

ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΦΥΣΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΖΩΗΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΧΡΟΝΙΑΣ ΑΣΚΗΣΗΣ ΣΤΗΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΣΤΟ
ΓΑΣΤΡΟΚΝΗΜΙΟ ΜΥ ΕΠΙΜΥΩΝ**

ΣΟΦΙΑΣ Γ. ΤΣΑΛΟΥΧΙΔΟΥ

Πτυχιούχου Φυσικής Αγωγής

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ

2008

ΣΟΦΙΑΣ Γ. ΤΣΑΛΟΥΧΙΔΟΥ

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΧΡΟΝΙΑΣ ΑΣΚΗΣΗΣ ΣΤΗΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΣΤΟ ΓΑΣΤΡΟΚΝΗΜΙΟ
ΜΥ ΕΠΙΜΥΩΝ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Υποβλήθηκε στο Τμήμα Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού,
Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών Φυσική Δραστηριότητα και Ποιότητα Ζωής
Ημερομηνία Προφορικής Εξέτασης: 3 Απριλίου, 2008

Εξεταστική επιτροπή

Αναπληρωτής καθηγητής Βασίλης Μούγιος, επιβλέπων

Καθηγήτρια Μαργαρίτα Χατζοπούλου-Κλαδαρά, Μέλος Τριμελούς Συμβουλευτικής Επι-
τροπής

Καθηγητής Αλέξανδρος Κορτσάρης, Μέλος Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής

Καθηγητής Νικόλαος Κοκόλης, Εξεταστής

Καθηγητής Δημήτριος Κουρέτας, Εξεταστής

Επίκουρος καθηγητής Αθανάσιος Τζιαμούρτας, Εξεταστής

Επίκουρος καθηγητής Ιωάννης Φατούρος, Εξεταστής

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Είναι εξαιρετικά δύσκολο για μένα να εκφράσω μέσα σε λίγες λέξεις αυτά που νιώθω τη στιγμή αυτή. Με καθοδηγητή της προσπάθειάς μου τον κύριο Μούγιο, βρίσκομαι τώρα στην ευχάριστη θέση να έχω στα χέρια μου τη διδακτορική διατριβή μου. Για τρίτη πλέον φορά, με πρώτη αυτή της διπλωματικής μου εργασίας και δεύτερη της μεταπτυχιακής μου διατριβής, με έκανε να πιστέψω ακόμη περισσότερο στις δυνατότητές μου και να ανέβω ένα ακόμη σκαλοπάτι γνώσης. Από τα βάθη της καρδιάς μου, θέλω να τον ευχαριστήσω για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και για όλα όσα μου πρόσφερε και μου δίδαξε, αλλά και μου διδάσκει ακόμη.

Θέλω να ευχαριστήσω επίσης την καθηγήτρια κ. Μαργαρίτα Χατζοπούλου-Κλαδαρά και τον καθηγητή κ. Αλέξανδρο Κορτσάρη, μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, καθώς και τον καθηγητή κ. Νίκο Κοκόλη, τον καθηγητή κ. Δημήτρη Κουρέτα, τον επίκουρο καθηγητή κ. Θανάση Τζιαμούρτα και τον επίκουρο καθηγητή κ. Γιάννη Φατούρο, μέλη της εξεταστικής επιτροπής, για την προθυμία τους να εξετάσουν την διατριβή μου και για τις χρήσιμες παρατηρήσεις και υποδείξεις τους στην εκπόνησή της.

Επίσης, θέλω να ευχαριστήσω την ερευνητική ομάδα του εργαστηρίου μας για την πολύ καλή συνεργασία και παρέα που έχουμε. Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στους γονείς και τον αδελφό μου για την υποστήριξή τους όλα αυτά τα χρόνια.

ΣΤ

Θεσσαλονίκη, 3/4/2008

© Σοφία Γ. Τσαλουχίδου

© Α.Π.Θ.

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΧΡΟΝΙΑΣ ΑΣΚΗΣΗΣ ΣΤΗΝ ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΣΤΟ ΓΑΣΤΡΟΚΝΗΜΙΟ ΜΥ
ΕΠΙΜΥΩΝ

ISBN

«Η έγκριση της παρούσας Διδακτορικής Διατριβής από το Τμήμα Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμών της συγγραφέα» (Ν. 5343/1932, άρθρο 202, παρ. 2)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σοφία Τσαλουχίδου: Επίδραση της χρόνιας άσκησης στην απόπτωση στο γαστροκνήμιο μυ επιμύων

(Υπό την επίβλεψη του Δρ. Βασίλη Μούγιου)

Η απόπτωση ή προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος αποτελεί μια βιολογική διεργασία ιδιαίτερης σημασίας για την ομαλή ανάπτυξη και λειτουργία του οργανισμού. Ωστόσο λίγα είναι γνωστά για το αν και πώς η άσκηση επηρεάζει την απόπτωση. Ανασκόπηση της βιβλιογραφίας δείχνει ότι ελάχιστες έρευνες έχουν εξετάσει την επίδραση της χρόνιας άσκησης στην απόπτωση δίνοντας αντιφατικά αποτελέσματα. Επιπλέον, ερευνητικό ενδιαφέρον προκύπτει από τη διαπίστωση ότι συγκεκριμένα λιπίδια εμπλέκονται στην αποπτωτική διεργασία, ενώ υπάρχει έλλειψη μελετών σχετικά με την επίδραση της χρόνιας άσκησης στις συγκεκριμένες και στο προφίλ λιπαρών οξέων αυτών των λιπιδίων. Κύριος σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να εξετάσει την επίδραση οκτώ εβδομάδων εθελοντικής άσκησης σε τροχό στον κατακερματισμό του DNA (ως δείκτη απόπτωσης), στη συγκέντρωση μιας πρωτεΐνης που εμπλέκεται στην απόπτωση (του παράγοντα νέκρωσης όγκων α ή TNF α) και στη δραστηκότητα δύο ενζύμων, της κασπάσης 3, που ελέγχει την αποπτωτική διεργασία, και της οξειδάσης του κυτοχρώματος *c* (CCO), ως δείκτη οξειδωτικής ικανότητας, στον έσω γαστροκνήμιο μυ επιμύων. Πρόσθετος σκοπός ήταν να εξετάσει την επίδραση της άσκησης στη συγκέντρωση και στο προφίλ λιπαρών οξέων τριών λιπιδίων που εμπλέκονται άμεσα στην αποπτωτική διεργασία (καρδιολιπίνη, σφιγγομυελίνη και κεραμίδιο) και των υπόλοιπων φωσφολιπιδίων (φωσφατιδυλοχολίνη, φωσφατιδυλαιθανολαμίνη, φωσφατιδυλινοσιτόλη, φωσφατιδυλοσερίνη και λυσοφωσφατιδυλοχολίνη) για το σχηματισμό μιας πληρέστερης εικόνας. Οι παραπάνω παράμετροι συγκρίθηκαν στο γαστροκνήμιο μυ έντεκα προπονημένων και δεκατεσσάρων απροπόνητων αρρένων επιμύων Wistar. Ο κατακερματισμός του DNA εκτιμήθηκε μέσω της μέτρησης νουκλεοσωμάτων στο κυτταρόπλασμα με ενζυμικό ανοσοπροσδιορισμό (EIA). Ο TNF α μετρήθηκε επίσης με EIA. Οι δραστηκότητες της κασπάσης 3 και της CCO μετρήθηκαν με κινητικές φωτομετρικές μεθόδους. Τα λιπίδια εκχυλίστηκαν, διαχωρίστηκαν με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας και μετρήθηκαν με αέρια χρωματογραφία. Οι προπονημένοι επίμυες είχαν σημαντικά ($P < 0,05$) υψηλότερη δραστηκότητα CCO (γεγονός που δείχνει ότι η άσκηση προκάλεσε αερόβιες προσαρμογές), χαμηλότερη συγκέντρωση φωσφατιδυλινοσιτόλης και χαμηλότερη δραστηκότητα κασπάσης 3 σε σύγκριση με τους απροπόνητους. Το προφίλ των λιπαρών οξέων των λιπιδίων που μετρήθηκαν δεν διέφερε μεταξύ των ομάδων με ελάχιστες εξαιρέσεις. Οι δυο ομάδες δεν διέφεραν επίσης ως προς τις υπόλοιπες παραμέτρους που με-

τρήθηκαν. Τα ευρήματά μας δείχνουν ότι από τις 5 ουσίες που εμπλέκονται στη σηματοδότηση της απόπτωσης και που μετρήθηκαν στο γαστροκνήμιο μυ επιμύων (TNF α , κασπάση 3, καρδιολιπίνη, σφιγγομυελίνη και κεραμίδιο), μόνο η κασπάση 3 επηρεάστηκε από τη χρόνια άσκηση στο τροχό. Δεδομένου όμως ότι η διεργασία της απόπτωσης αυτή καθαυτή δεν επηρεάστηκε (όπως τουλάχιστο προκύπτει από την απουσία διαφοράς στον κατακερματισμό του DNA μεταξύ προπονημένων και απροπόνητων ζώων), φαίνεται ότι η μεταβολή της κασπάσης 3 με τη χρόνια άσκηση δεν ήταν αρκετή για να επηρεάσει τη διεργασία της απόπτωσης .

ABSTRACT

Sofia Tsalouhidou: Effect of chronic exercise on apoptosis in rat gastrocnemius muscle

(Under the supervision of Dr. Vassilis Mougios)

Apoptosis, or programmed cell death, is an important biological process for the normal development and function of the body. However, little is known about whether and how exercise affects apoptosis. A literature review shows that few studies have examined the effect of chronic exercise on apoptosis, with opposing data. Additionally, research interest arises from the fact that specific lipids are involved in the apoptotic process, while there are few studies on the effect of chronic exercise on the concentration and fatty acid profile of these lipids. The main purpose of the present study was to examine the effect of eight weeks of voluntary wheel running on DNA fragmentation (as apoptotic index), the concentration of a protein involved in apoptosis (tumor necrosis factor α , TNF α) and the activity of two enzymes, caspase 3, which regulates the apoptotic process, and cytochrome c oxidatise (CCO), as oxidative capacity index, in rat gastrocnemius lateralis muscle. An additional aim of the study was to examine the effects of exercise on the concentration and fatty acid composition of three lipids involved directly in the apoptotic process (cardiolipin, sphingomyelin, and ceramide) and the remaining phospholipids ((phosphatidyl choline, phosphatidyl ethanolamine, phosphatidyl inositol, phosphatidyl serine, and lysophosphatidyl choline) in order to obtain a clearer view. The above parametres were compared in the gastrocnemius muscle of eleven trained and fourteen untrained male Wistar rats. DNA fragmentation was estimated by the measurment of nucleosomes in the cytoplasm with enzyme immunoassay (EIA). TNF α was also assayed with EIA. Caspase 3 and CCO activities were measured through kinetic photometric methods. Lipids were extracted, separated by thin-layer chromatography and determined by gas chromatography. The trained rats had significantly ($P < 0.05$) higher CCO activity (which shows that exercise caused aerobic adaptations), loewer phosphatidyl inositol concentration and caspase 3 activity compared with untrained rats. The fatty acid composition of the lipids that were measured was not different between groups with few exceptions. Also the two groups did not differ in the other parameters which were measured. Our findings suggest that of the five substances involved in the signaling of apoptosis and were measured in rats gastrocnemius muscle (TNF α , caspase 3, cardiolipin, sphingomyelin, and ceramide) only caspase 3 was affected by chronic wheel running. However, because the apoptotic process itself was not affected (at least as concluded from the absence of difference in DNA fragmentation between trained and

untrained rats), it seems than the change in caspase 3 with chronic exercise was not sufficient to affect the apoptotic process.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	ix
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	ix
ABSTRACT	ix
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ	ix
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	ix
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ	ix
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΩΝ	ix
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ	7
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ	26
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	27
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	36
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	64
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	70
ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ	70
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	71

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Λιπαρά οξέα των οποίων μεθυλεστέρες ανιχνεύτηκαν	44
Πίνακας 2. Αλδεΐδες των οποίων διμεθυλακετάλες ανιχνεύτηκαν	45
Πίνακας 3. Ποσοστιαία γραμμομοριακή σύσταση των λιπαρών οξέων της τροφής των επιμύων	45
Πίνακας 4. Συγκεντρώσεις των επιμέρους λιπαρών οξέων και των αλδεϋδών της φωσφατιδυλοχολίνης και της φωσφατιδυλαιθανολαμίνης του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων	46
Πίνακας 5. Ποσοστιαία κατανομή των επιμέρους λιπαρών οξέων και των αλδεϋδών της φωσφατιδυλοχολίνης και της φωσφατιδυλαιθανολαμίνης του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων	48
Πίνακας 6. Δείκτες του προφίλ λιπαρών οξέων της φωσφατιδυλοχολίνης και της φωσφατιδυλαιθανολαμίνης του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων	50
Πίνακας 7. Συγκεντρώσεις των επιμέρους λιπαρών οξέων της καρδιολιπίνης και της φωσφατιδυλινοσιτόλης του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων	51
Πίνακας 8. Ποσοστιαία κατανομή των επιμέρους λιπαρών οξέων της καρδιολιπίνης και της φωσφατιδυλινοσιτόλης του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων	52
Πίνακας 9. Δείκτες του προφίλ λιπαρών οξέων της καρδιολιπίνης και της φωσφατιδυλινοσιτόλης των απροπόνητων και προπονημένων επιμύων	53
Πίνακας 10. Συγκεντρώσεις των επιμέρους λιπαρών οξέων της φωσφατιδυλοσερίνης και της λυσοφωσφατιδυλοχολίνης του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων	54
Πίνακας 11. Ποσοστιαία κατανομή των επιμέρους λιπαρών οξέων της φωσφατιδυλοσερίνης και της λυσοφωσφατιδυλοχολίνης του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων	55

Πίνακας 12. Δείκτες του προφίλ λιπαρών οξέων της φωσφατιδυλοσερίνης και της λυσοφωσφατιδυλοχολίνης των απροπόνητων και προπονημένων επιμύων	56
Πίνακας 13. Συγκεντρώσεις των επιμέρους λιπαρών οξέων της σφιγγομυελίνης και του κεραμιδίου του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων	57
Πίνακας 14. Ποσοστιαία κατανομή των επιμέρους λιπαρών οξέων της σφιγγομυελίνης και του κεραμιδίου του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων	58
Πίνακας 15. Δείκτες του προφίλ λιπαρών οξέων της σφιγγομυελίνης και του κεραμιδίου των απροπόνητων και προπονημένων επιμύων	59
Πίνακας 16. Συγκεντρώσεις επιμέρους λιπαρών οξέων και των αλδεϋδών των ολικών φωσφολιπιδίων του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων	60
Πίνακας 17. Ποσοστιαία κατανομή των επιμέρους λιπαρών οξέων και των αλδεϋδών των ολικών φωσφολιπιδίων του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων	61
Πίνακας 18. Δείκτες του προφίλ λιπαρών των ολικών φωσφολιπιδίων του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων	62
Πίνακας 19. Συγκεντρώσεις φωσφολιπιδίων του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων	62

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1. Σχηματική αναπαράσταση του μηχανισμού της απόπτωσης	3
Σχήμα 2. Σχηματική αναπαράσταση μορφολογικών χαρακτηριστικών της απόπτωσης	5
Σχήμα 3. Σχηματική αναπαράσταση συναρμολόγησης ιστονών και DNA στο νουκλεόσωμα	9
Σχήμα 4. Απεικόνιση του σηματοδοτικού μονοπατιού του TNFα	13
Σχήμα 5. Σχηματική αναπαράσταση καρδιολιπίνης, σφιγγομυελίνης και κεραμιδίου	16
Σχήμα 6. Σχηματική αναπαράσταση φωσφατιδυλοχολίνης, φωσφατιδυλαιθανολαμίνης, φωσφατιδυλινοσιτόλης και φωσφατιδυλοσερίνης	21
Σχήμα 7. Σχηματική αναπαράσταση αέριου χρωματογράφου	34
Σχήμα 8. Εβδομαδιαίοι μέσοι όροι της καλυπτόμενης απόστασης από την προπονημένη ομάδα	36
Σχήμα 9. Καταλυτική συγκέντρωση της οξειδάσης της CCO στο γαστροκνήμιο μυ απροπόνητων και προπονημένων επιμύων	37
Σχήμα 10. Παρουσία νουκλεοσωμάτων στο κυταρρόπλασμα στο γαστροκνήμιο μυ απροπόνητων και προπονημένων επιμύων	38
Σχήμα 11. Συγκέντρωση του TNFα στο γαστροκνήμιο μυ απροπόνητων και προπονημένων επιμύων	39
Σχήμα 12. Δραστικότητα της κασπάσης 3 στο γαστροκνήμιο μυ απροπόνητων και προπονημένων επιμύων	40
Σχήμα 13. Τυπικός διαχωρισμός φωσφολιπιδίων γαστροκνημίου μυός επιμύων με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας	42
Σχήμα 14. Τυπικό χρωματογράφημα μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων προερχόμενων από φωσφολιπίδιο (φωσφατιδυλαιθανολαμίνη) γαστροκνημίου μυός επιμύων	43
Σχήμα 15. Εκατοστιαία γραμμομοριακή κατανομή των φωσφολιπιδίων στο γαστροκνήμιο μυ απροπόνητων και προπονημένων επιμύων	63

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΩΝ

A/K	Λόγος ακόρεστων προς κορεσμένα λιπαρά οξέα
ΔΑ	Δείκτης ακορεστότητας
CCO	Οξιδάση του κυτοχρώματος c
CL	Καρδιολιπίνη
LPC	Λυσοφωφατιδυλοχολίνη
PC	Φωφατιδυλοχολίνη
PE	Φωσφατιδυλαιθανολαμίνη
PI	Φωσφατιδυλινοσιτόλη
PS	Φωσφατιδυλοσερίνη
SD	Τυπική απόκλιση
SM	Σφιγγομυελίνη
TNF α	Παράγοντας νέκρωσης όγκων α

Επίδραση της χρόνιας άσκησης στην απόπτωση στο γαστροκνήμιο μυ επιμύων

Είναι ευρέως γνωστό ότι η άσκηση προκαλεί πλήθος προσαρμογών σε όργανα και ιστούς, που οδηγούν στη βελτίωση της λειτουργίας του οργανισμού, και αναγνωρίζεται σήμερα ως ένας από τους σημαντικότερους μη γενετικούς παράγοντες προστασίας της υγείας και αύξησης της ευεξίας του ανθρώπου (Department of Health and Human Services 1996). Ωστόσο λίγα είναι γνωστά για το αν και πώς η άσκηση επηρεάζει την απόπτωση, μια βιολογική διεργασία θεμελιώδους σημασίας για την ομαλή λειτουργία του οργανισμού. Καθώς η άσκηση προκαλεί μεταβολές σε αρκετούς παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν την απόπτωση, όπως αύξηση της έκκρισης γλυκοκορτικοειδών ορμονών, αυξητικών παραγόντων και κυτταροκινών, αυξημένη παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου και αύξηση της συγκέντρωσης ιόντων ασβεστίου στο σαρκόπλασμα, είναι λογική η επιθυμία και δικαιολογημένη η προσπάθεια αρκετών ερευνητών να μελετήσουν την επίδραση της άσκησης στην απόπτωση.

Την προσοχή του εργαστηρίου μας—του οποίου κύριο ενδιαφέρον είναι η επίδραση της άσκησης στο μεταβολισμό των λιπιδίων—για την απόπτωση προκάλεσε το γεγονός ότι στη σηματοδότηση της εμπλέκονται, εκτός άλλων ουσιών, και λιπίδια όπως η καρδιολιπίνη (Ott et al. 2007), η σφινγγομυελίνη (Cuvillier 2002) και το κεραμίδιο (Gulbins 2003), τόσο από την άποψη της συγκέντρωσής τους (Cuvillier 2002, Gulbins 2003, Ott et al. 2007) όσο και από την άποψη της σύστασης τους σε λιπαρά οξέα (Bernardi et al. 2002). Οι επιδράσεις της άσκησης στις συγκεντρώσεις και στο προφίλ λιπαρών οξέων των λιπιδίων αυτών είναι είτε αβέβαιες είτε άγνωστες. Οι έρευνες εξάλλου που έχουν εξετάσει την επίδραση χρόνιας άσκησης στην απόπτωση είναι ελάχιστες και τα αποτελέσματά τους αντιφατικά. Περιορισμένα είναι τέλος και τα στοιχεία σχετικά με την επίδραση της χρόνιας άσκησης στις συγκεντρώσεις και άλλων ουσιών που εμπλέκονται στη διεργασία της απόπτωσης, όπως η κασπάση 3 και ο παράγοντας νέκρωσης όγκων α (TNFα).

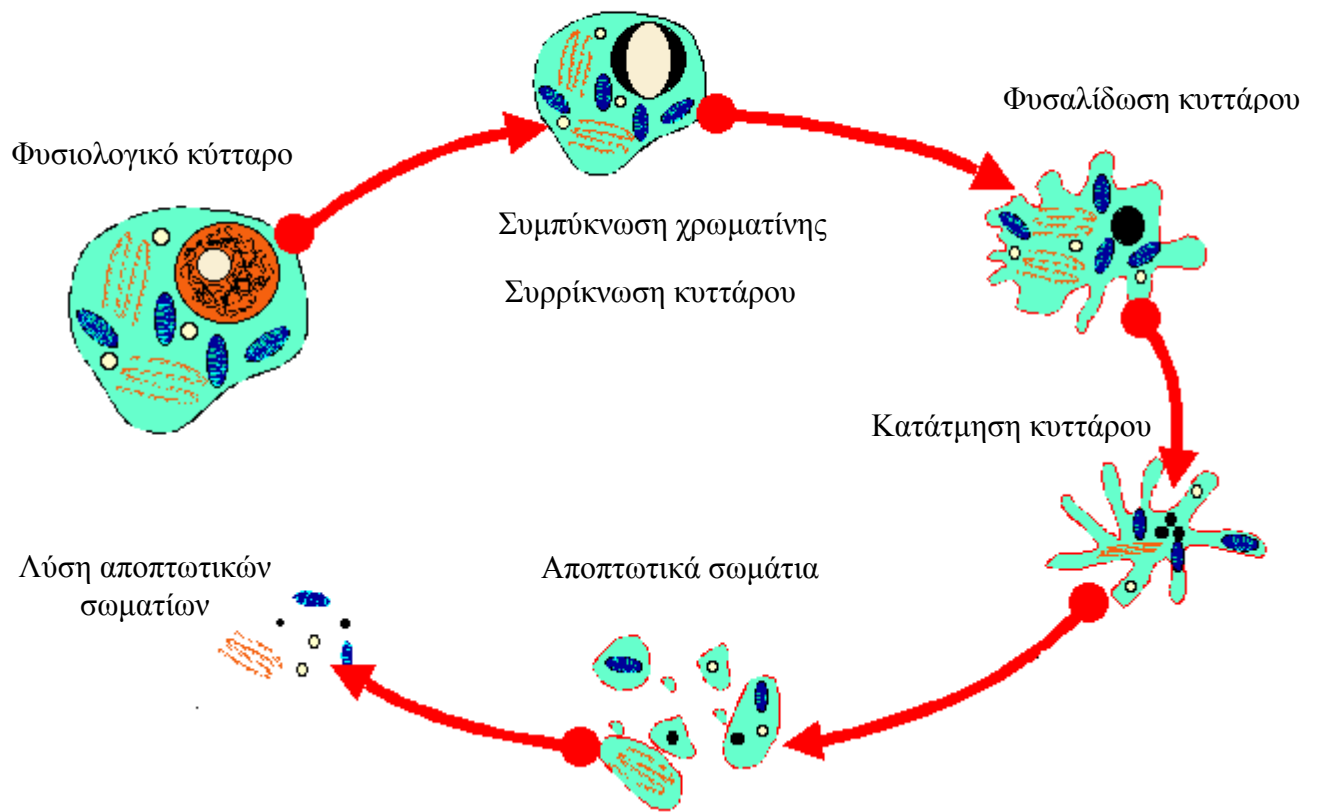
Στη βάση των παραπάνω ελλείψεων της βιβλιογραφίας σχεδιάστηκε και εκπονήθηκε η παρούσα διδακτορική διατριβή με σκοπό να εξετάσει την επίδραση χρόνιας άσκησης στην απόπτωση και στις συγκεντρώσεις ουσιών που εμπλέκονται στη σηματοδότησή της στο σκελετικό μυ επιμύων.

Περιγραφή της απόπτωσης

Απόπτωση ή προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος είναι η διεργασία της συντεταγμένης και «διακριτικής» καταστροφής ενός κυττάρου, σε αντίθεση με τη νέκρωση, η οποία προκαλείται από απότομες κυτταρικές βλάβες. Η απόπτωση συμβάλλει είτε στην ομαλή ανάπτυξη ενός οργανισμού είτε στην απαλλαγή του από μολυσμένα κύτταρα. Ένα ευρύ φάσμα ερεθισμάτων μπορεί να διεγείρει την απόπτωση και να επάγει γρήγορο κυτταρικό θάνατο. Τα ερεθίσματα αυτά μπορεί να είναι φυσιολογικά, όπως ορμόνες, ή παθολογικά, όπως ιοντίζουσα ακτινοβολία και ισχαιμία. Η απορρύθμιση της απόπτωσης συνδέεται με πλήθος παθολογικών καταστάσεων, όπως ενδοκρινικές διαταραχές, διαταραχές του μεταβολισμού, νευροεκφυλιστικές διαταραχές, φλεγμονώδεις μυοπάθειες, μυϊκές δυστροφίες, ισχαιμία, καρκίνος, καρδιοπάθειες και AIDS. Γι' αυτό υπάρχει τεράστιο ερευνητικό ενδιαφέρον για την ανακάλυψη των μηχανισμών της απόπτωσης, ώστε να βρεθούν αποτελεσματικοί τρόποι επηρεασμού της.

Μορφολογικά χαρακτηριστικά της απόπτωσης

Στον οργανισμό ενός ενήλικα πεθαίνουν καθημερινά περίπου 50 ως 70 χιλιάδες κύτταρα λόγω απόπτωσης. Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά της (Σχήμα 1), όπως παρατηρούνται σε οπτικό και ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, είναι η συρρίκνωση του κυττάρου, η περιφερειακή διάταξη της χρωματίνης, η επιφανειακή φυσαλίδωσή του, η «σύσπαση» του κυττάρου λόγω διαταραχής του κυτταροσκελετού, η κατάτμηση του κυττάρου σε ένα ή περισσότερα αποπτωτικά σωματίδια και τελικά η φαγοκυττάρωση των αποπτωτικών σωματίων από μακροφάγα ή παρakeίμενα κύτταρα ή η απόρριψη των αποπτωτικών σωματίων μέσα στον αυλό των κοίλων οργάνων (Ziegler & Groscurth 2004). Λόγω της ταχύτητας της απόπτωσης (εξαφάνιση του κυττάρου σε 3 ώρες) και της απουσίας φλεγμονής, και παρά την απώλεια σημαντικού αριθμού κυττάρων, μόνο ένα μικρό ποσοστό αποπτωτικών κυττάρων γίνεται ορατό σε ιστολογικές τομές (Fidzianska 2002).

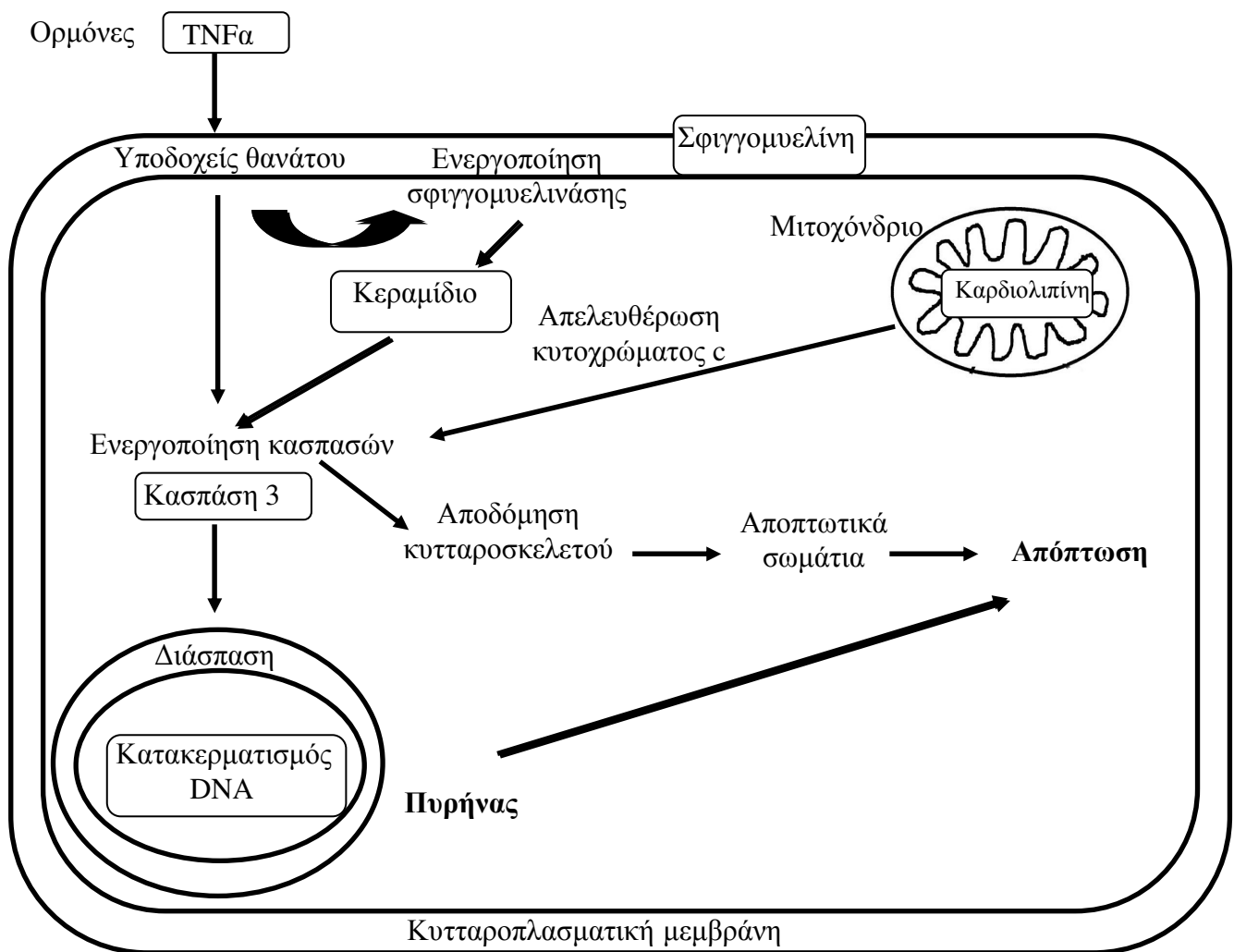


Σχήμα 1. Σχηματική αναπαράσταση μορφολογικών χαρακτηριστικών της απόπτωσης.
(www.microbiologybytes.com)

Μηχανισμός της απόπτωσης

Η απόπτωση μπορεί να προκληθεί από 2 εναλλακτικά σηματοδοτικά μονοπάτια (Σχήμα 2): είτε εξωγενείς παράγοντες προσδένονται σε υποδοχείς θανάτου της κυτταροπλασματικής μεμβράνης είτε εσωτερικά κυτταρικά γεγονότα οδηγούν σε απελευθέρωση ειδικών μορίων κυτταρικού θανάτου από τα μιτοχόνδρια. Αναλυτικότερα, εξωκυτταρικά ερεθίσματα, όπως κυτταροκίνες (παράγοντες νέκρωσης όγκων) και ορμόνες, συνδέονται με υποδοχείς της κυτταροπλασματικής μεμβράνης γνωστούς ως υποδοχείς θανάτου. Η σύνδεση αυτή προκαλεί την ενεργοποίηση μιας οικογένειας ενζύμων, των κασπασών, η οποία με τη σειρά της οδηγεί σε έναν καταρράκτη γεγονότων στο κύτταρο, σημαντικότερα από τα οποία (λειτουργικά και μορφολογικά) είναι η διάσπαση της πυρηνικής μεμβράνης, ο κατακερματισμός του DNA σε μικρότερα τμήματα, η αποδόμηση του κυτταροσκελετού και στη συνέχεια η δημιουργία αποπτωτικών σωμάτων. Μέσω των διαδοχικών αυτών γεγονότων το κύτταρο οδηγείται σε απόπτωση. Η πρόσδεση εξωκυτταρικών μορίων στους υποδοχείς της κυτταροπλασματικής μεμβράνης μπορεί επίσης να προκαλέσει τη μετακίνηση μιας σφιγγομυελινάσης από το κυτταρόπλασμα στη μεμβράνη και την παραγωγή κεραμιδίου από σφιγγομυελίνη (Gulbins 2003). Το κεραμίδιο με τη σειρά του προκαλεί μια τέτοια αλλαγή στη δομή της μεμβράνης, που έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των κασπασών, που όπως αναφέρθηκε πρωταγωνιστούν στην απόπτωση.

Στα ενδοκυτταρικά ερεθίσματα που μπορεί να προκαλέσουν απόπτωση συγκαταλέγεται η υπεροξείδωση της καρδιολιπίνης, που μπορεί να συμβεί κατά την άσκηση ως αποτέλεσμα παραγωγής δραστικών ειδών οξυγόνου. Αυτή μπορεί να οδηγήσει σε αποκόλληση του κυτοχρώματος c από την εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη. Η απελευθέρωση κυτοχρώματος c μπορεί να προκαλέσει την ενεργοποίηση κασπασών και να οδηγήσει το κύτταρο σε απόπτωση μέσω της διαδικασίας που μόλις περιγράφηκε.



Σχήμα 2. Σχηματική αναπαράσταση του μηχανισμού της απόπτωσης. Μέσα σε περίγραμμα σημειώνονται οι ουσίες που μελετήθηκαν.

Σκελετικός μυς και απόπτωση

Ο σκελετικός μυς παρουσιάζει κάποιες ιδιαιτερότητες που αυξάνουν την πολυπλοκότητα του αποπτωτικού μηχανισμού (Adhihetty & Hood 2003). Τα μυϊκά κύτταρα είναι πολυπύρηννα, αυξάνοντας έτσι την πιθανότητα αντίχνευσης αποπτωτικών πυρήνων. Επιπλέον ο αριθμός των μυϊκών μιτοχονδρίων εξαρτάται από τον τύπο μυϊκής ίνας και από την προπόνηση. Οι διαφορές στο μιτοχονδριακό περιεχόμενο μεταξύ τύπου I (οξειδωτικών), τύπου IIα (οξειδογλυκολυτικών) και τύπου IIβ (γλυκολυτικών) μυϊκών ινών φτάνουν τις 4 φορές, ενώ η αερόβια προπόνηση μπορεί να διπλασιάσει το μιτοχονδριακό περιεχόμενο ενός μυός. Μελέτες δείχνουν ότι οι τύπου IIα και IIβ μυϊκές ίνες είναι πιο επιρρεπείς στην απόπτωση από τις τύπου I (Arslan et al. 2002). Τέλος, οι μυϊκές ίνες περιέχουν 2 διαφορετικούς πληθυσμούς μιτοχονδρίων (κάτω από το σαρκείλεμα και μεταξύ των μυοϊνιδίων), οι οποίοι μπορεί να σχετίζονται διαφορετικά με την απόπτωση (Adhihetty & Hood 2003).

Η παρατεταμένη άσκηση μπορεί να προκαλέσει βλάβη του σκελετικού μυός, με την έκκεντρη άσκηση να θεωρείται πιο καταστρεπτική από την ισομετρική (Carraro & Franceschi 1997). Παλαιότερα επικρατούσε η άποψη ότι η βλάβη προερχόταν από φλεγμονώδεις διαδικασίες και διαδικασίες νέκρωσης. Πρόσφατα δεδομένα όμως ανέδειξαν τον σημαντικό ρόλο της απόπτωσης κατά την διάρκεια και μετά από έκκεντρη άσκηση (Podhorska-Okolow et al. 1998, Sandri et al. 1995, 1997).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

Η βιβλιογραφική ανασκόπηση που ακολουθεί θα παρουσιάσει έρευνες γύρω από την επίδραση της άσκησης στην απόπτωση. Για τη διευκόλυνση αυτής της παρουσίασης, θα προηγηθεί μια περιγραφή των μεθόδων εκτίμησης της απόπτωσης. Θα ακολουθήσει η παρουσίαση κάθε ουσίας που μετρήθηκε στη παρούσα διατριβή. Η παρουσίαση θα περιλαμβάνει ό,τι είναι γνωστό για τη σχέση της ουσίας με την απόπτωση και για την επίδραση της άσκησης στη συγκέντρωση της ουσίας αυτής.

Τεχνικές μέτρησης της απόπτωσης

Οι τεχνικές μέτρησης της απόπτωσης βασίζονται σε μορφολογικές παρατηρήσεις, βιοχημικές και ανοσοχημικές μεθόδους και στην ανίχνευση του κατακερματισμένου DNA in situ. Οι κυριότερες μέθοδοι είναι η ηλεκτρονική μικροσκοπία, μέθοδοι ηλεκτροφόρησης (DNA laddering) και ανοσοστύπωσης (Western blotting), η μέθοδος TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated d-UTP nick end labeling), ο ενζυμικός ανοσοπροσδιορισμός (enzyme immunoassay, EIA) και η κυτταρομετρία ροής.

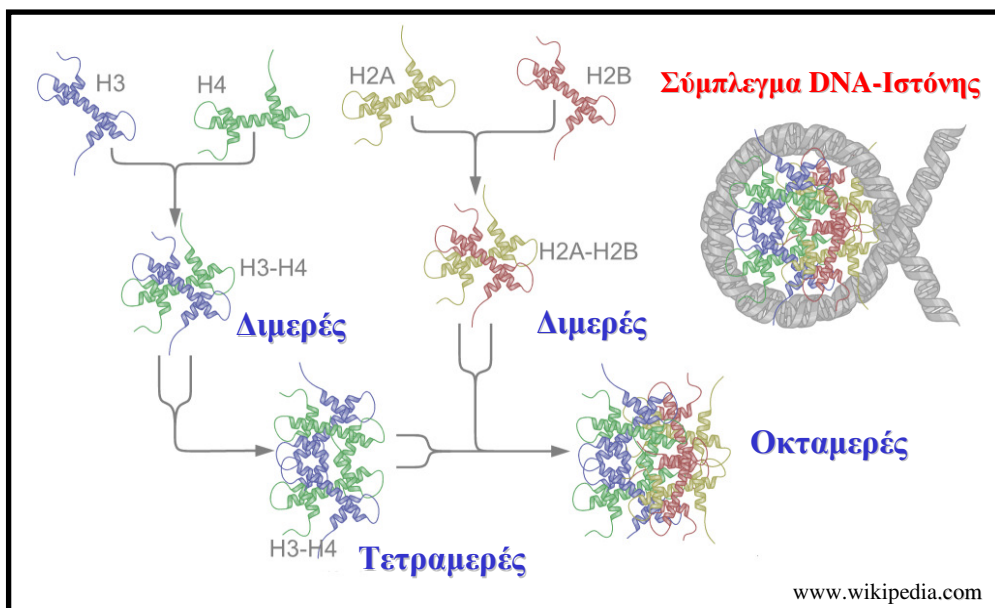
Από παρατηρήσεις στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο μπορεί να διακρίνει κανείς δομικές αλλαγές της απόπτωσης που λαμβάνουν χώρα σε δύο στάδια: σχηματισμό αποπτωτικών σωματίων και φαγοκυττάρωση των σωματίων αυτών από άλλα κύτταρα. Παρόλο που ο εντοπισμός αποπτωτικών κυττάρων στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο επιτρέπει την παρατήρηση των λεπτομερειών της μορφολογίας και τη διάκρισή τους από γειτονικά ζωντανά κύτταρα, περιορίζει τη μελέτη σε μικρή έκταση του εξεταζόμενου ιστού. Ένα άλλο μειονέκτημα της τεχνικής αυτής είναι η δυσκολία διάκρισης μεταξύ αποπτωτικών και νεκρωτικών κυττάρων.

Μια από τις πιο διαδεδομένες τεχνικές ανίχνευσης της απόπτωσης είναι η ηλεκτροφόρηση DNA σε πηκτή αγαρόζης στο πλαίσιο της τεχνικής κλιμάκωσης DNA (laddering). Το ηλεκτρικό πεδίο που εφαρμόζεται στα άκρα της πηκτής αναγκάζει τα αποπτωτικά θραύσματα του DNA να μετακινηθούν ανάλογα με το μέγεθος τους (μοριακό βάρος). Τα μόρια του DNA μετακινούνται από τον αρνητικό προς το θετικό πόλο εξαιτίας του αρνητικού φορτίου των φωσφορικών του ομάδων και τα μεγαλύτερα μόρια μετακινούνται πιο αργά μέσω του πλέγματος της αγαρόζης. Μετά τον διαχωρισμό των τμημάτων χρησιμοποιείται χρωστική ουσία (βρωμιούχο αιθίδιο), η οποία παγιδεύεται ανάμεσα στις βάσεις του DNA. Μετά από έκθεση σε υπεριώδες φως, φωσφορίζει δίνοντας πορτοκαλοκόκκινο χρώμα. Τα τμήματα του DNA σχηματίζουν μια σκάλα μέσα στην πηκτή, σκάλα που έδωσε το όνομα στην τεχνική. Μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι θεωρείται κατάλληλη για μελέτη της απόπτωσης μόνο σε καλλιέργειες κυττάρων (Otsuki et al. 2003).

Η τεχνική ανοσοσύτωσης βασίζεται στη χρήση αντισωμάτων έναντι υποστρωμάτων κασπασών, πρωτεϊνών σχετικών με την απόπτωση, κυκλινών (πρωτεϊνών που ελέγχουν τον κυτταρικό κύκλο) και παραγόντων γονιδιακής καταστολής (p53). Η τεχνική TUNEL στηρίζεται στην ειδική σύνδεση του ενζύμου τελική δεοξυνουκλεοτιδυλοτρανσφεράση με τα 3' άκρα των θραυσμάτων του DNA και στην ενσωμάτωση τριφωσφορικής δεοξουριδίνης (dUTP) συνδεδεμένης με βιοτίνη σε αυτά τα άκρα. Στη συνέχεια χρησιμοποιείται αντίσωμα έναντι της βιοτινυλιωμένης dUTP, το οποίο είναι συνδεδεμένο με υπεροξιδάση. Η υπεροξιδάση με τη σειρά της καταλύει τη μετατροπή ενός άγχρωμου υποστρώματος σε μπλε προϊόν. Μειονέκτημα της τεχνικής είναι η δυσκολία διάκρισης μεταξύ αποπτωτικών και νεκρωτικών κυττάρων.

Ο ενζυμικός ανοσοπροσδιορισμός εντάσσεται στις ποσοτικές και ταυτόχρονα πολύ ευαίσθητες μεθόδους μέτρησης της απόπτωσης. Η ανίχνευση αποπτωτικών κυττάρων στηρίζεται στην παρουσία νουκλεοσωμάτων (σχήμα 3) στο κυτταρόπλασμα, τα οποία ανιχνεύονται με τη χρήση δύο αντισωμάτων, ενός έναντι των ιστονών και ενός έναντι του DNA.

Επιπλέον η ανεξίνη V (πρωτεΐνη με μεγάλη, εξαρτώμενη από ασβέστιο, τάση σύνδεσης με αμινοφωσφολιπίδια) χρησιμοποιείται ευρέως για την αναγνώριση αποπτωτικών κυττάρων με κυτταρομετρία ροής. Η μέθοδος στηρίζεται στην προσκόλληση της ανεξίνης V στην φωσφατιδυλοσερίνη, ένα φωσφολιπίδιο που μετατοπίζεται στην εξωτερική πλευρά της κυτταροπλασματικής μεμβράνης κατά την διεργασία της απόπτωσης. Η μετατόπιση όμως της φωσφατιδυλοσερίνης δεν αποτελεί χαρακτηριστικό αποκλειστικά της απόπτωσης, αλλά μπορεί να συμβεί και κατά τη διεργασία της νέκρωσης. Για τη διάκριση μεταξύ αποπτωτικών και νεκρωτικών κυττάρων χρησιμοποιείται ιωδιούχο προπίδιο, το οποίο εισβάλλει στα νεκρωτικά, αλλά απωθείται από τα αποπτωτικά κύτταρα. Έτσι, τα νεκρωτικά κύτταρα αλλάζουν εύκολα χρώμα τόσο με ιωδιούχο προπίδιο όσο και με ανεξίνη V, ενώ τα αποπτωτικά μόνο με ανεξίνη V.



Σχήμα 3. Σχηματική αναπαράσταση συναρμολόγησης ιστονών και DNA στο νουκλεόσωμα.

Επίδραση της άσκησης στην απόπτωση στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος

Μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον έχει εκδηλωθεί για τη σχέση που μπορεί να υπάρχει μεταξύ άσκησης και απόπτωσης στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, καθώς η χαμηλή λειτουργική ανταπόκρισή τους σχετίζεται με ποικίλους στρεσογόνους παράγοντες, ένας από τους οποίους είναι και η άσκηση (Mars et al. 1998). Η επίδραση της άσκησης στην απόπτωση στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος έχει μελετηθεί εκτεταμένα (Phaneuf & Leeuwenburgh 2001). Θα παρουσιάσουμε ενδεικτικά κάποιες από τις μελέτες, αφού το αντικείμενο αυτό δεν συμπίπτει με το αντικείμενο της παρούσας διατριβής.

Μελέτη των Concordet & Ferry (1993) βρήκε κατακερματισμό του DNA (με τη μέθοδο TUNEL) στο θύμο αδένων επιμύων μετά από δύο δοκιμασίες μέχρι εξάντληση σε δαπεδοεργόμετρο (με ανάπαυση μίας ημέρας ενδιάμεσα). Απόπτωση ανιχνεύθηκε μετά την πρώτη δοκιμασία και συνέχισε να είναι έκδηλη 24 ώρες μετά την άσκηση. Σε μελέτη των Hoffman-Goetz και συν. (1999) δεν παρατηρήθηκε απόπτωση (ανίχνευση με ανεξίνη V) στα θυμοκύτταρα επιμύων μετά από υπομέγιστη άσκηση σε δαπεδοεργόμετρο. Η ασυμφωνία των παρα-

πάνω δεδομένων μπορεί να οφείλεται στα διαφορετικά πρωτόκολλα άσκησης που χρησιμοποιήθηκαν.

Σε ό,τι αφορά τον άνθρωπο, τα αποτελέσματα είναι όπως και παραπάνω μεικτά. Άσκηση σε δαπεδοεργόμετρο με ταχύτητα 12 km/h μέχρι εξάντληση (Mars et al. 1998, Niess et al. 1996) και άσκηση σε δαπεδοεργόμετρο στο 80% της VO_{2max} μέχρι την εξάντληση (Mooren et al. 2002) προκάλεσαν επαγωγή της απόπτωσης σε λεμφοκύτταρα, ενώ άσκηση στο 70% της VO_{2max} διάρκειας 2,5 ωρών δεν προκάλεσε απόπτωση στα λεμφοκύτταρα (Peters et al. 2006). Οι Steenseberg και συν. (2002) βρήκαν αύξηση αποπτωτικών λεμφοκυττάρων (ανίχνευση με ανεξίνη V) μετά από άσκηση στο 75% της VO_{2max} διάρκειας 2 ωρών. Επίσης οι Hsu και συν. (2002) παρατήρησαν κατακερματισμό του DNA (με τη μέθοδο TUNEL και κυτταρομετρία ροής) στα λευκοκύτταρα ανθρώπων μετά από αερόβια άσκηση στο 60 και 85% της VO_{2max} , αλλά όχι στο 35% της VO_{2max} .

Επίδραση της άσκησης στην απόπτωση στο μυοκάρδιο

Οι καρδιαγγειακές ασθένειες μπορεί να προκληθούν από πολλαπλούς παράγοντες, μεταξύ των οποίων κυρίαρχη θέση κατέχει η απώλεια καρδιακών κυττάρων. Καθώς απόπτωση έχει παρατηρηθεί στο μυοκάρδιο ασθενών με συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, αρρυθμογόνο μυοκαρδιοπάθεια της δεξιάς κοιλίας και έμφραγμα (Gustafsson & Gottlieb 2003), ο ρόλος της απόπτωσης στην καρδιακή λειτουργία φαίνεται να είναι σημαντικός. Ωστόσο ελάχιστα είναι γνωστά για το αν και πώς η άσκηση μπορεί να επηρεάσει την απόπτωση. Εντοπίσαμε μόνο δύο μελέτες που εξέτασαν την επίδραση της χρόνιας άσκησης στην απόπτωση στον καρδιακό μυ και μάλιστα με αντιφατικά αποτελέσματα. Άσκηση διάρκειας 13 εβδομάδων σε δαπεδοεργόμετρο δεν επηρέασε την απόπτωση (εκτίμηση με μέθοδο TUNEL) (Jin et al. 2000), ενώ άσκηση διάρκειας 8 εβδομάδων σε δαπεδοεργόμετρο μείωσε την απόπτωση (εκτίμηση με ανοσοχημικό προσδιορισμό και DNA laddering) στον καρδιακό μυ επιμύων (Siu et al. 2004).

Επίδραση της άσκησης στην απόπτωση στο σκελετικό μυ

Οι μελέτες που έχουν εξετάσει την επίδραση οξείας άσκησης στην απόπτωση στο σκελετικό μυ (Arslan et al. 2002, Biral et al. 1998, 2000, Podhorska-Okolow et al. 1998, Sandri et al. 1995, 1997, Willoughby et al. 2003) καταλήγουν ομόφωνα στο συμπέρασμα ότι αυτού του είδους η άσκηση επάγει την απόπτωση. Συγκεκριμένα, αυξημένη απόπτωση (εκτίμηση με μέθοδο TUNEL) παρατηρήθηκε αμέσως και 48 h μετά από εθελοντική άσκηση σε τροχό στο γαστροκνήμιο και υποκνημίδιο μυ επιμύων (Arslan et al. 2002). Μεγαλύτερη απόπτωση παρατηρήθηκε στο γαστροκνήμιο μυ, γεγονός που πιθανώς εξηγείται από τη διαφορετική σύ-

σταση των δυο μυών σε τύπους μυϊκών ινών. Συγκεκριμένα, ο υποκνημίδιος αποτελείται κυρίως από μυϊκές ίνες τύπου I (> 80%), ενώ ο γαστροκνήμιος χαρακτηρίζεται ως μεικτός μυς και αποτελείται από συγκρίσιμες ποσότητες μυϊκών ινών τύπου I και τύπου II. Καθώς οι μυϊκές ίνες τύπου I θεωρούνται λιγότερο επιρρεπείς στην απόπτωση συγκριτικά με τις μυϊκές ίνες τύπου II, το παραπάνω εύρημα φαίνεται λογικό (Arslan et al. 2002).

Οι Biral και συν. (1998, 2000) προσδιόρισαν την επίδραση έκκεντρης άσκησης στην απόπτωση (εκτίμηση με μέθοδο TUNEL) σε δύο σκελετικούς μύες επιμύων με διαφορετικά φυσιολογικά χαρακτηριστικά (υποκνημίδιο και μακρό εκτείνοντα τους δακτύλους). Τα αποτελέσματά τους δείχνουν ότι ένας υγιής σκελετικός μυς που εκτελεί έκκεντρες συστολές οδηγείται σε αύξηση της απόπτωσης. Οι συγγραφείς υποστηρίζουν ότι η ενεργοποίηση της απόπτωσης οφείλεται σε διαταραχή σηματοδοτικών πρωτεϊνών που σχετίζονται με το σύμπλεγμα της δυστροφίνης. Καθώς η δυστροφίνη θεωρείται πρωτεΐνη καθοριστικής σημασίας για τον κυτταροσκελετό, η διαταραχή της μπορεί να οδηγήσει σε ρήξη του κυτταροσκελετού και κατά συνέπεια σε απόπτωση του κυττάρου.

Αύξηση της απόπτωσης (εκτίμηση με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, μέθοδο TUNEL και ηλεκτροφόρηση DNA) παρατηρήθηκε αμέσως και 6 ώρες μετά από εθελοντική άσκηση σε τροχό σε σκελετικό μυ ποντικών C57BL/6 (Podhorska-Okolow et al. 1998). Το σαρκείλημα και τα συσταλά συστατικά δεν καταστράφηκαν, δείχνοντας ότι η αποπτωτική διεργασία περιορίστηκε στους πυρήνες.

Οι Sandri και συν. (1995, 1997) βρήκαν αύξηση της απόπτωσης (εκτίμηση με μέθοδο TUNEL και ηλεκτροφόρηση DNA) τη δεύτερη μέρα μετά από εθελοντική άσκηση σε τροχό σε τρεις σκελετικούς μύες υγιών και δυστροφικών (mdx C57) ποντικών. Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων της ουμπικιτίνης, μιας πρωτεΐνης που η προσκόλλησή της σε άλλες πρωτεΐνες σηματοδοτεί την αποδόμησή τους. Είναι λοιπόν λογικό αυξημένα επίπεδα ουμπικιτίνης να σχετίζονται με αυξημένη απόπτωση.

Μοναδική μελέτη που εξέτασε την επίδραση της άσκησης στην απόπτωση σε σκελετικό μυ ανθρώπων ήταν αυτή των Willoughby και συν. (2003). Βρέθηκε αύξηση στην απόπτωση στον έξω πλατύ μηριαίο 6 ώρες μετά από άσκηση με αντιστάσεις. Η απόπτωση ήταν ακόμη μεγαλύτερη 24 ώρες μετά την άσκηση.

Οι παραπάνω μελέτες που περιγράφουν την επίδραση της οξείας άσκησης στην απόπτωση μπορούν να θεωρηθούν ικανοποιητικές σε αριθμό, ενώ ταυτόχρονα καταλήγουν σε κοινό συμπέρασμα. Αντίθετα, μόνο τρεις είναι οι μελέτες που εξέτασαν την επίδραση της χρόνιας άσκησης στην απόπτωση στο σκελετικό μυ.

Συγκεκριμένα, οι Boffi και συν. (2002) εξέτασαν την επίδραση χρόνιας άσκησης στην απόπτωση στο σκελετικό μυ αλόγων. Μετά από τρίμηνο πρόγραμμα άσκησης σε δαπεδοεργόμετρο παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της απόπτωσης. Οι Lim και συν. (2004) εξέτασαν την επίδραση 8 εβδομάδων εθελοντικής άσκησης σε τροχό στην απόπτωση (εκτίμηση με μέθοδο DNA laddering και μέθοδο TUNEL) στον υποκνημίδιο μυ δυστροφικών και υγιών επιμύων. Η άσκηση αύξησε την απόπτωση και στις δυο ομάδες. Αντίθετα οι Siu και συν. (2004) δεν παρατήρησαν καμία αλλαγή στην απόπτωση (εκτίμηση με EIA και DNA laddering) στον υποκνημίδιο μυ επιμύων μετά από 8 εβδομάδες άσκησης σε δαπεδοεργόμετρο.

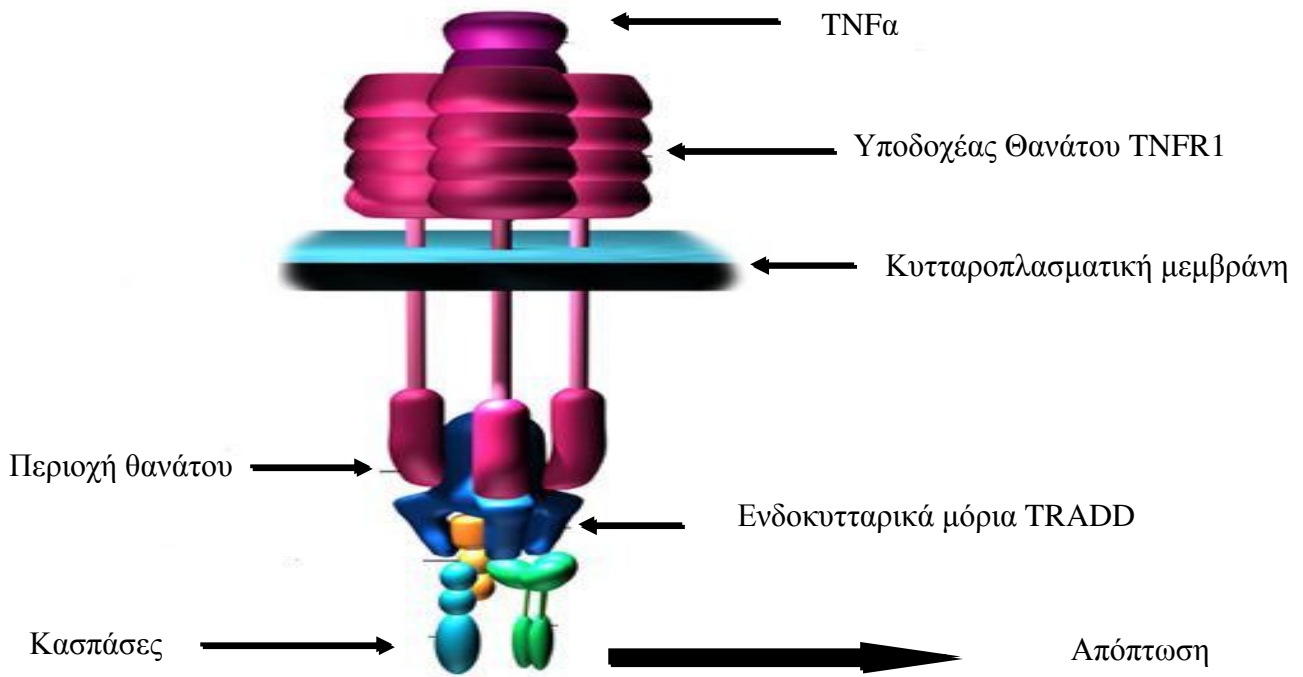
Παράγοντας νέκρωσης όγκων α

Ο TNF α , γνωστός και ως καχεκτίνη, ανήκει στην κατηγορία των κυτταροκινών. Είναι μια πρωτεΐνη μοριακού βάρους 17 kDa που παράγεται και εκκρίνεται από διάφορους ιστούς (Monzillo et al. 2003, Orban et al. 1999, Ritchie et al. 2004). Έχει αναγνωριστεί ότι ασκεί ρυθμιστικό ρόλο σε φλεγμονώδεις διεργασίες στο κεντρικό νευρικό σύστημα μετά από οξεία προσβολή ή μολυσματικές ασθένειες και σε χρόνιες νευροεκφυλιστικές παθήσεις (Delhalle et al. 2003). Ο TNF α προκαλεί τριμερισμό του υποδοχέα TNFR1 μετά την σύνδεσή του σ' αυτόν με αποτέλεσμα τη σύνδεση των περιοχών θανάτου (death domains) των υποδοχέων, γεγονός που επιτρέπει την πρόσδεση κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών (TRADD). Τα ενδοκυτταρικά αυτά μόρια έχουν την ικανότητα να προκαλούν απόπτωση μέσω της ενεργοποίησης των κασπασών (Σχήμα 4) (Lawen 2003, Primeau et al. 2002).

Επιπλέον πρόσφατες έρευνες έχουν εμπλέξει τον TNF α ως ένα ρυθμιστή του μεταβολισμού της γλυκόζης μέσω της ινσουλίνης (Kirwan et al. 2003). In vitro έρευνες δείχνουν ότι ο TNF α μπορεί να προκαλέσει αντίσταση στην ινσουλίνη, πιθανόν μέσω της μείωσης της γονιδιακής έκφρασης του GLUT4 και της παρεμπόδισης του σηματοδοτικού μονοπατιού της ινσουλίνης σε μια ποικιλία τύπων κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των λιποκυττάρων, των ηπατοκυττάρων και των μυϊκών ινών. Επιπλέον, αυξημένη συγκέντρωση TNF α είναι συνδεδεμένη με την αντίσταση στην ινσουλίνη που παρατηρείται στην παχυσαρκία, στην εγκυμοσύνη, στη σήψη, στη γήρανση και στη μυϊκή καταστροφή που προκαλείται από την άσκηση (Fasshauer et al. 2004, Kirwan et al. 2003, Monzillo et al. 2003, Orban et al. 1999).

Παρόλα αυτά, η επίδραση της οξείας και χρόνιας άσκησης στη συγκέντρωση του TNF α στο σκελετικό μυ δεν έχει μελετηθεί επαρκώς. Οι Kawamura και συν. (2002) εξέτασαν την επίδραση χρόνιας άσκησης (16 εβδομάδες) σε δαπεδοεργόμετρο στη συγκέντρωση του TNF α σε δυο σκελετικούς μύες (μακρό εκτείνοντα τους δακτύλους και υποκνημίδιο) επιμύων. Τα αποτελέσματά τους έδειξαν ότι η άσκηση δεν προκάλεσε μεταβολές στα επίπεδα της κυττα-

ροκίνης σε κανέναν από τους δυο μύες. Ομοίως μελέτη των Ferrer και συν. (2004) βρήκε ότι χρόνια άσκηση (8 εβδομάδες) δεν άλλαξε τα επίπεδα του TNFα στον έξω πλατύ μηριαίο ανθρώπων. Αντίθετα οι Grewer και συν. (2001) βρήκαν ότι η χρόνια άσκηση με αντιστάσεις μείωσε τα επίπεδα του TNFα στον έξω πλατύ μηριαίο ηλικιωμένων ανθρώπων.



Σχήμα 4. Απεικόνιση του σηματοδοτικού μονοπατιού του TNFα (www.sgul.ac.uk/dept/immunology/~dash)

Κασπάση 3

Οι μορφολογικές αλλαγές που συμβαίνουν σε ένα κύτταρο κατά την απόπτωση ξεκινούν με την ενεργοποίηση μιας κατηγορίας πρωτεϊνών, των κασπασών. Στην κατηγορία αυτή ανήκει και η κασπάση 3 που μελετήσαμε στην παρούσα διατριβή. Η κασπάση 3 είναι γνωστή και ως CPP-32, Yama και Apocain. Είναι μια πρωτεΐνη κυστεΐνης, η οποία βρίσκεται ως προένζυμο στο κύτταρο και μπορεί να ενεργοποιηθεί από την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c ή από τη δράση μιας άλλης κασπάσης, της κασπάσης 9. Ένας τρόπος δράσης των κασπασών, και συνεπώς και της κασπάσης 3, είναι η απενεργοποίηση πρωτεϊνών που προστατεύουν το κύτταρο από την απόπτωση. Στις πρωτεΐνες αυτές συγκαταλέγονται ένζυμα που μεσολαβούν στη γονιδιακή έκφραση, ρυθμιστές του κυτταρικού κύκλου και δομικές πρωτεΐνες του πυρήνα και του κυτταρικού σκελετού. Αποτέλεσμα αυτών των διασπάσεων είναι η κατάρρευση της κυτταρικής δομής και ο θάνατος του κυττάρου. Η κασπάση 3 υδρολύει πεπτιδικούς δεσμούς που έχουν ασπαρτικό οξύ στην καρβοξυλική πλευρά.

Δεν φαίνεται να υπάρχουν επαρκή ερευνητικά δεδομένα αναφορικά με την επίδραση της οξείας και χρόνιας άσκησης στη δραστηριότητα της κασπάσης 3 στο σκελετικό μυ. Οι δυο μελέτες που εντοπίσαμε σχετικά με την επίδραση της οξείας άσκησης στην δραστηριότητα του ενζύμου βρήκαν αυξημένη δραστηριότητα μετά από οξεία άσκηση στον έξω πλατύ μηριαίο ανθρώπων (Willoughby et al. 2003) και στον υποκνημίδιο και μακρό εκτείνοντα τους δακτύλους επιμύων (Biral et al. 2000). Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενη ενότητα, στις μελέτες αυτές βρέθηκε παράλληλα αύξηση της απόπτωσης, γεγονός που συμβαδίζει με την αύξηση της δραστηριότητας του ενζύμου.

Μοναδική μελέτη που έχει εξετάσει την επίδραση χρόνιας άσκησης στην δραστηριότητα της κασπάσης 3 είναι αυτή των Siu και συν. (2004), η οποία δεν βρήκε διαφορά στη δραστηριότητα του ενζύμου στον υποκνημίδιο μυ επιμύων μετά από 8 εβδομάδες άσκησης σε δαπεδοεργόμετρο. Το γεγονός αυτό βρίσκεται επίσης σε συμφωνία με το εύρημα της ίδια μελέτης σχετικά με την απουσία διαφοράς στην απόπτωση.

Επίδραση της άσκησης στα λιπίδια του μυός που εμπλέκονται στη σηματοδότηση της απόπτωσης στο σκελετικό μυ

Καρδιολιπίνη

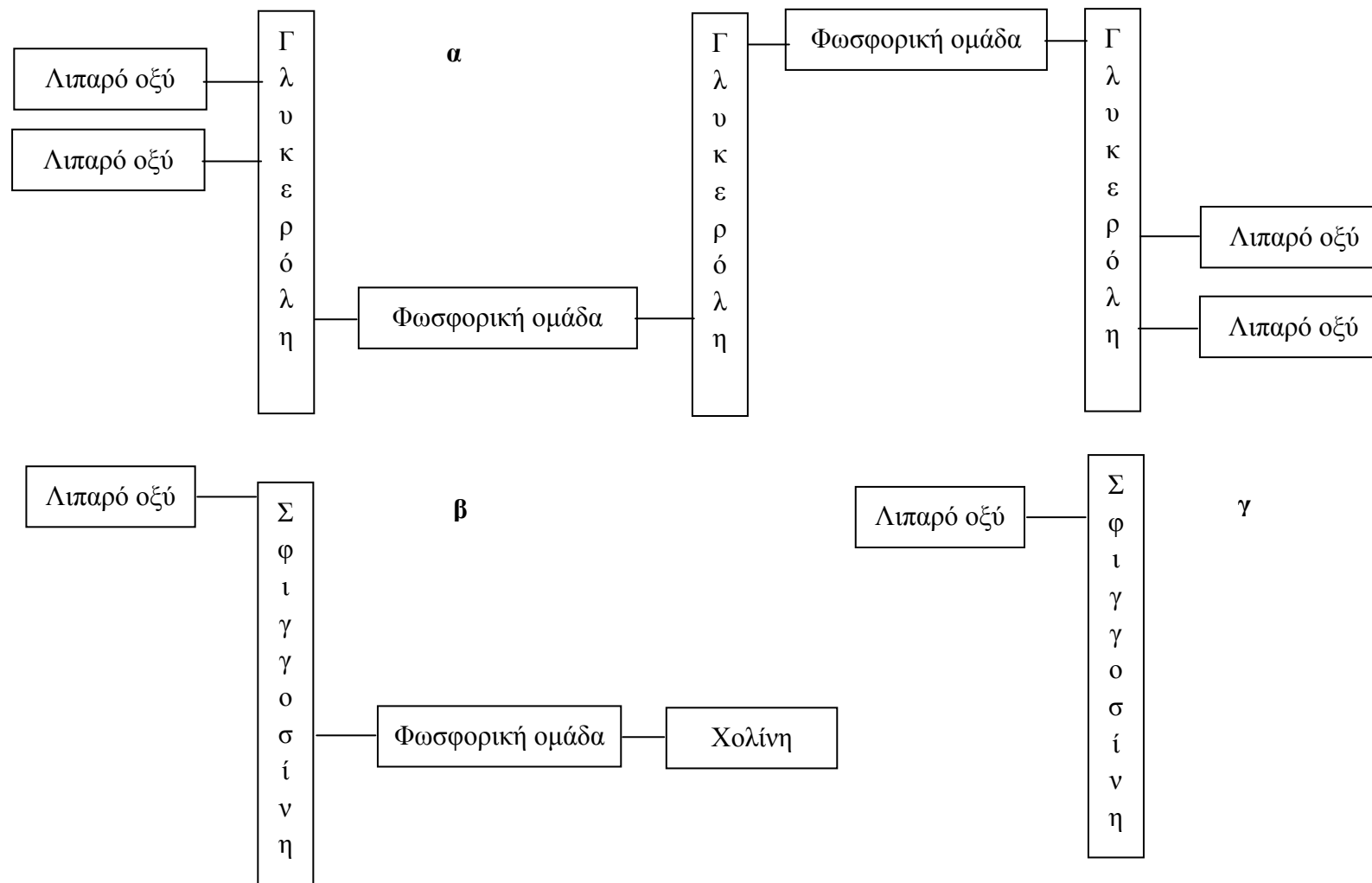
Η καρδιολιπίνη (CL) είναι το πρώτο φωσφολιπίδιο που χαρακτηρίστηκε χημικά. Συνδέεται με τα μιτοχόνδρια και ειδικότερα με τις πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην αναπνευστική αλυσίδα όπως η CCO (Haines & Dencher 2002). Χαρακτηριστικό της είναι ότι έχει σχεδόν δι-

πλάσιο μέγεθος από τα υπόλοιπα φωσφολιπίδια. Αποτελείται από τρεις γλυκερόλες, δύο φωσφορικές ομάδες και τέσσερα λιπαρά οξέα (Σχήμα 5α).

Επιπρόσθετα, κάποιοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η καρδιολιπίνη εμπλέκεται στη διατήρηση της ρευστότητας των μιτοχονδριακών μεμβρανών ενάντια στις αλλαγές που προκαλεί η θερμοκρασία του περιβάλλοντος (Yamauchi et al. 1981). Η καρδιολιπίνη αγκιστρώνει το κυτόχρωμα c στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη και μπορεί έτσι να διαδραματίζει ένα σημαντικό ρυθμιστικό ρόλο στην απελευθέρωση του κυτοχρώματος c, γεγονός που διεγείρει το μηχανισμό της απόπτωσης (Chicco & Sparanga 2007).

Η εμπλοκή της καρδιολιπίνης στην απόπτωση έχει καλά τεκμηριωθεί. Σύμφωνα με υπόθεση που διατύπωσαν οι McMillin & Dowhan (2002), η μείωση της καρδιολιπίνης λόγω υπεροξείδωσής της από δραστικά είδη οξυγόνου οδηγεί στην αποκόλληση κυτοχρώματος c από την εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη. Αυτό, σε συνδυασμό με την αύξηση της διαπερατότητας της εξωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης (που αποτελεί χαρακτηριστικό της απόπτωσης) οδηγεί σε αύξηση της συγκέντρωσης του κυτοχρώματος c στο κυτταρόπλασμα. Το κυτόχρωμα c προκαλεί ενεργοποίηση της κασπάσης 9 και αυτή, με τη σειρά της, της κασπάσης 3.

Ελάχιστες ήταν οι μελέτες που εντοπίσαμε να εξετάζουν την επίδραση της άσκησης (οξείας ή χρόνιας) στη συγκέντρωση της καρδιολιπίνης στο σκελετικό μυ, ενώ δεν υπάρχει καμία μελέτη που εξέτασε την επίδραση της άσκησης στο προφίλ των λιπαρών της οξέων. Οι Masoro και συν. (1966) και Therriault και συν. (1973) αναφέρουν ότι ηλεκτρική διέγερση διάρκειας 5 ωρών και δύο εβδομάδες εξαντλητικής άσκησης σε δαπεδοεργόμετρο δεν επηρέασαν τη συγκέντρωση της καρδιολιπίνης σε γαστροκνήμιο μυ πιθήκων και σκύλων αντίστοιχα. Από την άλλη πλευρά αύξηση του ποσοστού της καρδιολιπίνης στο σύνολο των φωσφολιπιδίων βρέθηκε στον ερυθρό γαστροκνήμιο μυ επιμύων μετά από χρόνια άσκηση (Gorski et al.1999).



Σχήμα 5. Σχηματική αναπαράσταση καρδιολιπίνης (α) σφιγγομυελίνης (β) και κεραμιδίου (γ)

Σφιγγομυελίνη και κεραμίδιο

Η σφιγγομυελίνη (SM) αποτελεί ένα σχετικά σπάνιο φωσφολιπίδιο των κυτταρικών μεμβρανών και βρίσκεται στην εξωκυτταρική πλευρά της κυτταροπλασματικής μεμβράνης (Ramsted & Slotte 2002). Διαφέρει από τα υπόλοιπα κατά το ότι διαθέτει έναν κορμό σφιγγοσίνης αντί γλυκερόλης. Με τη σύνδεση ενός λιπαρού οξέος στη σφιγγοσίνη προκύπτει κεραμίδιο (Σχήμα 5β), ενώ με την πρόσθετη σύνδεση μιας φωσφορικής ομάδας και χολίνης προκύπτει η σφιγγομυελίνη (Σχήμα 5γ).

Πρόσφατα χαρακτηρίστηκε ένα διαμεμβρανικό σηματοδοτικό μονοπάτι, γνωστό ως σηματοδοτικό μονοπάτι της σφιγγομυελίνης, στο οποίο η σφιγγομυελίνη υδρολύεται από μια σφιγγομυελινάση σε φωσφορική χολίνη και κεραμίδιο. Το κεραμίδιο έχει δειχτεί ότι παίζει το ρόλο δεύτερου αγγελιαφόρου. Φυσιολογικά αποπτωτικά ερεθίσματα, όπως ορμόνες και κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, προκαλούν, μέσω της πρόσδεσής τους σε υποδοχείς της κυτταροπλασματικής μεμβράνης, τη μετακίνηση μιας σφιγγομυελινάσης από το κυτταρόπλασμα στη μεμβράνη και την παραγωγή κεραμιδίου από σφιγγομυελίνη (Gulbins 2003). Το κεραμίδιο με τη σειρά του προκαλεί μια τέτοια αλλαγή στη δομή της μεμβράνης, που έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των κασπασών, που όπως αναφέρθηκε προηγούμενα πρωταγωνιστούν στην απόπτωση καταλύοντας τη διάσπαση πολλών κυτταρικών πρωτεϊνών. Τέλος έχει βρεθεί ότι σκελετικοί μύες με υψηλά ποσοστά οξειδωτικών μυϊκών ινών περιέχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις κεραμιδίου (Dobrzyn & Gorski 2002a).

Δεδομένα από ανθρώπινο ορό (Samuelsson 1971), ανθρώπινο εγκέφαλο (Kubota et al. 1989) και ήπαρ ποντικών (Rylova et al. 1999) δείχνουν ότι η σύσταση του κεραμιδίου σε λιπαρά οξέα ποικίλλει. Στο ήπαρ ποντικών το κεραμίδιο περιείχε κυρίως ακόρεστα λιπαρά οξέα (Rylova et al. 1999), στον ανθρώπινο εγκέφαλο μόνο κορεσμένα λιπαρά οξέα (Kubota et al. 1989), ενώ στον ανθρώπινο ορό και κορεσμένα και ακόρεστα (Ichi et al. 2006). Παρόλα αυτά, ελάχιστα είναι τα δεδομένα για το προφίλ λιπαρών οξέων του κεραμιδίου στο σκελετικό μυ σε ηρεμία, ενώ ακόμη λιγότερα είναι τα δεδομένα για την επίδραση της άσκησης (οξείας ή χρόνιας) στη συγκέντρωση και στο προφίλ λιπαρών οξέων του κεραμιδίου.

Ξεκινώντας από την επίδραση της οξείας άσκησης, μελέτη των Turinsky και συν. (1990) έδειξε ότι η συγκέντρωση του κεραμιδίου στο γαστροκνήμιο μυ επιμύων δεν μεταβλήθηκε μετά από 5-25 λεπτά ηλεκτρικής διέγερσης με συχνότητα 1 Hz, ενώ μελέτη των Dobrzyn & Gorski (2002b) έδειξε ότι η συγκέντρωση του κεραμιδίου στον λευκό γαστροκνήμιο επιμύων μειώθηκε μετά από 10 min ηλεκτρικής διέγερσης του ισχιακού νεύρου.

Οι Dobrzyn & Gorski (2002a) εξέτασαν την επίδραση εξαντλητικής άσκησης σε δαπεδοεργόμετρο τόσο στην συγκέντρωση όσο και στο προφίλ λιπαρών οξέων του κεραμιδίου στον

υποκνημίδιο, στο λευκό γαστροκνήμιο και στον ερυθρό γαστροκνήμιο επιμύων. Η άσκηση μείωσε την ποσότητα του κεραμιδίου και στους τρεις μύες και προκάλεσε σημαντική μείωση στο στεατικό οξύ (18:0).

Αντίθετα με τις δυο παραπάνω μελέτες (Dobrzyn & Gorski 2002a,b) που βρίσκουν μείωση στη συγκέντρωση του κεραμιδίου μετά από ηλεκτρική διέγερση ή άσκηση, οι Helge και συν. (2004) βρίσκουν αύξηση της συγκέντρωσής του στον έξω πλατύ μηριαίο σε προπονημένους και απροπόνητους ανθρώπους μετά από οξεία άσκηση. Στη βάση αυτών των αντιφατικών ευρημάτων, είναι παρακινδυνευμένο να εξάγει κανείς συμπεράσματα για την επίδραση της οξείας άσκησης στην συγκέντρωση του κεραμιδίου στο μυ.

Περνώντας στην επίδραση της χρόνιας άσκησης, εντοπίσαμε μία μόνο μελέτη (Dobrzyn et al. 2004), που αναφέρει μείωση στη συγκέντρωση του κεραμιδίου στον υποκνημίδιο, στο λευκό γαστροκνήμιο και στον ερυθρό γαστροκνήμιο μυ επιμύων μετά από 6 εβδομάδες άσκησης σε δαπεδοεργόμετρο. Στη μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε και ανάλυση του προφίλ λιπαρών οξέων του κεραμιδίου, που έδειξε ότι η χρόνια άσκηση το τροποποίησε. Στην ίδια μελέτη η δραστηριότητα της σφιγγομυελίνης αυξήθηκε και μειώθηκε η συγκέντρωση της σφιγγομυελίνης. Τα δύο αυτά γεγονότα λογικά έπρεπε να έχουν οδηγήσει σε αύξηση της συγκέντρωσης του κεραμιδίου και όχι σε μείωσή του. Προφανώς άλλοι είναι οι μηχανισμοί που ευθύνονται για την μείωση της συγκέντρωσης του κεραμιδίου με την προπόνηση. Μια πιθανή εξήγηση που δίνουν οι συγγραφείς για τη μείωση της συγκέντρωσής του είναι η υδρόλυση του σε σφιγγοσίνη.

Σε ό,τι αναφορά την σφιγγομυελίνη, εντοπίσαμε τέσσερις μελέτες που εξέτασαν την επίδραση της οξείας άσκησης στη συγκέντρωσή της. Η πρώτη (Masoro et al. 1996) αναφέρει ότι η συγκέντρωση της σφιγγομυελίνης δεν μεταβλήθηκε μετά από ηλεκτρική διέγερση που πραγματοποιήθηκε σε γαστροκνήμιο μυ πιθήκων. Οι Dobrzyn & Gorski (2002a) ερεύνησαν την επίδραση εξαντλητικής άσκησης σε δαπεδοεργόμετρο στη συγκέντρωση και στο προφίλ λιπαρών οξέων της σφιγγομυελίνης στον ερυθρό και το λευκό γαστροκνήμιο επιμύων. Βρήκαν ότι η άσκηση προκάλεσε μείωση στη συγκέντρωση της σφιγγομυελίνης και τροποποίησε τα ποσοστά πολλών λιπαρών οξέων και στα δύο είδη σκελετικού μύος. Μείωση παρατηρήθηκε επίσης στη συγκέντρωση της σφιγγομυελίνης στον λευκό και ερυθρό γαστροκνήμιο επιμύων μετά από 10 min ηλεκτρικής διέγερσης (Dobrzyn & Gorski 2002b).

Σε αντίθεση με τις παραπάνω μελέτες, η μελέτη των Helge και συν. (2004), που πραγματοποιήθηκε στον έξω πλατύ μηριαίο ανθρώπων, αναφέρει ότι σε κατάσταση ηρεμίας η συγκέντρωση της σφιγγομυελίνης ήταν χαμηλότερη στους προπονημένους συγκριτικά με τους απροπόνητους και ότι η παρατεταμένη άσκηση την αύξησε μόνο στην ομάδα των προπονη-

μένων με αποτέλεσμα μετά την άσκηση να μη διαφέρει μεταξύ των δυο ομάδων. Στην ίδια μελέτη πραγματοποιήθηκε ανάλυση λιπαρών οξέων, που έδειξε ότι η άσκηση τροποποίησε τα ποσοστά αρκετών λιπαρών οξέων μόνο στην ομάδα των προπονημένων μετά από εξαντλητική άσκηση.

Περνώντας στην επίδραση της χρόνιας άσκησης στην συγκέντρωση της σφιγγομυελίνης, εντοπίσαμε δυο μελέτες που εξέτασαν την επίδραση 6 εβδομάδων άσκησης σε δαπεδοεργόμετρο στον υποκνημίδιο, στον ερυθρό γαστροκνήμιο και στο λευκό γαστροκνήμιο επιμύων. Οι Dobrzyń και συν. (2004) βρήκαν ότι η άσκηση μείωσε την συγκέντρωση της σφιγγομυελίνης και στους τρεις μύες και τροποποίησε το προφίλ των λιπαρών της οξέων. Στον υποκνημίδιο και στο λευκό γαστροκνήμιο υπήρχαν θεαματικές αλλαγές στις συγκεντρώσεις αρκετών λιπαρών οξέων (όλες με κατεύθυνση μείωσης), δεν συνέβη όμως το ίδιο και στον ερυθρό γαστροκνήμιο. Οι Gorski και συν. (1999) βρήκαν ότι τέτοιου είδους άσκηση δεν προκάλεσε αλλαγές στη συγκέντρωση της σφιγγομυελίνης στον υποκνημίδιο και στον ερυθρό γαστροκνήμιο, ενώ προκάλεσε αύξηση της συγκέντρωσής της στο λευκό γαστροκνήμιο.

Συνοψίζοντας την βιβλιογραφική ανασκόπηση σχετικά με την επίδραση της οξείας και χρόνιας άσκησης στα τρία λιπίδια που εμπλέκονται στη διεργασία της απόπτωσης (καρδιολιπίνη, σφιγγομυελίνη και κεραμίδιο), τα αποτελέσματα είναι μικτά, περιλαμβάνοντας αυξήσεις, μη σημαντικές διαφορές και μειώσεις με την άσκηση. Σχετικά με το προφίλ λιπαρών οξέων των λιπιδίων αυτών, τα δεδομένα για τη σφιγγομυελίνη και το κεραμίδιο είναι επίσης μικτά, ενώ ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός ότι δεν υπάρχουν δεδομένα σχετικά με το προφίλ λιπαρών οξέων της καρδιολιπίνης μετά από άσκηση.

Άλλα φωσφολιπίδια

Δεν γνωρίζουμε κάποιο διακριτό ρόλο των υπολοίπων φωσφολιπιδίων του σκελετικού μύος, δηλαδή της φωσφατιδυλοχολίνης (PC), της φωσφατιδυλαιθανολαμίνης (PE), της φωσφατιδυλινοσιτόλης (PI), της φωσφατιδυλοσερίνης (PS) και της λυσοφωσφατιδυλοχολίνης (LPC) στη διεργασία της απόπτωσης εκτός από το ότι κάποιες αλλαγές κατά τη σύνθεση της PC και μετακίνησή της PS μπορεί να οδηγήσουν ένα κύτταρο σε απόπτωση (Cui & Houweling 2002, Farooqui et al. 2000).

Το ερευνητικό μας ενδιαφέρον για τη μελέτη των παραπάνω φωσφολιπιδίων προκάλεσε η έλλειψη μελετών που να έχουν εξετάσει την επίδραση χρόνιας άσκησης στα επιμέρους φωσφολιπίδια του σκελετικού μύος, παρά το γεγονός ότι τα συνολικά φωσφολιπίδια του σκελετικού μύος έχουν μελετηθεί εκτεταμένα. Βρήκαμε μόνο τρεις μελέτες που εξέτασαν την επίδραση της άσκησης στις συγκεντρώσεις των επιμέρους φωσφολιπιδίων του σκελετικού μύος.

Από αυτές οι δύο εξέτασαν την επίδραση οξείας άσκησης (Masoro et al. 1966, Therriault et al. 1973) και η μία την επίδραση χρόνιας άσκησης (Gorski et al. 1999). Ωστόσο δεν βρήκαμε καμία μελέτη που να εξέτασε την επίδραση της άσκησης (είτε οξείας είτε χρόνιας) στο προφίλ των λιπαρών τους οξέων.

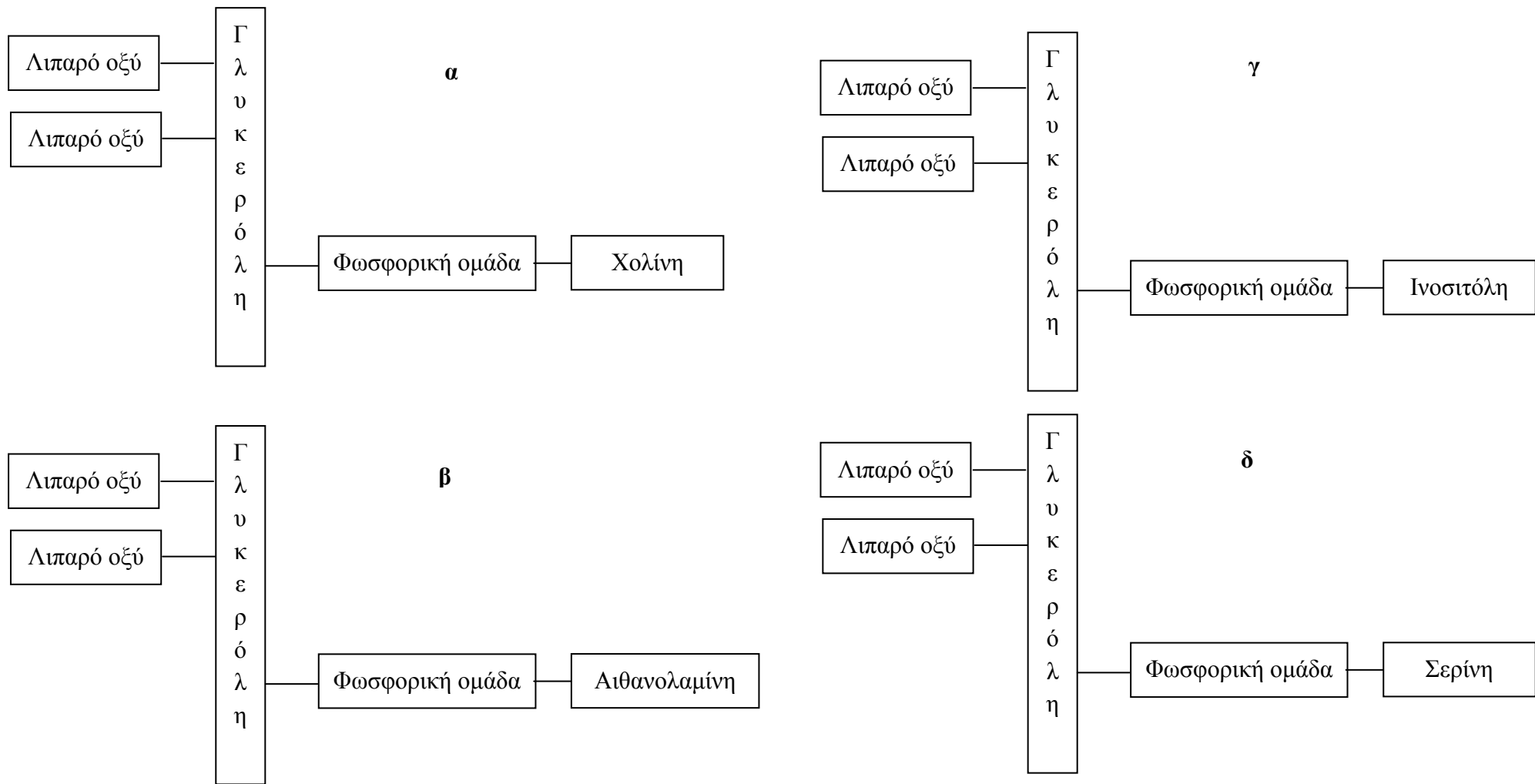
Δεδομένης της σημασίας που έχει η σύσταση των μεμβρανικών φωσφολιπιδίων σε λιπαρά οξέα (όπως αναλύεται παρακάτω) και του ότι η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα διατριβή για τον προσδιορισμό των CL και SM (δισδιάστατη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας) διαχώριζε και τα υπόλοιπα φωσφολιπίδια, εξετάσαμε την επίδραση της χρόνιας άσκησης στη συγκέντρωση και στο προφίλ λιπαρών οξέων και αυτών. Παρακάτω γίνεται αναφορά σε κάποια γενικά στοιχεία για το καθένα και στο τι είναι γνωστό για την επίδραση της άσκησης στη συγκέντρωση του στο σκελετικό μυ.

Δομή των φωσφολιπιδίων PC, PE, PI, PS και LPC

Τα φωσφολιπίδια αυτά αποτελούνται από τέσσερα συστατικά: λιπαρά οξέα, γλυκερόλη στην οποία προσδένονται τα λιπαρά οξέα, μια φωσφορική ομάδα και μια αλκοόλη προσδεδεμένη στη φωσφορική ομάδα. Οι αλκοόλες που συναντάμε στα παραπάνω φωσφολιπίδια είναι η χολίνη, η αιθανολαμίνη, η ινοσιτόλη και το αμινοξύ σερίνη (που θεωρείται αλκοόλη λόγω της υδροξυλομάδας στην πλευρική ομάδα). Τα λιπαρά οξέα σχηματίζουν έναν υδρόφοβο φραγμό, ενώ το υπόλοιπο μόριο έχει υδρόφιλο χαρακτήρα που του επιτρέπει να αλληλεπιδρά με το νερό. Αυτός ο αμφιφιλικός χαρακτήρας καθιστά τα φωσφολιπίδια κατάλληλα ως συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών.

Φωσφατιδυλοχολίνη

Η PC (σχήμα 6α), γνωστή και ως λεκιθίνη, αποτελεί το αφθονότερο φωσφολιπίδιο και αντιπροσωπεύει περίπου το 50% των συνολικών φωσφολιπιδίων. Εμφανίζεται σε όλα τα θηλαστικά και σε κάποια προκαρυωτικά κύτταρα διαδραματίζοντας κεντρικό ρόλο στην δομή των μεμβρανών και στην κυτταρική σηματοδότηση, αποτελώντας πηγή για πολλά σηματοδοτικά μόρια όπως φωσφατιδικό οξύ, διακυλογλυκερόλες, λυσοφωσφατιδυλοχολίνη, αραχιδονικό οξύ (20:4ω6) και σφιγγομυελίνη (Wright et al. 2004). Τα κυτταρικά μονοπάτια της σύνθεσης και της διάσπασης της PC συντελούν στην ομοιόστασή της. Διαταραχή της ομοιόστασής της και συγκεκριμένα μειωμένη σύνθεσή της μπορεί να επάγει την απόπτωση στα κύτταρα θηλαστικών (Cui & Houweling 2002). Ανασκόπηση της βιβλιογραφίας έδειξε ούτε η οξεία ούτε η χρόνια άσκηση επηρεάζουν τη συγκέντρωση της φωσφατιδυλοχολίνης στον σκελετικό μυ (Gorski et al. 1999, Masoro et al. 1966, Therriault et al. 1973).



Σχήμα 6 Σχηματική αναπαράσταση φωσφατιδυλοχολίνης (α) φωσφατιδυλαιθανολαμίνης (β) φωσφατιδυλινοσιτόλης (γ) και φωσφατιδυλοσερίνης (δ)

Φωσφατιδυλαιθανολαμίνη

Η PE (σχήμα 6β), γνωστή και ως κεφαλίνη, αποτελεί το δεύτερο αφθονότερο φωσφολιπίδιο (Tsalouhidou et al. 2006). Αντιπροσωπεύει το 20-40% των συνολικών φωσφολιπιδίων των κυττάρων. Στην βιβλιογραφία θα συναντήσει κανείς σε υπολογίσιμες ποσότητες κάποια συγγενικά προς την PE και την PC λιπίδια, τα πλασμαλογόνα της αιθανολαμίνης και της χολίνης, που ονομάζονται φωσφατιδαλαιθανολαμίνη και φωσφατιδαλοχολίνη. Διαφέρουν από τις PE και PC κατά το ότι έχουν έναν αιθερικό αντί για εστερικό δεσμό στον άνθρακα 1 της γλυκερόλης, με διπλό δεσμό δίπλα στον αιθερικό. Αποτέλεσμα αυτού είναι να παράγεται μια αλδεΐδη με την υδρόλυση του αιθερικού δεσμού. Τα πλασμαλογόνα της αιθανολαμίνης επικρατούν κυρίως στην μυελίνη, ενώ τα πλασμαλογόνα της χολίνης αφθονούν στον καρδιακό ιστό. Πρόσφατες έρευνες αποδεικνύουν ότι τα πλασμαλογόνα σχετίζονται με την υγεία και ιδιαίτερα με εκφυλιστικές ασθένειες, όπως Alzheimer. Κάποιοι θεωρούν ότι τα αιθερικά αυτά λιπίδια αποτελούν σημαντικά αντιοξειδωτικά των κυτταρικών μεμβρανών, ενώ επιπλέον εμπλέκονται σε κυτταρικά σηματοδοτικά μονοπάτια (Mitchell et al. 2007). Η συγκέντρωση της φωσφατιδαλαιθανολαμίνης στο σκελετικό μυ είναι υψηλότερη από εκείνη της φωσφατιδαλοχολίνης (Blackard et al. 1997). Χάριν απλότητας, τα δύο αυτά πλασμαλογόνα θα περιλαμβάνονται στις συντομογραφίες PE και PC.

Σε ό,τι αφορά τις λειτουργίες της PE, αναφέρεται ότι η όσμωση και η ιοντική δέσμευση επηρεάζονται από αυτήν (Daum 1985). Επιπλέον, έχει συνδεθεί άμεσα με τη σύνθεση του επιφανειοδραστικού παράγοντα του πνεύμονα, την έκκριση λιποπρωτεϊνών και την παραγωγή 20:4ω6, για τη βιοσύνθεση των προσταγλανδινών (Choy et al. 1997). Κάποιοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η PE συμμετέχει στις αλλαγές που συμβαίνουν στο κύτταρο κατά τη διάρκεια της κυτταρικής διαίρεσης και συγκεκριμένα κατά το τελικό στάδιο της μίτωσης (Emoto & Umeda 2001). Η PE αποτέλεσε πράγματι το δεύτερο αφθονότερο φωσφολιπίδιο στις τρεις έρευνες που αναφέρθηκαν παραπάνω για την PC (Gorski et al. 1999, Masoro et al. 1966, Therriault et al. 1973). Οι δυο μελέτες που εξέτασαν την επίδραση της οξείας άσκησης αναφέρουν ότι αυτή δεν προκάλεσε καμία μεταβολή στη συγκέντρωση της PE (Masoro et al. 1966, Therriault et al. 1973), ενώ αύξησή της παρατηρήθηκε μετά από χρόνια άσκηση αντοχής (Gorski et al. 1999). Τέλος, μόνο οι Masoro et al. (1966) βρήκαν ότι η οξεία άσκηση δεν επηρέασε την συγκέντρωση της PE.

Φωσφατιδυλινοσιτόλη

Η PI (σχήμα 6γ) αντιπροσωπεύει μονοψήφιο συνήθως ποσοστό των συνολικών φωσφολιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών (Daum 1985). Η εμπλοκή της στην πρόσδεση πρωτεϊνών

στις μεμβράνες και στην κυτταρική σηματοδότηση έχει καλά τεκμηριωθεί (Choy et al. 1997). Η δισφωσφορική φωσφατιδυλινοσιτόλη (ένα παράγωγο της PI) μπορεί να υδρολυθεί από τη φωσφολιπάση C προς τρισφωσφορική ινοσιτόλη και διακυλογλυκερόλη, μόρια κλειδιά στη μετακίνηση του ενδοκυτταρικού Ca^{2+} και στην ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C (Voelker 1991). Έχει αποδειχθεί ότι η PI είναι στενά συνδεδεμένη με την ενεργοποίηση αρκετών μεμβρανικών ενζύμων και πιθανά ασκεί ρυθμιστικό ρόλο σε μηχανισμούς υποδοχής (Kalofoutis et al. 1981). Οι δύο μελέτες που εξέτασαν την επίδραση της οξείας άσκησης στη συγκέντρωση της PI στο μυ βρίσκουν ότι η οξεία άσκηση δεν την επηρεάζει (Masoro et al. 1966, Therriault et al. 1973), ενώ η χρόνια άσκηση προκαλεί αύξησή της (Gorski et al. 1999).

Φωσφατιδυλοσερίνη

Η PS (σχήμα 6δ) αντιπροσωπεύει μονοψήφιο συνήθως ποσοστό των συνολικών φωσφολιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών (Daum 1985). Έρευνες αποδεικνύουν ότι η PS μπορεί να δράσει ως αντιοξειδωτικό (Kingsley et al. 2005). Στον άνθρωπο η PS συγκεντρώνεται σε όργανα με υψηλή μεταβολική δραστηριότητα, όπως ο εγκέφαλος, η καρδιά, ο σκελετικός μυς και το ήπαρ. Οι βιοχημικές δράσεις της περιλαμβάνουν τη ρύθμιση της πρόσληψης ιόντων ασβεστίου, ρύθμιση της σύνδεσης του υποστρώματος και τη διέγερση της δραστηριότητας ειδικών ενζύμων (όπως της ATPάσης και της ακετυλοχολινεστεράσης) (Kingsley et al. 2006). Στα ευκαρυωτικά κύτταρα η PS μπορεί να λειτουργήσει ως πρόδρομος στη σύνθεση της PC και της PE (Voelker 2003). Επιπλέον, κατά τη διάρκεια της απόπτωσης, το κύτταρο αλλάζει την κατανομή των φωσφολιπιδίων μεταξύ του εσωτερικού και εξωτερικού φύλλου της κυτταροπλασματικής μεμβράνης μεταφέροντας ακαριαία PS στο εξωτερικό φύλλο, όπου δρα ως σήμα για αναγνώριση και απομάκρυνση του υπό θανάτωση κυττάρου με φαγοκυττάρωση (Farooqui et al. 2000). Η άσκηση (οξεία και χρόνια) δεν επηρεάζει την συγκέντρωσή της στο σκελετικό μυ (Gorski et al. 1999, Masoro et al. 1966, Therriault et al. 1973).

Λυσοφωσφατιδυλοχολίνη

Η LPC προέρχεται από την PC μετά από απόσπαση της μιας από τις δύο ακυλομάδες. Δεν γνωρίζουμε κάποιο βιολογικό ρόλο της εκτός από το ότι συσσώρευση λυσοφωσφολιπιδίων μπορεί να οδηγήσει σε λύση των κυττάρων (Choy et al. 1997). Επιπλέον, υψηλά επίπεδα λυσοφωσφολιπιδίων κατά τη διάρκεια καρδιακής ισχαιμίας έχουν θεωρηθεί σημαντικός παράγοντας για την πρόκληση καρδιακών αρρυθμιών (Choy et al. 1997). Δεν εντοπίσαμε καμία μελέτη που να εξέτασε την επίδραση της άσκησης στην συγκέντρωση της LPC.

Σημασία του προφίλ λιπαρών οξέων των φωσφολιπιδίων

Τα φωσφολιπίδια περιέχουν μια μεγάλη ποικιλία λιπαρών οξέων. Τα λιπαρά οξέα αναφέρονται συνήθως με τις εμπειρικές τους ονομασίες, όμως περισσότερο πληροφοριακός είναι ο αριθμητικός τους συμβολισμός που δηλώνει τον αριθμό των ατόμων άνθρακα, τον αριθμό των διπλών δεσμών και, μερικές φορές, τη θέση των διπλών δεσμών. Για παράδειγμα, το παλμιτικό οξύ, ένα από τα πιο άφθονα λιπαρά οξέα, συμβολίζεται ως 16:0 και είναι κορεσμένο, αφού δεν περιέχει διπλούς δεσμούς. Το ελαϊκό, ένα άλλο άφθονο λιπαρό οξύ, είναι ακόρεστο και συγκεκριμένα μονοακόρεστο, αφού περιέχει ένα διπλό δεσμό. Συμβολίζεται 18:1ω9, αφού περιέχει ένα διπλό δεσμό. Η αρίθμηση ω δείχνει το άτομο άνθρακα μετά το οποίο εμφανίζεται ο πρώτος διπλός δεσμός, όταν κάποιος ξεκινάει την αρίθμηση από το μεθυλικό άκρο (τον ω άνθρακα δηλαδή) και διευκολύνει την αναγνώριση των μεταβολικά σχετιζόμενων λιπαρών οξέων, αφού οι αντιδράσεις επιμήκυνσης και αποδόμησης λαμβάνουν χώρα στο άλλο άκρο. Το σύστημα αρίθμησης ω είναι εξίσου ικανοποιητικό στην περιγραφή των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, αφού οι διπλοί δεσμοί σχεδόν πάντα είναι τοποθετημένοι σε απόσταση τριών ανθράκων ο ένας από τον άλλον. Η ομαδοποίηση λιπαρών οξέων ανάλογα με τη χημική τους δομή διευκολύνει την αξιολόγηση της επίδρασης των αλλαγών τους στη φυσιολογία των οργανισμών και την παρακολούθηση των μεταβολικών αλληλομετατροπών τους. Ομάδες λιπαρών οξέων είναι τα κορεσμένα, τα μονοακόρεστα και τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, ενώ τα πολυακόρεστα χωρίζονται παραπέρα σε ω3 και ω6 λιπαρά οξέα.

Τα φωσφολιπίδια μπορούν να παράσχουν ενέργεια με τα λιπαρά οξέα τους που απελευθερώνονται με υδρόλυση. Ωστόσο, η λειτουργία αυτή φαίνεται να είναι δευτερεύουσας σημασίας, κρίνοντας από εργασίες που έχουν αναφέρει ότι η οξεία παρατεταμένη άσκηση γενικά δεν επηρεάζει την ποσότητα των φωσφολιπιδίων στο σκελετικό μυ (Barclay & Stainsby 1972, Fröberg & Mossfeldt 1971) και στο ήπαρ (Górski et al. 1990), ενώ τα μειώνει ελαφρά στη καρδιά (Fröberg 1971, Wójcik, Nawrocki, Chocian & Górski 1999).

Έχει βρεθεί ότι τα φωσφολιπίδια των μιτοχονδρίων του σκελετικού μύος έχουν υψηλό ποσοστό εικοσιδιεξαενοϊκού οξέος (22:6ω3) και χρησιμεύουν ως δομικοί συμπαράγοντες για τη λειτουργία διαφόρων μεμβρανικών πρωτεϊνών, αντλίων ιόντων και συμπλεγμάτων μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια (Infante et al. 2001). Μύες με υψηλά ποσά μιτοχονδριακών αναπνευστικών ενζύμων είχαν υψηλές συγκεντρώσεις 22:6ω3 στα φωσφολιπίδια σε σύγκριση με άλλους λιγότερο δραστήριους μύες (Infante et al. 2001). Επιπλέον, η σύσταση των μεμβρανών σε λιπαρά οξέα μπορεί να επηρεάσει τη λειτουργία μεταφορέων, ενζύμων και υποδοχέων (Faroouqi et al. 2000). Παρ' όλα αυτά, τα περισσότερα δεδομένα είναι αποσπα-

σματικά και υπάρχει μεγάλη ασυμφωνία μεταξύ τους. Το πλέον σημαντικό είναι ότι δεν μπορούμε να αποδώσουμε ένα φυσιολογικό αποτέλεσμα σε μια μόνο αλλαγή της κυτταρικής μεμβράνης, γιατί μπορεί να αλλάζουν ταυτόχρονα κι άλλα πράγματα.

Κάποιοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι αλλαγές στη σύσταση λιπαρών οξέων των φωσφολιπιδίων, όπως μεταβολές της ποσοστιαίας κατανομής του 20:4ω6, μπορεί να είναι καθοριστικής σημασίας για πλήθος παθολογικών καταστάσεων, όπως χρόνιες καρδιαγγειακές ασθένειες και φλεγμονές (Schiller & Arnold 2002).

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

Από την παραπάνω βιβλιογραφική ανασκόπηση είναι φανερό ότι υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα για την επίδραση της χρόνιας άσκησης στην απόπτωση στο σκελετικό μυ και σε ουσίες που εμπλέκονται στη σηματοδότηση της. Για κάποιες από αυτές δεν υπάρχουν καθόλου δεδομένα, ενώ γι' αυτές που βρέθηκαν ορισμένες μελέτες, τα αποτελέσματά είναι αντιφατικά. Επίσης δεν βρήκαμε καμία μελέτη που να εξέτασε την επίδραση της χρόνιας άσκησης στο προφίλ λιπαρών οξέων των επιμέρους φωσfolιπιδίων. καθώς και καμία μελέτη που να εξέτασε την επίδραση της χρόνιας άσκησης στην απόπτωση και στα τρία λιπίδια (καρδιολιπίνη, σφιγγομυελίνη και κεραμίδιο) που εμπλέκονται στη διεργασία της απόπτωσης.

Παρακινούμενοι από τα παραπάνω βιβλιογραφικά κενά, αποφασίσαμε στην παρούσα μελέτη να εξετάσουμε την επίδραση εθελοντικού τρεξίματος επιμύων σε τροχούς για 8 εβδομάδες:

- 1) στον κατακερματισμό του DNA,
- 2) στη δραστικότητα της κασπάσης 3,
- 3) στη συγκέντρωση του παράγοντα νέκρωσης όγκων TNF α ,
- 4) στη συγκέντρωση και το ποσοστό της φωσφατιδυλοχολίνης, της φωσφατιδυλαιθανολαμίνης, της καρδιολιπίνης, της φωσφατιδυλινοσιτόλης, της φωσφατιδυλοσερίνης, της σφιγγομυελίνης και της λυσοφωσφατιδυλοχολίνης,
- 5) στη συγκέντρωση του κεραμιδίου και
- 6) στα επιμέρους λιπαρά οξέα των παραπάνω λιπιδίων του μυός .

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Δείγμα

Στη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 35 αρσενικοί επίμυες της φυλής Wistar από την εταιρεία Charles River Laboratories (Sulzfeld, Γερμανία). Οι επίμυες ήταν ηλικίας 7 εβδομάδων και διαβιούσαν κάτω από σταθερές περιβαλλοντικές συνθήκες (θερμοκρασία 21 °C και κύκλος φωτός-σκότους 12:12 ώρες) στις εγκαταστάσεις του Αθλητικού Πανεπιστημίου της Κολωνίας. Οι επίμυες είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε νερό και τυποποιημένη τροφή για τρωκτικά από τη Ssniff (Soest, Γερμανία). Τα πειραματόζωα διαβιούσαν σύμφωνα με τις οδηγίες της Ευρωπαϊκής Ένωσης για τη φροντίδα και χρήση των πειραματόζωων. Ο σχεδιασμός της μελέτης εγκρίθηκε από την τοπική διεύθυνση της πόλης της Κολωνίας (Bezirksregierung Köln).

Προπόνηση

Οι επίμυες χωρίστηκαν με τυχαίο τρόπο σε δύο ομάδες. Στην ομάδα των προπονημένων ($n = 20$), οι επίμυες διαβιούσαν ατομικά σε κλουβιά εξοπλισμένα με τροχό, όπου μπορούσαν να ασκούνται ελεύθερα για 8 εβδομάδες. Η σωματική τους δραστηριότητα καταγραφόταν συνεχώς μέσω του συστήματος συλλογής δεδομένων DasyLab 5.0 της Datalog (Mönchengladbach, Γερμανία). Στην ομάδα των απροπόνητων ($n = 15$), οι επίμυες διαβιούσαν επίσης ατομικά σε κλουβιά, τα οποία όμως δεν ήταν εξοπλισμένα με τροχό.

Συλλογή μυών

Μετά τη συμπλήρωση της προπονητικής περιόδου, τα 11 περισσότερο προπονημένα πειραματόζωα (που έτρεχαν πάνω από 2 km/ημέρα) και τα 14 απροπόνητα πειραματόζωα (ένα πέθανε κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου) αποκεφαλίστηκαν μετά από σύντομη αναισθησία περίπου την ίδια ώρα της ημέρας (14:00-16:00). Οι τροχοί και η τροφή είχαν αφαιρεθεί από τα κλουβιά αντίστοιχα 12 και 6 h νωρίτερα, ώστε να ελαχιστοποιηθεί η επίδραση της τελευταίας άσκησης και του τελευταίου γεύματος στις υπό μελέτη παραμέτρους. Αμέσως μετά τη θανάτωση, αφαιρέθηκε ο έξω γαστροκνήμιος μυς του δεξιού πίσω ποδιού όσο το δυνατό γρηγορότερα. Οι ιστοί απαλλάχθηκαν από το ορατό λίπος και τα ορατά νεύρα, βυθίστηκαν σε υγρό άζωτο και αποθηκεύτηκαν στους $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Μετά την ολοκλήρωση της συλλογής τους, τα δείγματα μεταφέρθηκαν σε ξηρό πάγο στο εργαστήριό μας στη Θεσσαλονίκη. Οι παγωμένοι ιστοί κονιορτοποιήθηκαν με γουδί και γουδοχέρι σε υγρό άζωτο, μοιράστηκαν σε μικρές ποσότητες σε φιαλίδια erpendorf για την αποφυγή επανειλημμένου ξεπαγώματος και αποθηκεύτηκαν και πάλι στους $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ μέχρι την ανάλυσή τους.

Προσδιορισμός CCO

Η δραστηριότητα της CCO προσδιορίστηκε στο μυ με φωτομετρική μέθοδο. Η μέθοδος βασίζεται στη μέτρηση της μείωσης της απορρόφησης στα 550 nm του σιδηροκυτοχρώματος c εξαιτίας της οξείδωσής του από τη CCO. Χρησιμοποιήθηκε διάλυμα προσδιορισμού 10 mmol/l Tris-HCl και 120 mmol/l KCl (pH 7,0) και διάλυμα κυτοχρώματος c 0,22 mmol/l. Δέκα mg κονιορτοποιημένου ιστού ομογενοποιήθηκαν με 99 όγκους διαλύματος ομογενοποίησης 20 mmol/l NaH₂PO₄, 0,5 mmol/l EDTA, 0,2 % βόεια αλβουμίνη ορού (BSA) και 0,1 % Triton X-100 (pH 7,4) σε γυάλινο ομογενοποιητή της εταιρείας Kontes (Vineland, NJ, ΗΠΑ), χωρητικότητας 1 ml, εσωτερικά εσφυρισμένο, με επίσης γυάλινο εσφυρισμένο έμβολο. Σε μια κυψελίδα φωτομέτρου τοποθετήσαμε 570 μl διαλύματος προσδιορισμού, 45 μl διαλύματος ομογενοποίησης, 15 μl από το ομογενοποίημα του μυός και 30 μl διαλύματος κυτοχρώματος c. Αναδεύσαμε σε κυκλομείκτη και καταγράψαμε την απορρόφηση αμέσως και ανά 15 s ως τα 45 s στους 25 °C (ελέγχοντας με αυτόν τον τρόπο τη γραμμικότητα της αντίδρασης). Υπολογίσαμε τη μεταβολή της απορρόφησης (A) στα 45 s. Η επιθυμητή τιμή ήταν 0,012-0,040. Αν ήταν διαφορετική, προσαρμόζαμε ανάλογα τον όγκο του διαλύματος ομογενοποίησης. Η δραστηριότητα της CCO, σε U/g μυός, υπολογίστηκε ως $A \times 880 \times 100 / (\mu\text{l δείγματος} \times 21,84)$ όπου U η παραγωγή ενός μmol σιδηροκυτοχρώματος c ανά min. Όλα τα υλικά για τον προσδιορισμό αγοράστηκαν από τη Sigma (St Louis, MO, ΗΠΑ). Ο συντελεστής διακύμανσης της ανάλυσης ήταν 3 %.

Προσδιορισμός απόπτωσης

Ο προσδιορισμός της απόπτωσης έγινε με ενζυμικό ανοσοπροσδιορισμό. Χρησιμοποιήθηκε σύνολο αντιδραστηρίων με αριθμό καταλόγου 11 774 425 001 της Roche (Mannheim, Germany). Δέκα mg κονιορτοποιημένου ιστού ομογενοποιήθηκαν με 79 όγκους ρυθμιστικού διαλύματος λύσης κυττάρων (έτοιμο αντιδραστήριο). Τα ομογενοποιήματα φυγοκεντρήθηκαν στα $97 \times g$ για 1 min στους 4 °C. Σε μικροπλακίδιο με βοθρία επιστρωμένα με μονοκλωνικά αντισώματα κατά ιστονών τοποθετήσαμε 20 μl από το υπερκείμενο υγρό και προσθέσαμε 80 μl αντισώματος κατά του DNA συζευγμένου με υπεροξιδάση. Επώασαμε σε θερμοκρασία δωματίου για 2 ώρες με ταυτόχρονη ανακίνηση στα 300 rpm. Μετά από καλό πλύσιμο των βοθρίων με διάλυμα καθαρισμού, τοποθετήσαμε 100 μl υποστρώματος της υπεροξιδάσης (ABTS), επώασαμε σε θερμοκρασία δωματίου για 10 min με ανακίνηση στα 250 rpm και σταματήσαμε την ανάπτυξη χρώματος με 100 μl διαλύματος τερματισμού. Τέλος τοποθετήσαμε το μικροπλακίδιο στη θέση υποδοχής του φωτόμετρου Anthos 2001 (Salzburg, Αυστρία).

α) και μετρήσαμε την απορρόφηση στα 405 nm. Ο συντελεστής διακύμανσης της ανάλυσης ήταν 10 %.

Προσδιορισμός TNFα

Ο προσδιορισμός του TNFα έγινε με ενζυμικό ανοσοπροσδιορισμό στα ίδια ομογενοποιημένα όπου μετρήθηκε η απόπτωση. Χρησιμοποιήθηκε σύνολο αντιδραστηρίων με αριθμό καταλόγου 313-80-164 της εταιρίας ImmunoKontakt (Abingdon, Ηνωμένο Βασίλειο). Σε μικροπλακίδιο με βοθρία επιστρωμένα με μονοκλωνικά αντισώματα κατά του TNFα τοποθετήσαμε 100 μl προτύπων διαλυμάτων ή 50 μl δειγμάτων. Εν συνεχεία προσθέσαμε 100 μl διαλύματος αντισώματος κατά του TNFα συζευγμένου με βιοτίνη σε κάθε βοθρίο. Επώασαμε σε θερμοκρασία δωματίου για 2 ώρες με ταυτόχρονη ανακίνηση στα 200 rpm. Μετά από καλό πλύσιμο των βοθρίων με διάλυμα πλύσης, τοποθετήσαμε 100 μl διαλύματος στρεπταβιδίνης συζευγμένης με υπεροξιδάση σε κάθε βοθρίο. Επώασαμε σε θερμοκρασία δωματίου για μία ώρα με ταυτόχρονη ανακίνηση στα 200 rpm. Πλύναμε πάλι τα βοθρία και προσθέσαμε 100 μl υποστρώματος της υπεροξιδάσης (TMB). Επώασαμε σε θερμοκρασία δωματίου για 10 min με ανακίνηση στα 100 rpm και σταματήσαμε την ανάπτυξη χρώματος με διάλυμα τερματισμού. Τέλος τοποθετήσαμε το μικροπλακίδιο στη θέση υποδοχής του φωτόμετρου Anthos 2001, μετρήσαμε την απορρόφηση στα 450 nm και υπολογίσαμε τη συγκέντρωση του TNFα με τη βοήθεια των πρότυπων διαλυμάτων.

Προσδιορισμός κασπάσης 3

Ο προσδιορισμός της κασπάσης 3 έγινε φωτομετρικά στα ίδια ομογενοποιημένα όπου μετρήθηκε η απόπτωση και ο TNFα. Χρησιμοποιήθηκε σύνολο αντιδραστηρίων με αριθμό καταλόγου BF3100 της εταιρίας R&D Systems (Minneapolis, MN, USA). Η δραστηριότητα του ενζύμου προσδιορίστηκε με βάση την ταχύτητα διάσπασης του πεπτιδίου ασπαρτυλο-γλουταμυλο-βαλλυλο-ασπαρτικού οξέος με π-νιτροανιλίνη συζευγμένη στο καρβοξυτελικό άκρο (DEVD-pNA). Η διάσπαση του πεπτιδίου από την κασπάση 3 απελευθερώνει π-νιτροανιλίνη, η οποία απορροφά στα 405 nm. Τοποθετήσαμε σε βοθρία 50 μl δείγματος και έπειτα 15 μl διαλύματος διθειοθρεϊτόλης συγκέντρωσης 1 mol/l. Στη συνέχεια προσθέσαμε 5 μl και μετρήσαμε την απορρόφηση των δειγμάτων μετά από 1-2 h. Ο συντελεστής διακύμανσης της ανάλυσης ήταν 9 %.

Εκχύλιση λιπιδίων

Εκατόν είκοσι πέντε mg κονιορτοποιημένου ιστού τοποθετήθηκαν σε γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα όπου ήδη είχαν τοποθετηθεί 36 μg διδεκαεπτανουλοφωσφατιδυλοχολίνης ως εσωτερικό πρότυπο για το μετέπειτα υπολογισμό της συγκέντρωσης των φωσφολιπιδίων και 2,7 μg δεκαεπτανουλοκεραμιδίου ως εσωτερικό πρότυπο για τη μέτρηση της ποσότητας του κεραμιδίου (και τα δύο πρότυπα αγοράστηκαν από τη Sigma). Στη συνέχεια προστέθηκαν 2125 μl (17 όγκοι) μείγματος χλωροφορμίου–μεθανόλης 2:1 (v/v) που περιείχε 0,01% (w/v) βουτυλιωμένο υδροξυτολουένιο (BHT) για αντιοξειδωτική προστασία. Μετά από 5 min προσθέσαμε 450 μl νερού και αναδεύσαμε ζωνηρά για 1 min με σκοπό να εκχυλιστούν τα λιπίδια στην κάτω στιβάδα (Folch et al. 1957). Τέλος, φυγοκεντρήσαμε το μείγμα στα 1500 × g για 5 min, μεταφέραμε την κάτω στιβάδα σε άλλο δοκιμαστικό σωλήνα και τη συμπυκνώσαμε με εξάτμιση κάτω από ρεύμα N₂ με ελαφριά θέρμανση (40 °C).

Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας

Ο διαχωρισμός των φωσφολιπιδίων πραγματοποιήθηκε με δισδιάστατη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας. Πρόκειται για ένα είδος χρωματογραφίας προσρόφησης, κατά την οποία ένας διαλύτης (κινητή φάση) μετακινείται κατά μήκος μιας λεπτής πλάκας από πορώδες υλικό. Το δείγμα τοποθετείται στην αρχή της πλάκας και παρασύρεται από την κινητή φάση. Τα συστατικά του δείγματος ταξιδεύουν κατά μήκος της πλάκας με διαφορετική ταχύτητα, ανάλογα με τη συνάφειά τους προς το διαλύτη, και μ' αυτό τον τρόπο διαχωρίζονται. Επειδή ο διαχωρισμός όλων των φωσφολιπιδίων σε μια διάσταση δεν είναι ικανοποιητικός, ακολουθεί χρωματογραφία με άλλο διαλύτη σε κατεύθυνση κάθετη προς την πρώτη.

Αναλυτικά, διαλύσαμε το αποξηραμένο εκχύλισμα λιπιδίων σε 30 μl χλωροφορμίου–μεθανόλης 2:1 (v/v) και ενσταλλάξαμε 15 μL στη γωνία (1,5 cm από κάθε πλευρά) μιας πλάκας (10 × 10 cm) από σίλικα της εταιρείας Merck (Darmstadt, Γερμανία). Αναπτύξαμε την πλάκα με χλωροφόρμιο–μεθανόλη–οξικό οξύ 10:5:1 (v/v/v) περίπου μέχρι τα 9 cm για 35 min, τη στεγνώσαμε σε ρεύμα αέρα για 20 min και την αναπτύξαμε με περιστροφή κατά 90° με χλωροφόρμιο–ακετόνη–μεθανόλη–οξικό οξύ–νερό 10:4:2:2:1 (v/v/v/v) για άλλα 35 min πάλι μέχρι τα 9 cm. Μετά το πέρας και της δεύτερης ανάπτυξης, στεγνώσαμε την πλάκα όπως παραπάνω και την ψεκάσαμε με διάλυμα 0,2 % διχλωροφλουορεσεΐνης σε αιθανόλη για τον εντοπισμό των κηλίδων των φωσφολιπιδίων κάτω από υπεριώδες φως. Είχαν προηγηθεί πιλοτικά πειράματα, με τη χρήση προτύπων φωσφολιπιδίων από τη Sigma, έτσι ώστε γνωρίζαμε ποια κηλίδα αντιστοιχεί σε κάθε φωσφολιπίδιο. Το παραπάνω σύστημα δισδιάστατης χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας έχει περιγραφεί στη βιβλιογραφία (Kester et al. 1984).

Ο διαχωρισμός του κεραμιδίου έγινε με μονοδιάστατη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας, σε άλλη πλάκα (3 × 10 cm) από το ίδιο υλικό. Στη πλάκα αυτή ενσταλάξαμε 7 μl που είχαν απομείνει από το συμπυκνωμένο εκχύλισμα. Αναπτύξαμε την πλάκα μέχρι το ένα τρίτο του ύψους της με χλωροφόρμιο-μεθανόλη-25% αμμωνία 20:5:0,2 (v/v/v) για περίπου 6 min. Στεγνώσαμε την πλάκα σε ρεύμα αέρα για 20 min και την αναπτύξαμε στην ίδια κατεύθυνση με επτάνιο-ισοπροπυλαιθέρα-οξικό οξύ 60:40:3 (v/v/v) μέχρι λίγο πριν το τέλος του ύψους της. Μετά το πέρας και της δεύτερης ανάπτυξης, στεγνώσαμε και ψεκάσαμε την πλάκα όπως παραπάνω για τον εντοπισμό της κηλίδας του κεραμιδίου κάτω από υπεριώδες φως. Όπως για τα φωσφολιπίδια, έτσι και για το κεραμίδιο είχαν προηγηθεί πιλοτικά πειράματα, με τη βοήθεια πρότυπου κεραμιδίου από τη Sigma, έτσι ώστε γνωρίζαμε την κηλίδα που αντιστοιχεί στο κεραμίδιο. Το παραπάνω σύστημα χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας έχει περιγραφεί στη βιβλιογραφία (Dobryzyn & Goreski 2002a).

Παρασκευή μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων και διμεθυλακεταλών

Η μέτρηση των φωσφολιπιδίων και του κεραμιδίου έγινε μέσω της μεθανόλυσής τους σε μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων, και διμεθυλακετάλες που μετρήθηκαν με τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας. Αναλυτικά, αποξέσαμε τις κηλίδες που αντιστοιχούσαν στην PC, στην PE, στη CL, στην PI, στη PS στην SM και στην LPC σε επτά γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες με πώμα, στους οποίους είχαμε προσθέσει 7,8 μg δεκαπεντανοϊκού οξέος ως ουσία αναφοράς. Στους σωλήνες που περιείχαν PC, PE, CL, PI, PS και LPC προσθέσαμε 0,5 mL μεθανολικού διαλύματος μεθοξιδίου του νατρίου (Sigma), τους κλείσαμε σφιχτά και τους επώασαμε στους 50°C για 10 min. Κατόπιν προσθέσαμε 0,5 ml μεθανολικού διαλύματος τριφθοριούχου βορίου (Fluka, Buchs, Ελβετία) και επαναλάβαμε την επώαση όπως προηγουμένως (Kramer et al. 1997). Σε έναν άλλο δοκιμαστικό σωλήνα αποξέσαμε την κηλίδα που αντιστοιχούσε στο κεραμίδιο. Στους σωλήνες που περιείχαν SM και κεραμίδιο προσθέσαμε 1 ml μεθανολικού διαλύματος τριφθοριούχου βορίου, τους κλείσαμε σφιχτά και τους επώασαμε στους 100°C για 75 min. Η διαφορετική αυτή μεταχείριση των σφιγγολιπιδίων οφείλεται στην ιδιαίτερη δομή τους, που απαιτεί ισχυρότερες συνθήκες μεθυλίωσης. Οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων που παράχθηκαν με τους 2 παραπάνω τρόπους εκχυλίστηκαν με προσθήκη 1,5 ml εξανίου και ζωηρή ανάδευση για 1 min. Από τις δύο στιβάδες που σχηματίστηκαν όταν αφήσαμε το μείγμα να ηρεμήσει μεταφέραμε την υπερκείμενη (που περιείχε τους μεθυλεστέρες) σε νέο γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα και την εξαμίσαμε κάτω από ρεύμα N₂ για τη συμπύκνωση των μεθυλεστέρων.

Αέρια χρωματογραφία

Η αέρια χρωματογραφία είναι ένα είδος χρωματογραφίας κατανομής, κατά την οποία τα συστατικά ενός μείγματος κατανέμονται ανάμεσα σε μια στάσιμη και μια κινητή φάση. Η στάσιμη φάση είναι υγρή και είναι προσροφημένη επάνω στο στερεό υλικό ενός μακρού και στενού σωλήνα, που ονομάζεται στήλη αέριας χρωματογραφίας. Η στήλη είναι τοποθετημένη μέσα σε κλίβανο με ρυθμιζόμενη θερμοκρασία, ο οποίος είναι το κεντρικό μέρος του αέριου χρωματογράφου. Κατά μήκος της στήλης μετακινείται η κινητή φάση, που είναι αέρια. Το δείγμα εισάγεται στην αρχή της στήλης και παρασύρεται από την κινητή φάση κατά μήκος της στάσιμης. Τα συστατικά του δείγματος, λόγω της διαφορετικής χημικής τους δομής, έχουν διαφορετική κατανομή μεταξύ κινητής και στάσιμης φάσης με αποτέλεσμα να κινούνται με διαφορετική ταχύτητα κατά μήκος της στήλης. Η ταχύτητα αυτή εξαρτάται από την ροή της κινητής φάσης και από το πρόγραμμα θερμοκρασίας της στήλης.

Οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων διαχωρίστηκαν σε αέριο χρωματογράφο Hewlett Packard 5890 Series II (Waldbronn, Γερμανία) εξοπλισμένο με τριχοειδή στήλη AT-WAX μήκους 30 m από την Alltech (Deerfield, IL, ΗΠΑ) και με ανιχνευτή ιοντισμού φλόγας. Η θερμοκρασία της στήλης προγραμματίστηκε να ξεκινάει από τους 160°C και να φτάνει τους 248°C με ρυθμό 4°C/min. Η κινητή φάση ήταν το αδρανές αέριο ήλιο με ροή 1 mL/min (στους 160 °C).

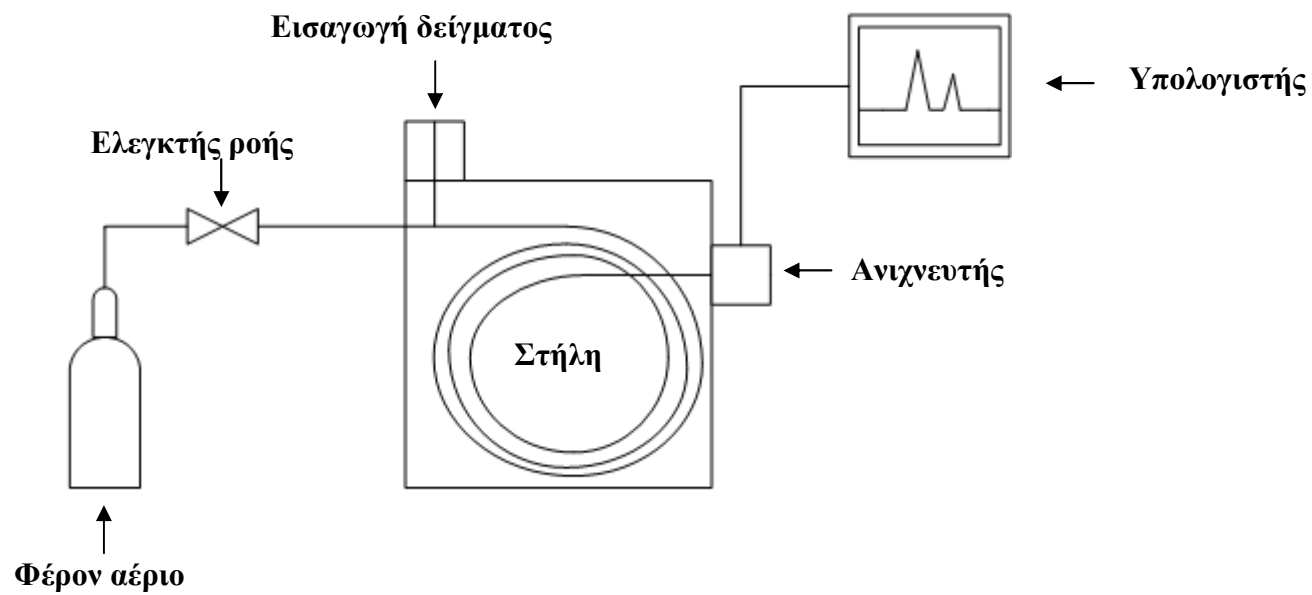
Κατά την έξοδό του από τη στήλη, κάθε μεθυλεστέρας καιγόταν στον ανιχνευτή ιοντισμού φλόγας και το παραγόμενο ηλεκτρικό σήμα διοχετευόταν σε ηλεκτρονικό υπολογιστή. Εκεί μετατρεπόταν σε καμπύλη έντασης του σήματος ως προς το χρόνο εξόδου από τη στήλη, το ονομαζόμενο χρωματογράφημα (σχήμα 14). Σε αυτό, κάθε μεθυλεστέρας απεικονίζεται ως μία αιχμή. Το εμβαδό κάτω από την αιχμή είναι ανάλογο της μάζας του μεθυλεστέρα και υπολογιζόταν με ολοκλήρωση από το πρόγραμμα HP 3365 ChemStation της Hewlett-Packard. Το εμβαδό κάθε αιχμής μετατρεπόταν σε μg μεθυλεστέρα μετά από σύγκρισή του με το εμβαδό της αιχμής του δεκαπεντανοϊκού μεθυλεστέρα που υπήρχε σε κάθε χρωματογράφημα φωσφολιπιδίου, προερχόμενο από τη μεθυλίωση της γνωστής ποσότητας της ουσίας αναφοράς, και με το εμβαδό της αιχμής του δεκαεπτανοϊκού μεθυλεστέρα που υπήρχε στο χρωματογράφημα της PC και του κεραμιδίου, προερχόμενο από τη μεθυλίωση του εσωτερικού προτύπου.

Στη συνέχεια τα μg κάθε μεθυλεστέρα μετατρέπονταν σε μmol διαιρώντας με το μοριακό βάρος του. Γνωρίζοντας ότι 1 mol μεθυλεστέρα αντιστοιχεί σε 1 mol λιπαρού οξέος, η παραπάνω ποσότητα ήταν και μmol λιπαρού οξέος. Διαιρώντας με τη μάζα του μυός που χρησιμοποιήσαμε για την ανάλυση, εκφράσαμε τη συγκέντρωση κάθε λιπαρού οξέος σε μmol/g μυός.

Οι συγκεντρώσεις εκφράστηκαν στη συνέχεια ως ποσοστό επί του συνόλου των λιπαρών οξέων κάθε λιπιδίου. Από το άθροισμα των λιπαρών οξέων των επιμέρους φωσφολιπιδίων υπολογίσαμε στη συνέχεια τις συγκεντρώσεις και τα ποσοστά λιπαρών οξέων των ολικών φωσφολιπιδίων.

Στη συνέχεια υπολογίσαμε τη συγκέντρωση κάθε φωσφολιπιδίου και του κεραμιδίου διαιρώντας το άθροισμα των συγκεντρώσεων των επιμέρους λιπαρών οξέων τους με τον αριθμό λιπαρών οξέων στο μόριό τους (2 για τις PC, PE, PI, PS, 4 για την CL και 1 για SM, LPC και κεραμίδιο). Σε ό,τι αφορά τα φωσφολιπίδια, οι συγκεντρώσεις τους εκφράστηκαν στη συνέχεια και ως ποσοστό επί του συνόλου των φωσφολιπιδίων.

Επειδή η σύσταση των λιπιδίων των ιστών σε λιπαρά οξέα επηρεάζεται από τη σύσταση της τροφής σε λιπαρά οξέα, προσδιορίσαμε και αυτή με την προσθήκη κατά σειρά μεθανολικού διαλύματος μεθοξιδίου του νατρίου και μεθανολικού διαλύματος τριφθοριούχου βορίου, όπως περιγράφηκε παραπάνω, σε λίγα mg της τροφής των πειραματοζώων. Οι μεθυλεστέρες των λιπαρών οξέων εκχυλίστηκαν και αναλύθηκαν με αέρια χρωματογραφία, όπως και πάλι περιγράφηκε παραπάνω. Οι συγκεντρώσεις εκφράστηκαν στη συνέχεια ως ποσοστό επί του συνόλου των λιπαρών οξέων.



Σχήμα 7. Σχηματική αναπαράσταση αέριου χρωματογράφου.

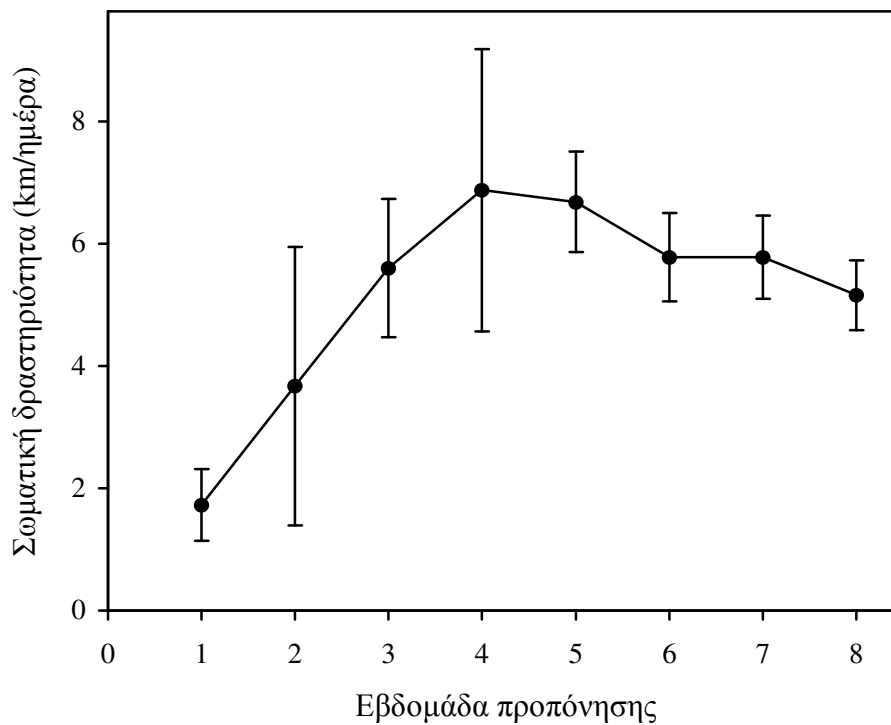
Στατιστική ανάλυση

Από την ποσοστιαία κατανομή των λιπαρών οξέων των λιπιδίων υπολογίστηκαν οι ακόλουθοι δείκτες: ακόρεστα, κορεσμένα, μονοακόρεστα, πολυακόρεστα, $\omega 6$, $\omega 3$, $\omega 6/\omega 3$, λόγος ακόρεστα προς κορεσμένα (A/K) και δείκτης ακορεστότητας (ΔA , ο μέσος όρος των διπλών δεσμών ανά λιπαρό οξύ σε ένα μείγμα λιπαρών οξέων πολλαπλασιαζόμενος με το 100). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση (SD). Για να συγκρίνουμε τις 2 ομάδες ζώων ως προς τη συγκέντρωση της CCO, την απόπτωση, τον TNF α , την κασπάση 3, τη συγκέντρωση κάθε λιπαρού οξέος σε καθένα από τα 8 λιπίδια (PC, PE, CL, PI, PS, SM, LPC και κεραμίδιο), τη συγκέντρωση κάθε φωσφολιπιδίου και και το ποσοστό κάθε φωσφολιπιδίου στο σύνολο των φωσφολιπιδίων, πραγματοποιήσαμε δίπλευρες δοκιμασίες *t* του Student για ανεξάρτητες παρατηρήσεις. Για να συγκρίνουμε τις 2 ομάδες και τα 8 λιπίδια ως προς το ποσοστό κάθε λιπαρού οξέος και τους δείκτες του προφίλ των λιπαρών οξέων πραγματοποιήσαμε ανάλυση διακύμανσης 2 παραγόντων (άσκηση \times λιπίδιο) με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις στο λιπίδιο. Ορίσαμε το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας στο $\alpha = 0,05$. Για όλες τις αναλύσεις χρησιμοποιήσαμε το στατιστικό πακέτο SPSS έκδοση 13.0 (SPSS Inc., Chicago, ΗΠΑ).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Σωματική δραστηριότητα των επιμύων

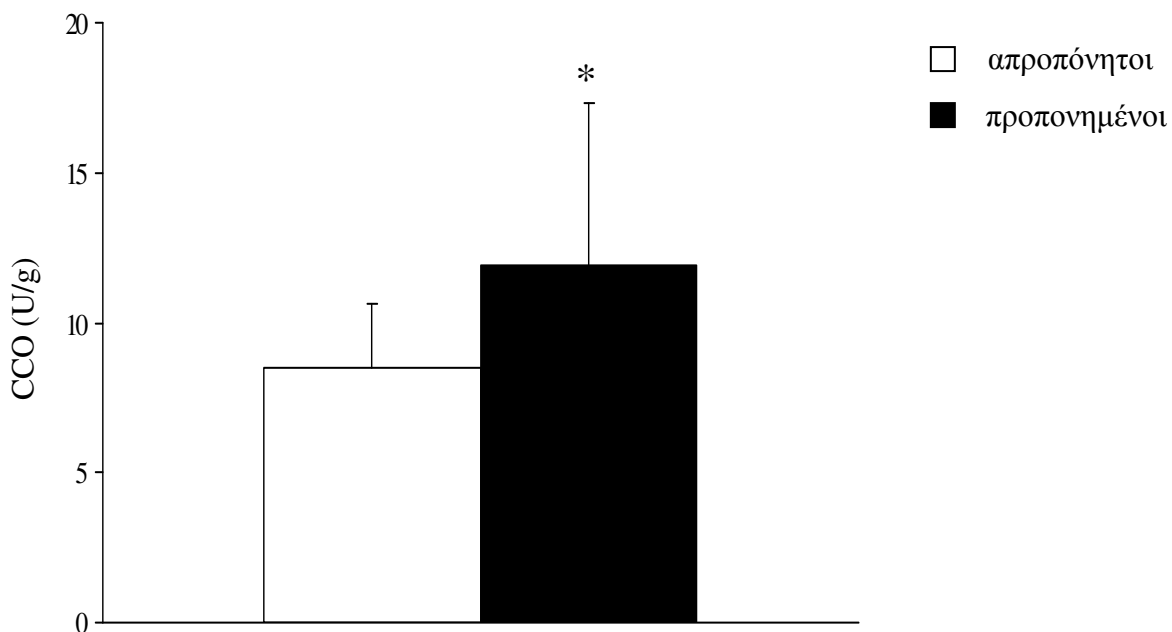
Η σωματική δραστηριότητα των επιμύων που ασκήθηκαν στους τροχούς αυξανόταν μέχρι και την 4η εβδομάδα και έπειτα ακολούθησε ελαφρά πτωτική πορεία μέχρι το τέλος των 8 εβδομάδων (σχήμα 8). Οι επίμυες έτρεχαν $5,2 \pm 3,8$ km/ημέρα κατά τη διάρκεια της πειραματικής παρέμβασης.



Σχήμα 8. Εβδομαδιαίες μέσες τιμές και SD της καλυπτόμενης απόστασης ανά ημέρα από την προπονημένη ομάδα.

Συγκέντρωση CCO

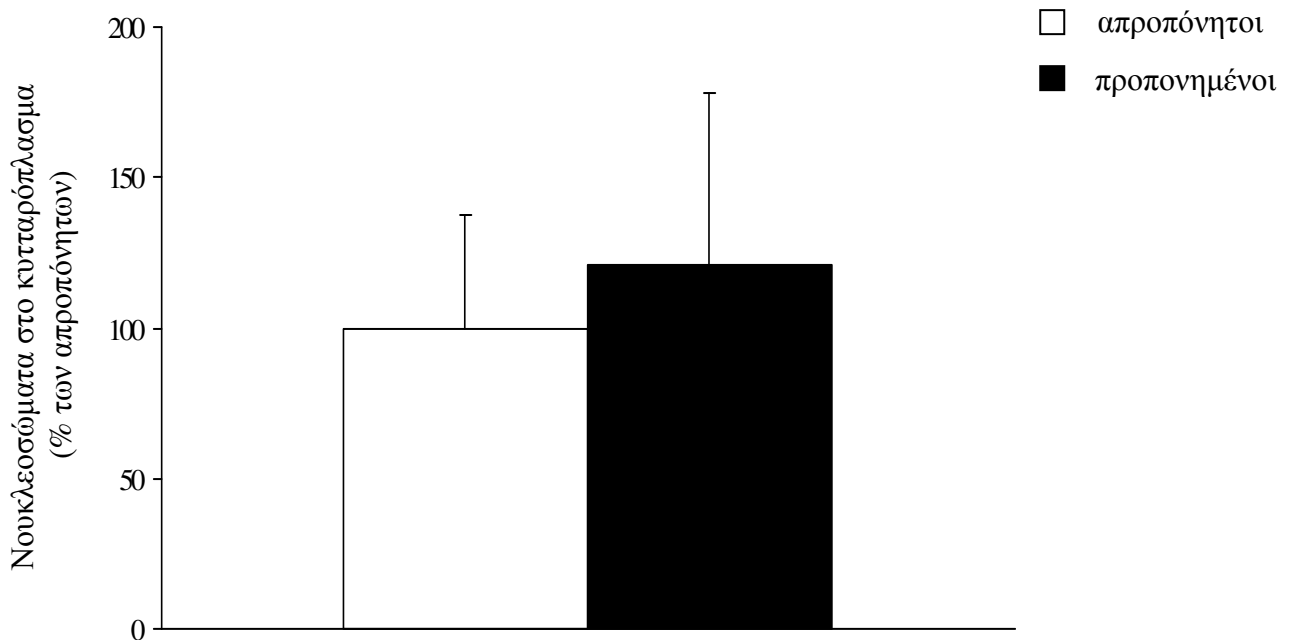
Η καταλυτική συγκέντρωση της CCO του μύος βρέθηκε σημαντικά υψηλότερη στους προπονημένους επίμυες σε σύγκριση με τους απροπόνητους ($11,9 \pm 5,4$ έναντι $8,5 \pm 2,2$ U/g, $p = 0,003$, σχήμα 9).



Σχήμα 9. Καταλυτική συγκέντρωση της CCO στο γαστροκνήμιο μυ απροπόνητων και προπονημένων επιμύων (μέσες τιμές και SD). *Σημαντικά διαφορετική από τους απροπόνητους ($p = 0,003$).

Απόπτωση

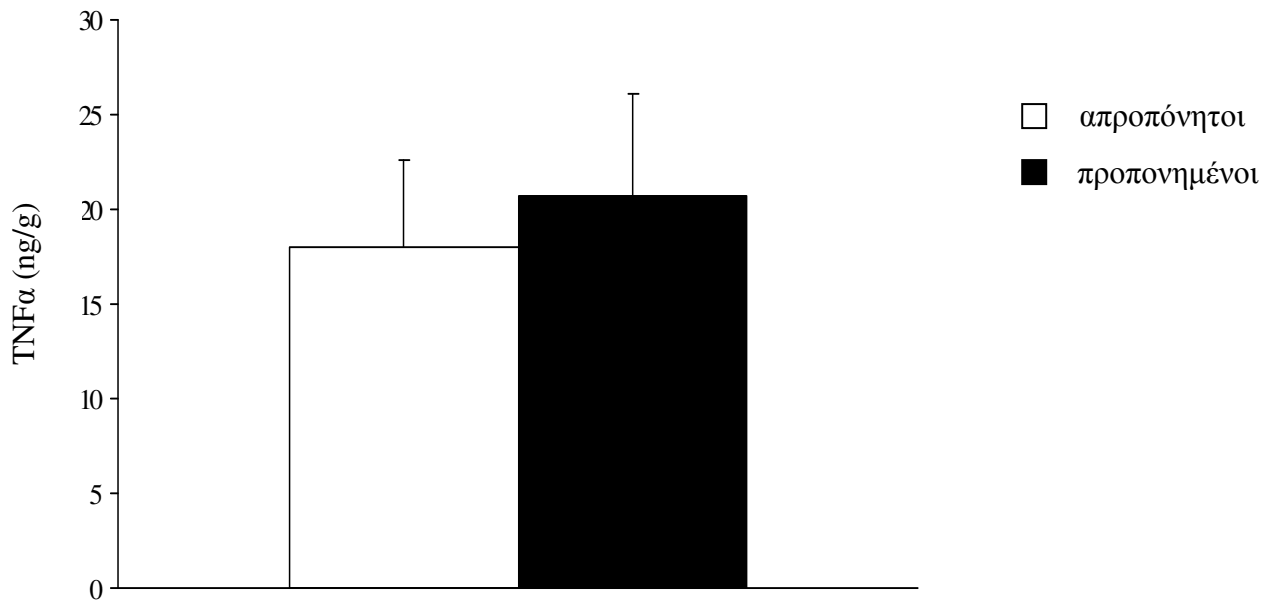
Η συγκέντρωση νουκλεοσωμάτων στο κυτταρόπλασμα των μυϊκών ινών (δείκτης απόπτωσης) δεν διέφερε μεταξύ προπονημένων και απροπόνητων επιμύων (σχήμα 10).



Σχήμα 10. Συγκέντρωση νουκλεοσωμάτων στο κυτταρόπλασμα των μυϊκών ινών του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων ως ποσοστό της συγκέντρωσης στους απροπόνητους (μέσες τιμές και SD).

TNF α

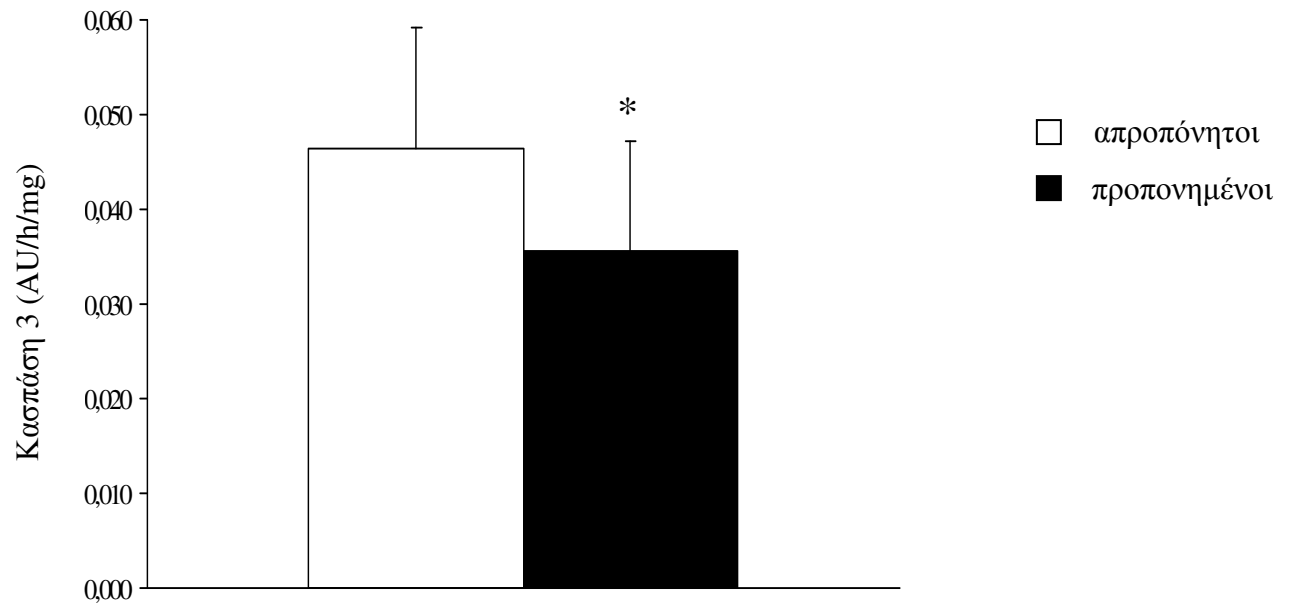
Η συγκέντρωση του TNF α στο μυ δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ απροπόνητων και προπονημένων επιμύων (σχήμα 11).



Σχήμα 11. Συγκέντρωση του παράγοντα νέκρωσης όγκων α στο γαστροκνήμιο μυ απροπόνητων και προπονημένων επιμύων (μέσες τιμές και SD).

Κασπάση 3

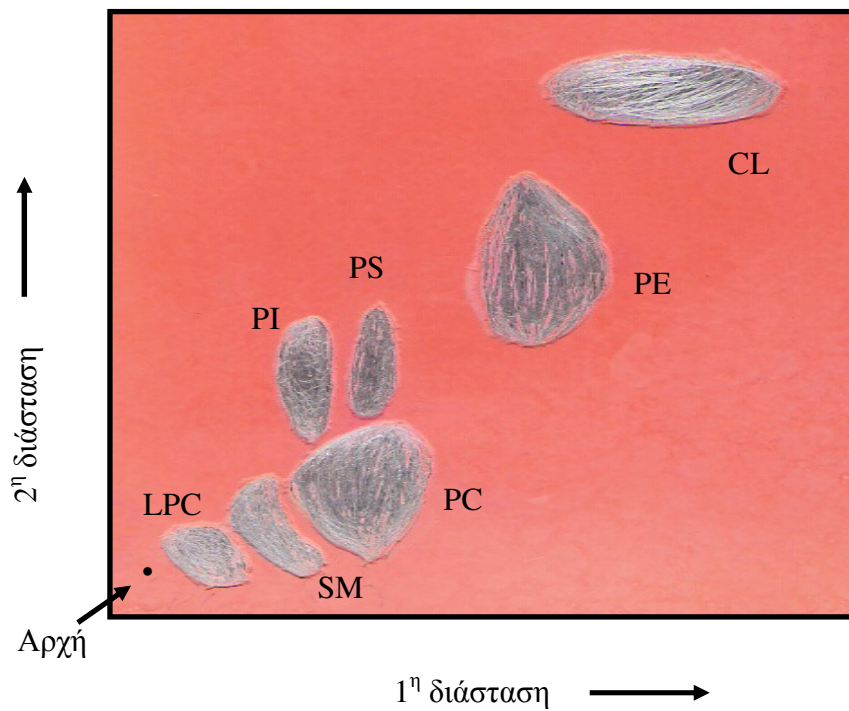
Η καταλυτική συγκέντρωση της κασπάσης 3 ήταν μειωμένη κατά 23% στην ομάδα των προπονημένων επιμύων ($p = 0,04$, σχήμα 12).



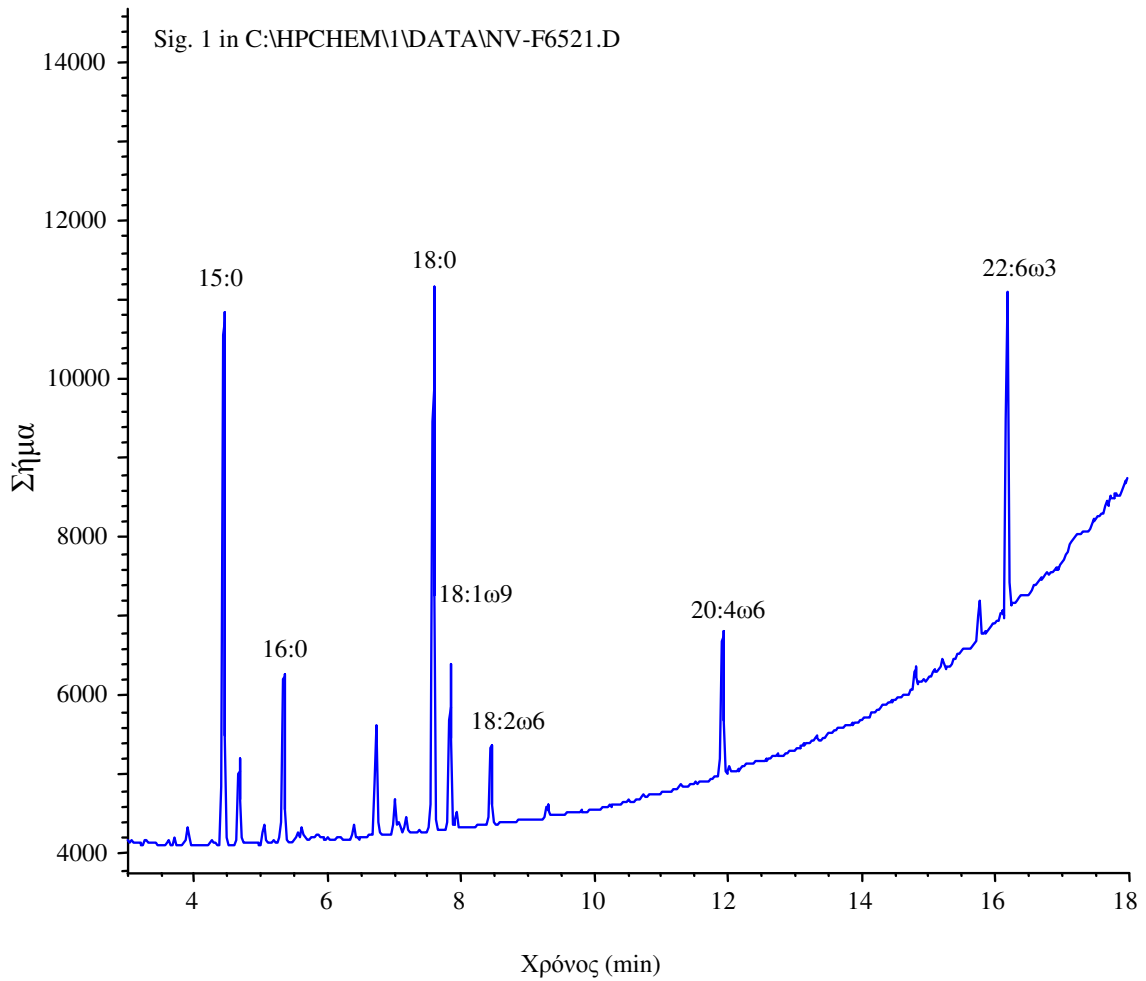
Σχήμα 12. Καταλυτική συγκέντρωση της κασπάσης 3 στο γαστροκνήμιο μυ απροπόνητων και προπονημένων επιμύων (μέσες τιμές και SD). Η συγκέντρωση εκφράζεται ως μεταβολή μονάδων απορρόφησης (AU) ανά ώρα ανά mg μύος. *Σημαντικά διαφορετική από τους απροπόνητους ($p < 0,05$).

Λιπίδια

Μια τυπική πλάκα χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας με διαχωρισμένα τα μυϊκά φωσφολιπίδια παρουσιάζεται στο σχήμα 13, ενώ ένα τυπικό χρωματογράφημα από τον αέριο χρωματογράφο παρουσιάζεται στο σχήμα 14.



Σχήμα 13. Τυπικός διαχωρισμός φωσφολιπιδίων γαστροκνημίου μυός επιμύων με διδιάστατη χρωματογραφία λεπτής στιβάδας. LPC: λυσοφωσφατιδυλοχολίνη, SM: σφιγγομυελίνη, PC: φωσφατιδυλοχολίνη, PI: φωσφατιδυλινοσιτόλη, PS: φωσφατιδυλοσερίνη, PE: φωσφατιδυλαιθανολαμίνη, CL: καρδιολιπίνη.



Σχήμα 14. Τυπικό χρωματογράφημα μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων προερχόμενο από φωσφολιπίδιο (φωσφατιδυλαιθανολαμίνη) του γαστροκνημίου μυός επιμύων. Σημειώνονται τα κυριότερα λιπαρά οξέα.

Είκοσι δύο μεθυλεστέρες λιπαρών οξέων και τέσσερις διμεθυλακετάλες ανιχνεύθηκαν σε αξιόλογες ποσότητες (τουλάχιστον 0,001 $\mu\text{mol/g}$ ιστού) με την αέρια χρωματογραφία (Πίνακες 1 και 2).

Πίνακας 1. Λιπαρά οξέα των οποίων ανιχνεύτηκαν μεθυλεστέρες

Συμβολισμός	Εμπειρική ονομασία	Συστηματική ονομασία
12:0	Λαυρικό	Δωδεκανοϊκό
14:0	Μυριστικό	Δεκατετρανοϊκό
14:1 ω 9	Μυριστελαϊκό	cis-5-Δεκατετρενοϊκό
16:0	Παλμιτικό	Δεκαεξανοϊκό
16:1 ω 7	Παλμιτελαϊκό	cis-9-Δεκαεξενοϊκό
18:0	Στεατικό	Δεκαοκτανοϊκό
18:1 ω 9	Ελαϊκό	cis-9-Δεκαοκτενοϊκό
18:1 ω 7	cis-Βαξενικό	cis-11-Δεκαοκτενοϊκό
18:2 ω 6	Λινελαϊκό	cis,cis-9,12-Δεκαοκταδιενοϊκό
18:3 ω 6	γ -Λινελανικό	cis,cis,cis-6,9,12-Δεκαοκτατριενοϊκό
18:3 ω 3	α -Λινελανικό	cis,cis,cis-9,12,15-Δεκαοκτατριενοϊκό
18:4 ω 3	Στεαριδονικό	cis,cis,cis,cis-6,9,12,15-Δεκαοκτατετρενοϊκό
20:0	Αραχιδικό	Εικοσανοϊκό
20:1 ω 9	Γονδοϊκό	cis-11-Εικοσενοϊκό
20:3 ω 6		cis,cis,cis-8,11,14-Εικοσατριενοϊκό
20:4 ω 6	Αραχιδονικό	cis,cis,cis,cis-5,8,11,14-Εικοσατετρενοϊκό
20:5 ω 3	Τιμνοδονικό	cis,cis,cis,cis,cis-5,8,11,14,17-Εικοσαπεντενοϊκό
22:0	Βεχενικό	Εικοσιδιανοϊκό
22:4 ω 6		cis,cis,cis,cis-7,10,13,16-Εικοσιδιατετρενοϊκό
22:5 ω 6		cis,cis,cis,cis,cis-4,7,10,13,16-Εικοσιδιαπεντενοϊκό
22:5 ω 3	Κλουπανοδονικό	cis,cis,cis,cis,cis-7,10,13,16,19-Εικοσιδιαπεντενοϊκό
22:6 ω 3		cis,cis,cis,cis,cis,cis-4,7,10,13,16,19-Εικοσιδιαεξενοϊκό

Πίνακας 2. Αλδεΐδες των οποίων ανιχνεύτηκαν διμεθυλακετάλες

Συμβολισμός	Συστηματική ονομασία
16:0	Δεκαεξανάλη
18:0	Δεκαοκτανάλη
18:1ω9	cis-9-Δεκαοκταενάλη
18:1ω7	cis-11-Δεκαοκταενάλη

Η σύσταση σε λιπαρά οξέα της διατροφής των πειραματοζώων παρουσιάζεται στον Πίνακα 3. Τα πιο άφθονα λιπαρά οξέα ήταν τα 16:0, 18:1ω9 και 18:2ω6, απαρτίζοντας το 89 % του συνόλου.

Πίνακας 3. Ποσοστιαία γραμμομοριακή σύσταση των λιπαρών οξέων της τροφής των επιμύων

Λιπαρό οξύ	%
12:0	0,3
14:0	0,3
16:0	28,3
16:1ω7	0,2
18:0	3,9
18:1ω9	20,8
18:1ω7	1,8
18:2ω6	40,1
18:3ω3	2,9
20:1ω9	0,8
20:5ω3	0,6
Σύνολο	100,0

Οι συγκεντρώσεις, οι ποσοστιαίες κατανομές και οι δείκτες των λιπαρών οξέων και των αλδεϊδών των μεμονομένων φωσφολιπιδίων και του κεραμιδίου του γαστροκνημίου μύος παρουσιάζονται στους Πίνακες 4-15.

Πίνακας 4. Συγκεντρώσεις (μmol/g) των επιμέρους λιπαρών οξέων των PC και PE, καθώς και των αλδεϋδών των PC και PE του γαστροκνημίου μύος απροπόνητων και προπονημένων επιμύων (μέσες τιμές ± SD)

Λιπαρό οξύ	PC		PE	
	Απροπόνητοι	Προπονημένοι	Απροπόνητοι	Προπονημένοι
12:0	0,005 ± 0,003	0,005 ± 0,003	0,006 ± 0,004	0,005 ± 0,006
14:0	0,038 ± 0,005	0,039 ± 0,007	0,014 ± 0,012	0,009 ± 0,007
14:1ω9	0,006 ± 0,006	0,008 ± 0,005	0,004 ± 0,003	0,005 ± 0,003
16:0	5,096 ± 0,437	5,145 ± 0,602	0,387 ± 0,121	0,357 ± 0,184
16:1ω7	0,092 ± 0,029	0,074 ± 0,021	0,016 ± 0,009	0,023 ± 0,026
18:0	1,214 ± 0,244	1,523 ± 0,177	1,538 ± 0,495	1,692 ± 0,740
18:1ω9	0,533 ± 0,070	0,538 ± 0,099	0,189 ± 0,057	0,165 ± 0,102
18:1ω7	0,469 ± 0,141	0,504 ± 0,088	0,100 ± 0,038	0,080 ± 0,025
18:2ω6	2,383 ± 0,388	2,351 ± 0,584	0,365 ± 0,122	0,354 ± 0,107
18:3ω6	0,012 ± 0,003	0,016 ± 0,006*	0,008 ± 0,005	0,012 ± 0,011
18:3ω3	0,024 ± 0,012	0,024 ± 0,013	0,004 ± 0,002	0,004 ± 0,002
18:4ω3	0,004 ± 0,004	0,003 ± 0,005	0,005 ± 0,009	0,003 ± 0,004
20:0	0,007 ± 0,005	0,007 ± 0,004	0,005 ± 0,002	0,004 ± 0,004
20:1ω9	0,010 ± 0,003	0,014 ± 0,006*	0,005 ± 0,003	0,005 ± 0,004
20:3ω6	0,078 ± 0,032	0,064 ± 0,019	0,011 ± 0,006	0,012 ± 0,007
20:4ω6	1,631 ± 0,676	1,736 ± 0,732	0,430 ± 0,254	0,402 ± 0,175
20:5ω3	0,023 ± 0,012	0,024 ± 0,010	0,009 ± 0,004	0,013 ± 0,011
22:0	0,015 ± 0,022	0,016 ± 0,021	0,009 ± 0,012	0,018 ± 0,024
22:4ω6	0,043 ± 0,017	0,043 ± 0,020	0,061 ± 0,033	0,052 ± 0,029
22:5ω6	0,034 ± 0,026	0,027 ± 0,023	0,067 ± 0,057	0,056 ± 0,033
22:5ω3	0,157 ± 0,084	0,173 ± 0,098	0,185 ± 0,116	0,139 ± 0,083
22:6ω3	0,365 ± 0,230	0,448 ± 0,284	0,704 ± 0,493	0,623 ± 0,365
Σύνολο λιπαρών οξέων	12,242 ± 1,419	12,785 ± 2,118	4,122 ± 1,430	4,035 ± 1,398

Αλδεύδη	PC		PE	
	Απροπόνητοι	Προπονημένοι	Απροπόνητοι	Προπονημένοι
16:0	0,072 ± 0,061	0,065 ± 0,042	0,272 ± 0,222	0,265 ± 0,201
18:0	MA	MA	0,069 ± 0,049	0,080 ± 0,088
18:1ω9	MA	MA	0,029 ± 0,020	0,049 ± 0,062
18:1ω7	MA	MA	0,020 ± 0,011	0,017 ± 0,012
Σύνολο				
αλδευδών	0,072 ± 0,061	0,065 ± 0,042	0,389 ± 0,214	0,411 ± 0,263

MA: Μη ανιχνεύσιμο. *Σημαντικά διαφορετική από τους απροπόνητους ($p < 0,05$).

Πίνακας 5. Ποσοστιαία κατανομή των επιμέρους λιπαρών οξέων και των αλδευδών της PC και της PE του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων (μέσες τιμές \pm SD)

Λιπαρό οξύ	PC		PE	
	Απροπόνητοι	Προπονημένοι	Απροπόνητοι	Προπονημένοι
12:0	0,04 \pm 0,03 ^{βγδεη}	0,04 \pm 0,03 ^{δεη}	0,15 \pm 0,13 ^{αγεη}	0,10 \pm 0,08 ^{δεη}
14:0	0,32 \pm 0,06 ^{γδεζη}	0,32 \pm 0,09 ^{δεζη}	0,38 \pm 0,45 ^{εζη}	0,20 \pm 0,10 ^{δεζη}
14:1ω9	0,06 \pm 0,06 ^{γδεζη}	0,07 \pm 0,06 ^{δεζη}	0,12 \pm 0,09 ^{εζη}	0,13 \pm 0,11 ^{εζη}
16:0	41,68 \pm 3,83 ^{βγδεζηθ}	40,63 \pm 5,11 ^{βγδεζηθ}	9,14 \pm 2,98 ^{αζηηθ}	8,06 \pm 2,19 ^{αεζηθ}
16:1ω7	0,75 \pm 0,21 ^{βγδε}	0,58 \pm 0,14 ^δ	0,38 \pm 0,27 ^{αγ}	0,47 \pm 0,32
18:0	10,02 \pm 2,46 ^{βδεζηθ}	12,16 \pm 2,46 ^{βδεζηθ}	35,31 \pm 8,29 ^{αγδεζ}	38,04 \pm 6,68 ^{αγδεζ}
18:1ω9	4,36 \pm 0,52 ^{γδ}	4,21 \pm 0,49 ^{βδ}	4,37 \pm 1,08 ^{γδ}	3,64 \pm 1,46 ^{γδ}
18:1ω7	3,86 \pm 1,17 ^{βδεζη}	3,95 \pm 0,45 ^{βδεζη}	2,22 \pm 0,48 ^{αγδεζ}	1,85 \pm 0,34 ^{αγδεζ}
18:2ω6	19,41 \pm 2,56 ^{βγδεζηθ}	18,11 \pm 2,22 ^{βγδεζηθ}	8,21 \pm 1,45 ^{αγδεζηθ}	8,25 \pm 1,61 ^{αγδεζηθ}
18:3ω6	0,10 \pm 0,03 ^{εζηθ}	0,13 \pm 0,04 ^{εθ}	0,20 \pm 0,13 ^{εζηθ}	0,27 \pm 0,20 ^θ
18:3ω3	0,19 \pm 0,08 ^{βγ}	0,18 \pm 0,07 ^γ	0,08 \pm 0,03 ^{βγ}	0,09 \pm 0,03 ^γ
18:4ω3	0,03 \pm 0,04 ^θ	0,02 \pm 0,03 ^{ζηθ}	0,16 \pm 0,27	0,08 \pm 0,11 ^ζ
20:0	0,06 \pm 0,04 ^{βγεζηθ}	0,06 \pm 0,04 ^{ζηθ}	0,12 \pm 0,07 ^{αεζηθ}	0,09 \pm 0,07 ^{ζηθ}
20:1ω9	0,09 \pm 0,04 ^η	0,12 \pm 0,06 ^δ	0,11 \pm 0,07 ^{δη}	0,11 \pm 0,06 ^δ
20:3ω6	0,62 \pm 0,23 ^{βδζ}	0,49 \pm 0,10 ^{βδ}	0,24 \pm 0,10 ^{αγδ}	0,28 \pm 0,14 ^{αγδ}
20:4ω6	12,88 \pm 4,14 ^{βγδεζη}	13,05 \pm 4,41 ^{βγδεζη}	9,13 \pm 3,32 ^{αγδεζη}	9,24 \pm 3,04 ^{αγδεζη}
20:5ω3	0,18 \pm 0,09 ^θ	0,18 \pm 0,07 ^θ	0,21 \pm 0,07 ^θ	0,30 \pm 0,24 ^θ
22:0	0,13 \pm 0,20 ^{εζηθ}	0,13 \pm 0,16 ^{ζηθ}	0,24 \pm 0,32 ^{εζηθ}	0,40 \pm 0,48 ^θ
22:4ω6	0,34 \pm 0,11 ^{βδεζηθ}	0,32 \pm 0,13 ^{βγδεζηθ}	1,31 \pm 0,33 ^{αγζηθ}	1,18 \pm 0,48 ^{αγζηθ}
22:5ω6	0,27 \pm 0,19 ^{βεθ}	0,20 \pm 0,16 ^{βθ}	1,33 \pm 0,71 ^{αγδηθ}	1,29 \pm 0,61 ^{αγδηθ}
22:5ω3	1,23 \pm 0,57 ^{βγδεζ}	1,28 \pm 0,65 ^{αγε}	3,84 \pm 1,34 ^{αγδη}	3,15 \pm 1,48 ^{αγδη}
22:6ω3	2,82 \pm 1,56 ^{βγε}	3,29 \pm 1,95 ^{βγε}	14,39 \pm 6,00 ^{αγδεζηθ}	14,19 \pm 6,19 ^{αγδεζηθ}
Σύνολο λιπαρών οξέων	99,43 \pm 0,44	99,52 \pm 0,28	91,45 \pm 2,96	91,43 \pm 2,59

Αλδεύδη	PC		PE	
	Απροπόνητοι	Προπονημένοι	Απροπόνητοι	Προπονημένοι
16:0	0,56 ± 0,44 ^b	0,48 ± 0,28 ^a	5,58 ± 3,49 ^a	5,38 ± 2,89 ^a
18:0	MA	MA	1,62 ± 1,09	1,72 ± 1,40
18:1ω9	MA	MA	0,69 ± 0,47	1,09 ± 1,30
18:1ω7	MA	MA	0,46 ± 0,27	0,37 ± 0,22
Σύνολο				
αλδευδών	0,56 ± 0,44 ^b	0,48 ± 0,28 ^a	8,55 ± 2,96 ^b	8,57 ± 2,59 ^a

MA: Μη ανιχνεύσιμο. ^{a-b} Σημαντικά διαφορετικό από PC, PE, CL, PI, PS, LPC, SM και κεραμίδιο αντίστοιχα ($p < 0,05$, δεδομένα στους πίνακες 8, 11 και 14).

Πίνακας 6. Δείκτες του προφίλ λιπαρών οξέων και αλδευδών της PC και της PE του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων (μέσες τιμές \pm SD)

Δείκτης	PC		PE	
	Απροπόνητοι	Προπονημένοι	Απροπόνητοι	Προπονημένοι
Κορεσμένα (%)	52,81 \pm 5,86 ^{βγδεζηθ}	53,82 \pm 7,32 ^{βγδεζηθ}	52,56 \pm 9,15 ^{αγδεζηθ}	54,00 \pm 8,02 ^{αγδεζηθ}
Ακόρεστα (%)	47,19 \pm 5,86 ^{γδεζηθ}	46,18 \pm 7,32 ^{γδεζηθ}	47,44 \pm 9,15 ^{γδεζηθ}	46,00 \pm 8,02 ^{γδεζηθ}
A/K	0,92 \pm 0,21 ^{δεζη}	0,89 \pm 0,24 ^{γδεζη}	0,95 \pm 0,32 ^{δεζηθ}	1,01 \pm 0,48 ^{γδεζη}
Μονοακόρεστα (%)	9,10 \pm 1,42 ^{βδεζη}	8,92 \pm 0,89 ^{βδεζ}	8,34 \pm 1,84 ^{αδ}	7,67 \pm 1,64 ^{αδ}
Πολυακόρεστα (%)	38,08 \pm 6,92 ^{γδεζηθ}	37,25 \pm 8,00 ^{γδεζηθ}	39,10 \pm 10,48 ^{γδεζηθ}	38,33 \pm 8,60 ^{γδεζηθ}
ω6 (%)	15,17 \pm 4,91 ^{γδεζηθ}	15,26 \pm 5,22 ^{γδεζηθ}	14,73 \pm 4,73 ^{γδεζηθ}	14,12 \pm 3,22 ^{γδεζηθ}
ω3 (%)	3,50 \pm 1,78 ^{βεθ}	3,88 \pm 2,16 ^{βγεθ}	16,16 \pm 6,39 ^{αγδζη}	15,95 \pm 6,57 ^{αγδζη}
ω6/ω3	4,91 \pm 1,48 ^{βγδεζηθ}	4,69 \pm 1,65 ^{βγδεζηθ}	0,94 \pm 0,20 ^{αδθ}	1,01 \pm 0,48 ^{αθ}
ΔΑ	129,03 \pm 28,91 ^{βγζη}	129,17 \pm 34,15 ^{βγζη}	180,80 \pm 55,23 ^{αδεζηθ}	175,50 \pm 47,47 ^{αδεζηθ}

A/K: ακόρεστα/κορεσμένα. ΔΑ: δείκτης ακορεστότητας. ^{α-θ} Σημαντικά διαφορετικό από PC, PE, CL, PI, PS, LPC, SM και κεραμίδιο αντίστοιχα $p < 0,05$, (δεδομένα στους πίνακες 9, 12 και 15).

Πίνακας 7. Συγκεντρώσεις (μmol/g) των επιμέρους λιπαρών οξέων της CL και της PI του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων (μέσες τιμές ± SD)

Λιπαρό οξύ	CL		PI	
	Απροπόνητοι	Προπονημένοι	Απροπόνητοι	Προπονημένοι
12:0	0,005 ± 0,003	0,004 ± 0,003	0,004 ± 0,004	0,003 ± 0,004
14:0	0,010 ± 0,005	0,009 ± 0,007	0,008 ± 0,005	0,007 ± 0,006
14:1ω9	0,003 ± 0,003	0,003 ± 0,002	0,003 ± 0,002	0,003 ± 0,002
16:0	0,100 ± 0,069	0,090 ± 0,087	0,115 ± 0,081	0,089 ± 0,084
16:1ω7	0,017 ± 0,009	0,015 ± 0,006	0,003 ± 0,002	0,001 ± 0,001*
18:0	0,162 ± 0,135	0,148 ± 0,165	0,632 ± 0,262	0,428 ± 0,162
18:1ω9	0,026 ± 0,013	0,025 ± 0,010	0,022 ± 0,008	0,016 ± 0,006
18:1ω7	0,065 ± 0,027	0,073 ± 0,028	0,013 ± 0,005	0,009 ± 0,003*
18:2ω6	0,974 ± 0,424	1,188 ± 0,438	0,032 ± 0,011	0,027 ± 0,008
18:3ω6	0,002 ± 0,001	0,001 ± 0,001	0,002 ± 0,001	0,002 ± 0,002
18:3ω3	0,006 ± 0,003	0,007 ± 0,003	0,001 ± 0,002	0,001 ± 0,002
18:4ω3	0,003 ± 0,003	0,004 ± 0,003	0,004 ± 0,004	0,002 ± 0,002
20:0	0,003 ± 0,002	0,002 ± 0,002	0,002 ± 0,002	0,001 ± 0,002
20:1ω9	0,002 ± 0,003	0,001 ± 0,001	MA	MA
20:3ω6	0,008 ± 0,004	0,009 ± 0,004	0,019 ± 0,009	0,012 ± 0,004*
20:4ω6	0,012 ± 0,009	0,011 ± 0,004	0,249 ± 0,094	0,171 ± 0,062*
20:5ω3	0,001 ± 0,001	MA	0,003 ± 0,006	MA
22:0	0,006 ± 0,012	0,006 ± 0,008	0,014 ± 0,018	0,007 ± 0,011
22:4ω6	0,004 ± 0,004	0,002 ± 0,001	0,010 ± 0,006	0,007 ± 0,004
22:5ω6	0,002 ± 0,002	0,002 ± 0,002	0,005 ± 0,005	0,003 ± 0,002
22:5ω3	0,006 ± 0,004	0,007 ± 0,003	0,022 ± 0,011	0,014 ± 0,007
22:6ω3	0,015 ± 0,010	0,016 ± 0,008	0,022 ± 0,012	0,017 ± 0,006
Σύνολο	1,432 ± 0,520	1,623 ± 0,008	1,187 ± 0,362	0,820 ± 0,402*

MA: Μη ανιχνεύσιμο. * Σημαντικά διαφορετική από τους απροπόνητους ($p < 0,05$).

Πίνακας 8. Ποσοστιαία κατανομή των επιμέρους λιπαρών οξέων της CL και της PI του γαστροκνημίου μυός α-προπώνητων και προπονημένων επιμύων (μέσες τιμές ± SD)

Λιπαρό οξύ	CL		PI	
	Απροπώνητοι	Προπονημένοι	Απροπώνητοι	Προπονημένοι
12:0	0,31 ± 0,22 ^{αβε}	0,21 ± 0,10 ^{εη}	0,33 ± 0,23 ^{αε}	0,34 ± 0,34 ^{αβε}
14:0	0,72 ± 0,35 ^{αεζη}	0,55 ± 0,17 ^{εζη}	0,70 ± 0,34 ^{αεζη}	0,76 ± 0,47 ^{αβη}
14:1ω9	0,25 ± 0,22 ^{αεη}	0,17 ± 0,12 ^{εη}	0,24 ± 0,14 ^{αεη}	0,31 ± 0,23 ^{αη}
16:0	7,27 ± 4,24 ^{αεζηθ}	5,14 ± 2,81 ^{αδεζηθ}	9,31 ± 4,95 ^{αζηθ}	10,11 ± 7,03 ^{αγζηθ}
16:1ω7	1,18 ± 0,45 ^{αβδεζη}	0,91 ± 0,19 ^{δζ}	0,23 ± 0,16 ^{αγθ}	0,16 ± 0,24 ^{αγεη}
18:0	11,75 ± 8,34 ^{βδεζηθ}	8,32 ± 5,76 ^{βδεζηθ}	51,46 ± 9,22 ^{αβγθ}	51,79 ± 7,87 ^{αβγθ}
18:1ω9	1,96 ± 0,78 ^{αβεη}	1,56 ± 0,18 ^{αβεη}	1,84 ± 0,54 ^{αβεη}	2,01 ± 0,60 ^{αβ}
18:1ω7	4,49 ± 0,63 ^{βδεζη}	4,56 ± 0,50 ^{βδεζη}	1,19 ± 0,77 ^{αβγ}	1,07 ± 0,39 ^{αβγ}
18:2ω6	66,77 ± 12,64 ^{αβδεζηκ}	74,07 ± 8,61 ^{αβδεζηκ}	2,69 ± 1,01 ^{αβγη}	3,40 ± 1,26 ^{αβγ}
18:3ω6	0,18 ± 0,22 ^{εζθ}	0,09 ± 0,03 ^{εθ}	0,20 ± 0,13 ^{εζθ}	0,27 ± 0,18 ^θ
18:3ω3	0,44 ± 0,18 ^{αβδ}	0,43 ± 0,12 ^{αβδ}	0,10 ± 0,16 ^γ	0,11 ± 0,25 ^γ
18:4ω3	0,21 ± 0,22	0,25 ± 0,30	0,35 ± 0,55	0,20 ± 0,22
20:0	0,17 ± 0,14 ^{αεζθ}	0,12 ± 0,08 ^θ	0,18 ± 0,15 ^{εζθ}	0,14 ± 0,16 ^θ
20:1ω9	0,13 ± 0,20	0,05 ± 0,03	0,02 ± 0,03 ^β	0,02 ± 0,06 ^{αβ}
20:3ω6	0,59 ± 0,18 ^{βζ}	0,56 ± 0,11 ^{βδζ}	1,62 ± 0,87 ^{αβγεζ}	1,48 ± 0,36 ^{αβγεζ}
20:4ω6	0,90 ± 0,62 ^{αβδε}	0,78 ± 0,40 ^{αβδη}	22,87 ± 10,53 ^{αβγεζη}	21,54 ± 7,16 ^{αβγεζη}
20:5ω3	0,12 ± 0,33 ^θ	0,02 ± 0,05 ^θ	0,21 ± 0,47 ^θ	MA
22:0	0,48 ± 0,66 ^{ζθ}	0,44 ± 0,60 ^θ	1,15 ± 1,34 ^θ	0,91 ± 1,27 ^θ
22:4ω6	0,27 ± 0,23 ^{βδεθ}	0,13 ± 0,09 ^{αβδε}	0,89 ± 0,54 ^{αγεζθ}	0,97 ± 0,61 ^{αγεζθ}
22:5ω6	0,15 ± 0,17 ^{βδεθ}	0,10 ± 0,09 ^β	0,44 ± 0,43 ^{βγεθ}	0,33 ± 0,23 ^β
22:5ω3	0,49 ± 0,27 ^{αβδεζ}	0,47 ± 0,21 ^{αβδεζθ}	2,08 ± 1,18 ^{αβγη}	1,88 ± 0,97 ^{βγη}
22:6ω3	1,18 ± 0,66 ^{αβδε}	1,08 ± 0,57 ^{αβδε}	1,91 ± 1,04 ^{βγε}	2,22 ± 0,88 ^{βγε}
Σύνολο	100,00	100,00	100,00	100,00

MA: Μη ανιχνεύσιμο. ^{α-θ} Σημαντικά διαφορετικό από PC, PE, CL, PI, PS, LPC, SM και κεραμίδιο αντίστοιχα ($p < 0,05$, δεδομένα στους πίνακες 5, 11 και 14).

Πίνακας 9. Δείκτες του προφίλ λιπαρών οξέων της CL και της PI του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων (μέσες τιμές ± SD)

Δείκτης	CL		PI	
	Απροπόνητοι	Προπονημένοι	Απροπόνητοι	Προπονημένοι
Κορεσμένα (%)	20,69 ± 13,21 ^{αβδεζηθ}	14,78 ± 9,00 ^{αβδεζηθ}	63,13 ± 13,42 ^{αβγζη}	64,04 ± 10,46 ^{αβγζηθ}
Ακόρεστα (%)	79,31 ± 13,21 ^{αβδεζηθ}	85,22 ± 9,00 ^{αβδεζηθ}	36,87 ± 13,42 ^{αβγζη}	35,96 ± 10,46 ^{αβγζη}
A/K	7,67 ± 8,21 ^{ζη}	9,30 ± 7,27 ^{αβδεζηθ}	0,65 ± 0,33 ^{αβζη}	0,65 ± 0,33 ^{αβγζ}
Μονοακόρεστα (%)	8,01 ± 1,56 ^{δζηθ}	7,25 ± 0,69 ^δ	3,51 ± 1,11 ^{αβγδηθ}	3,51 ± 1,11 ^{αβγη}
Πολυακόρεστα (%)	71,30 ± 13,09 ^{αβδεζηθ}	77,97 ± 8,78 ^{αβδεζηθ}	33,36 ± 13,20 ^{βγεζηθ}	32,19 ± 10,29 ^{γεζη}
ω6 (%)	2,43 ± 1,23 ^{αβδε}	2,03 ± 0,72 ^{αβδεη}	27,66 ± 12,08 ^{αβγεζηθ}	26,13 ± 8,83 ^{αβγεζηθ}
ω3 (%)	2,10 ± 1,13 ^{βεθ}	1,88 ± 0,76 ^{αβεθ}	3,01 ± 1,67 ^{βεθ}	2,86 ± 1,01 ^{βεθ}
ω6/ω3	1,17 ± 0,20 ^{αδεθ}	1,11 ± 0,17 ^{αεθ}	11,77 ± 11,72 ^{βγεζηθ}	9,22 ± 1,63
ΔA	161,57 ± 28,81 ^{αζηθ}	172,66 ± 19,28 ^{αδεζηθ}	136,20 ± 54,89 ^{βζη}	131,11 ± 42,34 ^{βγζη}

A/K: ακόρεστα/κορεσμένα, ΔA: δείκτης ακορεστότητας. ^{α-θ} Σημαντικά διαφορετικό από PC, PE, CL, PI, PS, LPC, SM και κεραμίδιο αντίστοιχα ($p < 0,05$, δεδομένα στους πίνακες 6, 12 και 15).

Πίνακας 10. Συγκεντρώσεις ($\mu\text{mol/g}$) των επιμέρους λιπαρών οξέων της PS και της LPC του γαστροκνημίου μύος απροπόνητων και προπονημένων επιμύων (μέσες τιμές \pm SD)

Λιπαρό οξύ	PS		LPC	
	Απροπόνητοι	Προπονημένοι	Απροπόνητοι	Προπονημένοι
12:0	0,003 \pm 0,002	0,005 \pm 0,007	0,003 \pm 0,002	0,004 \pm 0,004
14:0	0,007 \pm 0,006	0,008 \pm 0,007	0,006 \pm 0,005	0,009 \pm 0,006
14:1 ω 9	0,004 \pm 0,006	0,004 \pm 0,003	0,003 \pm 0,002	0,004 \pm 0,004
16:0	0,081 \pm 0,096	0,096 \pm 0,095	0,114 \pm 0,074	0,159 \pm 0,115
16:1 ω 7	0,002 \pm 0,003	0,003 \pm 0,002	0,003 \pm 0,002	0,004 \pm 0,003
18:0	0,319 \pm 0,311	0,411 \pm 0,354	0,191 \pm 0,168	0,189 \pm 0,176
18:1 ω 9	0,031 \pm 0,025	0,027 \pm 0,018	0,011 \pm 0,006	0,013 \pm 0,008
18:1 ω 7	0,005 \pm 0,005	0,006 \pm 0,004	0,004 \pm 0,003	0,006 \pm 0,004
18:2 ω 6	0,015 \pm 0,011	0,021 \pm 0,011	0,019 \pm 0,010	0,029 \pm 0,020
18:3 ω 6	0,003 \pm 0,003	0,004 \pm 0,004	0,002 \pm 0,002	0,002 \pm 0,002
18:3 ω 3	0,001 \pm 0,002	0,001 \pm 0,001	0,001 \pm 0,001	0,001 \pm 0,003
18:4 ω 3	0,003 \pm 0,004	0,004 \pm 0,003	0,003 \pm 0,003	0,005 \pm 0,004
20:0	0,005 \pm 0,005	0,004 \pm 0,005	0,002 \pm 0,003	0,003 \pm 0,003
20:1 ω 9	0,001 \pm 0,002	0,001 \pm 0,001	MA	MA
20:3 ω 6	0,004 \pm 0,003	0,003 \pm 0,002	0,003 \pm 0,008	0,005 \pm 0,009
20:4 ω 6	0,018 \pm 0,012	0,020 \pm 0,012	0,007 \pm 0,006	0,015 \pm 0,009*
20:5 ω 3	0,019 \pm 0,034	0,015 \pm 0,017	MA	MA
22:0	0,005 \pm 0,004	0,004 \pm 0,005	0,011 \pm 0,030	0,011 \pm 0,019
22:4 ω 6	0,009 \pm 0,007	0,012 \pm 0,006	0,004 \pm 0,005	0,001 \pm 0,002
22:5 ω 6	0,009 \pm 0,007	0,006 \pm 0,005	0,002 \pm 0,003	0,002 \pm 0,003
22:5 ω 3	0,015 \pm 0,012	0,017 \pm 0,011	0,005 \pm 0,007	0,003 \pm 0,003
22:6 ω 3	0,051 \pm 0,035	0,056 \pm 0,033	0,008 \pm 0,010	0,007 \pm 0,005
Σύνολο	0,608 \pm 0,526	0,728 \pm 0,575	0,402 \pm 0,278	0,472 \pm 0,348

MA: Μη ανιχνεύσιμο. *Σημαντικά διαφορετική από τους απροπόνητους ($p < 0,05$).

Πίνακας 11. Ποσοστιαία κατανομή των επιμέρους λιπαρών οξέων της PS και της LPC του γαστροκνημίου μύος απροπόνητων και προπονημένων επιμύων (μέσες τιμές \pm SD)

Λιπαρό οξύ	PS		LPC	
	Απροπόνητοι	Προπονημένοι	Απροπόνητοι	Προπονημένοι
12:0	0,56 \pm 0,20 ^{αβγδ}	0,62 \pm 0,33 ^{αβγδ}	0,87 \pm 0,64 ^{αβ}	0,80 \pm 0,48 ^{αβγ}
14:0	1,10 \pm 0,39 ^{αβγδζ}	1,02 \pm 0,31 ^{αβγη}	1,76 \pm 0,87 ^{αβγδθ}	1,86 \pm 0,42 ^{αβγδε}
14:1ω9	0,47 \pm 0,28 ^{αβγδθ}	0,47 \pm 0,24 ^{αβγ}	0,80 \pm 0,59 ^{αβγδθ}	0,78 \pm 0,51 ^{αβγδθ}
16:0	12,00 \pm 5,86 ^{αγζηθ}	12,08 \pm 4,22 ^{αβγζηθ}	31,09 \pm 7,47 ^{αβγδε}	33,69 \pm 5,87 ^{βγδε}
16:1ω7	0,37 \pm 0,17 ^{αγ}	0,50 \pm 0,23 ^δ	0,73 \pm 0,45 ^γ	0,87 \pm 0,34 ^{δζ}
18:0	50,09 \pm 6,59 ^{αβγθ}	53,04 \pm 7,23 ^{αβγηθ}	42,19 \pm 14,06 ^{αγθ}	36,34 \pm 10,10 ^{αγδε}
18:1ω9	5,59 \pm 2,20 ^{γδζη}	3,83 \pm 1,02 ^γ	3,08 \pm 1,31 ^{γδε}	3,05 \pm 0,80 ^γ
18:1ω7	0,86 \pm 0,30 ^{αβγ}	0,89 \pm 0,44 ^{αβγ}	1,24 \pm 0,83 ^α	1,49 \pm 0,91 ^{αγ}
18:2ω6	2,66 \pm 0,77 ^{αβγ}	3,66 \pm 2,21 ^{αβγ}	6,24 \pm 4,56 ^{αγδ}	7,76 \pm 4,79 ^{αγ}
18:3ω6	0,42 \pm 0,21 ^{αβγδθ}	0,46 \pm 0,19 ^{αγ}	0,53 \pm 0,35 ^α	0,41 \pm 0,35
18:3ω3	0,21 \pm 0,37	0,13 \pm 0,23	0,29 \pm 0,55	0,38 \pm 0,78
18:4ω3	0,61 \pm 1,10	0,71 \pm 0,86	0,79 \pm 1,23	1,19 \pm 1,35
20:0	0,84 \pm 0,71 ^{αβγδ}	0,56 \pm 0,40	0,57 \pm 0,60 ^{αζ}	0,57 \pm 0,31
20:1ω9	0,22 \pm 0,37	0,08 \pm 0,18	0,01 \pm 0,04 ^{αβ}	MA
20:3ω6	0,69 \pm 0,31 ^{βδζ}	0,50 \pm 0,27 ^δ	0,49 \pm 0,86	1,02 \pm 1,91
20:4ω6	3,55 \pm 1,98 ^{αβγδζ}	3,50 \pm 2,14 ^{αβγδ}	2,45 \pm 2,99 ^{αβδ}	4,26 \pm 3,13 ^{αβγδ}
20:5ω3	1,70 \pm 2,12 ^θ	2,37 \pm 2,97	0,11 \pm 0,28 ^θ	0,30 \pm 0,78 ^θ
22:0	0,94 \pm 1,16 ^{αθ}	0,48 \pm 0,27 ^θ	2,34 \pm 4,53	1,86 \pm 3,05
22:4ω6	1,77 \pm 1,09 ^{αγδζηθ}	1,96 \pm 0,98 ^{αγδζθ}	0,87 \pm 1,09	0,24 \pm 0,59 ^{βε}
22:5ω6	1,55 \pm 1,03 ^{αγδηθ}	0,89 \pm 0,76	0,58 \pm 0,65 ^{βε}	0,32 \pm 0,48 ^β
22:5ω3	3,06 \pm 2,08 ^{αγη}	2,88 \pm 1,75 ^{αγη}	1,05 \pm 1,11 ^{βδεζ}	0,91 \pm 0,67 ^{αδε}
22:6ω3	10,72 \pm 6,56 ^{αγδζηθ}	9,38 \pm 5,35 ^{αβγδζηθ}	1,92 \pm 1,40 ^{βε}	1,90 \pm 1,39 ^{βε}
Σύνολο	100,00	100,00	100,00	100,00

MA: Μη ανιχνεύσιμο. ^{α-θ} Σημαντικά διαφορετικό από PC, PE, CL, PI, PS, LPC, SM και κεραμίδιο αντίστοιχα $p < 0,05$, (δεδομένα στους πίνακες 5, 8 και 14).

Πίνακας 12. Δείκτες του προφίλ λιπαρών οξέων της PS και της LPC του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων (μέσες τιμές \pm SD)

Δείκτης	PS		LPC	
	Απροπόνητοι	Προπονημένοι	Απροπόνητοι	Προπονημένοι
Κορεσμένα (%)	65,54 \pm 12,10 ^{αβγζη}	67,79 \pm 11,34 ^{αβγζ}	78,58 \pm 10,81 ^{αβγδε}	75,11 \pm 11,58 ^{αβγδ}
Ακόρεστα (%)	34,46 \pm 12,10 ^{αβγζη}	32,21 \pm 11,34 ^{αβγζ}	21,42 \pm 10,81 ^{αβγδε}	24,89 \pm 11,58 ^{αβγδ}
A/K	0,58 \pm 0,30 ^{αβζη}	0,51 \pm 0,26 ^{αβγζ}	0,30 \pm 0,20 ^{αβγδε}	0,36 \pm 0,24 ^{αβ}
Μονοακόρεστα (%)	7,51 \pm 2,49 ^{δζ}	5,77 \pm 1,11 ^{*α}	5,87 \pm 2,26 ^{αγδ}	6,19 \pm 1,54 ^δ
Πολυακόρεστα (%)	25,24 \pm 12,68 ^{αβγδζη}	24,07 \pm 11,55 ^{αβγδζ}	15,44 \pm 8,79 ^{αβγδε}	18,40 \pm 10,01 ^{αβγδ}
ω6 (%)	9,49 \pm 5,06 ^{αβγδζηθ}	9,31 \pm 4,78 ^{αβγδθ}	5,10 \pm 4,79 ^{αβδε}	6,84 \pm 3,95 ^{αβγδθ}
ω3 (%)	14,79 \pm 6,42 ^{αγδζη}	13,48 \pm 5,46 ^{αγζ}	3,75 \pm 1,66 ^{βεθ}	4,08 \pm 2,73 ^{βεθ}
ω6/ω3	0,63 \pm 0,15 ^{αγδθ}	0,70 \pm 0,19 ^{αγθ}	1,50 \pm 1,17 ^{αδθ}	1,93 \pm 1,25 ^{αθ}
ΔΑ	136,39 \pm 60,23 ^{βζη}	128,02 \pm 53,24 ^{βγζη}	58,71 \pm 31,56 ^{αβγδε}	68,94 \pm 36,33 ^{αβγδε}

A/K: ακόρεστα/κορεσμένα. ΔΑ: δείκτης ακορεστότητας. *Σημαντικά διαφορετική από τους απροπόνητους ($p < 0,05$).

^{α-θ} Σημαντικά διαφορετικό από PC, PE, CL, PI, PS, LPC, SM και κεραμίδιο αντίστοιχα ($p < 0,05$, δεδομένα στους πίνακες 6, 9 και 15).

Πίνακας 13. Συγκεντρώσεις ($\mu\text{mol/g}$) των επιμέρους λιπαρών οξέων της SM και του κεραμιδίου του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων (μέσες τιμές \pm SD)

Λιπαρό οξύ	SM		Κεραμίδιο	
	Απροπόνητοι	Προπονημένοι	Απροπόνητοι	Προπονημένοι
12:0	0,002 \pm 0,002	0,004 \pm 0,009	MA	MA
14:0	0,008 \pm 0,005	0,008 \pm 0,006	0,001 \pm 0,001	0,002 \pm 0,004
14:1 ω 9	0,002 \pm 0,002	0,002 \pm 0,002	MA	MA
16:0	0,107 \pm 0,074	0,137 \pm 0,098	0,112 \pm 0,075	0,086 \pm 0,029
16:1 ω 7	0,001 \pm 0,001	0,001 \pm 0,001	0,003 \pm 0,005	0,002 \pm 0,002
18:0	0,213 \pm 0,148	0,288 \pm 0,216	0,095 \pm 0,035	0,087 \pm 0,017
18:1 ω 9	0,008 \pm 0,006	0,012 \pm 0,010	0,013 \pm 0,015	0,011 \pm 0,009
18:1 ω 7	0,002 \pm 0,003	0,003 \pm 0,007	0,015 \pm 0,025	0,009 \pm 0,008
18:2 ω 6	0,006 \pm 0,004	0,019 \pm 0,028	0,017 \pm 0,028	0,010 \pm 0,012
18:3 ω 6	0,002 \pm 0,001	0,001 \pm 0,002	0,005 \pm 0,003	0,003 \pm 0,002
18:3 ω 3	0,001 \pm 0,001	0,001 \pm 0,002	MA	MA
18:4 ω 3	0,002 \pm 0,002	0,003 \pm 0,003	0,001 \pm 0,002	0,001 \pm 0,001
20:0	0,006 \pm 0,004	0,006 \pm 0,006	0,004 \pm 0,002	0,003 \pm 0,001
20:1 ω 9	MA	MA	MA	MA
20:3 ω 6	0,001 \pm 0,001	0,001 \pm 0,000	MA	MA
20:4 ω 6	0,002 \pm 0,002	0,011 \pm 0,027	MA	MA
20:5 ω 3	0,005 \pm 0,009	0,006 \pm 0,008	0,033 \pm 0,022	0,031 \pm 0,017
22:0	0,009 \pm 0,007	0,010 \pm 0,012	0,019 \pm 0,015	0,015 \pm 0,007
22:4 ω 6	MA	0,002 \pm 0,001	MA	MA
22:5 ω 6	0,002 \pm 0,004	0,001 \pm 0,001	MA	MA
22:5 ω 3	0,013 \pm 0,008	0,016 \pm 0,018	0,006 \pm 0,006	0,007 \pm 0,006
22:6 ω 3	0,009 \pm 0,008	0,011 \pm 0,008	0,004 \pm 0,007	0,003 \pm 0,003
Σύνολο	0,402 \pm 0,239	0,544 \pm 0,352	0,327 \pm 0,160	0,269 \pm 0,063

MA: Μη ανιχνεύσιμο.

Πίνακας 14. Ποσοστιαία κατανομή της SM και του κεραμιδίου των επιμέρους λιπαρών του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων (μέσες τιμές \pm SD)

Λιπαρό οξύ	SM		Κεραμίδιο	
	Απροπόνητοι	Προπονημένοι	Απροπόνητοι	Προπονημένοι
12:0	0,79 \pm 0,74	1,41 \pm 3,76	MA	MA
14:0	1,95 \pm 0,77 ^{αβγδεθ}	1,48 \pm 0,61 ^{αβγ}	0,25 \pm 0,55 ^{ζη}	0,62 \pm 1,55
14:1ω9	0,46 \pm 0,35 ^{αβθ}	0,53 \pm 0,36 ^{αβ}	0,08 \pm 0,23 ^{ζη}	0,13 \pm 0,32 ^η
16:0	26,85 \pm 8,20 ^{αβγδε}	24,22 \pm 2,99 ^{αβγδε}	32,05 \pm 8,21 ^{αβγδε}	31,12 \pm 7,32 ^{αβγδε}
16:1ω7	0,48 \pm 0,53 ^γ	0,19 \pm 0,22 ^{γη}	0,98 \pm 0,81 ^δ	0,69 \pm 0,31
18:0	50,15 \pm 10,86 ^{αβγθ}	51,93 \pm 10,06 ^{αβγθ}	30,62 \pm 4,97 ^{αβγδεζη}	33,29 \pm 3,45 ^{αβγδεζ}
18:1ω9	2,48 \pm 2,18 ^ε	2,88 \pm 3,33	4,04 \pm 2,81	3,63 \pm 3,69
18:1ω7	0,73 \pm 0,91 ^{αβγ}	0,54 \pm 0,77 ^{αβγ}	4,21 \pm 7,27	3,68 \pm 2,54
18:2ω6	1,81 \pm 1,28 ^{αβγ}	3,48 \pm 3,84 ^{αβγ}	4,57 \pm 4,89 ^{αβγ}	2,51 \pm 1,18 ^{αβγ}
18:3ω6	0,67 \pm 0,51 ^{αβγδ}	0,30 \pm 0,27 ^θ	1,39 \pm 0,82 ^{αβγδε}	1,16 \pm 0,68 ^{αβγδεζ}
18:3ω3	0,47 \pm 0,66	0,09 \pm 0,20	MA	MA
18:4ω3	0,27 \pm 0,38	0,77 \pm 0,81 ^{αβ}	0,41 \pm 0,36 ^α	0,51 \pm 0,25 ^α
20:0	1,68 \pm 0,97 ^{αβγδη}	1,12 \pm 0,84 ^{αβ}	1,06 \pm 0,54 ^{αβγδ}	1,15 \pm 0,30 ^{αβγδ}
20:1ω9	0,04 \pm 0,15	0,06 \pm 0,11	MA	MA
20:3ω6	0,23 \pm 0,32 ^{αγδε}	0,22 \pm 0,18 ^{γδ}	MA	MA
20:4ω6	0,59 \pm 0,62 ^{αβδε}	1,47 \pm 2,93 ^{αβδ}	MA	MA
20:5ω3	1,32 \pm 1,93 ^θ	1,96 \pm 3,40 ^θ	11,48 \pm 9,93 ^{αβγδεζηθ}	12,16 \pm 6,44 ^{αβγζη}
22:0	2,30 \pm 1,82 ^{αβγθ}	1,83 \pm 1,34 ^θ	5,52 \pm 2,51 ^{αβγδεζ}	5,34 \pm 2,01 ^{αβγδεζ}
22:4ω6	0,08 \pm 0,14 ^{αβδε}	0,11 \pm 0,19 ^{αβδε}	MA	MA
22:5ω6	0,67 \pm 1,57	0,18 \pm 0,19	MA	MA
22:5ω3	3,63 \pm 2,20 ^{αγη}	2,94 \pm 2,04 ^γ	1,82 \pm 2,08 ^γ	3,17 \pm 2,35
22:6ω3	2,35 \pm 2,13 ^{βε}	2,30 \pm 1,58 ^{βε}	1,52 \pm 2,59 ^{βε}	0,84 \pm 1,45 ^{βε}
Σύνολο	100,00	100,00	100,00	100,00

MA: Μη ανιχνεύσιμο. ^{α-θ} Σημαντικά διαφορετικό από PC, PE, CL, PI, PS, LPC, SM και κεραμίδιο αντίστοιχα ($p < 0,05$, (δεδομένα στους πίνακες 5, 8 και 11).

Πίνακας 15. Δείκτες του προφίλ λιπαρών οξέων της SM και του κεραμιδίου των επιμέρους λιπαρών του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων (μέσες τιμές \pm SD)

Δείκτης	SM		Κεραμίδο	
	Απροπόνητοι	Προπονημένοι	Απροπόνητοι	Προπονημένοι
Κορεσμένα (%)	83,72 \pm 7,17 ^{αβγδεθ}	81,99 \pm 11,06 ^{αβγδε}	69,50 \pm 9,90 ^{αβγζ}	71,52 \pm 8,20 ^{αβγ}
Ακόρεστα (%)	16,28 \pm 7,17 ^{αβγδεηθ}	18,01 \pm 11,06 ^{αβγδε}	30,50 \pm 9,90 ^{αβγζ}	24,48 \pm 8,20 ^{αβγ}
A/K	0,20 \pm 0,10 ^{αβγδε}	0,24 \pm 0,19 ^{αβγδεθ}	0,47 \pm 0,25 ^β	0,42 \pm 0,18 ^{γζ}
Μονοακόρεστα (%)	4,19 \pm 3,51 ^{αγε}	4,19 \pm 3,19 ^α	9,30 \pm 6,04 ^δ	8,13 \pm 2,52
Πολυακόρεστα (%)	12,10 \pm 5,22 ^{αβγδεθ}	13,82 \pm 9,41 ^{αβγδε}	21,19 \pm 11,03 ^{αβγδζ}	20,35 \pm 7,27 ^{αβγ}
ω6 (%)	5,20 \pm 2,35 ^{αβδεθ}	5,03 \pm 4,72 ^{βδεθ}	1,39 \pm 0,82 ^{αβδεζ}	1,16 \pm 0,68
ω3 (%)	5,08 \pm 2,91 ^{βγεθ}	5,30 \pm 3,91 ^{βγεθ}	15,23 \pm 12,38 ^{αγδζη}	16,68 \pm 7,36 ^{αγδζη}
ω6/ω3	1,23 \pm 0,76 ^{αδθ}	1,26 \pm 1,20 ^{αθ}	0,12 \pm 0,09 ^{αβγδεζη}	0,08 \pm 0,05 ^{αβγεζθ}
ΔA	57,90 \pm 25,69	61,58 \pm 36,39 ^{αβγδε}	99,88 \pm 57,59 ^{βγ}	100,35 \pm 36,99 ^{βγ}

A/K: ακόρεστα/κορεσμένα. ΔA: δείκτης ακορεστότητας. ^{α-θ} Σημαντικά διαφορετικό από PC, PE, CL, PI, PS, LPC, SM και κεραμίδιο αντίστοιχα ($p < 0,05$, δεδομένα στους πίνακες 6, 9 και 12).

Οι συγκεντρώσεις, οι ποσοστιαίες κατανομές και οι δείκτες των λιπαρών οξέων και των αλ-δεϋδών των ολικών φωσφολιπιδίων του γαστροκνημίου μυός παρουσιάζονται στους Πίνακες 16-18.

Πίνακας 16. Συγκεντρώσεις ($\mu\text{mol/g}$) επιμέρους λιπαρών οξέων και των αλδεϋδών των ολικών φωσφολιπιδίων του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων (μέσες τιμές \pm SD)

	Λιπαρά οξέα		Αλδεϋδες	
	Απροπόνητοι	Προπονημένοι	Απροπόνητοι	Προπονημένοι
12:0	0,028 \pm 0,014	0,031 \pm 0,024		
14:0	0,091 \pm 0,031	0,089 \pm 0,037		
14:1 ω 9	0,026 \pm 0,018	0,028 \pm 0,018		
16:0	6,000 \pm 0,596	6,073 \pm 0,636	0,343 \pm 0,268	0,330 \pm 0,199
16:1 ω 7	0,134 \pm 0,034	0,121 \pm 0,035		
18:0	4,269 \pm 1,306	4,680 \pm 1,470	0,069 \pm 0,049	0,080 \pm 0,088
18:1 ω 9	0,820 \pm 0,100	0,796 \pm 0,160	0,029 \pm 0,020	0,049 \pm 0,062
18:1 ω 7	0,659 \pm 0,177	0,681 \pm 0,091	0,020 \pm 0,011	0,017 \pm 0,012
18:2 ω 6	3,793 \pm 0,659	3,990 \pm 0,780		
18:3 ω 6	0,032 \pm 0,010	0,039 \pm 0,019		
18:3 ω 3	0,037 \pm 0,016	0,038 \pm 0,016		
18:4 ω 3	0,023 \pm 0,023	0,024 \pm 0,021		
20:0	0,030 \pm 0,015	0,029 \pm 0,020		
20:1 ω 9	0,018 \pm 0,004	0,021 \pm 0,009		
20:3 ω 6	0,124 \pm 0,045	0,106 \pm 0,027		
20:4 ω 6	2,349 \pm 0,963	2,368 \pm 0,896		
20:5 ω 3	0,060 \pm 0,037	0,058 \pm 0,030		
22:0	0,070 \pm 0,084	0,072 \pm 0,061		
22:4 ω 6	0,131 \pm 0,056	0,118 \pm 0,046		
22:5 ω 6	0,122 \pm 0,086	0,096 \pm 0,050		
22:5 ω 3	0,403 \pm 0,215	0,371 \pm 0,162		
22:6 ω 3	1,175 \pm 0,742	1,178 \pm 0,599		
Σύνολο	20,395 \pm 1,678	21,007 \pm 1,748	0,461 \pm 0,189	0,475 \pm 0,166

Πίνακας 17. Ποσοστιαία κατανομή των επιμέρους λιπαρών οξέων και των αλδευδών των ολικών φωσφολιπιδίων του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων (μέσες τιμές \pm SD)

	Λιπαρά οξέα		Αλδεύδες	
	Απροπόνητοι	Προπονημένοι	Απροπόνητοι	Προπονημένοι
12:0	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1		
14:0	0,4 \pm 0,2	0,4 \pm 0,2		
14:1 ω 9	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1		
16:0	29,2 \pm 4,0	28,5 \pm 3,8	1,6 \pm 1,1	1,5 \pm 0,9
16:1 ω 7	0,6 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1		
18:0	20,5 \pm 5,8	21,8 \pm 5,4	0,3 \pm 0,2	0,3 \pm 0,3
18:1 ω 9	4,0 \pm 0,5	3,7 \pm 0,6	0,1 \pm 0,2	0,2 \pm 0,3
18:1 ω 7	3,2 \pm 0,8	3,2 \pm 0,4	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,0
18:2 ω 6	18,2 \pm 2,0	18,5 \pm 2,3		
18:3 ω 6	0,2 \pm 0,0	0,2 \pm 0,1		
18:3 ω 3	0,2 \pm 0,1	0,2 \pm 0,1		
18:4 ω 3	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1		
20:0	0,1 \pm 0,1	0,1 \pm 0,1		
20:1 ω 9	0,1 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0		
20:3 ω 6	0,6 \pm 0,2	0,5 \pm 0,1		
20:4 ω 6	11,1 \pm 3,8	10,9 \pm 3,8		
20:5 ω 3	0,3 \pm 0,2	0,3 \pm 0,2		
22:0	0,3 \pm 0,4	0,4 \pm 0,3		
22:4 ω 6	0,6 \pm 0,2	0,5 \pm 0,2		
22:5 ω 6	0,6 \pm 0,3	0,4 \pm 0,2		
22:5 ω 3	1,9 \pm 0,8	1,7 \pm 0,7		
22:6 ω 3	5,4 \pm 2,8	5,5 \pm 2,9		
Σύνολο	97,9 \pm 8,1	97,9 \pm 8,1	2,1 \pm 0,8	2,1 \pm 0,7

Πίνακας 18. Δείκτες του προφίλ λιπαρών οξέων και αλδευδών των ολικών φωσφολιπιδίων του γαστροκνημίου μυός απροπόνητων και προπονημένων επιμύων (μέσες τιμές \pm SD)

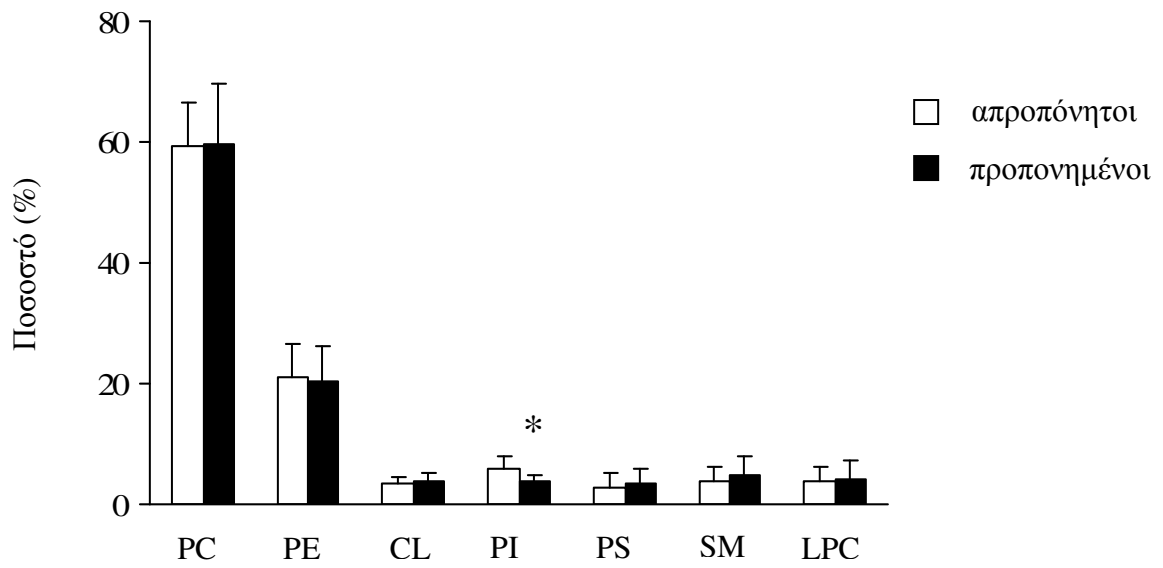
Δείκτης	Απροπόνητοι	Προπονημένοι
Κορεσμένα (%)	52,69 \pm 8,11	53,19 \pm 7,53
Ακόρεστα (%)	47,31 \pm 8,11	46,81 \pm 7,53
Α/Κ	1,37 \pm 0,84	1,41 \pm 0,63
Μονοακόρεστα (%)	8,22 \pm 1,10	8,00 \pm 0,81
Πολυακόρεστα (%)	39,10 \pm 8,60	38,82 \pm 7,76
ω 6 (%)	14,37 \pm 4,82	13,82 \pm 4,57
ω 3 (%)	6,55 \pm 3,03	6,52 \pm 3,01
ω 6/ ω 3	3,82 \pm 0,82	3,48 \pm 0,79
Δ A	140,61 \pm 38,20	138,60 \pm 35,63

Στον πίνακα 19 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των φωσφολιπιδίων.

Πίνακας 19. Συγκεντρώσεις ($\mu\text{mol/g}$) φωσφολιπιδίων του γαστροκνημίου μυός α -προπόνητων και προπονημένων επιμύων (μέσες τιμές \pm SD)

Φωσφολιπίδιο	Απροπόνητοι	Προπονημένοι
PC	6,157 \pm 0,725	6,425 \pm 1,1073
PE	2,2,56 \pm 0,802	2,264 \pm 0,926
CL	0,358 \pm 0,130	0,406 \pm 0,167
PI	0,593 \pm 0,181	0,410 \pm 0,126*
PS	0,304 \pm 0,263	0,368 \pm 0,255
LPC	0,402 \pm 0,278	0,472 \pm 0,349
SM	0,402 \pm 0,239	0,544 \pm 0,352
Σύνολο	10,472 \pm 1,392	10,889 \pm 1,516

* Σημαντικά διαφορετική από τους απροπόνητους ($p < 0,05$).



Σχήμα 15. Εκατοστιαία γραμμομοριακή κατανομή των φωσφολιπιδίων στο γαστροκνήμιο μυ απροπόνητων και προπονημένων επιμύων. *Σημαντικά διαφορετικό από τους απροπόνητους ($p = 0,008$).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το είδος άσκησης που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη για την προπόνηση των επιμύων έχει το πλεονέκτημα ότι γίνεται κατά βούληση και έτσι δεν προκαλείται πρόσθετο στρες, πέρα από αυτό της άσκησης (Kennedy, Smith & Fleshner 2005). Όπως αναφέρουν οι Cotman & Engesser-Cesar (2002), η άσκηση των επιμύων σε τροχό μιμείται την ανθρώπινη άσκηση ως προς το ότι τα πειραματόζωα επιλέγουν από μόνα τους πότε θα τρέξουν, με ποια ταχύτητα, πόση απόσταση και για πόση ώρα. Έχει μάλιστα παραλληλιστεί το είδος αυτό άσκησης με την ανθρώπινη προπόνηση σε πολλά επίπεδα (Eikelbloom 1999). Η αρχική αύξηση της σωματικής δραστηριότητας των επιμύων και η μετέπειτα σταθεροποίησή της βρίσκεται σε συμφωνία με δημοσιευμένες εργασίες (π.χ. Allen et al. 2001, Larveteläinen et al. 1997, Noble et al. 1999). Ομοίως, η ποσότητα της σωματικής δραστηριότητας είναι συγκρίσιμη με εκείνη που έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία για αρσενικούς επίμυες (π.χ. Larveteläinen et al. 1997, Noble et al. 1999, Podolin, Wei & Pagliassotti 1999, Tokuyama & Okuda 1983). Σε ό,τι αφορά την απόπτωση, το είδος άσκησης που επιλέχθηκε στην παρούσα μελέτη θεωρείται το καταλληλότερο, αφού η παρουσία πρόσθετου στρες που θα προκαλούσε μια εξαναγκασμένη άσκηση θα επηρέαζε πιθανώς τα αποτελέσματά μας.

Η αύξηση της δραστηριότητας της CCO κατά 40 % στον έξω γαστροκνήμιο μυ των προπονημένων επιμύων αποτελεί χαρακτηριστική προσαρμογή στην προπόνηση και ένδειξη της αποτελεσματικότητάς της. Μελέτες που χρησιμοποίησαν διάφορα μοντέλα προπόνησης έχουν αναφέρει αυξημένη δραστηριότητα της CCO. Αύξηση της CCO κατά 84% σε ασκούμενους σε σύγκριση με μη ασκούμενους επίμυες βρέθηκε μετά από αερόβιο προπονητικό πρόγραμμα σε δαπεδοεργόμετρο (Samelman et al. 2000). Ομοίως οι Terblanche και συν. (2001) βρήκαν αύξηση της CCO μετά από άσκηση 6 εβδομάδων στο γαστροκνήμιο μυ επιμύων. Οι Murakami και συν. (1995) ανέφεραν ότι η CCO αυξήθηκε κατά μιάμιση φορά στο γαστροκνήμιο ύστερα από άσκηση, ενώ ο Holloszy (1967) διαπίστωσε σχεδόν διπλασιασμό της CCO στους μύς των οπίσθιων άκρων επιμύων που ακολούθησαν έντονο τρίμηνο αερόβιο προπονητικό πρόγραμμα. Σε άλλη μελέτη, οι Tibbits και συν. (1978) αναφέρουν 38% αύξηση της δραστηριότητας της CCO στο γαστροκνήμιο μυ επιμύων ύστερα από 11 εβδομάδων άσκηση σε δαπεδοεργόμετρο, ενώ σε συμφωνία βρίσκονται και τα αποτελέσματα άλλης μελέτης, η οποία αναφέρει 70-110% αύξηση της CCO στον πελματιαίο και στον τετρακέφαλο μυ επιμύων ύστερα από 10 εβδομάδες αερόβιας άσκησης σε δαπεδοεργόμετρο (Marone et al. 1994).

Παράλληλα με τις έρευνες σε πειραματόζωα, υπάρχει στη βιβλιογραφία πλήθος ερευνών που διαπίστωσαν αύξηση της CCO με την προπόνηση σε ανθρώπους. Μελέτη των Sveden-hag και συν. (1983) αναφέρει ότι η CCO αυξήθηκε στον τετρακέφαλο μηριαίο μετά από 8 εβδομάδες αερόβιου προγράμματος σε αγύμναστους άνδρες. Παρόμοια είναι και τα αποτελέσματα της μελέτης των Henriksson & Reitman (1977), οι οποίοι αναφέρουν αύξηση στη CCO 35% στον έξω πλατύ μηριαίο. Πρόσθετες μελέτες (Booth 1977, Fitts et al. 1975, Holloszy 1975) έχουν διαπιστώσει αύξηση των επιπέδων της CCO σε ανθρώπινους μυς μετά από αερόβια προπόνηση, επιβεβαιώνοντάς την έτσι ως δείκτη αερόβιας προσαρμογής των μυών.

Αξίζει ακόμη να αναφερθεί ότι αρσενικοί επίμυες που διήνυσαν την ίδια απόσταση σε τροχό για την ίδια περίοδο με την παρούσα μελέτη αύξησαν το χρόνο άσκησής τους μέχρι την εξάντληση κατά 52 % και τη μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου κατά 12 % (Lambert & Noakes 1990).

Απόπτωση

Παρόλο που οι περισσότερες σχετικές μελέτες έχουν βρει αύξηση της απόπτωσης στο σκελετικό μυ με την οξεία άσκηση (Arslan et al. 2002, Biral et al. 1998, 2000, Lim et al. 2004, Podhorska-Okolow et al. 1998, Sandri et al. 1995, 1997, Willoughby et al. 2003), η επίδραση της χρόνιας άσκησης στην απόπτωση δεν είναι σαφής.

Η απουσία διαφοράς μεταξύ προπονημένων και απροπόνητων επιμύων στη συγκέντρωση νουκλεοσωμάτων στο κυτταρόπλασμα των μυϊκών ινών στην παρούσα διατριβή έρχεται σε αντίθεση με τη μία και μοναδική μελέτη που είχε όμοιο σχεδιασμό με τη δική μας (Lim et al. 2004). Υπενθυμίζεται ότι οι Lim et al. (2004) εξέτασαν την επίδραση 8 εβδομάδων εθελοντικής άσκησης σε τροχό στην απόπτωση στον υποκνημίδιο μυ δυστροφικών και υγιών επιμύων και βρήκαν αύξηση της απόπτωσης και στις δυο ομάδες. Αντίθετα, τα αποτελέσματά μας, συμφωνούν με εκείνα των Siu και συν. (2004), που δεν παρατήρησαν καμία αλλαγή στην απόπτωση (εκτίμηση με EIA και DNA laddering) στον υποκνημίδιο μυ επιμύων μετά από 8 εβδομάδες άσκησης σε δαπεδοεργόμετρο.

Τέλος, η μη εύρεση σημαντικών διαφορών μεταξύ των δυο ομάδων ως προς την απόπτωση διαφωνεί με τα αποτελέσματα των Boffi και συν. (2002), που βρήκαν σημαντική αύξηση της απόπτωσης στον σκελετικό μυ αλόγων που έτρεξαν σε δαπεδοεργόμετρο. Οι διαφορές στο βιολογικό είδος, στο μυ και στο είδος της άσκησης μπορούν να επικληθούν για την εξήγηση της διαφοράς στα αποτελέσματα.

TNFα

Η συγκέντρωση του TNFα στο μυ δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ απροπόνητων και προπονημένων επιμύων. Τα αποτελέσματά μας συμφωνούν με εκείνα των Kawamura και συν. (2002) και Ferrier και συν. (2004) που βρήκαν ότι η χρόνια άσκηση δεν επηρέασε τη συγκέντρωση του TNFα στο μακρό εκτείνοντα τους δακτύλους και στον υποκνημίδιο μυ επιμύων (Kawamura et al. 2002) καθώς και στον έξω πλατύ μηριαίο ανθρώπων (Ferrier et al. 2004). Αντίθετα οι Greiwe και συν. (2001) βρήκαν ότι η χρόνια άσκηση με αντιστάσεις μείωσε τα επίπεδα του TNFα στον έξω πλατύ μηριαίο ηλικιωμένων ανθρώπων. Μελέτες στον ορό δείχνουν επίσης μη σημαντική επίδραση της άσκησης στη συγκέντρωση του TNFα (Orban et al. 1999, Gill et al. 2003). Ωστόσο, υπάρχουν έρευνες, όπως αυτή των Straczowski και συν. (2001), που αναφέρουν πως η άσκηση μείωσε τα επίπεδα του TNFα στον ορό. Ο λόγος είναι πιθανόν η αύξηση της ευαισθησίας των ιστών στην ινσουλίνη, καθώς ο TNFα συνδέεται αρνητικά με αυτήν.

Κασπάση 3

Δεδομένου ότι η κασπάση 3 ρυθμίζει τη διεργασία της απόπτωσης, κάποιος θα μπορούσε να αναρωτηθεί πώς προκλήθηκε αλλαγή σε ένα ένζυμο κλειδί της απόπτωσης με την προπόνηση, ενώ δεν βρέθηκε καμία διαφορά στην απόπτωση. Μια πιθανή απάντηση είναι ότι άσκηση ίσως δεν προκάλεσε αλλαγές στις δραστηκότητες άλλων κασπασών που ελέγχουν την απόπτωση. Τέτοιες είναι οι κασπάσες 6 και 7, οι οποίες ανήκουν στην ίδια οικογένεια με την κασπάση 3 (εκτελεστικές κασπάσες) και αποτελούν και αυτές ένζυμα κλειδιά στα τελικά στάδια της αποπτωτικής διεργασίας. Έτσι είναι πιθανό η μείωση της δραστηκότητας της κασπάσης 3 να μην αποτέλεσε επαρκές ερέθισμα ώστε να προκαλέσει απόπτωση.

Καρδιολιπίνη

Η τάση αύξησης που παρουσίασε η καρδιολιπίνη με την προπόνηση (Πίνακας 7) φαίνεται να συμφωνεί με τη μείωση της συγκέντρωσης της κασπάσης 3, αφού μείωση της καρδιολιπίνης οδηγεί στην αποκόλληση κυτοχρώματος c από την εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη, το οποίο ενεργοποιεί την κασπάση 9, η οποία με τη σειρά της ενεργοποιεί την κασπάση 3. Εφόσον η άσκηση αύξησε την καρδιολιπίνη (αν και όχι σημαντικά), ίσως περιορίστηκε η απελευθέρωση κυτοχρώματος c, με αποτέλεσμα τη μείωση της δραστηκότητας της κασπάσης 3.

Η καρδιολιπίνη αποτέλεσε το τρίτο σε αφθονία φωσφολιπίδιο (Πίνακας 18), γεγονός που συμφωνεί με την βιβλιογραφία (ενδεικτικά, Bruce 1974a, Okano et al. 1980, Piotrowska et al. 2000). Επειδή η αερόβια προπόνηση προκαλεί αύξηση των μιτοχονδρίων, θα περίμενε κανείς

να προκαλέσει και αύξηση της καρδιολιπίνης, αφού αυτή βρίσκεται αποκλειστικά στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη και η αύξησή της έχει καταγραφεί ως αποτέλεσμα της αυξημένης μιτοχονδριακής βιογένεσης (Hood et al. 1994). Κάτι τέτοιο φάνηκε εν μέρει στα αποτελέσματα μας, αφού η συγκέντρωση της καρδιολιπίνης αυξήθηκε κατά 14% (αν και όχι στατιστικά σημαντικά). Σε ό,τι αφορά το προφίλ λιπαρών οξέων της καρδιολιπίνης, αυτό συμφωνεί με δημοσιευμένα δεδομένα για την καρδιολιπίνη στο σκελετικό μυ θηλαστικών (Masoro et al. 1966, Bruce, 1974b) και σε μιτοχόνδρια από διάφορες πηγές (Schlame et al. 1993, Tsalouhidou et al. 2006) ως προς την κυριαρχία του 18:2ω6 (67% στα απροπόνητα και 74% στα προπονημένα ζώα) και το πολύ χαμηλό ποσοστό λιπαρών οξέων πολύ μακράς αλυσού. Δεν υπάρχουν στοιχεία στη βιβλιογραφία για την επίδραση της χρόνιας άσκησης στη συγκέντρωση και στο προφίλ λιπαρών οξέων της καρδιολιπίνης με συνέπεια να μην μπορούν να συγκριθούν τα αποτελέσματα μας με εκείνα άλλων ερευνών.

Σφιγγομυελίνη και κεραμίδιο

Τόσο η σφιγγομυελίνη, όσο και το κεραμίδιο δεν διέφεραν μεταξύ απροπόνητων και προπονημένων επιμύων. Η απουσία διαφοράς στα δυο αυτά λιπίδια, σε συνδυασμό με την απουσία διαφοράς στη καρδιολιπίνη (το τρίτο λιπίδιο που εμπλέκεται στη διεργασία της απόπτωσης), μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η χρόνια άσκηση επιμύων σε τροχό δεν επηρεάζει αυτούς τους τροποποιητές της απόπτωσης. Τα αποτελέσματά μας σχετικά με το κεραμίδιο έρχονται σε αντίθεση με τη μία και μοναδική μελέτη που εξέτασε την επίδραση της χρόνιας άσκησης και αναφέρει μείωσή στον υποκνημίδιο, στο λευκό γαστροκνήμιο και στον ερυθρό γαστροκνήμιο μυ επιμύων μετά από 6 εβδομάδες άσκησης σε δαπεδοεργόμετρο (Dobrzyn et al. 2004).

Υπόλοιπα φωσφολιπίδια

Δεν βρέθηκαν διαφορές μεταξύ προπονημένων και απροπόνητων επιμύων στη συγκέντρωση και στο προφίλ λιπαρών οξέων των μεμονομένων φωσφολιπιδίων με εξαίρεση τη PI, η οποία παρουσίασε σημαντική μείωση (31%) στην ομάδα των προπονημένων επιμύων. Στην PI τα αφθονότερα λιπαρά οξέα ήταν το 18:0 και το 20:4ω6, γεγονός που συμφωνεί με τη βιβλιογραφία (Berg 2001). Οι συγκεντρώσεις των 16:1ω7, 18:1ω7, 20:3ω6 και 20:4ω6 ήταν σημαντικά χαμηλότερες στην ομάδα των προπονημένων επιμύων. Η βιολογική σημασία αυτών των αποτελεσμάτων είναι άγνωστη. Χρειάζονται περαιτέρω μελέτες για να επιβεβαιώσουν τα ευρήματα της παρούσας έρευνας και να διερευνήσουν τις φυσιολογικές προεκτάσεις τους.

Σε συμφωνία με τα ευρήματα μας, οι Therriault και συν. (1973) βρήκαν ότι η προπόνηση δεν επέφερε καμία αλλαγή στην ποσοστιαία κατανομή της PC, της PE, της CL, της PS και της SM σε σκελετικό μυ σκύλων. Στην μελέτη αυτή όμως δεν βρέθηκαν διαφορές ούτε στην φωσφατιδυλινοσιτόλη.

Σίγουρα χρειάζονται περισσότερες μελέτες για να διευκρινιστεί η επίδραση της άσκησης σε τροχό (και της χρόνιας άσκησης γενικά) στη συγκέντρωση και στο προφίλ λιπαρών οξέων των μεμονομένων φωσφολιπιδίων του σκελετικού μυός. Δεν βρήκαμε καμία μελέτη που εξέτασε την επίδραση της χρόνιας άσκησης στο προφίλ λιπαρών οξέων των μεμονομένων φωσφολιπιδίων.

Ως συνέπεια της απουσίας διαφορών στις συγκεντρώσεις των περισσότερων φωσφολιπιδίων μεταξύ προπονημένων και απροπόνητων επιμύων, δεν βρήκαμε διαφορά ούτε στη συνολική συγκέντρωση των φωσφολιπιδίων. Επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων μας είναι προηγούμενες μελέτες του εργαστηρίου μας, που πραγματοποίησαν ανάλυση ολικών φωσφολιπιδίων με το ίδιο μοντέλο άσκησης στα ίδια πειραματόζωα. Η συγκέντρωση των ολικών φωσφολιπιδίων στον έσω γαστροκνήμιο, στον υποκνημίδιο και στο μακρό εκτείνοντα τους δακτύλους δεν άλλαξε με την προπόνηση (Nikolaidis et al. 2004, Petridou et al. 2005).

Επίσης μελέτη των Kriketos και συν. (1995) είναι παρόμοια με τη δική μας στον πειραματικό σχεδιασμό. Οι ερευνητές προπόνησαν επίμυες σε τροχούς για 45 ημέρες και προσδιόρισαν το προφίλ λιπαρών οξέων των φωσφολιπιδίων του υποκνημίδιου και του μακρού εκτείνοντα τους δακτύλους. Η μόνη διαφορά που βρέθηκε μεταξύ των προπονημένων και των απροπόνητων πειραματόζωων ήταν τα χαμηλότερα ποσοστά του 22:6ω3 και (του αθροίσματος) των ω3 λιπαρών οξέων στον υποκνημίδιο των προπονημένων επιμύων (Kriketos και συν. 1995). Αξιοσημείωτη είναι η υπερδιπλάσια στη σωματική δραστηριότητα συγκριτικά με τη δική μας μελέτη (11,2 έναντι 5,2 km/ημέρα), η οποία λογικά θα ευνοούσε περισσότερες αλλαγές στη σύσταση σε λιπαρά οξέα.

Οι Turner και συν. (2004) εξέτασαν την επίδραση προπόνησης χαμηλής ή υψηλής έντασης σε τάπητα στη σύσταση σε λιπαρά οξέα των ολικών φωσφολιπιδίων του έξω πλατύ μηριαίου επιμύων που τρέφονταν με διατροφή πλούσια σε υδατάνθρακες ή πλούσια σε λίπη. Δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στο προφίλ των λιπαρών οξέων με την προπόνηση, ενώ, όπως αναφέρουν οι συγγραφείς, η διατροφή ήταν ισχυρότερος τροποποιητής της σύστασης σε λιπαρά οξέα των μεμβρανικών λιπιδίων.

Δυο όμοια από άποψης δομής λιπίδια: λυσοφωσφατιδυλοχολίνη και σφιγγομυελίνη

Η LPC και η SM, δυο όμοια από άποψη δομής φωσφολιπίδια (αποτελούμενα από ένα λιπαρό οξύ και μια φωσφορική χολίνη προσκολλημένα στη σφιγγοσίνη και τη γλυκερόλη αντίστοιχα), δεν παρουσίασαν καμία διαφορά στο προφίλ των λιπαρών τους οξέων. Επιπλέον τόσο η LPC όσο και η SM παρουσίασαν μια τάση αύξησης κατά 16 και 25% αντίστοιχα με την πρόπνηση, που συμφωνεί με μελέτη των Górski και συν. (1999) σε ό,τι αφορά την SM στο λευκό γαστροκνήμιο.

Ιδιαίτερο προφίλ λιπαρών οξέων κάθε φωσφολιπιδίου

Εντύπωση προκαλεί εύρημά μας είναι το ξεχωριστό προφίλ κάθε φωσφολιπιδίου, με εξαίρεση τις LPC και SM που προαναφέρθηκαν. Το προφίλ αυτό μπορεί επιγραμματικά να συνοψιστεί ως εξής:

- Η PC είχε κυρίως ποσοστό 16:0 και 18:2ω6.
- Η PE είχε κυρίως 18:0 και 22:6ω3.
- Η CL είχε κατά 2/3 ως 3/4 18:2ω6.
- Η PI είχε κυρίως 18:0 και 20:4ω6.
- Η PS είχε κυρίως 18:0,16:0 και 22:6ω3.
- Η SM και η LPC είχαν κυρίως 18:0 και 16:0, αλλά, σε αντίθεση με την PS, ελάχιστο 22:6ω3.

Φαίνεται ότι τα ένζυμα που εμπλέκονται στο μεταβολισμό των φωσφολιπιδίων δεν περιορίζουν την εκλεκτικότητά τους στην πολική κεφαλή (η οποία θα περίμενε κανείς να είναι το στοιχείο διαφοροποίησης των φωσφολιπιδίων), αλλά την επεκτείνουν και στην υδρόφοβη ουρά. Το γεγονός αυτό ενισχύει το ρόλο των λιπαρών οξέων των φωσφολιπιδίων, τόσο στη δομή των κυτταρικών μεμβρανών, όσο και στη λειτουργικότητα των μεμβρανικών πρωτεϊνών, όσο και στην κυτταρική σηματοδότηση. Πρόκειται προφανώς για ένα πολλά υποσχόμενο πεδίο μελλοντικής έρευνας.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα ευρήματά μας δείχνουν ότι από τις 5 ουσίες που εμπλέκονται στη σηματοδότηση της απόπτωσης (σχήμα 2) και που μετρήθηκαν στο γαστροκνήμιο μυ επιμύων (TNF α , κασπάση 3, καρδιολιπίνη, σφιγγομυελίνη και κεραμίδιο), μόνο η κασπάση 3 επηρεάστηκε από τη χρόνια άσκηση στο τροχό. Δεδομένου όμως ότι η διεργασία της απόπτωσης αυτή καθαυτή δεν επηρεάστηκε (όπως τουλάχιστο προκύπτει από την απουσία διαφοράς στον κατακερματισμό του DNA μεταξύ προπονημένων και απροπόνητων ζώων), φαίνεται ότι η μεταβολή της κασπάσης 3 με τη χρόνια άσκηση δεν ήταν αρκετή για να επηρεάσει τη διεργασία της απόπτωσης

ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Περαιτέρω μελέτη της επίδρασης οξείας ή χρόνιας άσκησης στη διεργασία της απόπτωσης θα μπορούσε να συμπεριλάβει:

1. Τη μέτρηση και άλλων κασπασών που εμπλέκονται στη διεργασία της απόπτωσης, όπως της κασπάσης 9.
2. Τη μέτρηση και άλλων πρωτεϊνών που εμπλέκονται στη διεργασία της απόπτωσης (όπως της Bcl-2, που αναστέλλει την απόπτωση, και της Bax, που προάγει την απόπτωση).
3. Την εξέταση της επίδρασης της άσκησης στη διεργασία της απόπτωσης σε παθολογικές καταστάσεις, όπως ο καρκίνος, ο διαβήτης, κ.τ.λ.
4. Την εξέταση της επίδρασης της άσκησης στην απόπτωση και στα λιπίδια που εμπλέκονται στη διεργασία της σε όργανα, για τα οποία δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία (π.χ. εγκέφαλος και καρδιά).

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adhihetty PJ & Hood D (2003). Mechanisms of Apoptosis in Skeletal Muscle. *Basic and Applied Myology* **13**, 171-179.
- Allen DL, Harrison BC, Maass A, Bell ML, Byrnes WC, and Leinwand LA (2001). Cardiac and skeletal muscle adaptations to voluntary wheel running in the mouse. *Journal of Applied Physiology* **90**, 1900-1908.
- Arslan S, Erdem S, Sivri A, Hascelik Z & Tan E (2002). Exercise-induced apoptosis of rat skeletal muscle and the effect of meloxicam. *Rheumatology International* **21**, 133-136.
- Barclay JK & Stainsby WN (1972). Intramuscular lipid store utilization by contracting dog skeletal muscle in situ. *American Journal of Physiology* **223**, 115-119.
- Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L (2001). *Biochemistry*. Freeman, New York, p 717.
- Bernardi P, Penzo D, Wojtczak L (2002). Mitochondrial energy dissipation by fatty acids. Mechanisms and implications for cell death. *Vitamins & Hormones* **65**, 97-126.
- Biral D, Jakubiec-Puka A, Ciechomska I, Sandri M, Rossini K, Carraro U, Betto R (2000). Loss of dystrophin and some dystrophin-associated proteins with concomitant signs of apoptosis in rat leg muscle overworked in extension. *Acta Neuropathologica* **100**, 618-626.
- Biral D, Sandri M, Jakubiec-Puka A (1998). The fate of dystrophin and some signs of apoptosis in skeletal muscle work-overloaded in extension. *Basic and Applied Myology* **8**, 205-210.
- Blackard WG, Li J, Clore JN, Rizzo WB (1997). Phospholipid fatty acid composition in type I and type II rat muscle. *Lipids* **32**, 193-198.

- Boffi FM, Cittar J, Balskus G, Muriel M & Desmaras E (2002). Training-induced apoptosis in skeletal muscle. *Equine Veterinary Journal* **34**, 275-278.
- Booth F (1977). Effects of endurance exercise on cytochrome C turnover in skeletal muscle. *Annals of the New York Academy of Sciences* **301**, 431-439.
- Bruce A (1974a). Skeletal muscle lipids. II. Changes in phospholipid composition in man from fetal to middle age. *Journal of Lipid Research* **15**, 103-108.
- Bruce A (1974b). Skeletal muscle lipids. III. Changes in fatty acid composition of individual phosphoglycerides in man from fetal to middle age. *Journal of Lipid Research* **15**, 109-113.
- Carraro U & Franceschi C (1997). Apoptosis of skeletal and cardiac muscles and physical exercise. *Aging* **9**, 19-34.
- Chicco AJ & Sparagna GC (2007). Role of cardiolipin alterations in mitochondrial dysfunction and disease. *American Journal of Physiology Cell Physiology* **1**, 33-44.
- Choy PC, Tran K, Hatch GM, Kroeger EA (1997). Phospholipid metabolism in the mammalian heart. *Progress in Lipid Research* **36**, 85-101.
- Concordet JP & Ferry A (1993). Physiological programmed cell death in thymocytes is induced by physical stress (exercise). *American Journal of Physiology* **265**, C626-C629.
- Cotman CW & Engesser-Cesar C (2002). Exercise enhances and protects brain function. *Exercise and Sport Sciences Reviews* **30**, 75-79.
- Cui Z & Houweling M (2002). Phosphatidylcholine and cell death. *Biochimica et Biophysica Acta* **1585**, 87-96.

- Cuvillier O (2002). Sphingosine in apoptosis signalling. *Biochimica et Biophysica Acta* **1585**, 153-162.
- Daum G (1985). Lipids of mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta* **822**, 1-42.
- Delhalle S, Duvoix A, Schnekenburger M, Morceau F, Dicato M, Diederich M (2003). An introduction to the molecular mechanisms of apoptosis. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1010**, 1-8.
- Department of Health and Human Services (1996). *Physical Activity and Health: A Report of the Surgeon General*. Atlanta: US Department of Health and Human Services (<http://www.cdc.gov/nccdphp/sgr/sgr.htm>).
- Dobrzyn A & Gorski J (2002a). Ceramides and sphingomyelins in skeletal muscles of the rat: content and composition. Effect of prolonged exercise. *American Journal Physiology Endocrinology and Metabolism* **281**, E277–E285.
- Dobrzyń A & Górski J (2002b). Effect of acute exercise on the content of free sphinganine and sphingosine in different skeletal muscle types of the rat. *Hormone and Metabolic Research* **34**, 523-529.
- Dobrzyń A, Zendzian-Piotrowska M, Górski J (2004). Effect of endurance training on the sphingomyelin-signalling pathway activity in the skeletal muscles of the rat. *Journal of Physiology and Pharmacology* **55**, 305-313.
- Eikelboom R (1999). Human parallel to voluntary wheel running: exercise. *Animal Behaviour* **57**, F11-F12.
- Emoto K & Umeda M (2001). Membrane lipid control of cytokinesis. *Cell Structure and Function* **26**, 659-665.

- Farooqui AA, Horrocks LA, Farooqui T (2000). Glycerophospholipids in brain: their metabolism, incorporation into membranes, functions, and involvement in neurological disorders. *Chemistry and Physics of Lipids* **106**, 1-29.
- Fasshauer M, Kralisch S, Klier M, Lossner U, Bluher M, Chambaut-Guérin AM, Klein J, Paschke R (2004). Interleukin-6 is a positive regulator of tumor necrosis factor alpha-induced adipose-related protein in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Letters* **560**, 153-157.
- Ferrier KE, Nestel P, Taylor A, Drew BG, Kingwell BA (2004). Diet but not aerobic exercise training reduces skeletal muscle TNF-alpha in overweight humans. *Diabetologia* **47**, 630-637.
- Fidziańska A (2002). Suicide muscle cell programme-apoptosis. Ultrastructural study. *Folia Neuropathologica* **40**, 27-32.
- Fitts RH, Booth FW, Winder WW, Holloszy JO (1975). Skeletal muscle respiratory capacity, endurance, and glycogen utilization. *American Journal of Physiology* **228**, 1029-1033.
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* **226**, 497-509.
- Fröberg SO & Mossfeldt F (1971). Effect of prolonged strenuous exercise on the concentration of triglycerides, phospholipids and glycogen in muscle of man. *Acta Physiologica Scandinavica* **82**, 167-171.
- Fröberg SO (1971). Effect of acute exercise on tissue lipids in rats. *Metabolism* **20**, 714-720.
- Gill JM, Caslake MJ, McAllister C, Tsofliou F, Ferrell WR, Packard CJ, Malkova D (2003). Effects of short-term detraining on postprandial metabolism, endothelial function, and inflammation in endurance-trained men: dissociation between

- changes in triglyceride metabolism and endothelial function. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **88**, 4328-4335.
- Górski J, Oscai LB, Palmer WK (1990). Hepatic lipid metabolism in exercise and training. *Medicine and Science in Sports and Exercise* **22**, 213-221.
- Górski J, Zendzian-Piotrowska M, de Jong YF, Niklinska W & Glatz JF (1999). Effect of endurance training on the phospholipid content of skeletal muscles in the rat. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* **79**, 421-425.
- Greiwe JS, Cheng B, Rubin DC, Yarasheski KE, Semenkovich CF (2001). Resistance exercise decreases skeletal muscle tumor necrosis factor alpha in frail elderly humans. *FASEB Journal* **15**, 475-482.
- Gulbins E (2003). Regulation of death receptor signaling and apoptosis by ceramide. *Pharmacological Research* **47**, 393-399.
- Gustafsson AB & Gottlieb RA (2003). Mechanisms of apoptosis in the heart. *Journal of Clinical Immunology* **23**, 447-459.
- Haines TH & Dencher NA (2002). Cardiolipin: a proton trap for oxidative phosphorylation. *FEBS Letters* **528**, 35-39.
- Helge JW, Dobrzyn A, Saltin B, Gorski J (2004). Exercise and training effects on ceramide metabolism in human skeletal muscle. *Experimental Physiology* **89**, 119-127.
- Henriksson J & Reitman JS (1977). Time course of changes in human skeletal muscle succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase activities and maximal oxygen uptake with physical activity and inactivity. *Acta Physiologica Scandinavica* **99**, 91-97.

- Hoffman-Goetz L, Zajchowski S, Aldred A (1999). Impact of treadmill exercise on early apoptotic cells in mouse thymus and spleen. *Life Sciences* **64**, 191-200.
- Holloszy JO (1967). Biochemical adaptations in muscle. Effects of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory enzyme activity in skeletal muscle. *Journal of Biological Chemistry* **242**, 2278-2282.
- Holloszy JO (1975). Adaptation of skeletal muscle to endurance exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise* **7**, 155-164.
- Hood DA, Balaban A, Connor MK, Craig EE, Nishio ML, Rezvani M, Takahashi M. Mitochondrial biogenesis in striated muscle (1994). *Canadian Journal of Applied Physiology* **19**, 12-48.
- Hsu TG, Hsu KM, Kong CW, Lu FJ, Cheng H, Tsai K (2002). Leukocyte mitochondria alterations after aerobic exercise in trained human subjects. *Medicine and Science in Sports and Exercise* **34**, 438-442.
- Infante JP, Kirwan RC, Brenna JT (2001). High levels of docosahexaenoic acid (22:6n-3)-containing phospholipids in high-frequency contraction muscles of hummingbirds and rattlesnakes. *Comparative Biochemistry and Physiology* **130**, 291-298.
- Ichi I, Nakahara K, Miyashita Y, Hidaka A, Kutsukake S, Inoue K, Maruyama T, Miwa Y, Harada-Shiba M, Tsushima M, Kojo S (2006). Association of ceramides in human plasma with risk factors of atherosclerosis. *Lipids* **41**, 859-863.
- Jin H, Yang R, Li W, Lu H, Ryan AM, Ogasawara AK, Van Peborgh J, Paoni NF (2000). Effects of exercise training on cardiac function, gene expression, and apoptosis in rats. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* **279**, H2994-H3002.

- Kalofoutis A, Lekakis J, Miras C (1981). Heart mitochondrial and microsomal phospholipid fluctuation included by chronic exercise in rats. *International Journal of Biochemistry* **13**, 195-199.
- Kawamura T, Yoshida K, Sugawara A, Nagasaka M, Mori N, Takeuchi K, Kohzuki M (2004). Regulation of skeletal muscle peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression by exercise and angiotensin-converting enzyme inhibition in fructose-fed hypertensive rats. *Hypertension Research* **27**, 61-70.
- Kennedy SL, Smith TP, Fleshner M (2005). Resting cellular and physiological effects of freewheel running. *Medicine and Science in Sports and Exercise* **37**, 79-83.
- Kester M, Schliselfeld LH, Barany M (1984). Minor phospholipids in human muscle. *Molecular Physiology* **5**, 71-84.
- Kingsley MI, Wadsworth D, Kilduff LP, McEneny J, Benton D (2005). Effects of phosphatidylserine on oxidative stress following intermittent running. *Medicine and Science in Sports and Exercise* **37**, 1300-1306.
- Kirwan JP, del Aguila LF. Insulin signalling, exercise and cellular integrity (2003). *Biochemical Society Transactions* **31**, 1281-1285.
- Kramer JKG, Fellner V, Dugan MER, Sauer FD, Mossoba MD, Yurawecz MP (1997). Evaluating acid and base catalysts in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on conjugated dienes and total trans fatty acids. *Lipids* **32**, 1219-1228.
- Kriketos AD, Pan DA, Sutton JR, Hoh JF, Baur LA, Cooney GJ, Jenkins AB, Storlien LH (1995). Relationships between muscle membrane lipids, fiber type and enzyme activities in sedentary and exercised rats. *American Journal of Physiology* **269**, R1154-R1162.

- Kubota M, Kitahara S, Shimasaki H, Ueta N (1989). Accumulation of ceramide in ischemic human brain of an acute case of cerebral occlusion. *Japanese Journal of Experimental Medicine* **59**, 59-64.
- Lambert MI and Noakes TD (1990). Spontaneous running increases VO_2 max and running performance in rats. *Journal of Applied Physiology* **68**, 400-403.
- Lapveteläinen T, Tiihonen A, Koskela P, Nevalainen T, Lindblom J, Király K, Halonen P, and Helminen H (1997). Training a large number of laboratory mice using running wheels and analysing running behavior by use of a computer-assisted system. *Laboratory Animal Science* **47**, 172-179.
- Lawen A (2003). Apoptosis-an introduction. *BioEssays* **25**, 888-896.
- Lim JH, Kim DY, Bang MS (2004). Effects of exercise and steroid on skeletal muscle apoptosis in the mdx mouse. *Muscle and Nerve* **30**, 456-462.
- Marone JR, Falduto MT, Essig DA, Hickson RC (1994). Effects of glucocorticoids and endurance training on cytochrome oxidase expression in skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology* **77**, 1685-1690.
- Mars M, Govender S, Weston A, Naicker V, Chuturgoon A (1998). High intensity exercise: a cause of lymphocyte apoptosis? *Biochemical and Biophysical Research Communications* **249**, 366-370.
- Masoro EJ, Rowell LB, McDonald RM, Steiert B (1966). Skeletal muscle lipids. II. Nonutilization of intracellular lipid esters as an energy source for contractile activity. *Journal of Biological Chemistry* **241**, 2626-2634.
- McMillin JB & Dowhan W (2002). Cardiolipin and apoptosis. *Biochimica et Biophysica Acta* **1585**, 97-107.
- Mitchell TW, Buffenstein R, Hulbert AJ (2007). Membrane phospholipid composition may contribute to exceptional longevity of the naked mole-rat (*Heterocephalus*

- glaber): A comparative study using shotgun lipidomics. *Experimental Gerontology* **42**, 1053–1062.
- Monzillo LU, Hamdy O, Horton ES, Ledbury S, Mullooly C, Jarema C, Porter S, Ovalle K, Moussa A, Mantzoros CS (2003). Effect of lifestyle modification on adipokine levels in obese subjects with insulin resistance. *Obesity Research* **11**, 1048-1054.
- Mooren FC, Lechtermann A, Völker K (2004). Exercise-induced apoptosis of lymphocytes depends on training status. *Medicine and Science in Sports and Exercise* **36**, 1476-1483.
- Murakami T, Shimomura Y, Fujitsuka N, Sugiyama S (1995). Differential adaptation to endurance training between heart and gastrocnemius muscle mitochondria in rats. *Biochemistry and Molecular Biology International* **36**, 285-290.
- Niess AM, Hartmann A, Grünert-Fuchs M, Poch B, Speit G (1996). DNA damage after exhaustive treadmill running in trained and untrained men. *International Journal of Sports Medicine* **17**, 397-403.
- Nikolaidis MG, Petridou A, Matsakas A, Schulz T, Michna H, and Mougios V (2004). Effect of chronic wheel running on the fatty acid composition of phospholipids and triacylglycerols in rat serum, skeletal muscle and heart. *Acta Physiologica Scandinavica* **181**, 199-208.
- Noble EG, Moraska A, Mazzeo RS, Roth DA, Olsson MC, Moore RL, Fleshner M (1999). Differential expression of stress proteins in rat myocardium after free wheel or treadmill run training. *Journal of Applied Physiology* **86**, 1696-1701.
- Okano G, Matsuzaka H, Shimojo T (1980). A comparative study of the lipid composition of white, intermediate, red and heart muscle in rats. *Biochimica et Biophysica Acta* **619**, 167-175.

- Orban Z, Remaley AT, Sampson M, Trajanoski Z, Chrousos GP (1999). The differential effect of food intake and beta-adrenergic stimulation on adipose-derived hormones and cytokines in man. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **84**, 2126-2133.
- Otsuki Y, Li Z, Shibata MA (2003). Apoptotic detection methods--from morphology to gene. *Progress in Histochemistry and Cytochemistry* **38**, 275-339.
- Ott M, Gogvadze V, Orrenius S, Zhivotovsky B (2007). Mitochondria, oxidative stress and cell death. *Apoptosis* **12**, 913-922.
- Peters EM, Van Eden M, Tyler N, Ramautar A, Chuturgoon AA. Prolonged exercise does not cause lymphocyte DNA damage or increased apoptosis in well-trained endurance athletes (2006). *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* **98**, 124-131.
- Petridou A, Nikolaidis MG, Matsakas A, Schulz T, Michna H, Mougios V (2005). Effect of exercise training on the fatty acid composition of lipid classes in rat liver, skeletal muscle, and adipose tissue. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* **94**, 84-92.
- Phaneuf S & Leeuwenburgh C (2001). Apoptosis and exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise* **33**, 393-396.
- Piotrowska ZM, Górska M, Dworakowski W, Górski J (2000). Effect of triiodothyronine on phospholipids metabolism in skeletal muscles of the rat. *Journal of Physiology and Pharmacology* **51**, 103-110.
- Podhorska-Okolow M, Sandri M, Zampieri S, Brun B, Rossini K, Carraro U (1998). Apoptosis of myofibres and satellite cells: exercise-induced damage in skeletal muscle of the mouse. *Neuropathology and Applied Neurobiology* **24**, 518-531.

- Podolin DA, Wei Y, Pagliassotti MJ (1999). Effects of a high-fat diet and voluntary wheel running on gluconeogenesis and lipolysis in rats. *Journal of Applied Physiology* **86**, 1374-1380.
- Primeau AJ, Adhihetty PJ, Hood DA (2002). Apoptosis in heart and skeletal muscle. *Canadian Journal of Applied Physiology* **27**, 349-395.
- Ramstedt B & Slotte JP (2002). Membrane properties of sphingomyelins. *FEBS Letters* **531**, 33-37.
- Ritchie MH, Fillmore RA, Lausch RN, Oakes JE (2004). A role for NF-kappa B binding motifs in the differential induction of chemokine gene expression in human corneal epithelial cells. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* **45**, 2299-2305.
- Rylova SN, Somova OG, Zubova ES, Dudnik LB, Kogtev LS, Kozlov AM, Alesenko AV, Dyatlovitskaya EV (1999). Content and structure of ceramide and sphingomyelin and sphingomyelinase activity in mouse hepatoma-22. *Biochemistry (Mosc)* **64**, 437-441.
- Samelman TR, Shiry LJ, Cameron DF (2000). Endurance training increases the expression of mitochondrial and nuclear encoded cytochrome c oxidase subunits and heat shock proteins in rat skeletal muscle. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* **83**, 22-27.
- Samuelsson K (1971). Separation and identification of cerebroside in cerebrospinal fluid by gas chromatography--mass spectrometry. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* **27**, 381-391.
- Sandri M, Carraro U, Podhorska-Okolov M, Rizzi C, Arslan P, Monti D, Franceschi C (1995). Apoptosis, DNA damage and ubiquitin expression in normal and mdx muscle fibers after exercise. *FEBS Letters* **373**, 291-295.

- Sandri M, Podhorska-Okolow M, Geromel V, Rizzi C, Arslan P, Franceschi C, Carraro U (1997). Exercise induces myonuclear ubiquitination and apoptosis in dystrophin-deficient muscle of mice. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* **56**, 45-57.
- Schlame M, Brody S, Hostetler KY (1993). Mitochondrial cardiolipin in diverse eukaryotes. Comparison of biosynthetic reactions and molecular acyl species. *European Journal of Biochemistry* **212**, 727-735.
- Siu PM, Bryner RW, Martyn JK, Alway SE (2004). Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. *FASEB Journal* **18**, 1150-1152.
- Steensberg A, Morrow J, Toft AD, Bruunsgaard H, Pedersen BK (2002). Prolonged exercise, lymphocyte apoptosis and F2-isoprostanes. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* **87**, 38-42.
- Straczkowski M, Kowalska I, Dzienis-Straczkowska S, Stepién A, Skibińska E, Szelachowska M, Kinalska I (2001). Changes in tumor necrosis factor-alpha system and insulin sensitivity during an exercise training program in obese women with normal and impaired glucose tolerance. *European Journal of Endocrinology* **145**, 273-280.
- Svedenhag J, Henriksson J, Sylvén C (1983). Dissociation of training effects on skeletal muscle mitochondrial enzymes and myoglobin in man. *Acta Physiologica Scandinavica* **117**, 213-218.
- Terblanche SE, Gohil K, Packer L, Henderson S, Brooks GA (2001). The effects of endurance training and exhaustive exercise on mitochondrial enzymes in tissues of the rat (*Rattus norvegicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology* **128**, 889-896.
- Therriault DG, Beller GA, Smoake JA, Hartley LH (1973). Intramuscular energy sources in dogs during physical work. *Journal of Lipid Research* **14**, 54-60.

- Tibbits G, Koziol BJ, Roberts NK, Baldwin KM, Barnard RJ (1978). Adaptation of the rat myocardium to endurance training. *Journal of Applied Physiology* **44**, 85-89.
- Tokuyama K & Okuda H (1983). Fatty acid synthesis in adipose tissues of physically trained rats in vivo. *American Journal of Physiology* **245**, E8-E13.
- Tsalouhidou S, Argyrou C, Theofilidis G, Karaoglanidis D, Orfanidou E, Nikolaidis MG, Petridou A, Mougios V (2006). Mitochondrial phospholipids of rat skeletal muscle are less polyunsaturated than whole tissue phospholipids: implications for protection against oxidative stress. *Journal of Animal Science* **84**, 2818-2825.
- Turinsky J, Bayly BP, O'Sullivan DM (1990). 1,2-Diacylglycerol and ceramide levels in rat skeletal muscle and liver in vivo. Studies with insulin, exercise, muscle denervation, and vasopressin. *Journal of Biological Chemistry* **265**, 7933-7938.
- Turner N, Lee JS, Bruce CR, Mitchell TW, Else PL, Hulbert AJ, Hawley JA (2004). Greater effect of diet than exercise training on the fatty acid profile of rat skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology* **96**, 974-980.
- Voelker DR (2003). New perspectives on the regulation of intermembrane glycerophospholipid traffic. *Journal of Lipid Research* **44**, 441-449.
- Willoughby DS, Taylor M & Taylor L (2003). Glucocorticoid receptor and ubiquitin expression after repeated eccentric exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise* **35**, 2023-2031.
- Wójcik B, Nawrocki A, Chocian G, and Górski J (1999). Effect of exercise on fatty acid content in the rat heart. *Biology of Sport* **16**, 87-96.
- Wright MM, Howe AG, Zarembeg V (2004). Cell membranes and apoptosis: role of cardiolipin, phosphatidylcholine, and anticancer lipid analogues. *Biochemistry and Cell Biology* **82**, 18-26.

Yamauchi T, Ohki K, Maruyama H & Nozawa Y (1981). Thermal adaptation of Tetrahymena membranes with special reference to mitochondria. Role of cardiolipin in fluidity of mitochondrial membranes. *Biochimica et Biophysica Acta* **649**, 385-392.

Ziegler U & Groscurth P (2004). Morphological features of cell death. *News in Physiological Sciences* **19**, 124-128.