr, S., Khoele, M., S., Sporer, B., C. and MacInnis, M., J. (2015). Acute Beetroot Juice Supplementation Does Not Improve Cycling Performance in Normoxia or Moderate Hypoxia. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab*, 25, 359–366.
- Maeda, S., Miyauchi, T., Kakiyama, T., Sugawara, J., Iemitsu, M., Irukayama-Tomobe, Y., et al. (2001). Effects of exercise training of 8 weeks and detraining on plasma levels of endothelium-derived factors, endothelin-1 and nitric oxide, in healthy young humans. *Life Sci*, 69(9), 1005-1016.
- Maeda, S., Otsuki, T., Iemitsu, M., Kamioka, M., Sugawara, J., Kuno, S., et al. (2006). Effects of leg resistance training on arterial function in older men. *Br J Sports Med*, 40(10), 867-869.
- Maeda, S., Tanabe, T., Otsuki, T., Sugawara, J., Iemitsu, M., Miyauchi, T., et al. (2004). Moderate regular exercise increases production of nitric oxide in elderly women. *Hypertens Res*, 27(12), 947-953.
- Magkos, F. and Kavouras, S., A. (2005). Caffeine use in sports, pharmacokinetics in man, and cellular mechanisms of action. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 45, 535–562.
- Manau, D., Balasch, J., Jimenez, W., Fabregues, F., Casamitjana, R., Creus, M., et al. (1999). Adrenomedullin and nitric oxide in menstrual and in vitro fertilization cycles. Relationship to estradiol. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 78, 626–631.
- March, C., Foster, C., Brice, G., Mikat, R., P. and Porcari, J., P. (2005). Effect of exercise duration on postexercise hypotension. *J Cardiopulm Rehabil Prev*, 25, 366-369.
- Martin, K., Smee, D., Thompson, K., G. and Rattray, B. (2014). Dietary Nitrate Does Not Improve Repeated Sprint Performance. *Int J Sports Physiol Perform*, 9(5), 845-850.
- Masschelein, E., Van Thienen, R., Wang, X., Van Schepdael, A., Thomis, M. and Hespel,

- P. (2012). Dietary nitrate improves muscle but not cerebral oxygenation status during exercise in hypoxia. *J Appl Physiol* (1985), 113(5), 736-745.
- Matich, A., J. (2007). Performance-enhancing drugs and supplements in women and girls. *Curr Sports Med Rep*, 6, 387-391.
- McConell, G., K., Huynh, N., N., Lee-Young, R., S., Canny, B., J. and Wagley, G., D. (2006). L-arginine infusion increases glucose clearance during prolonged exercise in humans. *Am J Physiol Endocrin Metab*, 290(1), 60-66.
- McDounagh, S., T., J., Vanhatalo, A., Fulford, J., Wylie, L., J., Bailey, S., J. and Jones, A., M. (2016). Dietary nitrate supplementation attenuates the reduction in exercise tolerance following blood donation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 311, 1520-1529.
- Mesen, T., B. and Young, S., L. (2015). Progesterone and the Luteal Phase. A Requisite to reproduction. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 42(1), 135-151.
- Miller, P., B. and Soules, M., R. (1996). The usefulness of a urinary LH kit for ovulation prediction during menstrual cycles of normal women. *Obstet Gynecol*, 87(1), 13-17.
- Mohr, S., Stamler, J., S. and Brune, B. (1996). Posttranslational modification of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase by S-nitrosylation and subsequent NADH attachment. *J Biol Chem*, 271, 4209-4214.
- Momohara, Y., Sakamoto, S., Obayashi, S., Aso, T., Goto, M. and Azuma, H. (2004). Roles of endogenous nitric oxide synthase inhibitors and endothelin-1 for regulating myometrial contractions during gestation in the rat. *Molecular Human Reproduction*, 10, 505-512.
- Mortensen, S., P., Gonz'alez-Alonso, J., Damsgaard, R., Saltin, B. and Hellsten, Y. (2007). Inhibition of nitric oxide and prostaglandins, but not endothelial-derived hyperpolarizing factors, reduces blood flow and aerobic energy turnover in the exercising human leg. *J Physiol*, 581, 853-861.
- Muggeridge, D., Howe, D., Spendiff, O., Pedlar, C., James, P. and Easton, C. (2013). The Effects of a Single Dose of Concentrated Beetroot Juice on Performance in Trained Flatwater Kayakers. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 23, 498-506.
- Muggeridge, D., Howe, D., Spendiff, O., Pedlar, C., James, P. and Easton, C. (2014). A Single Dose of Beetroot Juice Enhances Cycling Performance in Simulated Altitude. *Med Sci Sports Exerc*, 46, 143-150.
- Murphy, M., Eliot, K., Heuertz, R., M. and Weiss, E. (2012). Whole beetroot consumption acutely improves running performance. *J Acad Nutr Diet*, 112(4), 548-552.
- Nakane, M., Schmidt, H., H., Pollock, J., S., Forstermann, U. and Murad, F. (1993). Cloned human brain nitric oxide synthase is highly expressed in skeletal muscle. *FEBS Lett*, 316, 175 - 180.
- Nijboer, J., van der Horst, I., Hendriks, H., ten Duis, H. and Nijsten, M. (2007). Myth or reality: hematocrit and hemoglobin differ in trauma. *J Trauma*, 62(5), 1310-2.
- Norat, T., Bingham, S., Ferrari, P., Sinami, N., Jenab, M., Mazuir, M., et al. (2005). Meat, fish, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into cancer and nutrition. *J Natl Cancer Inst*, 97, 906-916.
- Olek, R., A., Ziemann, E., Grzywacz, T., Kujach, S., Luszczuk, M., Antosiewicz, C., et al. (2010). A single oral intake of arginine does not affect performance during repeated Wingate anaerobic test. *J Sports Med Phys Fitness*, 50(1), 52-56.
- Özcan, S., S., A., Ceylan, E., Özcan, E., Kurt, N., DaLsuyu, E., M. and Çanakçı, C., F. (2014). Evaluation of Oxidative Stress Biomarkers in Patients with Fixed Orthodontic Appliances. *Hindawi Publishing Corporation*, 2014.
- Papathanasiou, G., Georgoudis, G., Papandreou, M., Spyropoulos, P., Georgakopoulos, D., Kalfakakou, V., et al. (2009). Reliability Measures of the Short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek Young Adults. *Hellenic J Cardiol*, 50, 283-294.
- Paul, V. and Ekambaram, P. (2011). Involvement of nitric oxide in learning and memory

- processes. *Indian J Med Res*, 133, 471-478.
- Peacock, O., Tjonna, A., E., James, P., Wisloff, U., Welde, B., Bohlke, N., et al. Dietary nitrate does not enhance running performance in elite cross-country skiers. *Med Sci Sports Exerc*, 44(11), 2213-2219.
- Peeling, P., Cox, G., Bullock, N. and Burke, L. (2015). Beetroot Juice Improves On-Water 500 M Time-Trial Performance, and Laboratory-Based Paddling Economy in National and International-Level Kayak Athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 25, 278–284.
- Peri, L., Pietraforte, D., Scorza, G., Napolitano, A., Fogliano, V. and Minetti, M. (2005). Apples increase nitric oxide production by human saliva at the acidic pH of the stomach: a new biological function for polyphenols with a catechol group? *Free Radic Biol Med*, 39, 668–681.
- Pinna, M., Roberto, S., Milia, R., Marongiu, E., Olla, S., Loi, A., et al. (2014). Effect of beetroot juice supplementation on aerobic response during swimming. *Nutrients*, 6(2), 605-615.
- Porcelli, S., Pugliese, L., Rejc, E., Pavei, G., Bonato, M., Montorsi, M., et al. (2016). Effects of a Short-Term High-Nitrate Diet on Exercise Performance. *Nutrients*, 8, 534-546.
- Powlson, D., S., Addiscott, T., M., Benjamin, N., Cassman, K., G., de Kok, T., M., van Grinsven, H., et al. (2008). When does nitrate become a risk for humans? *J Environ Qual.*, 37, 291–295.
- Puype, J., Ramaekers, M., Van Thienen, R., Deldicque, L. and Hespel, P. (2015). No effect of dietary nitrate supplementation on endurance training in hypoxia. *Scand J Med Sci Sports*, 25(2), 234-241.
- Raine, N., M., Cable, N., T., George, K., P. and Campbell, I., G. (2001). The influence of recovery posture on post-exercise hypotension in normotensive men. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 33(3), 404-412.
- Rassaf, T., Lauer, T., Heiss, C., Balzer, J., Mangold, S., Leyendecker, T., et al. (2007). Nitric oxide synthase- derived plasma nitrite predicts exercise capacity. *Br J Sports Med*, 41(10),669-673.
- Reid, M., B. (1998). Role of nitric oxide in skeletal muscle: synthesis, distribution and functional importance. *Acta Physiol Scand*, 162, 401- 409.
- Ricciardolo, F., L., M., Sterk, P., J., Gaston, B. and Folkerts, G. (2004). Nitric oxide in health and disease of the respiratory system. *Physiological Research*, 84, 731-765.
- Rienks, J., N., Vanderwoude, A., A., Maas, E., Blea, Z., M. and Subudhi, A., W. (2015). Effect of Beetroot Juice on Moderate-Intensity Exercise at a Constant Rating of Perceived Exertion. *Int J Exerc Sci*, 8(3), 277–286.
- Rimer, E., G., Peterson L., R., Coggan, A., R. and Martin, J., C. (2016). Increase in Maximal Cycling Power with Acute Dietary Nitrate Supplementation. *Int J Sports Physiol Perform*, 11(6), 715-720.
- Russwurm, M. and Koesling, D. (2004). NO activation of guanylyl cyclase. *EMBO J*, 23(22), 4443-4450.
- Sadeghi, A. and Arian, Z. (2015). An investigation on the prevalence of use of licit and illicit ergogenic drugs among female athletes in tehran and their awareness of these drugs and their side effects. *Int J Rev Life Sci*, 5(8), 1780-1786.
- Samsudeen, N. and Rajagopalan, A. (2016). Effect of Different Phases of Menstrual Cycle on Cardio-respiratory Efficiency in Normal., Overweight and Obese Female Undergraduate Students. *J Clin Diagn Res*, 10(12), CC01–CC04.
- Santamaria, P. (2006). Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. *J Sci Food Agric*, 86,10–17.
- Shannon, O., M., Barlow, M., J., Duckworth, L., Williams, E., Wort, G., Woods, D., Siervo, M., et al. (2017). Dietary nitrate supplementation enhances short but not longer duration running time-trial performance. *Eur J Appl Physiol*, 117(4), 775-785.
- Sharma, S., P. (2004). Nitric oxide and the kidney. *Indian Journal of Nephrology*, 14, 77-84.

- Sriram, K., Salazar Vazquez, B., Yalcin, O., Johnson, P., C., Intaglietta, M. and Tartakovsky, D., M. (2013). The Effect of Small Changes in Hematocrit on Nitric Oxide Transport in Arterioles. *Antioxidants and Redox Signaling*, 14(2), 175-185.
- Stamler, J., S. and Meissner, G. (2001). Physiology of nitric oxide in skeletal muscle. *Physiol Rev*, 81(1), 209-237.
- Stanek, A., Gadowska-Cicha, A., Gawron, K., Wielkoszynski, T., Adamek, B., Gieslar, G., et al. (2008). Role of nitric oxide in physiology and pathology of the gastrointestinal tract. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 8, 1549-1560.
- Staron, R., S., Hagerman, F., C., Hikida, R., S., Murray, T., F., Hostler, D., P., Crill, M., T., et al. (2000). Fiber type composition of the vastus lateralis muscle of young men and women. *J Histochem Cytochem*, 48(5), 623-629.
- Strijdom, H., Chamane, N. and Lochner, A. (2009). Nitric oxide in the cardiovascular system: A simple molecule with complex actions. *Cardiovascular Journal of Africa*, 20, 303-310.
- Stubbe, J., H., Chorus, A., M., Frank, L., E., de Hon, O. and van der Heijden, P., G. (2014). Prevalence of use of performance enhancing drugs by fitness centre members. *Drug Test Anal.*, 6(5), 434-438.
- Tang, J., E., Lysecki, P., J., Manolagos, J., J., MacDonald, M., J., Tarnopolsky, M., A. and Phillips, S., M. (2011). Bolus arginine supplementation affects neither muscle blood flow nor muscle protein synthesis in young men at rest or after resistance exercise. *J Nutr*, 141(2), 195-200.
- Tengan, C., H., Rodrigues, G., S. and Godinho, R., S. (2012). Nitric Oxide in Skeletal Muscle: Role on Mitochondrial Biogenesis and Function. *Int J Mol Sci*, 13, 17160-17184.
- Teran, E., Escudero, C. and Vivero, S. (2002). Physiological changes in platelet aggregation and nitric oxide levels during menstrual cycle in healthy women. *Nitric Oxide*, 7, 217-220.
- Thomas, G., D. and Victor R., G. (1998). Nitric oxide mediates contraction induced attenuation of sympathetic vasoconstriction in rat skeletal muscle. *J Physiol (Lond)*, 506, 817-826.
- Thompson, M., Becker, L., Bryant, D., Williams, G., Levin, D., Margraf, L. and Girior, B., P. (1996). Expression of the inducible nitric oxide synthase in diaphragm and skeletal muscle. *J Appl Physiol*, 81, 2415-2420.
- Totzeck, M., Hendgen-Cotta, U., Luedike, P., Berenbrink, M., Klare, J., P., Steinhoff, H., J., et al. (2012). Nitrite regulates hypoxic vasodilation via myoglobin-dependent nitric oxide generation. *Circulation*, 126(3), 325-334.
- Tousoulis, D., Kampoli, A., Tentolouris, C., Papageorgiou, N. and Stefanidis, C. (2012). The Role of Nitric Oxide on Endothelial Function. *Current Vascular Pharmacology*, 10, 4-18.
- van Faassen, E., E., Bahrami, S., Feelisch, M., Hogg, N., Kelm, M., Kim-Shapiro, D., B., et al. (2009). Nitrite as regulator of hypoxic signaling in mammalian physiology. *Med Res Rev*, 29(5), 683-6741.
- Vanhatalo, A., Bailey, S., J., Blackwell, J., R., DiMenna, F., J., Pavey, T., G., Wilkerson, D., P., et al. (2010). Acute and chronic effects of dietary nitrate supplementation on blood pressure and the physiological responses to moderate-intensity, and incremental exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 299(4), 1121-1131.
- Vanhatalo, A., Fulford, J., Bailey, S., J., Blackwell, J., R., Winyard, P., G. and Jones, A., M. (2011). Dietary nitrate reduces muscle metabolic perturbation and improves exercise tolerance in hypoxia. *J Physiol*, 15, 5517-5528.
- Varraso R, Jiang, R., Barr, R., G., Willett, W., C. and Camargo, C., A. (2007). Prospective study of cured meats consumption and risk of chronic obstructive pulmonary disease in men. *Am J Epidemiol*, 166, 1438-1445.
- Ward, M., E. (1996). Effect of inhibition of nitric oxide synthesis on the diaphragmatic microvascular response to hypoxia. *J Appl Physiol*, 81, 1633-1641.
- Wehrwein, E. A., & Joyner, M. J. (2013). Regulation of blood pressure by the arterial baroreflex and autonomic

- nervous system. Handbook of clinical neurology, 117, 89–102.
- Welle, S., Tawil, R. and Thornton, C., A. (2008). Sex-related differences in gene expression in human skeletal muscle. *PLoS One*, 3(1).
- West, J., S., Ayton, T., Wallman, K., E. and Guelfi, K. (2012). The effect of 6 days of sodium phosphate supplementation on appetite, energy intake and aerobic capacity in trained men and women. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 22(6),422–429
- Wilkerson, D., P., Hayward, G., M., Bailey, S., J., Vanhatalo, A., Blackwell, J., R. and Jones, A., M. (2012). Influence of acute dietary nitrate supplementation on 50-mile time trial performance in well-trained cyclists. *Eur J Appl Physiol*, 112, 4127-4134.
- Willoughby, D., S., Boucher, T., Reid, J., Skelton, G. and Clark, M. (2011). Effects of 7 days of arginine-alpha-ketoglutarate supplementation on blood flow, plasma L-arginine, nitric oxide metabolites and asymmetric dimethyl arginine after resistance exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 21(4), 291-299.
- Witting, P., K., Douglas, D., J. and Mauk, A., G. (2001). Reaction of Human Myoglobin and Nitric Oxide. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(6), 3991–3998.
- Wylie, L., J., Kelly, J., Bailey, S., J., Blackwell, J., R., Skiba, P., F., Winyard, P., J., et al. (2013). Beetroot juice and exercise: pharmacodynamic and dose-response relationships. *J Appl Physiol*, 115, 325–336.
- Zafeiridis, A. (2014). The effects of dietary nitrate (beetroot juice) supplementation on exercise performance: A review. *Journal of Sports Science*, 2(4), 97-110.
- Zeng, S., M., Jankovitz, J., Widness, J., A. and Strauss, R., J. (2001). Etiology of differences in hematocrit between males and females: sequence-based polymorphisms in erythropoietin and its receptor. *J Gend Specif Med*, 4(1), 35-40.
- Zhou, L. and Zhu, D., Y. (2019). Neuronal nitric oxide synthase: structure, subcellular localization, regulation, and clinical implications. *Nitric Oxide*, 20, 223 – 230.

Παντζαροχυμός και άσκηση σε γυναίκες

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

**ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α
ΕΝΤΥΠΟ ΕΝΗΜΕΡΩΣΗΣ ΔΟΚΙΜΑΖΟΜΕΝΩΝ ΚΑΙ
ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗΣ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣ ΣΕ ΕΡΕΥΝΑ**

Παντζαροχυμός και άσκηση σε γυναίκες

ΕΝΗΜΕΡΩΣΗ ΔΟΚΙΜΑΖΟΜΕΝΩΝ ΚΑΙ
ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗΣ ΣΥΜΜΕΤΟΧΗΣ ΣΕ ΕΡΕΥΝΑ

Η έρευνα στην οποία πρόκειται να προσυπογράψετε τη συμμετοχή σας διεξάγεται στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «**ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΣΚΗΣΗΣ**» του Τμήματος Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Τα πειράματα που θα πραγματοποιηθούν στο εργαστήριο Εργοφυσιολογίας περιλαμβάνουν 3 επισκέψεις: **1^η επίσκεψη**: μέτρηση βάρους και ύψους, συμπλήρωση ερωτηματολογίου φυσικής κατάστασης και άσκηση σταδιακά αυξανόμενης έντασης έως την εξάντληση. Στο τέλος της επίσκεψης αυτής θα σας χορηγηθούν 5 τεστ ωορρηξίας με συγκεκριμένες οδηγίες ως προς την εφαρμογή τους. **2^η επίσκεψη** (7-9 ημέρες μετά από θετική ένδειξη του τεστ ωορρηξίας): κατανάλωση παντζαροχυμού ή placebo σκευάσματος με τυχαία σειρά και μετά από 150 λεπτά παθητικής αναμονής θα ακολουθήσει άσκηση, που θα περιλαμβάνει: 5 λεπτά προθέρμανση, 10 λεπτά σε υπομέγιστη ένταση και 5 δευτερόλεπτα σε μέγιστη, 15 λεπτά παθητική αποκατάσταση και ακολούθως σταδιακά αυξανόμενη άσκηση μέχρι την εξάντληση. **3^η επίσκεψη** (5-7 ημέρες αργότερα): κατανάλωση placebo ή παντζαροχυμού και επανάληψη της άσκησης της 2^{ης} ημέρας. Όλες οι μετρήσεις θα πραγματοποιηθούν σε κυκλοεργόμετρο, θα καταγραφεί η αρτηριακή πίεση, η πρόσληψη οξυγόνου και μέτρηση αιματοκρίτη. Τα σκευάσματα που θα δοθούν είναι ελεγμένα και σφραγισμένα.

Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων, υπάρχει μικρός κίνδυνος να αισθανθείτε δυσφορία ή τάση για λιποθυμία. Το εργαστήριο διαθέτει πλήρη μηχανισμό πρώτων βοηθειών κι εξειδικευμένο προσωπικό για να προλάβει και να επιληφθεί τέτοιων καταστάσεων.

Είναι υποχρέωση σας να μη μας αποκρύψετε οποιαδήποτε πληροφορία γνωρίζετε και σχετίζεται με την τωρινή κατάσταση της υγείας σας, ή πρότερο λιποθυμικό επεισόδιο. Σας τονίζουμε ότι μπορείτε να διακόψετε τη συμμετοχή σας στο πείραμα οποιαδήποτε στιγμή αισθανθείτε αδιαθεσία, πόνο ή για οποιοδήποτε λόγο εσείς κρίνετε σοβαρό. Σε κάθε περίπτωση προβλήματος, προβληματισμού ή και ένστασης για τη διαδικασία μπορείτε να απευθυνθείτε σε εμένα την ίδια, στην Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Εργοφυσιολογίας κ. Μαρία Κοσκολού ή στον Καθηγητή κ. Νίκο Γελαδά. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων είναι εμπιστευτικά για χρήση δική σας και της ερευνητικής ομάδας. Σε περίπτωση δημοσιοποίησης των δεδομένων, αυτή θα είναι ανώνυμη.

Σας ευχαριστώ πολύ,

Αγγελική Τζίκα

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

Αθήνα / /2018

ΟΝΟΜΑ ΔΟΚΙΜΑΖΟΜΕΝΟΥ

ΟΝΟΜΑ ΕΡΕΥΝΗΤΗ

ΟΝΟΜΑ

ΜΑΡΤΥΡΑ

ΥΠΟΓΡΑΦΗ

ΥΠΟΓΡΑΦΗ

ΥΠΟΓΡΑΦΗ

Παντζαροχυμός και άσκηση σε γυναίκες

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β
ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΥΓΕΙΑΣ ΔΟΚΙΜΑΖΟΜΕΝΩΝ

Παντζαροχυμός και άσκηση σε γυναίκες

ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΥΓΕΙΑΣ

Πριν την συμμετοχή σας σε οποιαδήποτε ερευνητική δραστηριότητα πρέπει να γνωρίζουμε την κατάσταση της υγείας σας. Για το λόγο αυτό καλείστε να απαντήσετε στις παρακάτω ερωτήσεις, ώστε η συμμετοχή σας στην έρευνα να γίνει με την μεγαλύτερη δυνατή ασφάλεια. Παρακαλώ να διαβάσετε τις ερωτήσεις προσεκτικά και να απαντήσετε με ειλικρίνεια συμπληρώνοντας ή σημειώνοντας ΝΑΙ ή ΟΧΙ.

Όνοματεπώνυμο

ΝΑΙ ΟΧΙ

1. Πότε ήταν η τελευταία φορά που κάνατε πλήρη ιατρικό έλεγχο;

.....

2. Σας έχουν αναφέρει ότι πάσχετε από κάποια χρόνια ή σοβαρή ασθένεια: Αν ναι, ποια ή ποιες;

.....

--	--

3. Έχετε οικογενειακό ιστορικό καρδιαγγειακού νοσήματος (π.χ. έμφραγμα, υπέρταση); Αν ναι, αναφέρατε το νόσημα, τα συγγενικά πρόσωπα καθώς και την ηλικία στην οποία τους παρουσιάστηκε.

.....

.....

--	--

4. Σας έχει πει ποτέ ο γιατρός ότι υπάρχει κάποιο πρόβλημα με την καρδιά σας και ότι πρέπει να εκτελείτε φυσική δραστηριότητα που προτείνεται από κάποιο γιατρό;

--	--

5. Αισθάνεστε πόνο στο στήθος όταν εκτελείτε οποιαδήποτε δραστηριότητα;

--	--

6. Έχετε αισθανθεί την καρδιά σας να χτυπά ασυνήθιστα (σαν φτερουγίσματα);

--	--

7. Υπάρχουν φορές που η καρδιά σας χτυπά πολύ γρήγορα χωρίς ιδιαίτερο λόγο (ταχυκαρδίες);

--	--

8. Σας έχουν αναφέρει ποτέ ότι η πίεση του αίματος σας δεν είναι φυσιολογική;

--	--

9. Χάνετε την ισορροπία σας λόγω ζαλάδας;

--	--

10. Έχετε χάσει ποτέ τις αισθήσεις σας; Αν ναι για ποιο λόγο σας συνέβη;.....

.....

--	--

Παντζαροχυμός και άσκηση σε γυναίκες

11. Έχετε κάποιο πρόβλημα στα οστά σας ή στις αρθρώσεις σας που χειροτερεύει όταν εκτελείτε φυσική δραστηριότητα;
12. Είστε αναιμικός;
13. Κάνετε χρήση φαρμάκων ή διατροφικών συμπληρωμάτων;
14. Πως θα αξιολογούσατε τη γενική σας υγεία;
α) Άριστη β) Πολύ καλή γ) Καλή δ) Μέτρια ε) Κακή
15. Λαμβάνετε αντισυλληπτικά?
16. Έχετε σταθερό εμμηνορυσιακό κύκλο?
Πόσες μέρες περίπου διαρκεί?
.....

Διάβασα κατανόησα και συμπλήρωσα το παρόν ερωτηματολόγιο. Δηλώνω ότι μπορώ να συμμετέχω στις πειραματικές μετρήσεις.

Όνομ/μο δοκιμαζόμενου Όνομ/μο ερευνητή

Υπογραφή

Υπογραφή

Αθήνα/...../2018

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Γ
ΕΝΤΥΠΟ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ ΤΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ (IRAQ Greek
version)

Παντζαροχυμός και άσκηση σε γυναίκες

International Physical Activity Questionnaire*

Short - self answered - 7 items

Greek Version**

Οι παρακάτω ερωτήσεις αφορούν στο χρόνο που έχετε αφιερώσει για κάποια σωματική δραστηριότητα τις **τελευταίες 7 ημέρες**. Περιλαμβάνουν ερωτήσεις σχετικά με δραστηριότητες που κάνετε κατά την εργασία σας, στις μετακινήσεις σας, στις δουλειές του σπιτιού, του κήπου και στον ελεύθερο χρόνο σας για ψυχαγωγία, άσκηση ή άθληση. Σας παρακαλώ να απαντήσετε όλες τις ερωτήσεις, ακόμα και εάν πιστεύετε ότι δεν είστε ένα ιδιαίτερα σωματικά δραστήριο άτομο.

Πριν απαντήσετε τις ερωτήσεις 1 και 2, σκεφτείτε όλες τις **έντονες** σωματικές δραστηριότητες που κάνατε κατά τις **τελευταίες 7 ημέρες**. Μια έντονη σωματική δραστηριότητα αναφέρεται σε δραστηριότητες που απαιτούν έντονη σωματική προσπάθεια και σας κάνουν να αναπνέετε σημαντικά δυσκολότερα από ότι συνήθως. Σκεφθείτε μόνο τις **έντονες** σωματικές δραστηριότητες που κάνατε και είχαν διάρκεια **μεγαλύτερη από 10 λεπτά** κάθε φορά.

- 1. Κατά τις τελευταίες 7 ημέρες, πόσες ημέρες κάνατε κάποια έντονη σωματική δραστηριότητα, όπως σκάψιμο, έντονη άσκηση με βάρη, τρέξιμο σε διάδρομο με κλίση, γρήγορο τρέξιμο, aerobics, γρήγορη ποδηλασία, γρήγορη κολύμβηση, τένις μονό, αγώνας σε γήπεδο (ποδόσφαιρο, basketball-μπάσκετ, volleyball-βόλεϊ, κλπ);**

_____ ημέρες ανά εβδομάδα

εάν δεν κάνατε έντονες σωματικές δραστηριότητες, τότε προχωρήστε στην ερώτηση 3

- 2. Τις ημέρες που κάνατε κάποια έντονη σωματική δραστηριότητα, πόσο χρόνο αφιερώνετε συνήθως;**

_____ λεπτά ανά ημέρα

δεν γνωρίζω/δεν είμαι βέβαιος

Πριν απαντήσετε τις ερωτήσεις 3 και 4, σκεφτείτε όλες τις **μέτριας έντασης** σωματικές δραστηριότητες που κάνατε κατά τις **τελευταίες 7 ημέρες**. Μια μέτριας έντασης σωματική δραστηριότητα αναφέρεται σε δραστηριότητες που απαιτούν μέτρια σωματική προσπάθεια και σας κάνουν να αναπνέετε κάπως δυσκολότερα από ότι συνήθως. Σκεφθείτε μόνο τις **μέτριας έντασης** σωματικές δραστηριότητες που κάνατε και είχαν διάρκεια **μεγαλύτερη από 10 λεπτά** κάθε φορά.

* The IPAQ group: <https://sites.google.com/site/theipaq/home>

** Papathanasiou G, et al. *Hellenic J Cardiol.* 2009; 50: 283-294.

3. Κατά τις τελευταίες 7 ημέρες, πόσες ημέρες κάνατε κάποια μέτρια σωματική δραστηριότητα, όπως το να σηκώσετε και να μεταφέρετε ελαφρά βάρη (λιγότερο από 10 κιλά), συνολική καθαριότητα του σπιτιού, ήπιες ρυθμικές ασκήσεις σώματος, ποδηλασία αναψυχής με χαμηλή ταχύτητα, καλαρή κολύμβηση; Σας παρακαλώ να μη συμπεριλάβετε το περπάτημα.

_____ ημέρες ανά εβδομάδα

εάν δεν κάνατε μέτριας έντασης σωματικές δραστηριότητες, τότε προχωρήστε στην ερώτηση 5

4. Τις ημέρες που κάνατε κάποια μέτρια σωματική δραστηριότητα, πόσο χρόνο αφιερώνετε συνήθως;

_____ λεπτά ανά ημέρα δεν γνωρίζω/δεν είμαι βέβαιος

Πριν απαντήσετε στις ερωτήσεις 5 και 6, σκεφτείτε το χρόνο που περπατήσατε κατά τις **τελευταίες 7 ημέρες**. Να συμπεριλάβετε το περπάτημα στο χώρο της εργασίας σας, στο σπίτι, στις μετακινήσεις σας και στον ελεύθερο χρόνο σας για ψυχαγωγία, άσκηση ή άθληση.

5. Κατά τις τελευταίες 7 ημέρες, πόσες ημέρες περπατήσατε για περισσότερο από 10 συνεχόμενα λεπτά;

_____ ημέρες ανά εβδομάδα

εάν δεν περπατήσατε καμία φορά περισσότερο από 10 συνεχόμενα λεπτά, τότε προχωρήστε στην ερώτηση 7

6. Τις ημέρες που περπατήσατε, για περισσότερο από 10 συνεχόμενα λεπτά, πόσο χρόνο περάσατε περπατώντας;

_____ λεπτά ανά ημέρα δεν γνωρίζω/δεν είμαι βέβαιος

7. Κατά τις τελευταίες 7 ημέρες, πόσο χρόνο περάσατε καθισμένος/η σε μια συνηθισμένη μέρα; Ο χρόνος αυτός μπορεί να περιλαμβάνει το χρόνο που περνάτε καθισμένος/η στο σπίτι, στο γραφείο, στο

αυτοκίνητο, όταν διαβάζετε, όταν είστε με φίλους, ξεκουράζεστε σε πολυθρόνα ή βλέπετε τηλεόραση, αλλά δεν περιλαμβάνει τον ύπνο.

_____ ώρες ανά ημέρα

δεν γνωρίζω/δεν είμαι βέβαιος

Τέλος του ερωτηματολογίου. Σας ευχαριστούμε για τη συμμετοχή σας.

Παντζαροχυμός και άσκηση σε γυναίκες

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Δ
ΕΝΤΥΠΟ ΣΥΛΛΟΓΗΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Παντζαροχυμός και άσκηση σε γυναίκες

Όνοματεπώνυμο:.....

Μέτρηση ...^η: Σκεύασμα Ημερομηνία:.....

Σωματικό βάρος (kg):..... Ύψος (m):.....

Αιματοκρίτης 0':.....

BP (mmHg) 0':..... BP (mmHg) 150':.....

FeNO 0':..... FeNO 150':.....

----- 5min : 20Watt -----

AT (Watt):..... 90%AT (Watt):.....

----- 10min:Watt -----

Στάδιο (λεπτό)	Κ.Σ. (bpm)	Borg
0		
2 ^ο		
4 ^ο		
6 ^ο		
8 ^ο		
10 ^ο		

----- 10sec maximal (75g/kgΣΒ):kg -----

Pmax (RPM):..... = [*60/6 * επιβάρυνση *10] (Watt)

----- 10min: rest -----

----- Ramp test -----

Ramp test

Στάδιο (λεπτό)	Ένταση (Watt)	Κ.Σ. (bpm)	Borg
0	Ηρεμία		
1 ^ο	20		
2 ^ο	35		
3 ^ο	50		
4 ^ο	65		
5 ^ο	80		
6 ^ο	95		
7 ^ο	110		
8 ^ο	125		
9 ^ο	140		
10 ^ο	155		
11 ^ο	170		
12 ^ο	185		
13 ^ο	200		
14 ^ο	215		
15 ^ο	230		

----- Stop cycling -----

BP (mmHg) 5':.....

BP (mmHg) 10':.....

BP (mmHg) 15':.....