



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ-ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ  
ΤΟΜΕΑΣ ΚΟΙΝΩΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΑΙ ΨΥΧΙΚΗΣ ΥΓΕΙΑΣ  
ΨΥΧΙΑΤΡΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ-ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΨΥΧΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΓΙΑ ΤΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΝΟΥ»  
ΕΠΙΣΤ. ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ: Δ. ΔΑΜΙΓΟΣ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ  
ΣΤΗΝ ΕΚΚΡΙΣΗ ΕΝΔΟΡΦΙΝΩΝ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ  
ΤΟΥ ΠΟΝΟΥ**

**Σπουδάστρια:**

Μπαλντούμα Αναστασία, Νοσηλεύτρια (Α.Μ. 17)

**Επιβλέπων καθηγητής:**

Χαραλαμπίδης Κωνσταντίνος, Καθηγητής Ιατρικής Πανεπιστημίου  
Αλεξανδρούπολης

**Τριμελής Επιτροπή Αξιολόγησης:**

Δαμίγος Δημήτριος, Επίκουρος Καθηγητής Ιατρικής Ψυχολογίας, Πανεπιστήμιο  
Ιωαννίνων

Ευαγγέλου Άγγελος, Ομότιμος Καθηγητής Φυσιολογίας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων  
Καλφακάκου Βασιλική, Καθηγήτρια Φυσιολογίας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

**Ιωάννινα, 2006**

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ  
ΟΞΕΟΣ ΣΤΗΝ ΕΚΚΡΙΣΗ ΕΝΔΟΡΦΙΝΩΝ ΚΑΙ  
ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΝΟΥ**

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΠΡΟΛΟΓΟΣ</b>	<b>5</b>
<b>ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ</b>	<b>6</b>
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b>	<b>7</b>
<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b>	<b>9</b>
<b>ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ</b>	
<i>ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΤΟΥ ΠΟΝΟΥ</i>	<b>11</b>
<i>ΕΝΔΟΓΕΝΕΣ ΟΠΙΟΕΙΔΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ ΕΛΕΓΧΟΥ</i>	<b>13</b>
<i>ΕΝΔΟΓΕΝΕΙΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΑΛΓΗΣΙΑΣ</i>	<b>14</b>
<b>ΕΝΕΡΓΕΙΑ ΚΑΙ ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΕΝΔΟΡΦΙΝΩΝ</b>	<b>19</b>
<b>ΡΟΛΟΣ ΚΑΙ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ</b>	<b>29</b>
<b>ΔΡΑΣΕΙΣ ΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΚΑΙ β-ΕΝΔΟΡΦΙΝΗΣ</b>	<b>37</b>
<b>ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ</b>	
<i>ΕΘΕΛΟΝΤΕΣ ΚΑΙ ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ ΑΥΤΩΝ</i>	<b>39</b>
<i>ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΕΣ (ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ ΚΑΙ ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ)</i>	<b>40</b>
<i>ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ- ΔΕΥΔΡΟΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ</i>	<b>42</b>
<i>ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ β-ΕΝΔΟΡΦΙΝΗΣ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ ΤΟΥ</i>	

<i>ΑΙΜΑΤΟΣ</i>	<b>45</b>
<b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b>	
<i>ΕΠΙΠΕΔΑ ΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΚΑΙ ΔΕΥΔΡΟΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΥ ΣΤΟ</i>	
<i>ΑΙΜΑ ΑΘΛΗΤΩΝ ΚΑΙ ΜΗ ΑΘΛΗΤΩΝ</i>	<b>46</b>
<i>ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΗΣ β-ΕΝΔΟΡΦΙΝΗΣ ΣΤΟ ΑΙΜΑ ΑΘΛΗΤΩΝ ΚΑΙ</i>	
<i>ΜΗ ΑΘΛΗΤΩΝ</i>	<b>48</b>
<b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b>	<b>50</b>
<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ</b>	<b>55</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	<b>60</b>

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η περάτωση μιας διπλωματικής εργασίας προσδίδει ικανοποίηση στον ενασχολούμενο μ' αυτή, αποτελώντας επισφράγιση και ανταμοιβή διατεθέντος χρόνου, γενικότερου κόπου και πνευματικής εργασίας.

Ελπίζω πως το παρόν πόνημα ανταποκρίνεται τελικά στις απαιτήσεις, που το ίδιο το υπό διερεύνηση θέμα έθεσε αφ' αυτού.

Αυτό θα ήταν αδύνατο να πραγματοποιηθεί αν δε υπήρχε η απεριόριστη συμπαράσταση από ορισμένους επιστήμονες συνεργάτες.

Έτσι θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον καθηγητή μου Κωνσταντίνο Χαραλαμπίδου, Αναπληρωτή Καθηγητή Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων Τμήμα Φυσιολογίας, για την επίβλεψη, την καθοδήγηση και την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε στη συγγραφή της παρούσης εργασίας, καθώς και για τις εποικοδομητικές παρατηρήσεις και συμβουλές του καθ' όλη την διάρκεια της εκπόνησής της.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κύριο Άγγελο Ευαγγέλου, Καθηγητή Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, για την απρόσκοπτη δυνατότητα πρόσβασης και χρήσης των χώρων του εργαστηρίου, καθώς και για τις υποδείξεις του στη διεξαγωγή και περάτωση του πειραματικού μέρους της εργασίας αυτής.

Παράλληλα εκφράζω την ευγνωμοσύνη μου στον βιολόγο Δρ Σπύρο Καρκαμπούνα, Λέκτορα του Τμήματος Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, επειδή πιστεύω ότι με την δική του συμβολή και τη στήριξη του κατέστη δυνατόν να ολοκληρωθεί το πειραματικό τμήμα της εργασίας. Επιπλέον τον ευχαριστώ για την στατιστική επεξεργασία των δεδομένων της έρευνας αυτής.

Τέλος, θα επιθυμούσα επίσης, να εκφράσω τις ευχαριστίες στον Επίκουρο Καθηγητή Ιατρικής Ψυχολογίας κύριο Δημήτρη Δαμίγο, που είχε την υπευθυνότητα συντονισμού της διδασκαλίας του Μεταπτυχιακού Προγράμματος «Αντιμετώπιση του Πόνου» της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

## ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

International Association for the Study of Pain	IASP
Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας	ΠΟΥ
Κεντρικό Νευρικό Σύστημα	ΚΝΣ
Περιφερικό Νευρικό σύστημα	ΠΝΣ
Συμπαθητικό Νευρικό Σύστημα	ΣΝΣ
Αυξητική ορμόνη	GH
Αδρενοκορτικοτρόπος ορμόνη	ACTH
Προλακτίνη	PRL
Αντιδιουρητική ορμόνη	ADH
Θυρεοτροπίνη ή θυρεοειδοτρόπος ορμόνη	TSH
Ωχρινοτρόπος ορμόνη	LH
Ωοθυλακιοτρόπος ορμόνη	FSH
Προοπιομελανικοκορτίνη	POMC
Melanocyte Stimulating Hormone	MSH
β- Ενδορφίνη	β-EP
β-Lipotropin	β-LT
Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation	TENS
Polycystic Ovaries Syndrome	PCOS
Ασκορβικό οξύ	AO
Τριφωσφορική αδενοσίνη	ATP
High Density Lipoproteins	HDL

# ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΤΗΝ ΕΚΚΡΙΣΗ ΕΝΔΟΡΦΙΝΩΝ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΠΟΝΟΥ

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ:** Τα ενδογενή οπιοειδή δρουν είτε σαν κύριες νευροδιαβαστικές ουσίες είτε μέσω των υποδοχέων τους, αναστέλλοντας τους ανασταλτικούς ενδιάμεσους νευρώνες του συστήματος αναλγησίας με αποτέλεσμα την τροποποίηση του πόνου. Υπάρχουν τρεις οικογένειες ενδογενών οπιοειδών, οι εγκεφαλίνες, οι ενδορφίνες και οι δυνορφίνες.

**ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ:** Το δείγμα αποτέλεσαν 25 αθλητές δύναμης, του ίδιου επιπέδου, άρρενες και 10 υγιείς, ενήλικες μη αθλούμενοι, με μέση ηλικία και στις δυο ομάδες τα 28 έτη. Οι αθλητές χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, την 1<sup>η</sup> ομάδα ασκορβικού (14 άτομα) και τη 2<sup>η</sup> ομάδα ελέγχου των αθλητών (11 άτομα). Οι υπόλοιποι 10 μη αθλητές εθελοντές λειτούργησαν ως ομάδα ελέγχου των ελέγχων (3<sup>η</sup> ομάδα).

**ΣΚΟΠΟΣ:** Η παρούσα εργασία ασχολείται με τα ενδογενή οπιούχα πεπτίδια, και πιο συγκεκριμένα μ' ένα απ' αυτά, τη β-ενδορφίνη καθώς και με το μηχανισμό δράσης του ασκορβικού οξέος, στα επίπεδα της β-ενδορφίνης, σαν επιβοηθητικό παράγοντα στο σύστημα αναλγησίας.

**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:** Σε χρόνο T<sub>0</sub>, τα επίπεδα ασκορβικού οξέος για την 1<sup>η</sup> ομάδα των αθλητών πριν τη λήψη βιταμίνης C ήταν  $72,6 \pm 4,65\mu\text{M}$ , του δευδροασκορβικού  $58 \pm 9,28\mu\text{M}$  και τη β-EP  $6,36 \pm 1,18\text{fM}$  ενώ οι τιμές του AO οξέος για την 2<sup>η</sup> ομάδα των αθλητών ήταν  $69 \pm 5,5\mu\text{M}$  για το δευδροασκορβικό  $58,69 \pm 7,8\mu\text{M}$  και  $6 \pm 1\text{fM}$ . Σε χρόνο T<sub>1</sub> και μισή ώρα μετά τη χορήγηση βιταμίνης C στην 1<sup>η</sup> ομάδα των αθλητών, οι τιμές του AO εκτοξευθήκαν στα  $872 \pm 23,66\mu\text{M}$  ενώ του δευδροασκορβικού σχεδόν εξαφανίστηκαν  $8,45 \pm 3,41\mu\text{M}$  και της β-EP αυξήθηκαν στα  $9 \pm 2\text{fM}$ . Για την 2<sup>η</sup> ομάδα, που δεν έλαβε βιταμίνη C, οι τιμές του AO διαμορφώθηκαν στα  $68,6 \pm 4,45\mu\text{M}$  για το AO,  $61,1 \pm 4,6\mu\text{M}$  για το δευδροασκορβικό και  $7 \pm 1,18\text{fM}$  για τη β-EP. Μια ώρα αργότερα και αμέσως μετά την μέγιστη άσκηση των αθλητών και των δυο ομάδων πραγματοποιήθηκε τρίτη

αιμοληψία σε χρόνο T<sub>2</sub>. Οι τιμές του ΑΟ για την 1<sup>η</sup> ομάδα μειώθηκαν στα 678 ± 41μΜ, του δευδροασκορβικού σημείωσαν αύξηση φτάνοντας στα 65 ± 6,5μΜ και της β-ΕΡ αυξήθηκαν στα 15 ± 1,34fΜ ενώ για την 2<sup>η</sup> ομάδα οι τιμές του ΑΟ ήταν στα 61,8 ± 5,8μΜ, του δευδροασκορβικού στα 72,18 ± 5,1μΜ και της β-ΕΡ στα 10 ± 1,16fΜ. Στην τέταρτη αιμοληψία μια ώρα αργότερα από τη διακοπή της άσκησης και σε χρόνο T<sub>3</sub>, οι τιμές του ΑΟ στην 1<sup>η</sup> ομάδα μειώθηκαν ακόμη περισσότερο και έφτασαν τα 327 ± 27,56μΜ, του δευδροασκορβικού παρέμειναν περίπου ίδιες στα 62,6 ± 5,3μΜ και της β-ΕΡ διαμορφώθηκαν στα 12 ± 2,7fΜ (παρέμειναν σε υψηλά επίπεδα σχέση με την ομάδα ελέγχου). Για την 2<sup>η</sup> ομάδα των αθλητών οι τιμές του ΑΟ επαναπροσέγγισαν την αρχική τους τιμή στα 70,9 ± 3,1μΜ ενώ οι τιμές του δευδροασκορβικού εξακολουθούν να μένουν αυξημένες στα 68 ± 1,9μΜ και της β-ΕΡ μειώνονται στα 8 ± 1fΜ αλλά εξακολουθούν να είναι αυξημένες σε σχέση με τις αρχικές. Για όλες της παραπάνω τιμές το όριο στατιστικής σημαντικότητας ήταν p<0,05.

Τέλος για την 3<sup>η</sup> ομάδα των μη αθλητών, που δεν έλαβαν ΑΟ ούτε ασκήθηκαν, οι τιμές του ΑΟ ήταν σε χρόνο T<sub>0</sub> 84 ± 4,1μΜ, του δευδροασκορβικού 58 ± 6,46μΜ και της β-ΕΡ 6 ± 1,48fΜ. Σε χρόνο T<sub>1</sub> οι τιμές του ΑΟ ήταν περίπου ίδιες με τις αρχικές, και κυμάνθηκαν στα 82 ± 4,2μΜ, του δευδροασκορβικού ήταν στα 59,4 ± 5,08μΜ και της β-ΕΡ στα 7 ± 1,73fΜ. Σε χρόνο T<sub>2</sub> οι τιμές του ΑΟ ήταν στα 80 ± 6,5μΜ, του δευδροασκορβικού στα 60,5 ± 1,8μΜ και της β-ΕΡ στα 5 ± 1fΜ. Τέλος σε χρόνο T<sub>3</sub> οι τιμές του ΑΟ διατηρήθηκαν στα ίδια περίπου επίπεδα 82, ± 3,6μΜ, του δευδροασκορβικού στα 62,6 ± 6,3μΜ και της β-ΕΡ στα 6 ± 1fΜ με p<0,05.

**ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ:** Το ΑΟ και η έντονη άσκηση μπορούν να αυξήσουν, το καθένα από μόνο του αλλά και σε συνδυασμό, την παραγωγή της β-ΕΡ. Η χορήγηση ΑΟ στους αθλητές αυξάνει την απόδοση των αθλητών σε σχέση με το χρόνο της άσκησης και μειώνει το χρόνο αποκατάστασης. Επίσης παρατηρείται μείωση του πόνου που προκαλείται από τη μυϊκή επιβάρυνση.



## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο πόνος είναι μια δυσάρεστη αισθητηριακή και συναισθηματική εμπειρία που σχετίζεται με πραγματική ή δυνητική βλάβη ιστών, ή περιγράφεται με όρους τέτοιας βλάβης (IASP 1979, WHO1986, Merskey, 1994). Ο πόνος συνοδεύεται από ποικίλα υποκειμενικά φαινόμενα που κυμαίνονται μεταξύ της αντίληψης που έχει κάποιος για ένα επιβλαβές ερέθισμα σ' ένα βασανιστικό πόνο ή στον πόνο στο τελικό στάδιο του καρκίνου, ως το θαλαμικό σύνδρομο ή τη νευραλγία του τριδύμου.

Κάθε άτομο μαθαίνει την έννοια του όρου μέσα από εμπειρίες που σχετίζονται με το περιβάλλον, τις αντιλήψεις, τις αξίες, τις κοινωνικό-οικονομικές και πολιτιστικές συνθήκες, τις ψυχολογικές πεποιθήσεις, καθώς και από τα βιώματα που φέρει από την παιδική του ηλικία. Όλα τα παραπάνω μπορεί να τροποποιήσουν και να μεταβάλλουν την αντίληψη του πόνου, με αποτέλεσμα ο ασθενής να περιγράφει ένα συνολικό πόνο με δυναμικό και πολύπλοκο χαρακτήρα.

Οι πρώτοι που προσπάθησαν να ερμηνεύσουν αυτές τις διαφορές στην αντίληψη του πόνου ήταν οι Head και Holms το 1911. Το 1965 οι Melzack και Wall διατύπωσαν την θεωρία «ελέγχου του πόνου» και το 1967 ο Wall έδειξε ότι δομές του εγκεφαλικού στελέχους μπορεί να αναστείλουν τη λειτουργία κυττάρων διαβίβασης ερεθισμάτων πόνου στο νωτιαίο μυελό. Μεταξύ 1969 και 1974 αποδείχθηκε ότι ο ηλεκτρικός ερεθισμός εξειδικευμένων περιοχών στα πειραματόζωα αναστέλλει επιλεκτικά την αίσθηση του πόνου. Το 1982-1986 αποδείχθηκε ότι συμβαίνει το ίδιο και στον άνθρωπο. Αργότερα, στη δεκαετία του 80 ανακαλύφθηκε πρώτα το ενδογενές οπιοειδές και μετά το καναβινοειδές σύστημα ελέγχου του πόνου (Atweh, 1983).

Για μια επιτυχή αντιμετώπιση του πόνου απαραίτητη είναι η θεώρησή του σαν ένα ενιαίο σύνολο, που απεικονίζει την αλληλεπίδραση μεταξύ του πόνου και των παραγόντων που επηρεάζουν τον ασθενή. Σήμερα, η ανακούφιση του πόνου επιτυγχάνεται σύμφωνα με την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (ΠΟΥ) με παρακεταμόλη, με στεροειδείς αντιφλεγμονώδεις ουσίες, με ήπια, μέτρια, ή ισχυρά οπιοειδή αναλγητικά, όπως και με συμπληρωματικά φάρμακα (αντικαταθλιπτικά, αντιεπιληπτικά, κορτικοστεροειδή, μυοχαλαρωτικά, σπασμολυτικά, ηρεμιστικά, αγγειορυθμιστικά κ.α.). Εφαρμόζονται επίσης διάφορες τεχνικές, όπως

επισκληρίδιο ή υπαραχνοειδής έγχυση τοπικών αναισθητικών ή οπιοειδών, αποκλεισμοί νέρων, προσπελάσεις νευρικών πλεγμάτων και άλλα.

Τα τελευταία χρόνια έχει αποδειχθεί ότι το Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ) επεμβαίνει ενεργά στη ρύθμιση του επιπέδου και της ποιότητας του πόνου, μέσω της παραγωγής ουσιών, των ενδογενών οπιούχων και των ενδογενών καναβινοειδών.

Στην οικογένεια των ενδογενών οπιοειδών ανήκουν η εγκεφαλίνη, η ενδορφίνη και η δυνορφίνη. Οι ενδορφίνες είναι ουσίες, που παράγονται από το ΚΝΣ για την ενδογενή αντιμετώπιση επώδυνων καταστάσεων. Τα ενδογενή αυτά πεπτίδια εκτός από την αναλγητική δράση που έχουν, μειώνουν το στρες, προκαλούν αίσθημα ηρεμίας, ευφορίας, καλής διάθεσης και ευτυχίας. Θα μπορούσαμε λοιπόν να τις χαρακτηρίσουμε ως τα φυσικά ναρκωτικά του σώματός μας (pain killers) ή φάρμακα «καλής διάθεσης» (feel-good). Η σύγχρονη έρευνα ελπίζει να τις αξιοποιήσει, μιας και είναι ένας φυσικός αντικαταστάτης της μορφίνης, ο οποίος δεν εθίζει (δεν προκαλεί εξάρτηση), όπως η μορφίνη. Η εξέλιξη της επιστήμης μπορεί να μας οδηγήσει, σ' ένα διαφορετικό τρόπο κατανόησης των μηχανισμών και των παραμέτρων που αισθανόμαστε ευτυχία, χαρά και ευδιαθεσία. Ίσως το κλειδί γι' αυτή την ευτυχία να είναι η β-ενδορφίνη.

Επίσης γίνεται μεγάλη προσπάθεια να κατανοηθούν οι τρόποι, με τους οποίους μπορεί κανείς να μεταβάλει τη σύνθεση των ενδορφινών στο ΚΝΣ του ανθρώπου, όπως και να προσδιοριστούν τα μέσα με τα οποία μπορεί να επηρεαστεί ο ρυθμός αυτών των συνθέσεων, με σκοπό την παροχή βοήθειας σε ανθρώπους που υποφέρουν από διάφορους πόνους, τόσο στο φυσικό όσο και στο ψυχικό επίπεδο.

Η παρούσα εργασία ασχολείται με τα ενδογενή οπιούχα πεπτίδια, και πιο συγκεκριμένα μ' ένα απ' αυτά, τη β-ενδορφίνη καθώς επίσης και με τον μηχανισμό δράσης του ασκορβικού οξέος, σε σχέση με τη β-ενδορφίνη σαν επιβοηθητικό παράγοντα στο σύστημα αναλγησίας. Ακολουθεί μια ανασκόπηση της διεθνούς και ελληνικής βιβλιογραφίας, που αναφέρεται στις δύο βασικές παραμέτρους αυτής της εργασίας, τη β-ενδορφίνη και το ασκορβικό οξύ, αφού πρώτα γίνει μια μικρή αναφορά στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα και στον πόνο.

## ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ

### ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΤΟΥ ΠΟΝΟΥ

Μεταξύ του σημείου της ιστικής βλάβης και της αντίληψης του πόνου παρεμβάλλεται μια σειρά ηλεκτροχημικών φαινομένων, γνωστών ως απάντηση στο βλαπτικό ερέθισμα. Η διαδικασία αυτή της πρόκλησης και της αντίληψης του πόνου καλείται αλγαισθησία. Είναι μια πολύπλοκη και πολυεπίπεδη αλληλεπίδραση δομών του περιφερικού και του ΚΝΣ, που εκτείνεται από το δέρμα, τα σπλάχνα και τους μυοσκελετικούς ιστούς ως τον εγκεφαλικό φλοιό (Riedel, 2001).

Η αλγαισθησία περιλαμβάνει τέσσερις φυσιολογικές λειτουργίες: α) τη μετατροπή (transduction), β) τη μεταβίβαση (transmission), γ) την τροποποίηση (modulation) και δ) την αντίληψη του ερεθίσματος (perception) (Ferrant, 1996).

Τα επώδυνα ερεθίσματα (μηχανικά, θερμικά, χημικά, και άλλα) διεγείρουν ειδικούς υποδοχείς, τους αλγοϋποδοχείς. Οι υποδοχείς αυτοί όχι μόνο δεν εξοικειώνονται στο ερέθισμα, όπως οι άλλοι αισθητικοί υποδοχείς αλλά είναι δυνατόν, όταν το ερέθισμα δρα για μεγάλο χρονικό διάστημα, να εμφανίσουν το φαινόμενο της υπεραλγησίας. Οι υποδοχείς του δέρματος ονομάζονται μηχανικοί υποδοχείς και διεγείρονται με την εφαρμογή πίεσης, νύγματος ή υψηλής θερμοκρασίας.

Ο σωματικός πόνος άγεται με αδ και c ίνες ενώ ο σπλαχνικός άγεται κυρίως με c και λίγες αδ. Οι c ίνες μεταφέρουν μηχανικά, θερμικά και χημικά υψηλής έντασης ερεθίσματα και διεγείρονται από ουσίες που παράγονται κατά την καταστροφή των ιστών, όπως η ισταμίνη. Οι αδ ίνες μεταφέρουν τον οξύ πόνο και διεγείρονται από μηχανικά κυρίως ερεθίσματα. Οι ίνες αδ και c εισέρχονται στη φαιά ουσία των οπίσθιων κεράτων του νωτιαίου μυελού και στη συνέχεια συνάπτονται διαμέσω της ανιούσης οδού με τη νωτιαιοθλαμική οδό.

Οι νευρικές ώσεις προάγονται με τους πρωτογενείς αισθητικούς νευρώνες στο νωτιαίο μυελό ή σε πυρήνες κρανιακών νεύρων (τρίδυμο, γέφυρα). Η επεξεργασία του σήματος γίνεται στο νωτιαίο μυελό, που λειτουργεί ως δυναμικό φίλτρο, επεξεργαστής και κατανεμητής των αισθητικών πληροφοριών ή στο στέλεχος του εγκεφάλου, πριν από τη μεταβίβαση σε υπερ-νωτιαίες δομές. Μετά από περαιτέρω

επεξεργασία σε υπερ-νωτιαίες δομές η πληροφορία προκαλεί συνειδητή αντίληψη του πόνου. Το αίσθημα του πόνου μέσω των θαλαμοφλοιωδών συνδέσεων γίνεται αντιληπτό στο φλοιό του εγκεφάλου, σε περιοχές που έχουν σχέση με τη συνείδηση. Αυτό είναι το τέλος μιας εξαιρετικά πολύπλοκης διαδρομής, που αρχίζει από τους περιφερικούς αλγοϋποδοχείς, διατρέχοντας τους νευράξονες των περιφερικών νεύρων, καταλήγει στο νωτιαίο μυελό και δια του μεσεγκεφάλου φτάνει στο θάλαμο και στη συνέχεια στο φλοιό. Το σήμα που μπορεί να ερμηνευτεί σαν πόνος είναι δυνατό να παραχθεί σε κάθε σημείο αυτής της διαδρομής. Καθένα από τα αναφερόμενα επίπεδα του ΚΝΣ διαθέτει τροποποιητικούς μηχανισμούς (Riedel, 2001).

## ΕΝΔΟΓΕΝΕΣ ΟΠΙΟΕΙΔΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ ΕΛΕΓΧΟΥ

Το ΚΝΣ διαθέτει μηχανισμό αναστολής του πόνου (αναλγησία). Το σύστημα αναλγησίας ξεκινάει από το φλοιό και στη συνέχεια απαρτίζεται από τρία κύρια τμήματα: τη φαιά ουσία γύρω από τον υδραγωγό του Sylvius στο μεσεγκέφαλο, την πρόσθια (άνω) γέφυρα, το μεγάλο πυρήνα της ραφής. Και από εκεί με τις πλαγιοπίσθιες δέσμες του νωτιαίου μυελού, καταλήγει στα οπίσθια κέρατα του νωτιαίου μυελού. Η διαδικασία της αγωγής και αναστολής του ερεθίσματος του πόνου διεκπεραιώνεται με την απελευθέρωση χημικών ουσιών, των νευροδιαβιβαστών, που είναι χημικοί φορείς σημάτων που ενισχύουν ή καταστέλλουν τον πόνο (Τσολάκη, 1993). Διεγερτικοί νευροδιαβιβαστές είναι τα πεπτίδια (η ουσία P, το πεπτίδιο που σχετίζεται με το γονίδιο της καλσιτονίνης, το αγγειοδραστικό εντερικό πεπτίδιο και η νευροκίνη Α), οι πουρίνες και τα αμινοξέα (γλουταμινικό και ασπαρτικό) (Dickenson, 1996 και Τσολάκη, 1994). Η έκλυσή τους προκαλείται από τον ερεθισμό των αδ και c ινών και έχει σαν αποτέλεσμα την ενίσχυση των βλαπτικών ερεθισμάτων. Η διαδικασία αυτή καλείται ευαισθητοποίηση (Peternsen, 2000). Η ευαισθητοποίηση οδηγεί σε υπεραλγησία, αλλοδυνία και αυτόματο πόνο (Waterman, 1999). Ανασταλτικοί νευροδιαβιβαστές είναι η σεροτονίνη, η νορεπινεφρίνη, το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA), η ακετυλοχολίνη κ.α. που ενισχύουν τις κατιούσες ανασταλτικές οδούς του πόνου. Τέτοιοι υποδοχείς έχουν βρεθεί στο οπίσθιο κέρατο του νωτιαίου μυελού (Τσολάκη, 1994).

Υπάρχουν επίσης και ποικίλοι ενδογενείς μηχανισμοί ( τμηματικοί, νωτιαίοι και υπερνωτιαίοι) για την αναστολή της μεταβίβασης των αλγαισθητικών σημάτων και την εγκατάσταση της ευαισθητοποίησης τόσο στο νωτιαίο μυελό με την ενεργοποίηση ενδιάμεσων νευρώνων όσο και στο στέλεχος με την ενεργοποίηση κατιούσων οδών. Η ενδογενής αναλγησία διεκπεραιώνεται και με τη μεσολάβηση ενδογενών διαβιβαστικών συστημάτων (οπιοειδές, σεροτονινεργικό, αδρενεργικό, χολινεργικό) και δεν περιορίζεται μόνο στο ΚΝΣ (Waterman, 1999 και Schmitt, 2003).

## ΕΝΔΟΓΕΝΕΙΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΑΛΓΗΣΙΑΣ

Υπάρχουν σήμερα αρκετές νευροχημικές ενδείξεις, που υποστηρίζουν την ύπαρξη ενδογενούς οπιοειδούς συστήματος. Μια απ' αυτές υποστηρίζει ότι υπάρχει συσχέτιση των ειδικών υποδοχέων των οπιοειδών με συγκεκριμένες περιοχές του εγκεφάλου που σχετίζονται με τον πόνο (Lord, 1977).

**A) Υποδοχείς οπιοειδών.** Είναι ειδικοί υποδοχείς οπιοειδών που σχετίζονται με τον πόνο. Σήμερα, έχουν απομονωθεί τρεις τουλάχιστον σημαντικές βιολογικές θέσεις που χαρακτηρίζουν τα τρία βασικά είδη των υποδοχέων των οπιοειδών, οι υποδοχείς  $\mu$ , οι υποδοχείς  $\delta$  και οι υποδοχείς  $\kappa$ . Η σύνδεση των οπιοειδών αναλγητικών με τους  $\mu$ -υποδοχείς προκαλεί ισχυρή αναλγησία, όπως έχει αποδειχθεί από τα συνθετικά οπιοειδή (μορφίνη), που συνδέονται εκλεκτικά μ' αυτούς ενώ δεν εμφανίζουν καθόλου συνάφεια με τους  $\delta$  υποδοχείς (Atwech, 1983 και Smith, 2003). Ανάλογα με τις ουσίες που δεσμεύονται στους υποδοχείς, αυτοί υποδιαιρούνται σε επιπλέον κατηγορίες: οι  $\mu$ - σε  $\mu_1, \mu_2, \mu_3$ , οι  $\kappa$ - σε  $\kappa_1, \kappa_2, \kappa_3$  και οι  $\delta$ - σε  $\delta_1, \delta_2$  (Lascelles, 2000 και Pascoe, 2000). Η  $\beta$ -ενδορφίνη παρουσιάζει μεγαλύτερη σχέση με τους  $\mu_1$  οπιούχους υποδοχείς, όπου δρουν και τα οπιοειδή, μικρότερη με τους  $\mu_2$  και τους  $\delta$ - και ακόμη πιο μικρή σχέση με τους  $\kappa$ -. Στους  $\kappa$ -υποδοχείς πιστεύεται ότι δρα η δυνορφίνη.

Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι οι υποδοχείς οπιοειδών μπορεί να αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και μάλιστα ανά ζεύγη. Δηλαδή οι  $\mu$ - με τους  $\delta$ -, οι  $\delta$ - με τους  $\kappa$ - καθώς και οι  $\mu$ - με τους  $\mu$ -, οι  $\delta$ - με τους  $\delta$ - και οι  $\kappa$ - υποδοχείς με τους  $\kappa$ - (Smith, 2003).

Στη βιβλιογραφία αναφέρεται επίσης και ένας τέταρτος υποδοχέας  $\sigma$ -, ο οποίος υποδιαιρείται και αυτός σε δύο υποομάδες, την  $\sigma_1$  και  $\sigma_2$ . Ο τελευταίος υποδοχέας που ανακαλύφθηκε είναι ο  $\epsilon$ -, ο οποίος αποτελεί ακόμη ένα αίνιγμα για τους επιστήμονες. Σ' αυτόν τον υποδοχέα πιστεύεται ότι δρα η  $\beta$ -ενδορφίνη (Tseng, 2001). Πολλές φορές η  $\beta$ -ενδορφίνη φαίνεται ότι έχει αγωνιστική δραστηριότητα σε οπιούχους υποδοχείς, που δε μοιάζουν με τους υποδοχείς της μορφίνης και αυτή τη δραστηριότητα ανταγωνίζονται οι  $\kappa$  αγωνιστές (Wuster, 1989).

Οι υποδοχείς των οπιοειδών ανευρίσκονται σε διάφορες περιοχές του ΚΝΣ και του ΠΝΣ, με αποτέλεσμα τα ενδογενή οπιοειδή να συνδέονται μ' αυτούς και να συμβάλλουν στην εκδήλωση της αναλγησίας. Πιο συγκεκριμένα οι υποδοχείς αυτοί

σχετίζονται με σημεία της αισθητικής οδού του πόνου, όπως είναι το δρεπανοειδές σύστημα και οι νωτιαιοδουκτιακές οδοί (φαιά ουσία περί τον υδραγωγό του Sylvius, μέσοι πυρήνες οπτικού θαλάμου και υποθάλαμου), η πηκτωματώδης ουσία του νωτιαίου μυελού και του νωτιαίου πυρήνα του τρίδυμου, ο πυρήνας της μονήρους δεσμίδας και ο πυρήνας του πνευμονογαστρικού νεύρου. Η μεγαλύτερη πυκνότητα υποδοχέων έχει ανιχνευθεί στην αμυγδαλή και ακολουθούν η φαιά ουσία περί τον υδραγωγό του Sylvius, ο υποθάλαμος και ο μέσος οπτικός θάλαμος (Atwech, 1983 και Smith, 2003). Είναι γνωστό βέβαια, ότι δεν υπάρχει ποσοτική αναλογική συσχέτιση μεταξύ των συγκεντρώσεων των οπιοειδών στις διάφορες περιοχές του ΚΝΣ και των ανάλογων υποδοχέων τους. Ωστόσο είναι γενικά αποδεχτό ότι στο φλοιό και στον κερκοφόρο πυρήνα υπάρχουν υψηλές συγκεντρώσεις υποδοχέων και χαμηλές συγκεντρώσεις οπιοειδών. Αντίθετα, στην ωχρά σφαίρα παρατηρήθηκαν υψηλές συγκεντρώσεις εγκεφαλίνης αλλά μικρός αριθμός δ-υποδοχέων. Στον υποθάλαμο ωστόσο βρέθηκαν υψηλές συγκεντρώσεις και κ-υποδοχέων και δυνορφίνης. (Siegel, 1994 και Τσολάκη, 1994). Στην περί τον υδραγωγό φαιά ουσία βρέθηκε ότι υπάρχουν μ-, δ- και κ- υποδοχείς. Η δυνορφίνη εκτιμάται ότι προτιμά τους κ υποδοχείς. Σήμερα είναι γνωστό ότι οι αγωνιστές των κ-υποδοχέων προκαλούν αναλγησία (Hassan, 1992).

Υπάρχουν ακόμη πολλά ερωτήματα που απαιτούν διευκρίνιση γύρω από τις δράσεις των υποδοχέων και των ενδογενών οπιοειδών.

**B) Ενδογενή οπιοειδή.** Ασκούν τις δράσεις τους με δύο πιθανούς τρόπους είτε αποτελώντας τις κύριες νευροδιαβαστικές ουσίες είτε μέσω των υποδοχέων τους, αναστέλλοντας ανασταλτικούς ενδιάμεσους νευρώνες του συστήματος αναλγησίας, με αποτέλεσμα την τροποποίηση του πόνου. Υπάρχουν τρεις οικογένειες ενδογενών οπιοειδών, οι εγκεφαλίνες, οι ενδορφίνες και οι δυνορφίνες.

Τα πρώτα ενδογενή οπιοειδή απομονώθηκαν από τους Hughes και Kosterlitz το 1975, από τον εγκέφαλο χοίρων και ήταν πενταπεπτίδια λευκίνης-εγκεφαλίνης και μεθειονίνης-εγκεφαλίνης. Ονομάστηκαν εγκεφαλίνες από την ελληνική λέξη εγκέφαλος. Λίγο αργότερα διακρίθηκε από τα παραπάνω πεπτίδια η β-ενδορφίνη από τους Simantoy και Snyder σε πειράματα που διεξήχθησαν σε εγκέφαλο μύσων. Το όνομά της δόθηκε από τη σύντμηση των λέξεων ενδογενής μορφίνη. Η δυνορφίνη είναι το τελευταίο οπιοειδές πεπτίδιο που ανακαλύφθηκε (Raffin, 1994 και Kjaer 1996).

Τα ενδογενή οπιοειδή είναι πεπτίδια με δραστηριότητα παρόμοια με αυτή της μορφίνης. Σχηματίζονται από τα νευρικά κύτταρα των πολυαριθμών τμημάτων του ΚΝΣ και του γαστρεντερικού σωλήνα. Είναι γνωστό ότι τα ενδογενή οπιοειδή (κυρίως η β-ενδορφίνη) απελευθερώνονται κατά τη διάρκεια ενός στρεσογόνου ερεθίσματος και αντιδρούν με τους περιφερικούς υποδοχείς των οπιοειδών με σκοπό να αναστείλουν τον πόνο στις φλεγμονές επιμύων πειραματικά. Τα πεπτίδια αυτά διεγείρουν τη λειτουργία του ΣΝΣ, επηρεάζουν την έκκριση μερικών ορμονών και μειώνουν την ευαισθησία στον πόνο. Συμβάλουν επίσης στον έλεγχο της θερμοκρασίας, στην ανάπτυξη ανοχής στη φυσική εξάρτηση (σε αντίθεση με τα οπιοειδή), καθώς επίσης συμμετέχουν στη λειτουργία του καρδιαγγειακού και του ουροποιητικού συστήματος. Παίζουν επίσης κάποιο ρόλο στην αποθήκευση της μνήμης και της ανάκλησης και τροποποιούν την ενδοκρινική λειτουργία αυξάνοντας την απελευθέρωση της αυξητικής ορμόνης (GH), της αδρενοκορτικοτρόπου (ACTH), της προλακτίνης (PRL) και της αντιδιουρητικής ορμόνης (ADH) ελαττώνοντας τα επίπεδα της θυρεοτροπίνης (TSH), της ωχρινοτρόπου (LH) και της ωοθυλακιοτρόπου (FSH) ορμόνης. Φαίνεται επίσης ότι έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν την απελευθέρωση ορισμένων νευροπεπτιδίων και νευροδιαβιβαστών αμινικού τύπου όπως η επινεφρίνη, η ντοπαμίνη, η ακετυλοχολίνη και η ουσία P (Siegel, 1994 και Τσολάκη, 1994).

Η β-ενδορφίνη θεωρείται πεπτίδιο που συμμετέχει στο κατιόν σύστημα ελέγχου του πόνου επηρεάζοντας τη δραστηριότητα των νευρώνων των οπίσθιων κεράτων του νωτιαίου μυελού. Οι ενδορφίνες ενισχύουν το ανοσοποιητικό σύστημα σε καταστάσεις stress και βοηθούν στην καλύτερη κυκλοφορία του αίματος. Επίσης έχουν αντιγηραντική δράση, διατηρώντας τα εγκεφαλικά κύτταρα νέα και υγιή.

Στην ίδια οικογένεια των ενδογενών οπιοειδών συμμετέχουν η μεθειονίνη-εγκεφαλίνη και η λευκίνη-εγκεφαλίνη (Akil, 1984). Οι εγκεφαλίνες αυτές ανευρίσκονται στους νευράξονες αρκετών νευρικών κυττάρων και παράγονται από ένα πρόδρομο μόριο την προεγκεφαλίνη. Από ένα μόριο προεγκεφαλίνης παράγεται ένα μόριο λευκίνης εγκεφαλίνης και πολλά μόρια μεθειονίνης-εγκεφαλίνης (Akil, 1984). Ανιχνεύονται σε πολλά νευρωνικά συστήματα από τον φλοιό μέχρι και τον νωτιαίο μυελό. Δημιουργούν τοπικά κυκλώματα σε περιοχές που βρίσκονται μακριά από τα κυτταρικά σώματα που τις παράγουν. Η λευκίνη-εγκεφαλίνη ανιχνεύεται σε μικρότερες ποσότητες συγκριτικά με την μεθειονίνη-εγκεφαλίνη (Light, 1992). Η κατανομή των νευρώνων που είναι θετικοί για την



ανοσοδραστική εγκεφαλίνη είναι ίδια με αυτή της ουσίας P, της χολεκυστοκινίνης, της νευροτενσίνης ορμόνης που διεγείρει τα μελανοκύτταρα και το παγκρεατικό πολυπεπτίδιο στον πυρήνα της μονήρους δεσμίδας (Light, 1992).

Ανοσοδραστική εγκεφαλίνη εντοπίστηκε επίσης μαζί με νορεπινεφρίνη και ακετυλοχολινεστεράση και στον πλάγιο δικτυωτό πυρήνα. Από πειράματα με μικροεγχύσεις αγωνιστών χολινεργικών (καβραχόλης) και οπιοειδών (μορφίνης), στον πλάγιο δικτυωτό πυρήνα φαίνεται ότι και το χολινεργικό και το οπιοειδές σύστημα συμμετέχουν στη ρύθμιση του πόνου (Light 1992).

Η δυνορφίνη (A και B) προέρχεται από την πρόδρομη ουσία προ-νέο-ενδορφιν-δυνορφίνη ή προδυνορφίνη. Η ουσία αυτή βρίσκεται διάσπαρτη σε όλο σχεδόν τον εγκέφαλο και το νωτιαίο σωλήνα όπως επίσης και στη μέλαινα ουσία του Sömmerring και στα οπίσθια κέρατα του νωτιαίου μυελού. Μεγάλες συγκεντρώσεις επίσης παρατηρήθηκαν στον αμυγδαλοειδή πυρήνα, στο διάφραγμα, στο νωτιαίο μυελό, στο μεσεγκέφαλο και στο ραβδωτό σώμα. Μικρότερες συγκεντρώσεις ανιχνεύθηκαν στον υπόκαμπο, στο θάλαμο, στη γέφυρα και πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις στο φλοιό και στην παρεγκεφαλίδα (Light, 1992). Ο αριθμός των θετικών νευρώνων για δυνορφίνη είναι μικρότερος από τον αριθμό των νευρώνων για εγκεφαλίνη.

Η β-ενδορφίνη παράγεται από μια πρόδρομη ουσία, την προοπιομελανικοκορτίνη (POMC), ένα προϊόν του υποθαλάμου, από την οποία παράγονται επίσης η ACTH και η μελανοτροπική ορμόνη (MSH). Από κάθε μόριο της POMC παράγεται μόνον ένα μόριο β-EP. Οι μεγαλύτερες ποσότητες β-EP παράγονται στον πρόσθιο και διάμεσο λοβό της υπόφυσης, στον οποίο αν και οι ποσότητες της β-ενδορφίνης είναι περισσότερες εντούτοις το μεγαλύτερο μέρος τους ακετυλιώνεται και χάνει την αναλγητική του δράση.

Μεγάλες συγκεντρώσεις της β-ενδορφίνης βρίσκονται στον τοξοειδή πυρήνα του μέσου βασικού υποθαλάμου και στον πυρήνα της μονήρους δεσμίδας που βρίσκεται στον προμήκη. Από τον τοξοειδή πυρήνα προβάλλουν ίνες που περιέχουν β-ενδορφίνη στην προοπτική περιοχή, γύρω από τον πρόσθιο σύνδεσμο, στην περί τον υδραγωγό φαιά ουσία. Δομές της μέσης γραμμής που περιέχουν β-ενδορφίνη είναι ο πρόσθιος περικοιλιακός πυρήνας και ο υπομέλας τόπος. Ίνες που ξεκινούν από την μονήρη δεσμίδα καταλήγουν στο δικτυωτό σχηματισμό της γέφυρας και από εκεί φτάνουν στο μεγάλο πυρήνα της ραφής, στο

γιγαντοκυτταρικό δικτυωτό πυρήνα, στον παραγιγαντοκυτταρικό πυρήνα και στον πλάγιο δικτυωτό πυρήνα (Siegel, 1994, Τσολάκη, 1994).

Μεγάλες ποσότητες β-ενδορφίνης και μετεγκεφαλίνης ανιχνεύονται στα T- και B- λεμφοκύτταρα, στα μονοκύτταρα και στα μακροφάγα, που ανευρίσκονται σε φλεγμονώδεις ιστούς (Przewlocki, 1992). Ακόμη διαπιστώθηκε η παρουσία προπιομελανοκορτινής και προεγκαφαλίνης στις ίδιες περιοχές, πράγμα που δείχνει ότι τα οπιοειδή πεπτίδια συντίθενται μέσα σ' αυτά τα κύτταρα (Stein, 1993).

Η β-ενδορφίνη και από μόνη της είναι ένας ισχυρός εκλυτικός παράγοντας για την έκκριση της αυξητικής ορμόνης, της προλακτίνης και της αγγειοτονίνης ενώ ταυτόχρονα έχει σημαντικό θερμορυθμιστικό ρόλο.

Τέσσερις ευδιάκριτες ενδορφίνες έχουν προσδιοριστεί μέχρι σήμερα. Αυτές είναι τα πολυπεπτίδια: α- ενδορφίνη με 16 αμινοξέα, β- ενδορφίνη με 31 αμινοξέα, γ- ενδορφίνη με 17 αμινοξέα και δ- ενδορφίνη με 27 αμινοξέα.

Η ακολουθία των αμινοξέων της β-ενδορφίνης είναι: Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gly-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-Lys-Asn-Ala-Ile-Ile-Lys-Asn-Ala-Tyr-Lys-Lys-Gly-gluOH (Fries, 2002).

## ΕΝΕΡΓΕΙΑ ΚΑΙ ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΕΝΔΟΡΦΙΝΩΝ

Η αντίληψη του πόνου και η ευχαρίστηση, κατανοείται από τον εγκέφαλο μέσω της μετάδοσης των νευρικών διεγέρσεων. Οι νευρικές διεγέρσεις μεταδίδονται από χημικούς αγγελιοφόρους γνωστούς σαν νευρομεταβιβαστές. Οι ενδορφίνες συμπεριλαμβάνονται σε μία νέα σχετικά οικογένεια χημικών ουσιών του εγκεφάλου, τα νευροπεπτίδια (Evans, 1997).

Τα νευροπεπτίδια είναι αλυσίδες αμινοξέων με διακύμανση στο μήκος τους, που λειτουργούν κυρίως σα χημικοί αγγελιοφόροι, λίγο διαφορετικοί από τους νευρομεταβιβαστές (neurotransmitters), και ονομάζονται νευροδιαμορφωτές (neuromodulators) (Kandel, 1985). Οι νευροδιαμορφωτές παρουσιάζουν ένα μεγάλο αριθμό ρόλων, οι οποίοι συνδέονται με ειδικές λειτουργίες όπως του πόνου και της ευχαρίστησης (Iverson, 1979). Ο καταβολισμός (ενζυματική διάσπαση) των μορίων ενδορφίνης από τις πεπτιδάσες φαίνεται πως είναι ο κύριος μηχανισμός αδρανοποίησης των νευροπεπτιδίων (Evans, 1997).

Οι νευρώνες, που περιέχουν υψηλή συγκέντρωση ενδορφινών σε περιοχές του εγκεφάλου και του νωτιαίου μυελού, εμπλέκονται στην αντίληψη και στην ολοκλήρωση του πόνου και της συναισθηματικής εμπειρίας. Η ύπαρξη υποδοχέων οπιοειδών στους πλησίον νευρώνες επιτρέπει στις ενδορφίνες να εκπληρώνουν τη λειτουργία τους σε σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις.

Η κύρια δράση των ενδορφινών, όπως προαναφέρθηκε, είναι ο έλεγχος του πόνου, που επιτελείται με τον παρακάτω μηχανισμό. Οι περιφερικοί υποδοχείς του πόνου στο δέρμα ή και αλλού, παράγουν νευρικές διεγέρσεις οι οποίες διατρέχουν μια ανοδική κεντρομόλο οδό από το νωτιαίο μυελό προς το θάλαμο και μετά προς τους αισθητικούς και κινητικούς φλοιούς (Hopson, 1990). Οι υποδοχείς του πόνου προωθούν τα αλγογόνα ερεθίσματα με την απελευθέρωση από τους διεγερμένους νευρώνες, ενός μεταβιβαστή που ονομάζεται ουσία P, η οποία διεγείρει άλλους νευρώνες στα ραχιαία κέρατα στον νωτιαίο μυελό. Οι διαβιβαστές αυτοί των νευρώνων που περιέχουν την ουσία P, τη διαχέουν διά του συναπτικού υγρού που υπάρχει μεταξύ των νευρώνων και η ουσία P προσδένεται στις θέσεις των ειδικών υποδοχέων στη μετασυναπτική μεμβράνη και στις δύο πλευρές του νωτιαίου σωλήνα. Οι νευρώνες που είναι ευαίσθητοι στην ουσία P, στέλνουν εν συνεχεία το αλγογόνο μήνυμα στον εγκέφαλο (Iverson, 1979).

Οι νευρώνες που περιέχουν ενδορφίνη εκκρίνουν και εγκεφαλίνη. Το μόριο της ενδορφίνης εκκρίνεται από τα τελικά κομμάτια του προσυναπτικού νευράξονα και διέρχεται γρήγορα κατά μήκος της συναπτικής σχισμής προς τη μεμβράνη του μετασυναπτικού νευρώνα. Εκεί η ενδορφίνη αλληλεπιδρά με τις θέσεις του ειδικού υποδοχέα σε ένα παρακείμενο νευρώνα προκαλώντας αναστολή. Οι εγκεφαλίνες εκκρινόμενες από τους νευρώνες που περιέχουν ενδορφίνη, αναστέλλουν την έκκριση της ουσίας P από τη σύναψη με αποτέλεσμα ο μετασυναπτικός νευρώνας υποδοχής στο νωτιαίο μυελό να διεγείρεται πολύ ασθενικά και έτσι να στέλνει λιγότερες ώσεις πόνου προς τον εγκέφαλο (Iverson, 1979).

Οι ενδορφίνες, όπως έχει τονιστεί και πιο πάνω, απελευθερώνονται στο ανθρώπινο σώμα κατά τη διάρκεια ψυχοσωματικού στρες ή πόνου. Η έκκριση των ενδορφινών στο σύστημα σε τέτοιες καταστάσεις γίνεται συχνά αισθητή ως ζάλη ή «νευρική» αίσθηση στο στομάχι. Εν τούτοις το ποσό της ενδορφίνης που απελευθερώνεται από άτομο σε άτομο ποικίλει έτσι ώστε ένα ερέθισμα που υποκινεί μια σημαντική έκκριση σε ένα άτομο να μην κάνει απαραίτητα το ίδιο και σε κάποιο άλλο.

Εκτός από τον πόνο και το στρες, έκκριση ενδορφίνης μπορεί να προκαλέσουν και διάφορα είδη τροφών όπως π.χ. η σοκολάτα (Groopman, 2004). Ακόμη, τα τελευταία χρόνια ορισμένα είδη σωματικής δραστηριότητας έχουν συνδεθεί άμεσα με την έκκριση ενδορφινών, (φυσικοθεραπεία, αθλητισμός, βελονισμός κ.α.). Μια πιο ασυνήθιστη δραστηριότητα που θεωρείται ότι είναι σε θέση να υποκινήσει την έκκριση ενδορφίνης στο σώμα είναι το γέλιο. Διάφορες μελέτες αναφέρουν μια ισχυρή συσχέτιση μεταξύ χρόνιου πόνου και της ανεπάρκειας ενδορφίνης όπου τα επίπεδα ενδορφίνης είναι χαμηλά (Groopman, 2004).

Οι νευροορμόνες εκτός από την αναστολή της αντίληψης του πόνου δρουν έμμεσα με το να αυξάνουν τη ροή αίματος στους ιστούς ή τις περιοχές που πονούν έτσι ώστε να αυξηθεί η παροχή θρεπτικών ουσιών και οξυγόνου στις προβληματικές περιοχές. Οι φυσιολογικές δράσεις της ενδορφίνης παρουσιάζουν ένα μεγάλο εύρος που εκτείνεται από τη θερμορύθμιση μέχρι και την αίσθηση ευεξίας (Tsolaki, 1994).

Γενικά οι ενδορφίνες ανευρίσκονται σε ένα πλήθος ιστών και οργάνων μεταξύ των οποίων η καρδιά και τα γάγγλια του Αυτόνομου Νευρικού Συστήματος (ΑΝΣ), ενώ οι υποδοχείς τους απαντώνται και στα αγγεία της συστηματικής κυκλοφορίας καθώς και στα στεφανιαία αγγεία. Πιστεύεται ακόμη ότι τα ενδογενή οπιοειδή

μπορεί να επηρεάσουν την καρδιακή συχνότητα με κεντρικούς μηχανισμούς που αφορούν στη διέγερση του ΠΝΣ και στην αναστολή του ΣΝΣ (Tsolaki,1994). Η δράση των ενδογενών οπιοειδών στο καρδιαγγειακό σύστημα εξαρτάται τόσο από τη συγκέντρωσή τους όσο και από τον τύπο τους. Σε μικρές φυσιολογικές συγκεντρώσεις φαίνεται ότι ασκούν στο μυοκάρδιο θετική ινότροπη δράση, ενώ σε φαρμακολογικές αρνητική. Στα αγγεία η δράση τους θεωρείται αγγειοσυσπαστική, ενώ η καρδιακή συχνότητα μπορεί να μειωθεί μέσω πνευμονογαστρικών αντανακλαστικών.

Από μια παράλληλη αναζήτηση στη βιβλιογραφία, των ενδογενών οπιοειδών και των οπιούχων οπιοειδών, προκύπτει μια πολύ στενή συσχέτιση. Ειδικότερα το όπιο είναι ένας γαλακτώδης χυμός, ο οποίος παράγεται από τον ανώριμο καρπό παπαρούνας του είδους *Papaver Somniferum* (Μήκων ή Υπνοφόρος) και χρησιμοποιείται εδώ και 5000 χρόνια περίπου. Η ονομασία του οπίου προέρχεται από την αρχαιοελληνική λέξη οπός (χυμός). Από το όπιο προέρχονται όλα τα εξωγενή (φυσικά και συνθετικά) οπιούχα. Η πρώτη αναφορά στις ιδιότητες του οπίου έγινε από το Θεόφραστο το 300 πΧ, ο οποίος το ονόμαζε μηκόνειο. Αργότερα ο Παράκελσος εισήγαγε το βάμμα του οπίου (λάβδανο) σχεδόν για όλα τα είδη ιατρικών προβλημάτων. Το 1803 ο Serturmer απομόνωσε από το όπιο ένα αλκαλοειδές, που το ονόμασε μορφίνη από τον Μορφέα, τον Έλληνα θεό του ύπνου και των ονείρων. Τέλος το 1900 ανακαλύφθηκε η ηρωίνη και στη συνέχεια πολλά από τα συνθετικά οπιούχα (μεπεριδίνη, μεθαδόνη).

Οι ενδορφίνες και οι εγκεφαλίνες είναι χημικές ουσίες οι οποίες εμφανίζουν μια εκπληκτική ομοιότητα συμπεριφοράς με τη μορφίνη. Είναι ενδιαφέρον να σημειώσουμε ότι ο όρος «ενδορφίνη» είναι μια σύντμηση των λέξεων «ενδογενής μορφίνη» (είναι δηλαδή η «μορφίνη», του σώματός μας). Η μορφίνη (ο κύριος εκπρόσωπος των οπιούχων) χρησιμοποιήθηκε τουλάχιστον για τρεις αιώνες στην ανακούφιση του πόνου. Τα οπιούχα μιμούνται τις δράσεις των ενδορφινών με τη σύνδεσή τους στους ίδιους υποδοχείς οπιοειδών-οπιούχων. Το κύριο πρόβλημα με τη χρήση των οπιούχων (της μορφίνης) είναι οι συνήθεις παρενέργειες τους όπως η καταστολή του αναπνευστικού, η δυσκοιλιότητα και η εξάρτηση, προβλήματα που δεν έχουν μέχρι τώρα σαφώς εμφανισθεί από την πειραματική χρήση ενδογενών οπιοειδών. Και τα οπιούχα και τα ενδογενή οπιοειδή μειώνουν τον πόνο (αναλγησία). Οι ενδορφίνες όμως υπάρχουν φυσιολογικά στον οργανισμό μας ενώ η μορφίνη είναι μια εξωγενής ουσία (φάρμακο).

Οι ενδορφίνες καταστέλλουν τον πόνο και τροποποιούν την ανοσοαπάντηση. Η μορφίνη επίσης επηρεάζει το ανοσοποιητικό σύστημα σε μεγάλο βαθμό. Έχει δειχθεί ότι άνθρωποι οι οποίοι παίρνουν συχνά μορφίνη (καρκινοπαθείς ή χρήστες οπιούχων ) έχουν μεταβαλλόμενες ανοσοποιητικές αντιδράσεις.

Στη συνέχεια επιχειρείται μια αναφορά, που προκύπτει από την ανασκόπηση της τρέχουσας βιβλιογραφίας, σε άρθρα και μελέτες σχετικές με τη δράση της β-ενδορφίνης.

**Ενδορφίνες και καρκίνος.** Υπάρχουν διάφορα άρθρα που αναφέρονται σε μετρήσεις των επιπέδων της β-ενδορφίνης πριν και μετά την ανακούφιση του καρκινικού πόνου. Ο Lopez και συνεργάτες του καθώς και η Μυστακίδου βρήκαν χαμηλά επίπεδα ενδορφίνης στο πλάσμα ασθενών με χαμηλή ανταπόκριση στον πόνο, σε καρκίνο του στήθους, των πνευμόνων και του εντέρου. Μετά την χορήγηση αναλγητικής αγωγής, που δεν περιείχε οπιοειδή, παρατήρησαν αύξηση των επιπέδων της β-ενδορφίνης στο πλάσμα των ασθενών, που υπέφεραν από τα παραπάνω είδη καρκίνου (Lopez, 1985 και Mystakidou, 1999). Αργότερα ο Nabil και οι συνεργάτες του κατέληξαν στα ίδια συμπεράσματα, χορηγώντας όμως στους ασθενείς τους οπιοειδή από το στόμα ή παρεντερικά. Πιο συγκεκριμένα τα επίπεδα της β-ενδορφίνης στο πλάσμα ασθενών με καρκίνο με ποσοστό πόνου υψηλό (7-10 της αναλογικής κλίμακας) ήταν εξαιρετικά μειωμένα μέχρι και ανύπαρκτα. Ενώ μετά την χορήγηση αναλγητικής θεραπείας με μορφίνη και την ελάττωση του πόνου (3-4 της αναλογικής κλίμακας) τα επίπεδα της ενδορφίνης αυξήθηκαν πάρα πολύ (Nabil, 2004).

Στα ίδια συμπεράσματα κατέληξαν και τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων σχετικές με την παρακολούθηση του καρκινικού πόνου σε συσχέτιση με τα επίπεδα της β-ενδορφίνης (Kallistratos, 1992).

**Ενδορφίνες και ημικρανίες.** Αρκετές μελέτες αποδεικνύουν τη σχέση της β-ενδορφίνης και της χρόνιας ημικρανίας. Τα επίπεδα στο πλάσμα της β-ενδορφίνης ήταν σημαντικά ελαττωμένα σε ασθενείς που υπέφεραν από χρόνιες ημικρανίες. Οι ασθενείς αυτοί παρουσίασαν επίσης χαμηλά επίπεδα β-λιποτροπίνης (β-Lipotropin, β-LT) (Ganazzani, 1984) και συνοδεύονταν από μια χαμηλή ικανότητα άμεσης αντίδρασης του ενδορφινικού συστήματος, που μπορεί να οφειλόταν σε έλλειψη

αναλγητικών νευρομεταβιβαστών σε ορισμένες περιοχές του εγκεφάλου (Facchinetti 1981). Ειδικότερα η εξασθένιση της β-ενδορφίνης (β-EP) στον εγκέφαλο και το νωτιαίο μυελό μπορεί να έχει σχέση με την εκδήλωση της νόσου σύμφωνα με τον Facchinetti (Facchinetti, 1981).

Στην ίδια μελέτη αναφέρεται επίσης μείωση της β-ενδορφίνης σε έγκυες γυναίκες που υπέφεραν από πονοκεφάλους κατά το πρώτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης τους. Μετά τον τρίτο μήνα της κύησης και τη μείωση των πονοκεφάλων, παρατηρήθηκε αύξηση στα επίπεδα πλάσματος της β-ενδορφίνης (Facchinetti, 1981).

**Ενδορφίνες και Φυσικοθεραπεία.** Τον μηχανισμό δράσης των ενδογενών οπιοειδών και κυρίως της β-ενδορφίνης εκμεταλλεύεται η Ιατρική και κυρίως η Φυσικοθεραπεία για τον έλεγχο του πόνου. Η ενεργοποίηση του ενδογενούς συστήματος αναστολής του πόνου μπορεί να επιτευχθεί παθητικά και ενεργητικά.

Παθητικά επιτυγχάνεται με περιφερική ή κεντρική διέγερση, ενώ ενεργητικά με τις διάφορες φυσικές ή ψυχικές δραστηριότητες που εφαρμόζονται από την φυσικοθεραπεία. Η διέγερση της έκκρισης της β-ενδορφίνης ως μέσο αναλγησίας χρησιμοποιείται ευρύτατα στην Φυσικοθεραπεία. Είναι γνωστό ότι οι εφαρμογές όπως η ηλεκτροθεραπεία και ο ηλεκτροβελονισμός στηρίζουν το αναλγητικό αποτέλεσμα και αυξάνουν την έκκριση των ενδορφινών.

**Ενδορφίνες και ηλεκτροβελονισμός.** Ο ηλεκτροβελονισμός συχνότητας 2-15 Hz για 30 min προκαλεί σημαντική αύξηση της β-EP. Το αναλγητικό αποτέλεσμα του ηλεκτροβελονισμού, όπως έχει αποδειχθεί σε πειράματα που διεξήχθησαν σε ζώα, στο επίπεδο του νωτιαίου μυελού, επιτυγχάνεται με την έντονη παρουσία τριών νευροδιαβιβαστικών ουσιών, της ενδορφίνης, της δυνορφίνης και του γ-αμινοβουτυρικού οξέος. Η αναλγητική δράση στο επίπεδο του μεσεγκεφάλου, επιτυγχάνεται κυρίως με την εγκεφαλίνη και δευτερευόντως με τις μονοαμίνες σεροτονίνη και νορεπινεφρίνη. Το υποθάλαμο-υποφυσιακό σύστημα ενεργοποιείται και δρα αναλγητικά μέσω της β-EP και της ACTH ορμόνης (Han, 1984a και Han, 1984b και Takesige 1990).

Οι Pomeranz και Stux το 1991 αναφέρουν ότι σε πειραματόζωα, τα επίπεδα β-ενδορφίνης αυξάνουν σημαντικά στο περιφερικό αίμα και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό κατά τη διάρκεια του ηλεκτροβελονισμού, ενώ αντίθετα μειώνονται στο ΚΝΣ.

Η χορήγηση όμως ναλοξόνης καταργεί τα παραπάνω αποτελέσματα, που παράγονται από τη χρήση του ηλεκτροβελονισμού (Pomeranz, 1991).

Οι Peets και Pomeranz και λίγο αργότερα ο Takesige έδειξαν ότι πίθηκοι και επίμυες με γενετική ανεπάρκεια οπιούχων υποδοχέων (μετά από γονιδιακή παρέμβαση) έχουν μειωμένη ανταπόκριση στο βελονισμό, λόγω ενός πτωχού ενδοερφινεργικού συστήματος ελέγχου του πόνου. Επίσης και τα κουνέλια με γενετική ανεπάρκεια ενδορφίνης δεν απαντούσαν στο ερέθισμα του ηλεκτροβελονισμού (Peets, 1978 και Takesige, 1978).

Η Stener και οι συνεργάτες της αναφέρουν ότι οι επαναλαμβανόμενες χαμηλής συχνότητας (2Hz) συνεδρίες με ηλεκτροβελονισμό αύξησαν σημαντικά τα επίπεδα της β-ενδορφίνης στον υποθάλαμο και στο πλάσμα αρουραίων (Stener, 2004).

Σ' άλλες μελέτες αναφέρεται ότι ο βελονισμός αυξάνει τα επίπεδα της β-EP σε ασθενείς που πάσχουν από χρόνιες ημικρανίες και μειώνει την εμφάνιση των προσβολών τους (Facchinetti 1981).

**Ενδορφίνες και διαδερμικός ηλεκτρικός νευροερεθισμός.** Υπάρχουν σαφείς ενδείξεις ότι τα ενδογενή οπιοειδή (ενδορφίνες-εγκεφαλίνες) συμμετέχουν στην καταστολή του πόνου με την μέθοδο του Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation (TENS). Αν και δεν έχει διευκρινισθεί με ποιον τρόπο γίνεται η ενεργοποίηση αυτών στους νευρώνες του νωτιαίου μυελού, εντούτοις έχει βρεθεί ότι αυξάνονται τα επίπεδα της β-ενδορφίνης και της εγκεφαλίνης ( Fox, 1976 Terenius, 1985 και Ottoson, 1998). Άλλοι ερευνητές αναφέρουν ότι με τα χαμηλής συχνότητας TENS ελευθερώνονται μεγαλύτερες ποσότητες ενδορφινών απ' ότι με τα συμβατικά TENS υψηλής συχνότητας (Wolf, 1981 και Peets 1985).

**Ενδορφίνες και γυναίκα.** Οι ενδορφίνες αντιμετωπίζουν το στρες κατά τον τοκετό με την αναλγητική τους δράση. Η εγκυμοσύνη επηρεάζει τα επίπεδα των ενδορφινών περισσότερο από την άσκηση ή και τα οξύνει παράλληλα με την άσκηση. Η αύξηση της β-ενδορφίνης κατά τη διάρκεια της κυοφορίας παίζει σημαντικό ρόλο τόσο στην ομαλή εξέλιξη της εγκυμοσύνης όσο και στη ρύθμιση του τοκετού (McMurray, 1990). Κατά την κλιμακτήριο παρατηρούνται χαμηλά επίπεδα ενδορφίνης στο περιφερικό πλάσμα, τα οποία αυξάνονται ακολουθώντας θεραπεία με οιστρογόνα (Schuz, 1998).



Σε άλλες μελέτες αναφέρεται ότι η β-ενδορφίνη έχει ρόλο στη ρύθμιση του φυσιολογικού εμμηνορροϊκού κύκλου της γυναίκας και πιθανότατα έχει σχέση και με την έναρξη της εφηβείας (Seifer, 1990).

Μια πρόσφατη μελέτη αναφέρει ότι σε γυναίκες που πάσχουν από σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (Polycystic Ovaries Syndrome, PCOS), μια σύνθετη ενδοκρινολογική διαταραχή που χαρακτηρίζεται από υπερανδρογενετική και ωοθηλακιορρηκτική δυσλειτουργία, η παραγωγή και απελευθέρωση της β-EP είναι όχι μόνο ελαττωμένη αλλά και διαταραγμένη σε κεντρικά επίπεδα. Σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε θηλυκά ποντίκια, με έγχυση βαλεριανής οιστραδιόλης για να προκληθεί χρόνια ανωορρηξία και πολυκυστικές ωοθήκες, βρέθηκε μείωση των επιπέδων της β-EP στις υποθαλαμικές συγκεντρώσεις και στο πλάσμα (Stener, 2004).

**Ενδορφίνες και άσκηση.** Υπάρχουν διάφορα άρθρα που αναφέρονται στην κοινή εμπλοκή των ενδορφινών και της άσκησης στον έλεγχο του πόνου. Οι πρώτες αναφορές δημοσιεύτηκαν το 1980 και αναφέρουν μεταβολές στα επίπεδα του αίματος της β-EP κατά τη διάρκεια άσκησης (Harber, 1984). Ίσως το κοινό σημείο αναφοράς είναι το στρες, που προκαλεί η άσκηση και αυτό με τη σειρά του προκαλεί έκκριση ενδορφινών, σαν απάντηση στην οξεία πίεση που δέχεται ο οργανισμός. Η ελαττωμένη ευαισθησία στον πόνο (υποαλγησία) που είναι έκδηλη όχι μόνο μετά από άσκηση μεγάλης απόστασης, όπως ο Μαραθώνιος δρόμος αλλά και μετά από έντονη φυσική άσκηση σε εργαστηριακό εργόμετρο, εμπλέκει και τις β-ενδορφίνες.

Διάφορες μελέτες, που πραγματοποιήθηκαν με συμμετοχή ανδρών και γυναικών, έδειξαν ότι οι άνδρες είχαν μεγαλύτερες απαντήσεις β-EP και β-LT στην άσκηση από ό,τι οι γυναίκες (Harber, 1984 και Lobstein 1989). Αντίθετα άλλες μελέτες έδειξαν ότι και οι γυναίκες, παρουσίασαν αυξημένα επίπεδα στο πλάσμα β-EP και β-LT κατά τη διάρκεια της άσκησης αλλά και μείωση της LH και της FSH (Ruffin, 1994). Στην ίδια μελέτη αναφέρθηκε επίσης ότι η αύξηση της β-ενδορφίνης κατά τη διάρκεια άσκησης επηρέασε την έμμηνο ρύση των γυναικών, που έλαβαν μέρος στα πειράματα. (Ruffin, 1994).

Η άσκηση για να προκαλέσει αύξηση της β-ενδορφίνης, πρέπει να έχει μέτρο σε κάποια χαρακτηριστικά, όπως στη διάρκεια και στην ένταση. Ειδικότερα η ένταση πρέπει να είναι σε υπομέγιστα ή μέγιστα επίπεδα (>80% της μέγιστης δύναμης)

(Virtu,1992) και η διάρκεια από 30-60min (Farrell, 1987). Κατά τη διάρκεια της μέγιστης άσκησης παρατηρήθηκε αύξηση εκτός από τη β-ενδορφίνη και στις τιμές της κορτιζόνης, της επινεφρίνης και της νορεπινεφρίνης (Virtu,1992).

Σε πειράματα που έγιναν σε ποντίκια αποδεικνύεται ότι η παρατεταμένη και συνεχής άσκηση αυξάνει τη συγκέντρωση β-ενδορφίνης στον εγκέφαλο αρουραίων και προκαλεί αύξηση στο κατώτερο όριο του πόνου (Thoren, 1990).

Επίσης διαπιστώθηκε σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση της β-ενδορφίνης στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό των αρουραίων που εκπαιδεύτηκαν να τρέξουν αυθόρμητα, σε σχέση με αυτούς που δεν έτρεξαν. Τα επίπεδα της β-EP στους αρουραίους παρέμειναν αυξημένα για 48 ώρες μετά το τέλος της άσκησης και αποκαταστάθηκαν μετά από 64 ώρες (Hoffman,1990).

Σε μια άλλη μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τον Goldfarb και τους συνεργάτες του σε 12 μαθητές κολεγίου, παρατηρήθηκε σταδιακή αύξηση των ενδορφινών παράλληλα με την προοδευτικά αυξανόμενη διάρκεια και ένταση της άσκησης. Σε μετρήσεις που έγιναν πριν την έναρξη της άσκησης, οι προπονημένοι μαθητές είχαν λίγο ψηλότερες τιμές β-EP σε σχέση με τους απροπόνητους μαθητές (στατιστικά ασήμαντο). Κατά την διάρκεια, όπως και στο τέλος της άσκησης, οι τιμές της β-EP αυξήθηκαν ανάλογα με την προοδευτική ένταση της άσκησης, αντίστοιχα και στις δύο ομάδες (Goldfarb, 1997).

Αρκετές εργασίες ακόμη, ασχολούνται με τη δραστηριότητα των ενδογενών οπιοειδών και ειδικά της β-ενδορφίνης σε αναερόβια ή αερόβια άσκηση. Τα συμπεράσματα ποικίλουν, ανάλογα με τα διάφορα πρωτόκολλα έρευνας. Έτσι όταν κυριαρχεί η αναεροβική άσκηση, η συμπεριφορά της β-ενδορφίνης βασίζεται πάνω στο βαθμό της μεταβολικής απαίτησης, υποδηλώνοντας μία επίδραση των ενδογενών οπιοειδών στην αναεροβική ικανότητα ή στην ανοχή στην οξέωση (Schwarz, 1992). Η φυσική άσκηση, με αύξηση κυρίως των αναερόβιων προσπαθειών οδηγεί σε μία αύξηση της β-ενδορφίνης, η ποσότητα της οποίας συσχετίζεται με το βαθμό συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέος (Schwarz, 1990).

Η χρόνια άσκηση, ο αεροβικός χορός, ο μαραθώνιος δρόμος (παρατεταμένη άσκηση, μεγάλης έντασης) φαίνεται ότι επηρεάζουν και αυτές την έκκριση ενδορφινών (Lobstein,1989) ενώ στην αεροβική άσκηση μέτριας έντασης τα επίπεδα της β-ενδορφίνης είναι αρκετά χαμηλότερα σε σχέση με την άσκηση μεγάλης έντασης (Kraemer, 1989). Υπάρχουν όμως και αντικρουόμενες μελέτες σε σχέση με την ένταση και την διάρκεια της άσκησης (Kraemer, 1989 και

Tendzegolskis, 1990). Παρά τη δεδομένη ασυμφωνία των ερευνητών το πλήθος των εργασιών συνηγορεί σε αύξηση των ενδορφινών μετά από σωματική δραστηριότητα, άσκηση σε υπομέγιστα ή μέγιστα επίπεδα. Έτσι διαπιστώνονται αυξήσεις ή μειώσεις ή ακόμη και μη μεταβολές στα επίπεδα των ενδορφινών κατά τη διάρκεια των διαφόρων μορφών άσκησης (Viru, 1990).

Οι ενδορφίνες και η ευφορία των δρομέων παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον. Ευφορία και ευχαρίστηση αναφέρονται από πολλούς δρομείς κατά τη διάρκεια του αγώνα. Η άποψη ότι μπορεί να συσχετίζονται τα συναισθήματα ευφορίας (the runners high) με μία αύξηση των ενδορφινών στον εγκέφαλο υποστηρίζεται από αρκετούς ερευνητές (Daniel, 1992).

Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τον Levinthal και τους συνεργάτες του βρέθηκε, ότι οι απροπόνητοι εθελοντές, που συμμετείχαν σε ένα διμηνιαίο πρόγραμμα άσκησης, παρουσίασαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ACTH και β-EP στο αίμα τους. Το ίδιο συνέβηκε και με τους προπονημένους αθλητές όπως αναφέρεται στην ίδια μελέτη. Σύμφωνα με τον συγγραφέα οι αυξήσεις της β-ενδορφίνης, είναι υποδεέστερες των αυξήσεων της ACTH και πιθανόν να είναι μία γενική απάντηση του οργανισμού στο στρες από τη φυσική προσπάθεια (Levinthal, 1988).

Ο Theoren και οι συνεργάτες του έδειξαν ότι κατά την διάρκεια της άσκησης τα επίπεδα της β-EP στην κυκλοφορία είναι πολύ αυξημένα ενώ η συγκέντρωση της β-EP στην υπόφυση είναι συνήθως πιο χαμηλή. Επίσης παρατήρησαν αύξηση στη συγκέντρωση της β-ενδορφίνης και στα επινεφρίδια κατά την διάρκεια της άσκησης σαν απάντηση του οργανισμού σε έντονες καταστάσεις στρες όπως μπορεί να συμβαίνει κατά την διεκπεραίωση μιας άσκησης. (Theoren, 1990).

Η β-ενδορφίνη η οποία εκλύεται στην κυκλοφορία κατά τη διάρκεια της άσκησης ίσως έχει μία ορμονική δράση που αυξάνει την πρόσληψη της γλυκόζης κατά τη διάρκεια της μυϊκής δραστηριότητας. Αυτό το πεπτίδιο ή οι μεταβολίτες του ίσως είναι εν μέρει υπεύθυνοι για την ανεξάρτητη από την ινσουλίνη απορρόφηση της γλυκόζης κατά την άσκηση (Evans, 1977).

**Ενδορφίνες και συμπεριφορά.** Τα τμήματα του εγκεφάλου που σχετίζονται με τη διαμόρφωση συγκινήσεων (συγκινησιακός εγκέφαλος ή λιμβικό ή μεταιχμιακό σύστημα, limbic system) εμπεριέχουν σημαντικές δομές, όπως την αμυγδαλή, τον ιππόκαμπο και το φλοιό των ελίκων. Όλες αυτές οι δομές δρουν συγκλίνοντας στον

υποθάλαμο ο οποίος λειτουργεί ως ενοποιητής των απαντήσεων συμπεριφοράς αλλά και ως ενδορρηστρωτής των σωματικών τροποποιήσεων που υποβαστάζουν τις εκάστοτε απαντητικές συμπεριφορές. Το συναισθηματικό κέντρο του εγκεφάλου περιέχει μερικές από τις υψηλότερες συγκεντρώσεις των οπιοειδών υποδοχέων και ενδορφινών στον εγκέφαλο. Ένδειξη για διασύνδεση μεταξύ των ενδορφινών του εγκεφάλου και της αρχής της κοινωνικής συμπεριφοράς, άρχισε να έρχεται στην επιφάνεια το 1978 από πειράματα όπου χορηγήθηκε μορφίνη σε νεαρά ζώα (κουταβάκια και ινδικά χοιρίδια). Αυτά είχαν τάση να κλαίνε όταν αποχωριζόταν από τις μητέρες τους. Τα συμπτώματα της «στενοχώριας» από το χωρισμό αυτό, μειώθηκαν με τη χορήγηση μορφίνης. Ο ανταγωνιστής ναλοξόνη, από την άλλη μεριά αύξησε την ένταση του «κλάματος» λόγω του χωρισμού. Έτσι ενοχοποιήθηκε ο ρόλος των ενδορφινών σε αυτή την κρίσιμη συμπεριφορά του κοινωνικού δεσμού.

Οι Risch και Brambitta βρήκαν αυξημένα επίπεδα β-ενδορφίνης στο πλάσμα σε καταθλιπτικούς ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς (φυσιολογικούς) (Willner,1985). Επίσης οι Jones και Herning το 1982, έδειξαν ότι σε ασθενείς καταθλιπτικής διάθεσης, η χορήγηση ναλοξόνης επηρέασε κυρίως το συναίσθημα της οξυθυμίας και της ανησυχίας (Willner,1985).

Οξείες αλλαγές διάθεσης συμβαίνουν επίσης από διάφορους τύπους φυσικής δραστηριότητας. Αυξημένα επίπεδα ενδορφινών σε απάντηση στην άσκηση ίσως διαμεσολαβούν για μεταβολές που προκαλούνται από τη φυσική δραστηριότητα στην κατάσταση της ψυχικής διάθεσης.

Ειδικότερα αθλητές μεγάλων αποστάσεων μετά από 40-80 min τρεξίματος παρουσίασαν λιγότερη ψυχολογική ένταση και ανέφεραν συναισθήματα ηρεμίας, ευφορίας και αγαλλίασης. Μετά τη χορήγηση ναλοξόνης (ανταγωνιστής οπιοειδών) από το στόμα τα συναισθήματα των αθλητών αντιστράφηκαν (Farrell, 1987).

Μια άλλη μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Allen και Coen κατέληξε στα ίδια συμπεράσματα. Οι αθλητές μετά από την εκτέλεση αναερόβιας άσκησης με μεγάλη ένταση ήταν πιο ήρεμοι, πιο χαλαρωμένοι και ένιωθαν ευχάριστα, δεν ανέφεραν συναισθήματα θυμού, απογοήτευσης ή οξυθυμίας. Αντίθετα, οι αθλητές που τους χορηγήθηκε πριν την άσκηση ναλοξόνη από το στόμα, δεν παρουσίασαν κάποια αλλαγή στην διάθεση τους μετά το πέρας της δοκιμασίας (Daniel, 1992).

## ΡΟΛΟΣ ΚΑΙ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Το ασκορβικό οξύ ή βιταμίνη C ( $C_6H_{12}O_6$ ) είναι μία κετολακτόνη με μοριακό βάρος 176,13. Ένας βασικός βιοχημικός ρόλος για το ασκορβικό οξύ είναι να επιταχύνει τις αντιδράσεις υδροξυλίωσης σε διάφορες βιοσυνθετικές οδούς. Σε πολλές από αυτές τις αντιδράσεις, το ασκορβικό παρέχει άμεσα ή έμμεσα ηλεκτρόνια σε ένζυμα, που απαιτούν ιόντα μετάλλων σε ανηγμένη μορφή ως πρόσθετα, για να επιτύχουν πλήρη ενζυμική δραστηριότητα. Οι μοριακές δομές του ασκορβικού οξέος και της οξειδωμένης του μορφής, του δεϋδροασκορβικού οξέος (dihydroascorbic acid), είναι παρόμοιες με αυτή της γλυκόζης. Το μόριό τους περιέχει αρκετές υδροξυλιομάδες (OH) (ή ομάδες υδροξυλίωσης), όπως και το μόριο της γλυκόζης, που βρίσκονται η μια δίπλα στην άλλη (Levine, 1986). Τα περισσότερα θηλαστικά συνθέτουν ασκορβικό από τη γλυκόζη, εντούτοις οι άνθρωποι και άλλα πρωτεύοντα θηλαστικά στερούνται το ένζυμο (L-gulonolactone oxidase) που απαιτείται για τη σύνθεσή του. Αυτό έχει σαν συνέπεια να απαιτείται διαρκής πρόληψη, αυτής της σημαντικής βιταμίνης, από τις καταναλισκόμενες τροφές (Gonzalez, 2005).

Το ασκορβικό οξύ είναι παρόν στα περισσότερα βιολογικά περιβάλλοντα ( $pK = 4,2$ ) και αποτελεί μια απαραίτητη βιταμίνη για τον άνθρωπο (Gonzalez, 2005). Το σκορβούτο, η στερητική νόσος που προκύπτει από την έλλειψη ασκορβικού, μπορεί να φθάσει σε απειλητικά επίπεδα για τη ζωή, ακόμη και στο θάνατο (Guthril, 1989). Δύο από τα σημαντικότερα σημεία της νόσου είναι η μεγάλη εξασθένηση του ανοσοποιητικού συστήματος και η καταστροφή της θεμέλιας ουσίας των διαφόρων συνδετικών ιστών του σώματος λόγω μιας πολύ μεγάλης αναστολής στη σύνθεση του κολλαγόνου, με αποτέλεσμα να έχουμε ευθραυστότητα των αγγείων και κατά συνέπεια ποικίλου βαθμού αιμορραγίες. Από την άλλη η έλλειψη της βιταμίνης C προκαλεί μια ταχεία μείωση της σύνθεσης των στεροειδών του φλοιού των επινεφριδίων, με αποτέλεσμα τη βαθειά εξασθένηση του οργανισμού να αντιπαρέχεται τα διάφορες προέλευσης stress (Cameron, 1973).

Η βιταμίνη C θεωρείται ως το σημαντικότερο αντιοξειδωτικό στο εξωκυττάριο υγρό (Sies, 1992). Το ασκορβικό οξύ είναι μια υδατοδιαλυτή ένωση, που διανέμεται σε όλο το σώμα με υψηλές συγκεντρώσεις, σε διάφορους ιστούς, συμπεριλαμβανομένων του φακού των οφθαλμών, των λευκοκυττάρων, των

επινεφριδίων και των βλεννογόνων αδένων (Levine, 1986). Οι κανονικές συγκεντρώσεις του ασκορβικού οξέος στο πλάσμα είναι περίπου 0,6 έως 2,0 mg/dl. Αυτοί οι ιστοί (φακός οφθαλμών, επινεφρίδια, και βλεννογόνοι) περιέχουν τουλάχιστον δύο φορές αυτό το ποσό. Το ασκορβικό οξύ επίσης είναι ένας ουσιαστικός συμπαράγοντας για τα ένζυμα που εμπλέκονται στη σύνθεση του κολλαγόνου. Είναι απαραίτητο επιπλέον για τη σύνθεση της καρνιτίνης (carnitine) από τη λυσίνη (Leibovitz, 1993), για την αμίδωση των πεπτιδίων για το μεταβολισμό της τυροσίνης. Συμμετέχει στο μεταβολισμό της χοληστερόλης και του λιποπρωτεϊνικού προφίλ, όπως και στη σύνθεση των κατεχολαμινών (Levine, 1985, Diliberto, 1991 και Russell, 1985). Στη σύνθεση των κατεχολαμινών, το ασκορβικό οξύ λειτουργεί ως δότης ηλεκτρονίων για το ένζυμο, β-υδροξυλάση της ντοπαμίνης, το οποίο μετατρέπει την ντοπαμίνη σε νορεπινεφρίνη (Russell, 1985, Daniels, 1982 και Morita, 1985). Αυτή η αντίδραση είναι ιδιαίτερα σημαντική στον εγκέφαλο και στα συμπαθητικά νεύρα, όπου η νορεπινεφρίνη λειτουργεί ως νευροδιαβιβαστής, και στο μυελό των επινεφριδίων, όπου η νορεπινεφρίνη μετατρέπεται στην ισχυρή ορμόνη των κατεχολαμινών, την επινεφρίνη.

Το ασκορβικό οξύ μεταφέρεται εγκάρσια στις κυτταροπλασματικές μεμβράνες από δύο μεταφορείς, τον SVCT1 και τον SVCT2 (Drywall, 1999). Ο πρώτος μεταφορέας εκφράζεται στα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου και του νεφρού ενώ ο δεύτερος μεταφορέας εκφράζεται ευρύτερα, συμπεριλαμβανομένης της καρδιάς, του εγκέφαλου και των επινεφριδίων (Liang, 2001 και Wang, 2000). Χαρτογράφηση των ανθρώπινων γονιδίων (SLC23A2 και SLC23A1) που κωδικοποιούν τους μεταφορείς 1 και 2 της βιταμίνης C (SVCT1 και SVCT2) έχουν βρεθεί στα 5q23 και 20p12, αντίστοιχα (Stratakis, 2000). Οι δράσεις ενός θανατηφόρου φαινοτύπου και των εντυπωσιακά μειωμένων επιπέδων ασκορβικού οξέος στους ιστούς σε μεταλλαγμένο αριθμό επιμύων, που στερούνται τον φυσιολογικό μεταφορέα SVCT2 λόγω της διάσπασης του γονιδίου SLC23A1, δείχνουν ότι το SVCT2 είναι σημαντικότερος μεταφορέας για τη διατήρηση των υψηλών ενδοκυτταρικών επιπέδων της βιταμίνης C (Sotiriou, 2002). Ο μεταλλαγμένος αυτός επίμυς πεθαίνει μέσα σε λίγα λεπτά μετά τη γέννησή του αποκαλύπτοντας μια μη αναγνωρισμένη μέχρι τώρα δράση για το ασκορβικό οξύ, στην περιγεννητική περίοδο.

Από την άλλη πλευρά φαίνεται ότι το ασκορβικό οξύ αποτελεί ένα μόριο πρώτης επιλογής για την αντιμετώπιση του οξειδωτικού stress που εισάγεται από

την έναρξη της αναπνευστικής δραστηριότητας αμέσως μετά την γένεση του. Το πείραμα αυτό επίσης αναδεικνύει, ότι η συνεισφορά του ασκορβικού δεν μπορεί να αντικατασταθεί από κάποια άλλη φυσιολογική συνιστώσα του ενδογενούς αντιοξειδωτικού συστήματος τουλάχιστον στο εν λόγω είδος επίμυος.

Μεταξύ των διαφόρων ιστών του σώματος, τα επινεφρίδια περιέχουν ψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης ασκορβικού οξέος. Τα επινεφρίδια επίσης αποτελούν τα όργανα που παρουσιάζουν τις μικρότερες τιμές στα επίπεδα του ασκορβικού οξέος στους επίμυες με ανεπάρκεια του SVCT2 και αποτελούν τα όργανα που υφίστανται τις πρωιμότερες βλάβες σε σχέση με τους άλλους ιστούς (Sotiriou, 2002).

Το ασκορβικό οξύ, όταν δίνεται σε μεγάλες δόσεις (κυρίως ενδοφλέβια), μπορεί να λειτουργήσει ως ενεργειογόνος παράγοντας (ενίσχυση της ενέργειας). Υπάρχει η ένδειξη ότι το ασκορβικό αυξάνει την κυτταρική αναπνοή και την παραγωγή της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) στους οστεοβλάστες (Komarova, 2000). Το παραπάνω αποτελεί μια πρόσφατη σχετικά γνώση, που προτείνεται για τη λειτουργία του ασκορβικού οξέος και μπορεί να σχετιστεί με ασθενείς που πάσχουν από χρόνιες-εκφυλιστικές ασθένειες, ειδικά εκείνοι με το σύνδρομο χρόνιας κόπωσης, AIDS, και καρκίνο. Θεωρείται ότι αυτή η ενεργειογόνος δραστηριότητα που αναφέρεται στις μεγάλες δόσεις του ασκορβικού οφείλεται πιθανώς στο οξειδοαναγωγικό δυναμικό του, που είναι ικανό να παρέχει τα απαραίτητα ηλεκτρόνια στο σύστημα μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια για την αυξανόμενη παραγωγή ενέργειας. Αυτή η συμμετοχή του ασκορβικού στις αντιδράσεις μεταφοράς ηλεκτρονίων τέθηκε ως αίτημα 71 έτη πριν από τον Szent-Gyorgyi, ο οποίος ήταν και ο άνθρωπος που ανακάλυψε το ασκορβικό (Gonzalez, 2005).

Αποτελέσματα πολλών μελετών από τον Willis, 1953 έως τον Ginter, 1969 και τον Sulkin, 1975 έδειξαν ότι η ένδεια της βιταμίνης C είναι ένας καθοριστικός παράγοντας για την ανάπτυξη αρτηριοσκλήρυνσης στο ινδικό χοιρίδιο, ακόμη και όταν χρησιμοποιούνται τροφές που δεν περιέχουν χοληστερίνη. Από το 1953 ο Willis αναφέρει την ύπαρξη λιπιδικών εναποθέσεων στις αρτηρίες των ινδικών χοιριδίων, που η διατροφή τους δε περιείχε βιταμίνηC (τα ινδικά χοιρίδια όπως και ο άνθρωπος δεν παράγουν ασκορβικό αλλά το λαμβάνουν από την ημερήσια τροφή που καταναλώνουν) (Willis, 1953 και Combs 1992). Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι οι βλάβες αυτές μπορούν να αντιστραφούν μέσω χορήγησης συμπληρωμάτων βιταμίνης C. Τα ίδια πειράματα έγιναν και σε κουνέλια και οι ερευνητές κατέληξαν

στα ίδια συμπεράσματα. Τα κουνέλια σ' αυτή την έρευνα έγιναν υπερχοληστερινεμικά μετά την προσθήκη ποσότητας χοληστερίνης στη διατροφή τους (Beetens, 1986 και Bocan, 1992).

Από μια σειρά τυχαιοποιημένων αλλά μη πολυπληθών δεδομένων προκύπτει ότι η χορήγηση υψηλών δόσεων ασκορβικού οξέος οδηγεί σε ήπια μείωση των επιπέδων της ολικής χοληστερίνης, ειδικότερα σε άτομα που εμφανίζουν ψηλές τιμές χοληστερίνης και χαμηλές τιμές βιταμίνης C (Simon, 1992).

Τα χαμηλά επίπεδα της βιταμίνης C φαίνεται να συσχετίζονται με αρκετούς παράγοντες κινδύνου καρδιαγγειακής ισχαιμικής νόσου συμπεριλαμβανομένης της υψηλής χοληστερίνης, τα χαμηλά επίπεδα HDL (High Density Lipoprotein) την υπέρταση, το κάπνισμα, το φύλο και την ηλικία.

Ο Verlangieri και οι συνεργάτες του έδειξαν πως η μείωση της θνησιμότητας από καρδιαγγειακές ισχαιμικές νόσους που καταγράφηκαν στις ΗΠΑ οφειλόταν στην κατανάλωση φρέσκων φρούτων και λαχανικών (Verlangieri, 1985).

Επίσης ο Armsstrong και οι συνεργάτες του αναφέρουν μια ισχυρή αντίστροφη συσχέτιση γεωγραφικής διάστασης μεταξύ της κατανάλωσης φρέσκων φρούτων και λαχανικών και θανάτων από καρδιαγγειακά νοσήματα σε περιοχές της Αγγλίας, της Σκωτίας και του Γέιλς (Armsstrong, 1985).

Τέλος η κατανάλωση φρέσκων φρούτων και λαχανικών γεωγραφικώς συνδέεται αντιστρόφως και με την θνησιμότητα από νόσους των αγγείων του εγκεφάλου, όπως προκύπτει από μια βρετανική μελέτη (Acheson, 1983).

Υπάρχουν επίσης ενδείξεις από μελέτες προερχόμενες από in vitro έρευνες που υποστηρίζουν ότι το ασκορβικό σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις αυξάνει την παραγωγή της προσταγλανδίνης E<sub>1</sub> και της προσταγλανδίνης I<sub>2</sub> (προστακυκλίνη) αντιστοίχως από τα αιμοπετάλια και τους αγγειακούς ιστούς του ανθρώπου, με αποτέλεσμα την αναστολή της αιμοπεταλιακής συσσώρευσης (Beetens, 1983).

Πιο κάτω γίνονται αναφορές για τις δράσεις του ασκορβικού οξέος στον καρκίνο σε σχέση με την αντιοξειδωτική του ενέργεια.

**Ασκορβικό οξύ και καρκίνος.** Μεγάλο μέρος της διεθνούς βιβλιογραφίας έχει ασχοληθεί με το ασκορβικό οξύ και τον καρκίνο. Από το 1949 προτάθηκε η χρήση του για την θεραπεία του καρκίνου. Μάλιστα το 1952 είχε προταθεί να χρησιμοποιηθεί ως χημειοθεραπευτικός παράγοντας (McCormic, 1952 και Gonzalez, 2005). Σήμερα είναι πλέον αποδεκτό από τους ερευνητές ότι η βιταμίνη



C έχει προσδιορισμένες λειτουργίες σχετικές με την πρόληψη του καρκίνου αλλά μπορεί, όπως υποστηρίχθηκε από τους Cameron και Pauling και άλλους ερευνητές, να χρησιμεύσει και στην θεραπεία για τον καρκίνο (Cameron, 1973).

Στον καρκίνο πολύ συχνά, έχουμε μια σοβαρή εξασθένιση της ικανότητας του ανοσοποιητικού συστήματος να εντοπίζει και να καταστρέφει τα κακοήθη κύτταρα. Πρέπει να σημειωθεί ότι σε κάθε υγιή άνθρωπο σε οποιαδήποτε στιγμή της ζωής του δημιουργούνται μικροί πληθυσμοί κακοήθων κυττάρων τα οποία εντοπίζονται και καταστρέφονται από μια κατηγορία λεμφοκυττάρων, που ονομάζονται φυσικοί φονείς. Έχει διαπιστωθεί ότι η χορήγηση υψηλών δόσεων ασκορβικού αλλά και άλλων αντιοξειδωτικών ενισχύει κατά πολύ τις άμυνες του οργανισμού, ενδυναμώνοντας το ανοσοποιητικό σύστημα σε διάφορα επίπεδα μέσω μιας σειράς μηχανισμών, όπως η αύξηση της φαγοκυτταρικής ικανότητας των κοκκιοκυττάρων, η μεγέθυνση της ανθεκτικότητας στο ενδογενές οξειδωτικό stress, η παραγωγή κυτταροκινών οι οποίες συντονίζουν και εξειδικεύουν την ανοσολογική αντίδραση και η διατήρηση και αύξηση των λευκοκυττάρων (Panush R, 1979 και Prinz, 1979).

Υπάρχουν δεδομένα που αναδεικνύουν ότι το ασκορβικό οξύ ενδυναμώνει τις κυτταροκίνες των φυσικών φονέων, πράγμα που ενδιαφέρει άμεσα την ανοσολογική δραστηριότητα εναντίων των καρκινικών κυττάρων. Η ισχυροποίηση του αμυντικού συστήματος αρχίζει σε βραχεία χρονικά διαστήματα από την χορήγηση υψηλών δόσεων ασκορβικού. Γενικότερα η χορήγηση της βιταμίνης C φαίνεται να ενισχύει τον οργανισμό απέναντι στις λοιμώξεις και να ελαχιστοποιεί σημαντικά τόσο τα συμπτώματα, όσο και τη διάρκεια της λοίμωξης (Prinz, 1979 και Siegel, 1977).

Το ασκορβικό οξύ εκτός από την αντιοξειδωτική δραστηριότητα, παρουσιάζει και κυτταροτοξικά αποτελέσματα, όταν βρεθεί σε πολύ μεγάλες συγκεντρώσεις. Ο Cameron χορήγησε σε ασθενείς με καρκίνο τελικού σταδίου μεγάλες δόσεις ασκορβικού οξέος (περίπου 10gr την ημέρα) και παρατήρησε σημαντική αύξηση του προσδόκιμου επιβίωσης των πασχόντων (Cameron, 1973). Η μεγαλύτερη πλειοψηφία των καρκινοπαθών δήλωσε βελτίωση των γενικών συμπτωμάτων της νόσου και σημαντική μείωση του πόνου, που προκαλούνταν από σκελετικές μεταστάσεις. Αυτό είχε σαν αποτέλεσμα τη μείωση των οπιούχων αναλγητικών (Cameron, 1974). Η ελάττωση της χορηγούμενης δόσης του ασκορβικού οξέος λίγους μήνες αργότερα συνοδεύτηκε από επανενεργοποίηση της νεοπλασματικής διαδικασίας, η οποία δεν ελέγχθηκε με την αποκατάσταση της δόσης στα 10gr την

ημέρα. Ωστόσο η αύξηση της χορήγησης του ασκορβικού στα 20gr ανά ημέρα με ενδοφλέβια χορήγηση, που μετά από δύο εβδομάδες μειώθηκε στα 12,5gr, είχε ως αποτέλεσμα μια δεύτερη ύφεση (Cameron, 1975).

Μια άλλη κλινική μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τον Cameron και Pauling σε 100 ασθενείς που λάμβαναν 10 gr ασκορβικού οξέος ανά ημέρα και 1000 ασθενείς, που αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου, στους οποίους γινόταν οι ίδιες θεραπευτικές παρεμβάσεις χωρίς τη χορήγηση των προαναφερθέντων δόσεων βιταμίνης C κατέληξε και αυτή στα ίδια συμπεράσματα. Η επιβίωση των ασθενών της ομάδας του πειράματος επιμηκύνθηκε κατά μέσο όρο, περισσότερο από τέσσερις σε σύγκριση με την αντίστοιχη της ομάδας των μαρτύρων (Cameron, 1976, Cameron, 1978 και Cameron 1979).

Άλλοι ερευνητές πραγματοποίησαν μελέτες, σε ασθενείς που έπασχαν από κληρονομική πολυποδίαση του παχέος εντέρου (προκαρκινική νόσος), στους οποίους η χορήγηση μεγάλων δόσεων ασκορβικού οξέος είχε σαν αποτέλεσμα υψηλά ποσοστά υποχώρησης της νόσου (Kallistratos, 1980).

Κατά την διάρκεια της δεκαετίας 1980-1990 διεξήχθησαν μια σειρά πειραμάτων, στο εργαστήριο Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων από τον Καλλίστρατο και τους συνεργάτες του, σε επίμυες που έπασχαν από κάποιον όγκο (που προκλήθηκε στο εργαστήριο), χορηγώντας τους πολύ μεγάλες δόσεις ασκορβικού από το στόμα ή ενδοφλεβίως. Οι έρευνες κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η χημική καρκινογένεση μπορεί να ανασταλεί σε μεγάλο βαθμό από την χορήγηση πολύ μεγάλων δόσεων βιταμίνης C μαζί με βιταμίνη E, βιταμίνη A, σελήνιο, βανάδιο και άλλα καθώς και από διάφορους μεταξύ τους συνδυασμούς (Kallistratos, 1994, Evangelou, 1997, Charalabopoulos, 2000 και Karkabounas, 2002).

Μια ακόμη μελέτη, από άλλη ερευνητική ομάδα ασχολήθηκε με το θέμα αυτό. Σύμφωνα με τους ερευνητές, διαπιστώθηκε μια ανασταλτική δράση σε τουλάχιστον επτά τύπους κυτταρικών όγκων με τη χορήγηση μεγάλων δόσεων ασκορβικού οξέος (Mikino, 1999, Roydock, 1982 και Leung, 1993). Ενώ αυτή η ανασταλτική δράση δεν παρατηρήθηκε στους κανονικούς ινοβλάστες στην ίδια έρευνα. Άλλοι πάλι ερευνητές έχουν τοποθετηθεί διαφορετικά όσον αφορά στην αναστολή του πολλαπλασιασμού των ινοβλαστών (Leung, 1993, Avakawa, 1994 και Jampel, 1990).

Εντούτοις, όλες οι εργασίες συμφωνούν ότι η κυτταροτοξική επίδραση, που παράγεται από το ασκορβικό σε ένα σύνολο κυτταρικών σειρών (συνήθως κακοήθων), έχει συνδεθεί με την προοξειδωτική του δραστηριότητα (Conzalez, 1998 και Sakagami, 1997). Το ασκορβικό και οι ρίζες του ενδυναμώνουν την ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB, ο οποίος έχει συνδεθεί με την παρεμπόδιση της κυτταρικής ανάπτυξης (Munoz, 1997).

Επίσης, η βιταμίνη C ασκεί μια ήπια αντιφλεγμονώδη δράση που ελαχιστοποιεί τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις, οι οποίες συνοδεύουν μια παθολογική διεργασία και αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση του πόνου. Σε μια έρευνα, που έγινε στο εργαστήριο της Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, διαπιστώθηκε σημαντική μείωση του πόνου σε καρκινοπαθείς μετά τη χορήγηση βιταμίνης C σε μεγάλες δόσεις (300 mg/Kgr). Η χορήγηση της βιταμίνης έγινε από το στόμα για μεγάλο χρονικό διάστημα και οδήγησε σε μείωση της δόσης ή και σε πλήρη διακοπή των αναλγητικών οπιοειδών (Evangelou, 2000).

Υπάρχουν ενδείξεις ότι η βιταμίνη C σε υψηλές δόσεις εμποδίζει τις προσταγλανδίνες των δύο οδών (προερχόμενες από το αραχιδονικό οξύ), που έχουν συσχετιστεί με τον αυξανόμενο κυτταρικό πολλαπλασιασμό (Beetens, 1983).

**Αντιοξειδωτική δράση του ασκορβικού οξέος.** Το ασκορβικό θεωρείται ένα από τα ισχυρότερα αναγωγικά και εκκαθαριστής των ελεύθερων ριζών. Σε κάθε ζωικό και ανθρώπινο κύτταρο παράγονται διάφορες μορφές ελεύθερων ριζών, όπως HO<sup>•</sup>, O<sup>•</sup>, R<sup>•</sup>, RO<sup>•</sup>, ROO<sup>•</sup>, RS<sup>•</sup> κ.α. Οι ενεργείς αυτές μοριακές δομές παράγονται είτε δι' απλών χημικών αντιδράσεων είτε δι' ενζυμικών αντιδράσεων (Harman, 1984). Οι κύριες ενδογενείς πηγές ελεύθερων ριζών στο κύτταρο περιλαμβάνουν προϊόντα οξειδωσης των λιπιδίων, των θειολών, των υδροκινονών, των κατεχολαμινών και άλλων. Ελεύθερες ρίζες μπορούν ακόμη να παράγονται κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής λειτουργίας διάφορων ενζυμικών συστημάτων, όπως οι οξειδάσεις του NADPH, οι λιποξυγονάσεις, οι κυκλοξυγενάσεις, οι οξυδάσεις της ξανθίνης, οι αλδευδικές οξειδάσεις, κ.τ.λ (Freeman, 1984). Ένας συντηρητικός υπολογισμός οδηγεί στο συμπέρασμα ότι το 70% των ενζύμων ενός ζωικού κυττάρου έχει οξειδαναγωγικό χαρακτήρα και συνεπώς αποτελεί δυνητική πηγή ενδογενών ελευθέρων ριζών. Τα αντιοξειδωτικά συστήματα από την άλλη πλευρά εξουδετερώνουν όλα τα στάδια της αλυσίδας παραγωγής ελεύθερων ριζών, ξεκινώντας από τα αρχικά διεγερθέντα μόρια (τους πυροδότες) και καταλήγοντας

μέχρι τα υδροϋπεροξειδία. Το σύνολο της αντιοξειδωτικής άμυνας κάθε οργανισμού είναι καίριας σημασίας για τη βιωσιμότητά του. Εδώ πρέπει να τονιστεί ότι ο οξειδωτικός μεταβολισμός προσφέρει στα κύτταρα τεράστιες ποσότητες ενέργειας σε σύγκριση μ' αυτή της γλυκόλυσης αλλά τα εξαναγκάζει να ζουν συνέχεια υπό την απειλή οξειδωτικής καταστροφής.

Το ασκορβικό οξύ μειώνει το ασταθές οξυγόνο, το άζωτο και τις θειο-κεντρικές ελεύθερες ρίζες. Επιπλέον ενεργεί ως αρχική άμυνα στις υδατικές ρίζες στο αίμα.

Σε μελέτες με ανθρώπινο πλάσμα, το ασκορβικό προστάτευε τα λιπίδια του πλάσματος ενάντια στην ανιχνεύσιμη βλάβη λόγω της υπεροξειδωσης, που προκλήθηκε από υπεροξειδικές υδατικές ρίζες (Frei, 1989). Το ασκορβικό μπορεί επίσης να προστατεύει τις μεμβράνες από την υπεροξειδωση λόγω της συνεργιστικής αντιοξειδωτικής λειτουργίας του με την βιταμίνη Ε. Το ασκορβικό μπορεί να ενισχύσει ή να αποκαταστήσει τη δραστηριότητα της τοκοφερόλης (βιταμίνη Ε). Η δράση αυτή, έχει εξετασθεί σε *in vitro* λειτουργίες (Niki, 1991).

Έχει διατυπωθεί επίσης ότι το ασκορβικό προάγει τον οξειδωτικό μεταβολισμό με την παρεμπόδιση της χρήσης του πυροσταφυλικού οξέος στην αναερόβια γλυκόλυση (Ramp, 1968).

## ΔΡΑΣΕΙΣ ΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΚΑΙ Β-ΕΝΔΟΡΦΙΝΗΣ

Το ασκορβικό οξύ ρυθμίζει επίσης τη δραστηριότητα της μονοξυγενάσης, της α-αμιδωμένης πεπτιδογλυκίνης (PAM) για τη μετα-μεταφραστική τροποποίηση των υποθαλαμικών νευροπεπτιδίων, όπως η α-MSH και η TRH. Μια πιο πρόσφατη σχετικά γνώση για τη δράση του ασκορβικού οξέος, αναφέρεται στη ρύθμιση της έκκρισης της ανοσοδραστικής β-ενδορφίνης και της έκφρασης του mRNA της POMC μετά από την ενεργοποίηση της εξαρτώμενης από το cAMP οδού της πρωτεϊνικής κινάσης A στους υποθαλαμικούς νευρώνες αρουραίων (Yang,1996). Εντούτοις, είναι σημαντικό να επισημανθεί ότι τα συμπεράσματα αυτά είναι βασισμένα σε καλλιέργειες υποθαλαμικών κυττάρων νεογέννητων αρουραίων και όχι ενηλίκων. Έχει αποδειχθεί ότι το ασκορβικό οξύ ασκεί μια ευρεία επίδραση στην ανάπτυξη των εμβρυϊκών μεσεγκεφαλικών κυττάρων (Yang,1996). Θα χρειαστούν περαιτέρω μελέτες, για να εξεταστούν τα αποτελέσματα του ασκορβικού οξέος σε καλλιέργειες υποθαλαμικών κυττάρων ενήλικων αρουραίων, ώστε να μπορούν να δοθούν καλύτερες απαντήσεις.

Σε αρκετές μελέτες, που πραγματοποιήθηκαν από το Εργαστήριο Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής Ιωαννίνων, διαπιστώθηκε ότι υψηλές συγκεντρώσεις ασκορβικού οξέος στο πλάσμα αυξάνουν τα επίπεδα της β-ενδορφίνης και της ACTH. Αυτή η λειτουργία της βιταμίνης έχει τεκμηριωθεί με πειράματα που έγιναν τόσο σε ζώα όσο και σε ανθρώπους. Σε *in vitro* έρευνες έχει δειχθεί ότι οι χαμηλές (10mM) συγκεντρώσεις του ασκορβικού οξέος μπορεί να διαταράξουν την ισορροπία των ενδογενών οπιοειδών (Vadalouka,1995 και Evangelou, 1998).

Σε άλλη μελέτη, που πραγματοποιήθηκε στο ίδιο Εργαστήριο, βρέθηκε ότι η χορήγηση ασκορβικού οξέος σε υψηλές δόσεις (300 mg/Kg) σε άτομα εθισμένα στην ηρωίνη, είτε συμπληρωματικά είτε σε μονοθεραπεία, έχει σημαντικά αποτελέσματα στη βελτίωση του συνδρόμου στέρησης (Evangelou, 2000). Στα άτομα αυτά βρέθηκαν πολύ χαμηλές τιμές βιταμίνης C, β-ενδορφίνης, β-λιποτροπίνης και αδρενοκορτικοτρόπου ορμόνης σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Η χορήγηση ασκορβικού σε ενδοφλέβια ή πόσιμη μορφή αύξησε τα επίπεδα στο πλάσμα της β-ενδορφίνης και της β-λιποτροπίνης όπως και της ACTH.

Το ασκορβικό οξύ διαδραματίζει έναν ρόλο στη διαμόρφωση της εκκριτικής διαδικασίας των νευροδιαβιβαστών και των νευροορμονών (Njus, 1983, Mains,

1987 και Morre, 1987) υποδεικνύοντας ένα σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη της φυσιολογικής απάντησης του οργανισμού στο stress (Faivre, 1988 και Glembocki, 1987). Υψηλές συγκεντρώσεις ασκορβικού οξέος έχουν βρεθεί στον υποθάλαμο και στους βλεννογόνους ιστούς (Horning, 1975 και Milby, 1982). Έχει αποδειχθεί σε *in vitro* μελέτες, ότι το ασκορβικό οξύ εμπλέκεται στην διέγερση της απελευθέρωσης της GnRH από το μεσοβασικό υποθάλαμο (Miller, 1986), και στην αύξηση της έκφρασης της pro-ANF mRNA και της απελευθέρωσης της ir-ANF από τους υποθαλαμικούς νευρώνες σε καλλιέργειες (Huang, 1992). Λίγα είναι γνωστά για τη βιοχημική δράση του ασκορβικού οξέος για τη συμμετοχή του στη βιοσύνθεση της β-ενδορφίνης στον υποθάλαμο. Αν και το ασκορβικό οξύ, όπως προαναφέρθηκε συμμετέχει στη μετα-μεταφραστική επεξεργασία των πρόδρομων μορίων των βλεννογόνων ορμονών και των υποθαλαμικών νευροορμονών, όπως το αMSH και TRH, μέσω της α-αμιδωμένης πεπτιδογλυκίνης (PAM) (Eipper, 1983 και Mains, 1987). Το ασκορβικό οξύ διαδραματίζει επίσης και ένα άλλο σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση της νευροενδοκρινούς λειτουργίας με τη διευκόλυνση της παραγωγής και απελευθέρωσης των νευροορμονών μέσω της ενίσχυσης της απόκρισης του συστήματος adenylyl cyclase-cAMP (Eipper, 1991).

Η βασική εξήγηση της βιοχημικής διαδικασίας που εμπλέκει το ασκορβικό οξύ σε αυτά τα βιολογικά γεγονότα στο επίπεδο του υποθαλάμου παραμένει ασαφής και χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση.

Μια θεωρητική ερμηνεία των πολλαπλών δράσεων του ασκορβικού οξέος στην συνολική απάντηση του οργανισμού στο οξύ και χρόνιο stress σχετίζεται με την έννοια, ότι κάθε καταπόνηση αναγκαστικά εμπεριέχει μια οξειδωτική συνιστώσα, καθόσον η διαταραχή που εισβάλλει στον οργανισμό επιφέρει αύξηση της ταχύτητας των κυτταρικών φθορών. Για την διατήρηση ενός καλού επιπέδου λειτουργιών ο οργανισμός είναι υποχρεωμένος να αυξήσει το επίπεδο των συνθέσεων του και συνεπώς το επίπεδο της αναπνευστικής παραγωγής ενέργειας.

## ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

### ΕΘΕΛΟΝΤΕΣ ΚΑΙ ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ ΑΥΤΩΝ

Για την πραγματοποίηση αυτής της μελέτης χρησιμοποιήθηκαν **25** αθλητές δύναμης, του ίδιου επιπέδου, άρρενες, μέσης ηλικίας 28 ετών καθώς επίσης και **10** υγιείς, ενήλικες μη αθλούμενοι. Δέκα ημέρες πριν την έναρξη των δοκιμών όλοι οι συμμετέχοντες στη μελέτη τυποποιήθηκαν διατροφικά σε συγκεκριμένο σιτηρέσιο, το οποίο περιλάμβανε όλους τους τυπικούς διατροφικούς συνδυασμούς (πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, λιπίδια) σε συγκεκριμένες αναλογίες. Η συνολική ποσότητα των προσλαμβανόμενων θερμίδων ημερησίως από κάθε άτομο ανερχόταν στις 2800-3200 Kcal. Η πηγή των βιταμινών αντιπροσωπευόταν από φρούτα και λαχανικά εποχής. Καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης δεν σημειώθηκαν ουσιώδεις παρεκκλίσεις από το βασικό διαιτολόγιο. Επίσης, δεν έγινε χρήση προϊόντων ζαχαροπλαστικής. Κατά το αυτό χρονικό διάστημα και οι δύο ομάδες δεν έλαβαν κανένα φάρμακο, ούτε κάποιο συμπλήρωμα διατροφής, όπως επίσης είχαν αποχή και από την κατανάλωση οινοπνευματωδών ποτών. Οι αθλητές χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, **την πρώτη ομάδα ασκορβικού** (14 άτομα) και **την δεύτερη ομάδα ελέγχου των αθλητών** (11 άτομα). Οι υπόλοιποι 10 μη αθλητές εθελοντές λειτούργησαν ως **τρίτη ομάδα ελέγχου των ελέγχων**. Η διατροφική τυποποίηση και αυτών των ατόμων υπήρξε η ίδια με την ομάδα των αθλητών, ενώ η μέση ηλικία ήταν η ίδια με των αθλητών.

## ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΕΣ (ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ ΚΑΙ ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ)

Αρχικά έγινε αιμοληψία σε όλους τους εθελοντές και των τριών ομάδων **13 ml** αίματος σε χρόνο **T<sub>0</sub>**. Στη συνέχεια στην πρώτη ομάδα των αθλητών (14 άτομα), σε κάθε άτομο ξεχωριστά, χορηγήθηκε ενδοφλεβίως (IV) ποσότητα 3 gr ασκορβικού οξέος σε διάλυμα γλυκόζης 250cc 5% (glucose 5%), έγχυση σε μισή ώρα. Οι αθλητές παρέμειναν επί μισή ώρα κλινήρεις και στη συνέχεια τους έγινε εκ νέου αιμοληψία **13 cc** σε χρόνο **T<sub>1</sub>**. Στους αθλητές της δεύτερης και της τρίτης ομάδας δεν χορηγήθηκε ασκορβικό οξύ, έλαβαν όμως μέρος στην αιμοληψία μαζί με την πρώτη ομάδα σε χρόνο **T<sub>1</sub>**. Μετά το τέλος της δεύτερης αιμοληψίας όλοι οι αθλητές (πρώτη και δεύτερη ομάδα) τέθηκαν σε άσκηση, η οποία αρχικά ήταν αερόβια και κατόπιν έγινε αναερόβια (αύξηση της προσπάθειας). Όταν έφτασαν στο μέγιστο της αναερόβιας άσκησης διέκοψαν και ξαναέγινε αιμοληψία **10 ml** αίματος άμεσα σε χρόνο **T<sub>2</sub>**. Αιμοληψία σ' αυτό το χρόνο έγινε και στους μη αθλούμενους που αποτελούσαν την τρίτη ομάδα. Τέλος έγινε άλλη μια αιμοληψία των **12 ml** μια ώρα μετά την διακοπή της άσκησης σε χρόνο **T<sub>3</sub>** τόσο στους αθλητές όσο και στους μη αθλητές.

Οι αθλητές υποβλήθηκαν στην ίδια αγωγή χωρίς να λάβουν κανένα σκεύασμα ασκορβικού οξέος μέχρι την ημέρα που διεξάχθηκε το πείραμα. Οι μη αθλητές που χρησιμοποιήθηκαν δεν έλαβαν επίσης καθόλου ασκορβικό οξύ τόσο πριν την διεξαγωγή του πειράματος, όσο και κατά την διάρκεια αυτού. Η πρώτη ομάδα έλαβε ασκορβικό ενδοφλέβια κατά την διεξαγωγή του πειράματος και στη συνέχεια ασκήθηκε ενώ η δεύτερη ομάδα των αθλητών δεν έλαβε ασκορβικό αλλά ασκήθηκε μαζί με την πρώτη ομάδα των αθλητών και χρησιμοποιήθηκε ως ομάδα ελέγχου των αθλητών. Η τρίτη ομάδα συμμετείχε στις ίδιες αιμοληψίες μαζί με τους αθλητές χωρίς να ασκηθεί και χρησιμοποιήθηκε ως ομάδα ελέγχου των ελέγχων.

**Η επεξεργασία των δειγμάτων έγινε ως εξής.** Όλες οι αιμοληψίες έγιναν με φλεβοκέντηση και τοποθέτηση πλαστικού φλεβοκαθετήρα 22 G ο οποίος δεν ηπαρινίστηκε. Τα δείγματα του αίματος διαμοιράστηκαν ταχέως σε πλαστικούς δοκιμαστικούς σωλήνες (4 ml σε σωλήνα Wassermann, 2ml σε σωλήνα γενικής αίματος με αντιπηκτικό EDTA και το υπόλοιπο σε δοκιμαστικό σωλήνα με αντιπηκτικό κιτρικών σε ξηρά μορφή). Το αίμα που συλέχθηκε στον δοκιμαστικό σωλήνα των κιτρικών, ανακινήθηκε ήπια μερικές φορές ώστε το αντιπηκτικό να



διαλυθεί παντού και κατόπι φυγοκεντρήθηκε στις 4000 στροφές για 20 min σε ψυκτική φυγόκεντρο 4°C, ώστε όλα τα έμμορφα συστατικά να κατακρημνιστούν και να διαχωριστεί το πλάσμα. Κατόπιν το πλάσμα αναρροφήθηκε προσεκτικά με ορολογικό σιφώνιο του 1 ml και τοποθετήθηκε σε φιαλίδια βαθιάς κατάψυξης (κρυοφιαλίδια των 2 ml), τα οποία βρισκόταν ήδη τοποθετημένα σε παγόλουτρο θερμοκρασίας μηδέν βαθμών. Κατόπιν όλα τα κρυοφιαλίδια με το πλάσμα του αίματος τοποθετήθηκαν σε υγρό άζωτο και φυλάχθηκαν εκεί μέχρι την ημέρα της χρησιμοποίησής τους για τον προσδιορισμό των ενδορφινών. Τα υπόλοιπα δείγματα χρησιμοποιήθηκαν για βιοχημικό έλεγχο ρουτίνας μ' ένα σύστημα πολλαπλών αναλύσεων και έναν αναλυτή αίματος (αυτόματο νοσοκομειακό κυτταρομετρητή). Το ασκορβικό και δεϋδροασκορβικό οξύ μετρήθηκαν από τα δείγματα που τέθηκαν στο υγρό άζωτο. Πριν την τοποθέτηση των παραπάνω δειγμάτων στο υγρό άζωτο, το αίμα επεξεργάστηκε προκειμένου να εκχειλιστούν το ασκορβικό και δεϋδροασκορβικό οξύ που περιεχόταν σε αυτά. Η επεξεργασία περιγράφεται αναλυτικά παρακάτω.

**Οι παράμετροι είναι οι εξής:** πλήρης αιματολογικός και βιοχημικός έλεγχος, μέτρηση επιπέδων ασκορβικού οξέος και δεϋδροασκορβικού οξέος καθώς και μέτρηση επιπέδων β-ενδορφίνης.

Εκτιμήθηκε το ύψος και ο όγκος της άσκησης όπως και η ταχύτητα αποκατάστασης.

## ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΚΑΙ ΔΕΥΔΡΟΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

A) Το **ασκορβικό οξύ** αναλύθηκε με την εξής μέθοδο η οποία ελήφθη από το βιβλίο «CRC Handbook of Free Radicals and Antioxidants in Biomedicine». Η μέθοδος περιγράφηκε από τον C S Tsao το 1989. Ένας όγκος αίματος (1 έως 2 ml) με αντιπηκτικό EDTA τοποθετήθηκε σε δοκιμαστικό σωλήνα που περιείχε τριπλάσιο όγκο ενός διαλύματος τριχλωροξεικού οξέος 6% κ.β. Το φιαλίδιο πωματίστηκε και στη συνέχεια ανακινήθηκε ισχυρά επί 5 min ώστε να προκύψει πλήρης λύση των εμμόρφων συστατικών του αίματος και απελευθέρωση του περιεχομένου τους στο διάλυμα. Μετά την εκχύλιση το παρασκεύασμα του αίματος-τριχλωροξεικού οξέος φυγοκεντρίθηκε στις 4000 στροφές ανά λεπτό για 20 λεπτά σε ψυκτική φυγόκεντρο θερμοκρασίας 4° C, ώστε να γίνει πλήρης κατακρήμνιση όλων των συστατικών του αίματος και διαχώριση της στοιβάδας που περιείχε το τριχλωροξεικό και το πλάσμα. Όλο το υπερκείμενο που λήφθηκε τοποθετήθηκε σε αεροστεγανά φιαλίδια από πλαστική ουσία, ενώ στον αεροθάλαμο κάθε φιαλιδίου έγινε εμφύσηση ποσότητας Αργού πριν τον πωματισμό, ώστε να αποφευχθούν, όσο το δυνατόν περισσότερο, οι οξειδώσεις. Όλοι οι πιο πάνω χειρισμοί έγιναν σε ψυχρό δωμάτιο θερμοκρασίας 0 – 4 °C. Τα δείγματα αμέσως μετά τοποθετήθηκαν σε δοχείο υγρού αζώτου και φυλάχθηκαν εκεί μέχρι την μέτρηση τους. Η μέτρηση έγινε σε χρονικό διάστημα λίγων ημερών έως μερικών εβδομάδων μετά την αιμοληψία και την περιγραφείσα προπαρασκευή του αίματος.

Η συνολική διαδικασία του προσδιορισμού του ασκορβικού και δευδροασκορβικού οξέος είχε ως εξής:

Τα φιαλίδια με το εκχύλισμα του αίματος και το τριχλωροξεικό οξύ ανασύρθηκαν από το υγρό άζωτο και αφέθηκαν να έλθουν σε θερμοκρασία δωματίου (20°C). Κατόπι μια ποσότητα από το εκχύλισμα φυλάχθηκε σε έναν δοκιμαστικό σωλήνα για τον προσδιορισμό του δευδροασκορβικού οξέος (δηλαδή του οξειδωμένου ασκορβικού μέχρι την βαθμίδα του δευδροασκορβικού) ενώ το υπόλοιπο του εκχυλίσματος οξειδώθηκε από μια μικρή ποσότητα νορίτη (ενεργοποιημένος άνθρακας) μετά από ισχυρή ανάδευση διάρκειας 10 λεπτών.

Μετά την ανάδευση και οξείδωση του εκχυλίσματος, έγινε φυγοκέντριση και συλλογή του υπερκείμενου. Κατόπιν το υπερκείμενο φιλτραρίστηκε με χάρτινο

φίλτρο διήθησης ώστε να κατακρατηθεί ο νορίτης και τα υπόλοιπα αιωρούμενα λεπτά στερεά. Το διήθημα συλλέχθηκε σε μικρά ποτήρια ζέσεως τοποθετημένα σε θρυμματισμένο πάγο ώστε η θερμοκρασία του περιεχομένου να παραμένει στους 0°C. Κατόπιν μια ποσότητα 1 ml του διαυγούς και καθαρού διηθήματος τοποθετήθηκε σε πυρίμαχο δοκιμαστικό σωλήνα παρουσία 0,250 ml διαλύματος 2,4-δινιτροφαινόλης, πωματίστηκε ερμητικά και μπήκε σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37°C, επώαστηκε για τέσσερες ώρες, προκειμένου να γίνει αντίδραση του δεϋδροασκορβικού. Κατόπιν οι δοκιμαστικοί σωλήνες αποσφραγίστηκαν, τέθηκαν σε πάγο και προστέθηκε στάγδην ποσότητα θεικού οξέος (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 85% με τα δείγματα τοποθετημένα στον πάγο για την αποφυγή υπερθέρμανσης. Στη συνέχεια μετά από ήπια ανάδευση, οι δοκιμαστικοί σωλήνες τοποθετήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για να ισορροπήσουν θερμικά και ακολούθησε μέτρηση της οπτικής απορρόφησης τους σε φασματοφωτόμετρο στα 512 nm με την χρήση κατάλληλης κυψελίδας. Μερικές φορές οι δοκιμαστικοί σωλήνες μετά την προσθήκη του θεικού οξέος δεν αφήνοταν στην θερμοκρασία δωματίου αλλά μετρούνταν αμέσως ώστε να μην προκύψει ανάπτυξη θολερότητας του διαλύματος.

**B) Το δεϋδροασκορβικό οξύ** προσδιορίστηκε με τα ίδια παραπάνω βήματα, στα οποία δεν έγινε οξείδωση με νορίτη αλλά άμεση χορήγηση του διαλύματος της 2,4-δινιτροφαινόλης και επώαση στο υδατόλουτρο στους 37 ° C. Η μεθοδολογία μέτρησης της οπτικής πυκνότητας έγινε στο φασματοφωτόμετρο στο ίδιο μήκος κύματος όπως και τα ανωτέρω. Κατόπιν έχοντας τις τιμές του ασκορβικού και του δεϋδροασκορβικού οξέος υπολογίστηκε ο αριθμητικός λόγος τους (ασκορβικό/ δεϋδροασκορβικό). Η ύπαρξη μιας υψηλής τιμής στον λόγο σήμαινε μείωση της οξείδωσης του οργανισμού ενώ η μείωση του λόγου σήμαινε αύξηση της αναγωγής του οργανισμού.

Για την παρασκευή των αντιδραστηρίων ακολούθησε η εξής διαδικασία:

α) Διάλυμα Τριχλωροξεικού Οξέος (TCA): Μια ποσότητα 6 γραμμαρίων TCA ζυγίστηκε σε ζυγό ακριβείας και στη συνέχεια διαλύθηκε με μικρή ποσότητα δισαπεσταγμένου ύδατος. Μετά την πλήρη διάλυση του TCA προστέθηκε μια κατάλληλη ποσότητα δισαπεσταγμένου ύδατος ώστε ο τελικός όγκος του διαλύματος να είναι ίσος προς 100 ml.

β) Διάλυμα 2,4-δινιτροφαινόλης (DNP): Μια ποσότητα δινιτροφαινόλ-υδραζίνης διαλύεται σε 100ml διαλύματος θειικού οξέος 9N. Το διάλυμα τέθηκε σε σκοτεινή φιάλη και ανακινήθηκε αργά για 12 ώρες (over night). Στη συνέχεια έγινε διήθηση του διαλύματος με πυκνό φίλτρο Whitman. Ένα μέρος διαλύματος θειουρίας διαλύθηκε σε 10 μέρη διηθήματος DNPH και το διάλυμα αυτό ήταν η χρωστική που χρησιμοποιήθηκε για την τελική αντίδραση του δεϋδροασκορβικού. Το τελικό αυτό διάλυμα χρησιμοποιήθηκε για την τελική αντίδραση με το δεϋδροασκορβικό οξύ για το σχηματισμό του τελικού υδρανοζικού προϊόντος του δεϋδροασκορβικού οξέος και της δινιτροφαινόλ-υδραζίνης το οποίο απορροφά ισχυρά στα 515 nm.

γ) Διάλυμα θειουρίας: 10gr θειουρίας διαλύονται σε 50ml απόλυτης αιθανόλης και στη συνέχεια συμπληρώνεται με την απαιτούμενη ποσότητα δισαπεσταγμένου ύδατος ώστε ο τελικός όγκος του διαλύματος να φτάσει στα 100 ml.

## ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΙΠΕΔΩΝ Β-ΕΝΔΟΡΦΙΝΗΣ ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

Για τον προσδιορισμό των επιπέδων της β-ενδορφίνης ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία:

Εκχύλιση των πρωτεϊνών με την χρήση σιλικικού οξέος: Το πλάσμα του αίματος (1ml/δείγμα) εκχυλίστηκε παρουσία 50 mgr σιλικικού οξέος για μια ώρα χρησιμοποιώντας ένα περιστροφικό αναμείκτη. Στη συνέχεια έγινε έκπλυση με δισαπεσταγμένο νερό (3 ml) και τα πεπτίδια επανεκχυλίστηκαν με ένα διάλυμα ακετόνης-υδροχλωρικού οξέος (0,1 N) σε αναλογία 8:2 (ολικός όγκος 2 ml). Το εκχύλισμα κάθε δείγματος ξηράνθηκε σε συσκευή λυοφυλίσωσης και στη συνέχεια επαναιωρήθηκε σε 0,5 ml οξικού οξέος 0,1 N, εμπλουτισμένο με 0,01% βόεια λευκωματίνη ορού (BSA).

Το εκχύλισμα που προέκυψε, εφαρμόστηκε σε στήλη Sephadex G-75 (1,5X45 cm) και εκλούστηκε με το ίδιο διάλυμα. Η έκλυση πραγματοποιήθηκε σε ψυχρό θάλαμο. Βάσει των αποτελεσμάτων που έδωσε η χρώση των πεπτιδίων με ιώδιο ελήφθησαν δύο διαφορετικά κλάσματα 18 ml εκ των οποίων, το πρώτο χρησιμοποιήθηκε από άλλους ερευνητές και το δεύτερο από εμάς για τον προσδιορισμό της β-ενδορφίνης. Το δείγμα αυτό, ξηράνθηκε μέσω διαδικασίας λυοφυλίσωσης (εξάτμιση του περιεχόμενου ύδατος, υπό κενό σε πολύ χαμηλή θερμοκρασία). Τα λυοφυλιωμένα δείγματα ανασυστάθηκαν με τη χρησιμοποίηση ρυθμιστικού διαλύματος 0,5 ml φωσφορικών 0,12 M εμπλουτισμένο με 0,1% BSA (Bovine Serum Albumin) και pH 7,4. Η ποσότητα της β-ενδορφίνης που ανακτήθηκε μετά την εκχύλιση και την χρωματογραφία ήταν του επιπέδου του  $64,8 \pm 6,8 \%$ .

Ο προσδιορισμός των επιπέδων της β-ενδορφίνης έγινε με ραδιοανοσολογική μέθοδο χρησιμοποιώντας την συνθετική ενδορφίνη της εταιρίας Organon Oss, NL για την καμπύλη αναφοράς και την χρώση. Χρησιμοποιήθηκε επίσης ραδιοσημασμένο αντίσωμα κουνελιού το οποίο ελήφθη από την ίδια εταιρία. Για τον προσδιορισμό της ενσωμάτωσης του ραδιενεργού αντισώματος στο υπόστρωμα, χρησιμοποιήθηκε το σύστημα γ-κάμερας NUCLEUS 100. Η ευαισθησία της μέτρησης είναι ίση προς 1 fM ( $10^{-15}$  M).

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### ΕΠΙΠΕΔΑ ΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΚΑΙ ΔΕΥΔΡΟΑΣΚΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΥ ΣΤΟ ΑΙΜΑ ΑΘΛΗΤΩΝ ΚΑΙ ΜΗ ΑΘΛΗΤΩΝ

**Ομάδα αθλητών χωρίς ασκορβικό οξύ (δεύτερη ομάδα).** Τα επίπεδα ασκορβικού οξέος των αθλητών που έλαβαν βιταμίνη C μόνο από τη διατροφή που τους είχε προδιαγραφεί, ήταν αρκετά ψηλά. Στην πρώτη αιμοληψία και σε χρόνο  $T_0$  είχαν μια μέση τιμή ασκορβικού οξέος ίση προς  $69,18 \pm 5,5\mu\text{M}$ . Η τιμή του δευδροασκορβικού οξέος είναι παραπλήσια και ίση προς  $58,69 \pm 7,8\mu\text{M}$ . Στη δεύτερη αιμοληψία και σε χρόνο  $T_1$  το ασκορβικό οξύ παραμένει ουσιαστικά αμετάβλητο με μέση τιμή ίση προς  $68,6 \pm 4,45\mu\text{M}$ , ενώ η τιμή του δευδροασκορβικού ισούται προς  $61,1 \pm 4,6 \mu\text{M}$ . Αμέσως μετά τη μέγιστη άσκηση, στην τρίτη αιμοληψία και σε χρόνο  $T_2$  η τιμή του ασκορβικού εμφανίζει μια μικρή ελάττωση η οποία όμως δεν είναι αξιόλογη,  $61.8 \pm 5,8\mu\text{M}$  ενώ του δευδροασκορβικού αυξάνεται στα  $72,18 \pm 5,1\mu\text{M}$ . Στην τέταρτη αιμοληψία (μια ώρα μετά τη διακοπή της άσκησης) και σε χρόνο  $T_3$  το ασκορβικό επαναπροσεγγίζει την αρχική του τιμή,  $70.9 \pm 3,1 \mu\text{M}$  ενώ το δευδροασκορβικό εξακολουθεί να παραμένει σε υψηλό επίπεδο ( $68 \pm 1,9 \mu\text{M}$ ). (Πίνακας 1 και 2)

Τα δεδομένα αυτά υποδεικνύουν ότι η οξειδωτική ένταση που συνοδεύει τη βαριά μυική εργασία δεν διαταράσσει ουσιαστικά τα επίπεδα του ασκορβικού οξέος ούτε το λόγο ασκορβικού προς δευδροασκορβικό στα αθλούμενα άτομα, που έχουν μακροχρόνια επαρκή πρόσληψη βιταμίνης C από το διατροφικό πρόγραμμα που ακολουθούν.

**Ομάδα αθλητών με ασκορβικό οξύ (πρώτη ομάδα).** Τα επίπεδα του ασκορβικού οξέος σε χρόνο  $T_0$ , πριν τη χορήγηση βιταμίνης C ήταν ίσα προς  $72.6 \pm 4,65\mu\text{M}$ , ενώ τα αντίστοιχα του δευδροασκορβικού ήταν  $58 \pm 9.28\mu\text{M}$ . Μισή ώρα μετά την ενδοφλέβια χορήγηση του ασκορβικού οξέος και σε χρόνο  $T_1$ , τα επίπεδά του, εκτοξευθήκαν στο σημείο των  $872 \pm 23,66\mu\text{M}$ , ενώ του δευδροασκορβικού σχεδόν εξαφανίστηκαν  $8,45 \pm 3,41\mu\text{M}$  (στα όρια ανιχνευσιμότητας της μεθόδου). Αμέσως μετά την άσκηση και σε χρόνο  $T_2$  τα επίπεδα του ασκορβικού σημείωσαν πτώση στο σημείο των  $678 \pm 41\mu\text{M}$ , ενώ του δευδροασκορβικού σημείωσαν μικρή αύξηση, φτάνοντας στα  $65,6 \pm 6,5\mu\text{M}$ . Μία

ώρα μετά την άσκηση και σε χρόνο  $T_3$  έχουμε ακόμη μεγαλύτερη μείωση των επιπέδων του ασκορβικού οξέος στα  $327,54 \pm 27,56 \mu\text{M}$ , ενώ τα επίπεδα του δεϋδροασκορβικού παρέμειναν στο σημείο των  $62,6 \pm 5,3 \mu\text{M}$ . (Πίνακας 3 και 4)

**Ομάδα μη αθλουμένων.** Στην τρίτη ομάδα των μη αθλούμενων εθελοντών, που δεν έλαβαν ασκορβικό ενδοφλεβίως παρά μόνο από την διατροφή τους, σε χρόνο  $T_0$  τα επίπεδα του ασκορβικού οξέος ήταν ίσα προς  $84 \pm 4,1 \mu\text{M}$ , ενώ τα αντίστοιχα του δεϋδροασκορβικού ήταν  $58 \pm 6,46 \mu\text{M}$ , κατά την πρώτη αιμοληψία. Στην δεύτερη αιμοληψία σε χρόνο  $T_1$  και χωρίς να χορηγηθεί βιταμίνη C, τα επίπεδα του ασκορβικού ήταν  $82 \pm 4,2 \mu\text{M}$  και του δεϋδροασκορβικού  $59,4 \pm 5,08 \mu\text{M}$ . Στην τρίτη αιμοληψία και σε χρόνο  $T_2$  χωρίς να προηγηθεί άσκηση, το ασκορβικό ήταν  $80 \pm 6,5 \mu\text{M}$  και το δεϋδροασκορβικό  $60,5 \pm 1,8 \mu\text{M}$ . Τέλος στη τέταρτη αιμοληψία και σε χρόνο  $T_3$  τα επίπεδα του ασκορβικού ήταν  $82,9 \pm 3,6 \mu\text{M}$  και του δεϋδροασκορβικού  $62,6 \pm 6,3 \mu\text{M}$ . (Πίνακας 5 και 6)

Στο σύνολο των τεσσάρων δειγμάτων αίματος τα οποία ελήφθησαν από τον καθένα μη αθλητή (εθελοντή), δεν σημειώθηκε μεταβολή των επιπέδων του ασκορβικού και του δεϋδροασκορβικού. Ωστόσο πρέπει να σημειωθεί ότι οι προσδιορισμοί του ασκορβικού και δεϋδροασκορβικού υποδεικνύουν ότι για κάθε άτομο, υπάρχει ένα χαρακτηριστικό επίπεδο γύρω από το οποίο περιστρέφονται οι διακυμάνσεις του ασκορβικού και δεϋδροασκορβικού οξέος.

## ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ ΤΗΣ Β-ΕΝΔΟΡΦΙΝΗΣ ΣΤΟ ΑΙΜΑ ΑΘΛΗΤΩΝ ΚΑΙ ΜΗ ΑΘΛΗΤΩΝ

**Α) Ομάδα αθλητών που δεν έλαβαν ασκορβικό (δεύτερη ομάδα).** Οι αθλητές που δεν έλαβαν ασκορβικό οξύ κατά την πρώτη αιμοληψία και σε χρόνο  $T_0$ , παρουσίασαν επίπεδα β-ενδορφίνης στο πλάσμα, ίσα προς  $6 \pm 1fM$ . Στην δεύτερη αιμοληψία (χωρίς ενδοφλέβια λήψη ασκορβικού) και σε χρόνο  $T_1$ , τα επίπεδα της β-ενδορφίνης ανέβηκαν στα  $7 \pm 1,18fM$ . Αμέσως μετά την βαριά μυική εργασία και σε χρόνο  $T_2$ , τα επίπεδα της β-ενδορφίνης αυξήθηκαν σημαντικά και έφτασαν στο σημείο των  $10 \pm 1,16 fM$ . Τελικά, τα επίπεδα της β-ενδορφίνης στο πλάσμα που προέκυψαν από την τέταρτη αιμοληψία και σε χρόνο  $T_3$ , μειώθηκαν στα  $8 \pm 1fM$ . (Πίνακας 7)

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η β-ενδορφίνη αυξάνεται κατά τη διάρκεια έντονης άσκησης και μάλιστα διατηρείται σε ψηλότερα επίπεδα από τα αρχικά και μετά το πέρας αυτής.

**Β) Ομάδα αθλητών που έλαβε ασκορβικό οξύ (πρώτη ομάδα).** Οι αθλητές που έλαβαν ασκορβικό οξύ παρουσίασαν κατά την πρώτη αιμοληψία και σε χρόνο  $T_0$ , επίπεδα ενδορφίνης περίπου ίσα με τους αθλητές της δεύτερης ομάδας ελέγχου των αθλητών,  $6,36 \pm 1,18fM$ . Τα επίπεδα της β-ενδορφίνης, τα οποία ανιχνεύτηκαν στο πλάσμα του αίματος που λήφθηκε στην δεύτερη αιμοληψία μισή ώρα μετά την ενδοφλέβια χορήγηση ασκορβικού οξέος σε χρόνο  $T_1$ , παρουσίασαν σαφή άνοδο σε σχέση τόσο με εκείνα της πρώτης αιμοληψίας, όσο και με τα αντίστοιχα της δεύτερης αιμοληψίας στην ομάδα ελέγχου των αθλητών. Τα επίπεδα ήταν ίσα προς  $9 \pm 2fM$ . Μετά το τέλος της βαριάς μυικής εργασίας και σε χρόνο  $T_2$ , τα επίπεδα της β-ενδορφίνης ανεβαίνουν ακόμη ψηλότερα και προσεγγίζουν τα  $15 \pm 1,34fM$ . Τέλος, στο πλάσμα του αίματος της τέταρτης αιμοληψίας σε χρόνο  $T_3$  φάνηκε ότι τα επίπεδα της β-ενδορφίνης εξακολουθούσαν να παραμένουν πολύ υψηλά σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή της ομάδας ελέγχου και ήταν ίσα προς  $12 \pm 2,7fM$ . (Πίνακας 8)

**Γ) Ομάδα μη αθλουμένων (τρίτη ομάδα, έλεγχοι των ελέγχων).** Η ομάδα των μη αθλουμένων παρουσιάζει ένα προφίλ μικρής διακύμανσης των επιπέδων της β-ενδορφίνης στο πλάσμα του αίματος, που ελήφθησαν και στις τέσσερες αιμοληψίες. Οι αντίστοιχες τιμές της β-ενδορφίνης στις τέσσερες αιμοληψίες ήταν:



Σε χρόνο  $T_0$  τα επίπεδα της β-ενδορφίνης ήταν  $6 \pm 1,48fM$ , σε χρόνο  $T_1$  τα επίπεδα ήταν  $7 \pm 1,73fM$ , σε χρόνο  $T_2$  τα επίπεδα ήταν  $5 \pm 1fM$  και σε χρόνο  $T_3$  τα επίπεδα ήταν  $6 \pm 1,41fM$ . (Πίνακας 9)

Δεν παρουσιάστηκαν μεγάλου εύρους μεταβολές, σε όλα τα δείγματα των ατόμων που ελέγχθηκαν.

Όλα τα ανωτέρω δεδομένα παρουσιάζονται αναλυτικά στους πίνακες που ακολουθούν.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με τη μέθοδο student's t-test με όριο στατιστικής σημαντικότητας  $p < 0,05$ .

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι ενδορφίνες από ό,τι αναφέρεται στην υπάρχουσα διεθνή βιβλιογραφία και έχει προαναφερθεί, είναι ουσίες οι οποίες παράγονται από το ΚΝΣ για την ενδογενή αντιμετώπιση επώδυνων καταστάσεων. Οι φυσιολογικές τους δράσεις φαίνεται ότι δεν περιορίζονται στη ρύθμιση της αίσθησης του πόνου αλλά αφορούν και άλλα συστήματα, όπως π.χ το κυκλοφορικό σύστημα. Το γεγονός ότι το εξειδικευμένο mRNA, που κωδικοποιεί τη σύνθεσή τους στα ριβοσώματα, περιέχει επίσης την πληροφορία για τη σύνθεση και της ACTH (η οποία με την σειρά της διεγείρει τον φλοιό των επινεφριδίων για την παραγωγή κορτιζόνης), υποδεικνύει ότι ο ρόλος των ενδορφινών βρίσκεται σε συνάφεια με την αντιμετώπιση της έντασης (stress) κατά γενικότερο τρόπο.

Αυτό σημαίνει ότι ένας οργανισμός, που βρίσκεται σε φυσική κατάσταση, αντιμετωπίζει τις διάφορες προσβολές με μια γενικευμένη κινητοποίηση των εφεδρειών του (Jansen, 1995 και Udelsman, 1994). Ωστόσο αυτή η κινητοποίηση δεν πρέπει να παρατείνεται υπερβολικά και πρέπει να μετριάζεται σύντομα, εφόσον η αντιμετώπιση της προσβολής έχει πραγματοποιηθεί, αφού η περαιτέρω συνέχιση του συναγερμού είναι απρόσφορη (Sternberg, 1992 και Henry, 1992). Για παράδειγμα η φυγή μπροστά σε έναν κίνδυνο ή η πάλη με έναν αντίπαλο πυροδοτούν μια αντίδραση γενικευμένης κινητοποίησης του οργανισμού στο έπακρο των δυνατοτήτων του, προκειμένου να διασωθεί (Jansen, 1995). Η αντίδραση αυτή, γνωστή και ως αντίδραση «πάλης ή φυγής» (fight or flight), όπως περιγράφηκε από τον Cannon, είναι υποθαλαμικής προέλευσης και δημιουργεί την κορυφαία κινητοποίηση όλων των εφεδρειών του οργανισμού ώστε να εξασφαλιστεί η επιβίωση είτε με φυγή είτε με σύγκρουση (Jansen, 1995). Η αντίδραση αυτή δημιουργεί βαθύτατες και εντυπωσιακές μεταβολές στις λειτουργίες. Η κυκλοφορία εντείνεται και το αίμα κατανέμεται με διαφορετικό τρόπο από εκείνον που ακολουθεί στην ηρεμία ως εξής:

α) Στο μυϊκό σύστημα για επαρκέστερη τροφοδοσία του, ώστε να ανταπεξέλθει στην ανάγκη εκτέλεσης βαριάς ή ακόμη και βαρύτερης εργασίας εφόσον οι περιστάσεις το απαιτήσουν.

β) Στον εγκέφαλο (αύξηση της αρτηριακής πίεσης, της συχνότητας του σφυγμού), για τη μεγιστοποίηση των νευρολογικών και ψυχικών λειτουργιών οι

οποίες εντείνονται στο έπακρο, εξ αιτίας της διέγερσης που προκαλούν οι κατεχολαμίνες.

γ) Στους πνεύμονες, οι οποίοι κινητοποιούν όλες τις εφεδρείες τους καθώς διανοίγονται όλα τα τριχοειδή ώστε να χρησιμοποιηθούν όλες οι κυψελίδες για την επίτευξη μέγιστης οξυγόνωσης του αίματος.

δ) Το αίμα απάγεται από τις αιματοποθήκες του σώματος και από εκείνα τα τμήματά των οποίων οι λειτουργίες μπορούν να μειωθούν πρόσκαιρα ώστε να εξυπηρετηθεί ο υπέρτερος στόχος της διάσωσης του οργανισμού.

Έτσι τα δερματικά αγγεία συσπώνται, όπως επίσης συσπώνται και τα αγγεία των σπλάχνων του πεπτικού συστήματος, οπότε οι μεν φλέβες διοχετεύουν το περιεχόμενό τους στην κεντρική κυκλοφορία, τα δε συσπασμένα αρτηριόλια επιτρέπουν μόνο μια ελάχιστη τροφοδοσία στο δέρμα και στο πεπτικό ή ακόμη και πλήρη ισχαιμία. Η χαρακτηριστική ωχρότητα ενός ανθρώπου που δέχεται μια αιφνίδια επίθεση ή επιτίθεται ο ίδιος, είναι αποτέλεσμα αυτής της αναδιανομής της κυκλοφορίας. Η ωχρότητα και το τράβηγμα των μυών του προσώπου ώστε να προβάλλεται περισσότερο το ρύγχος και να αποκαλύπτονται τα δόντια είναι σαφέστατα σημεία ότι το άτομο επιτίθεται. Μαζί με την επιτάχυνση της κυκλοφορίας (ταχυκαρδία και αύξηση της πίεσης) επιταχύνεται και βαθαίνει η αναπνοή, ώστε η οξυγόνωση να γίνει πολλαπλάσια της οξυγόνωσης ηρεμίας, ενώ οι νευρολογικές και ψυχικές λειτουργίες εντείνονται στο έπακρο. Η αίσθηση της κόπωσης εξαφανίζεται ακαριαία.

Αυτή η υπέρτατη κινητοποίηση του οργανισμού λαμβάνει χώρα μόνο «στην φυγή ή στην πάλη» (fight or flight) και η σκοπιμότητά της είναι απόλυτα σαφής, εφόσον εδώ διακυβεύεται η επιβίωση του οργανισμού. Ωστόσο η αντίδραση αυτή δεν είναι χωρίς κόστος για τον οργανισμό (Udelsman, 1994, Sternberg 1992, Dohms, 1991, Henry, 1992, Holsboer 1981, de Kloet, 2003, Keel, 2005, Cristopher, 2004). Ένας από τους σοβαρότερους κινδύνους αυτής της αντίδρασης είναι το οξειδωτικό stress, που δημιουργείται εξ αιτίας της εντατικοποίησης των αναπνευστικών φαινομένων και των οξειδώσεων στο επίπεδο των μιτοχονδρίων. Στην ομαλή αναπνευστική λειτουργία σε ηρεμία, οι μιτοχονδριακές οξειδώσεις μετατρέπουν το 3% του χρησιμοποιούμενου οξυγόνου σε ελεύθερες ρίζες, οι οποίες μπορούν να εξουδετερωθούν από τα αντιοξειδωτικά συστήματα τόσο των μιτοχονδρίων όσο και του κυττάρου γενικότερα χωρίς να προκαλούν κάποια ιδιαίτερα προβλήματα οξειδωτικής φθοράς σε μικρό χρονικό διάστημα. Βεβαίως σε

μεγαλύτερο διάστημα, ακόμη και αυτή η σχετικά μικρή παραγωγή ενεργοποιημένων μορφών οξυγόνου στην ηρεμία προκαλεί πάντα πολύ μεγάλες μοριακές βλάβες στο γενετικό υλικό, οι οποίες αθροιστικά συνοψίζονται στην εικόνα του φυσιολογικού γήρατος (Miquel 1980 και Miquel 1986). Στην κατάσταση stress και συγκεκριμένα στην πλήρη ενεργοποίηση του σώματος, όπως συμβαίνει στην αντίδραση «πάλης ή φυγής», η κατανάλωση οξυγόνου από τον οργανισμό μπορεί να αυξηθεί ως και 30 φορές πάνω, οπότε και η ποσότητα ελευθέρων ριζών από τα μιτοχόνδρια πολλαπλασιάζεται τουλάχιστον για αυτόν τον παράγοντα. Από την άλλη πλευρά η παράταση της ισχαιμίας των σπλάχνων, όπως επίσης και τα φαινόμενα της ισχαιμίας και επαναιμάτωσης συνεισφέρουν κι αυτά με την σειρά τους στην παραγωγή αυξημένων ποσοτήτων ελευθέρων ριζών οι οποίες μπορεί να βλάψουν τα σπλάχνα του πεπτικού όπως και το δέρμα σε μεγάλη έκταση. Αν η προσπάθεια του οργανισμού γίνει υπερμέγιστη, δηλαδή αν όλος ο μεταβολισμός γίνει αναερόβιος, τότε αναγκαστικά η ισχαιμία γενικεύεται, οπότε το φαινόμενο της επαναιμάτωσης, άρα και η συνακόλουθη παραγωγή ελευθέρων ριζών επίσης γενικεύονται, οπότε αντιλαμβάνεται κανείς ότι οι κίνδυνοι μαζικών φθορών από οξειδωτικό stress επεκτείνονται σε όλο τον οργανισμό.

Συνεπώς είναι αναγκαίο, αυτή η υπερβολική αντίδραση να αυτοπεριορίζεται και να περατώνεται σε όσο το δυνατό μικρότερο διάστημα, γίνεται (Polani, 2004, Gilbert, 2004, Christopher, 2004 και Jansen, 1995). Η αύξηση των κορτικοστεροειδών ορμονών παράλληλα με το stress φαίνεται ότι έχει σαν σκοπό την προστασία του οργανισμού από τις αυξημένες φθορές καθώς μια πηγή ελευθέρων ριζών και προϊόντων τους (η οδός του αραχιδονικού οξέος) καταστέλλεται ισχυρά από την κορτιζόνη. Ενδεχομένως η ταυτόχρονη παραγωγή της αδρενοκορτικοτρόπου ορμόνης και της β-ενδορφίνης να έχει σαν στόχο και την αυτοκαταστολή της υπερβολικής αντίδρασης του οργανισμού καθώς οι ενδορφίνες έχουν και μια δράση κεντρικής καταστολής.

Είναι σημαντικό να επαναλάβουμε εδώ, ότι το ασκορβικό οξύ αποτελεί μια επιβοηθητική ουσία απαραίτητη για την σύνθεση τόσο των ενδορφινών, όσο των κατεχολαμινών αλλά και των στεροειδών ορμονών. Συνεπώς η παρουσία του είναι κρίσιμης σημασίας για όλα τα στάδια της απάντησης του οργανισμού στο stress. Από την άλλη πλευρά το ασκορβικό οξύ, όπως έχει προαναφερθεί, αποτελεί και το σημαντικότερο εκκαθαριστή ελευθέρων ριζών, των οποίων η παραγωγή

μεγεθύνεται σημαντικά με την ένταση. Φαίνεται λοιπόν ότι όλη η προσαρμογή του οργανισμού στο stress δίνει στο ασκορβικό οξύ έναν σπουδαίο ρόλο.

Τα δεδομένα που λάβαμε από την χορήγησή βιταμίνης C στους αθλητές δείχνουν τα εξής:

- α) Το ασκορβικό αυξάνει την παραγωγή των ενδορφινών από μόνο του, χωρίς τη βοήθεια της άσκησης.
- β) Η άσκηση αυξάνει την παραγωγή β-ενδορφίνης από μόνη της
- γ) Η ταυτόχρονη χρησιμοποίηση ασκορβικού και άσκησης στους αθλητές εκτοξεύει τα επίπεδα της β-ενδορφίνης.
- δ) Η χορήγηση του ασκορβικού στους αθλητές προκαλεί ένα συναίσθημα ηρεμίας αλλά όχι καταστολής.
- ε) Οι αθλητές υποκειμενικά αισθάνονται περισσότερη ενέργεια.
- στ) Αντικειμενικά το έργο των αθλητών σημειώνει αύξηση (τουλάχιστον ως προς το χρόνο της άσκησης (δηλαδή αντέχουν να ασκηθούν περισσότερο χρόνο)).
- η) Ο χρόνος αποκατάστασης των αθλητών μειώνεται.
- θ) Οι πόνοι από μυϊκή επιβάρυνση μειώνονται.
- ι) Η επαναφορά την επόμενη ημέρα της άσκησης είναι καλύτερη.
- κ) Η διάρκεια του ύπνου κατά τη νύχτα μετά τη δοκιμασία είναι μικρότερη αλλά η ποιότητα του ύπνου είναι εξαιρετική.
- λ) Στους μη αθλητές που δεν έλαβαν καθόλου ασκορβικό παρά μόνο από την διατροφή τους, οι προσδιορισμοί του ασκορβικού οξέος αποδεικνύουν ότι για κάθε άτομο υπάρχει ένα χαρακτηριστικό επίπεδο γύρω από το οποίο περιστρέφονται οι διακυμάνσεις της βιταμίνης C.

Τα δεδομένα αυτά υποδεικνύουν ότι η χορήγηση ασκορβικού οξέος θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για τη βελτίωση των αθλητικών αποδόσεων με τη χρήση μιας αθώας ουσίας που δεν θεωρείται doping. Ωστόσο πέραν του αθλητισμού η χορήγηση του ασκορβικού θα μπορούσε να γενικευτεί σε ασθενείς ανθρώπους, οι οποίοι αντιμετωπίζουν χρόνιους πόνους, όπως επίσης θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί και στα σχήματα απεξάρτησης ατόμων εθισμένων σε ναρκωτικές ουσίες. Από πλευράς του Εργαστηρίου Φυσιολογίας υπάρχουν οι εξής εμπειρίες με αυτές τις απόψεις:

α) Η χορήγηση πολύ μεγάλων δόσεων ασκορβικού οξέος μαζί με άλλα αντιοξειδωτικά σε καρκινοπαθείς τελικού σταδίου επέφερε πολύ μεγάλη μείωση της χρήσης αναλγητικών φαρμάκων (οπιούχα), όπως επίσης και διακοπή τους.

β) Η χορήγηση πολύ μεγάλων ποσοτήτων ασκορβικού οξέος σε τοξικοεξαρτημένα άτομα (εξάρτηση από ηρωίνη) μείωσε πάρα πολύ το στερητικό σύνδρομο τόσο σε διάρκεια όσο και σε ένταση συμπτωμάτων.

Τα παραπάνω δεδομένα έχουν δημοσιευτεί και υπάρχουν στο Εργαστήριο Φυσιολογίας, σε εξέλιξη σχετικές μελέτες μέσα από τις οποίες γίνεται προσπάθεια μείωσης του πόνου τους ή ως παράγοντα για την επίτευξη απεξάρτησης από οπιούχα.

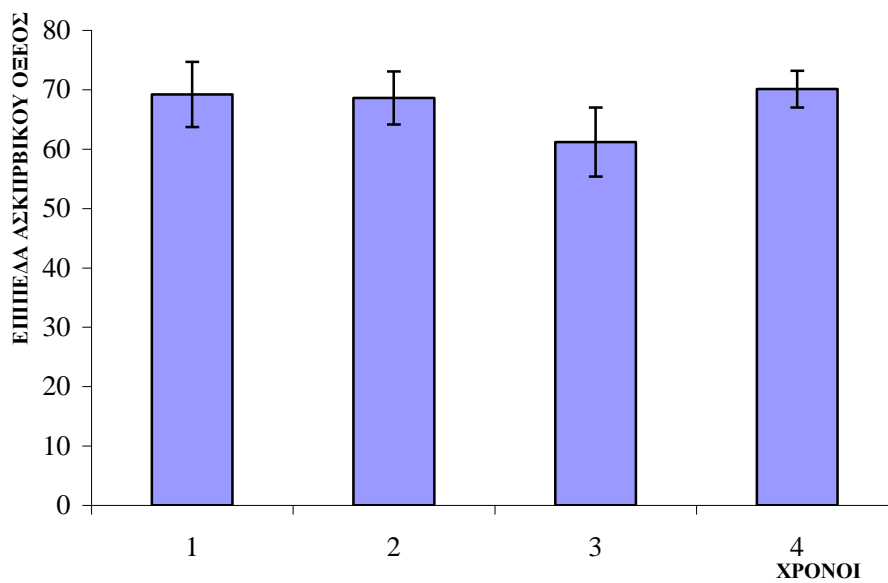
Πρέπει να σημειωθεί ότι μερικές ουσίες που δρουν στο κεντρικό νευρικό σύστημα, όπως π.χ η προποφόλη και η φαινοθειαζίνη εμφανίζουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Ειδικά η προποφόλη μοιάζει δομικά με την βιταμίνη E (α-τοκοφερόλη), ενώ επίσης και το θειοβαρβιτουρικό οξύ εμφανίζει χαρακτηριστικά θειούχου αντιοξειδωτικού. Πολλές ουσίες όπως τα τρικυκλικά αντικαταθλιπτικά εμφανίζουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες και δεν είναι ακόμη γνωστό αν οι νευρολογικές τους δράσεις προσδιορίζονται και από την αντιοξειδωτική τους φύση. Ωστόσο δεν πρέπει να μας διαφεύγει το γεγονός ότι εδώ και μεγάλο χρονικό διάστημα τα αντικαταθλιπτικά χρησιμοποιούνται και για την θεραπεία του πόνου. Επί πλέον οι αντιοξειδωτικοί παράγοντες έχουν και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες οπότε μάλλον πρέπει κανείς να λάβει με την δέουσα σοβαρότητα την πολλαπλότητα των βιολογικών τους δραστηριοτήτων μέσα στις οποίες εντάσσεται και η δυνατότητα της χρήσης τους ως παραγόντων που μπορούν να έχουν μια θέση για την διαχείριση του πόνου.

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Πίνακας 1

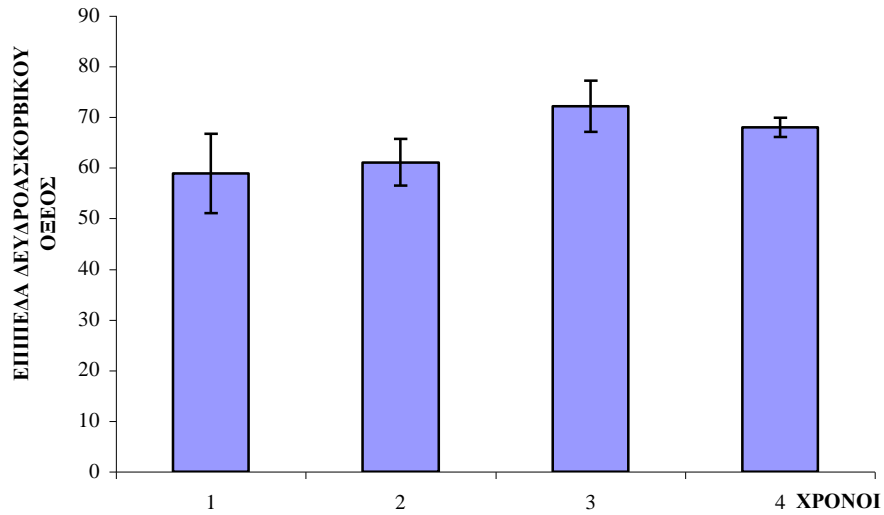
Μέτρηση ασκορβικού οξέος σε αθλητές χωρίς λήψη Βιταμίνης C.

Χρόνοι	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
Ασκορβικό	69,18±5,5μM	68,6±4,45μM	61,8±5,8μM	70,9±3,1μM



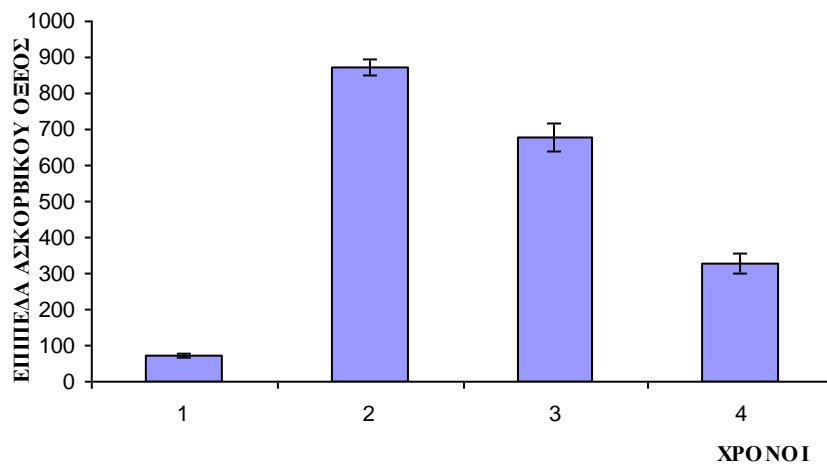
**Πίνακας 2: Μέτρηση δεϋδροασκορβικού οξέος σε αθλητές χωρίς λήψη Βιτ. C.**

Χρόνοι	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
Δεϋδροασκορβικό οξύ	58,9±7,8μM	61,1±4,6μM	72,18±5,1μM	68±1,9μM



**Πίνακας 3: Μέτρηση ασκορβικού οξέος σε αθλητές με λήψη Βιταμίνης C.**

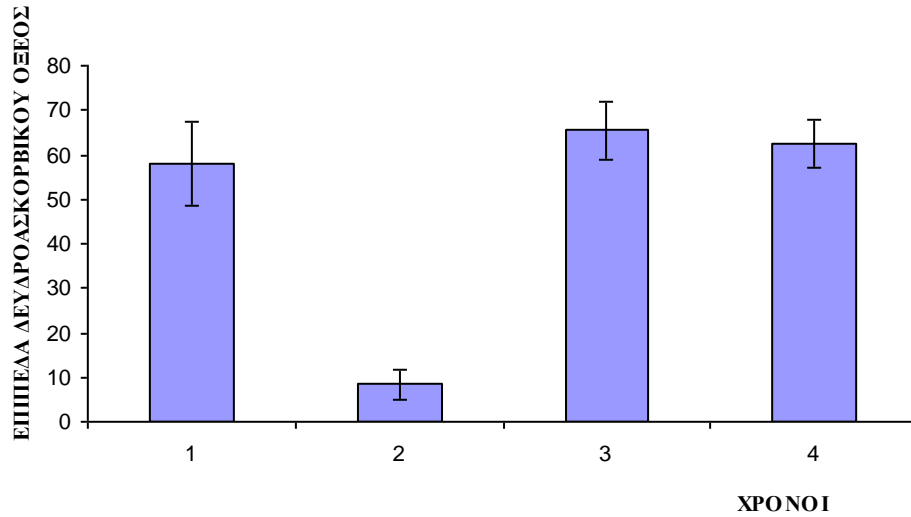
Χρόνοι	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
Ασκορβικό οξύ	72,6±4,65 μM	872±23,66 μM	678±41 μM	327,54±27,56 μM





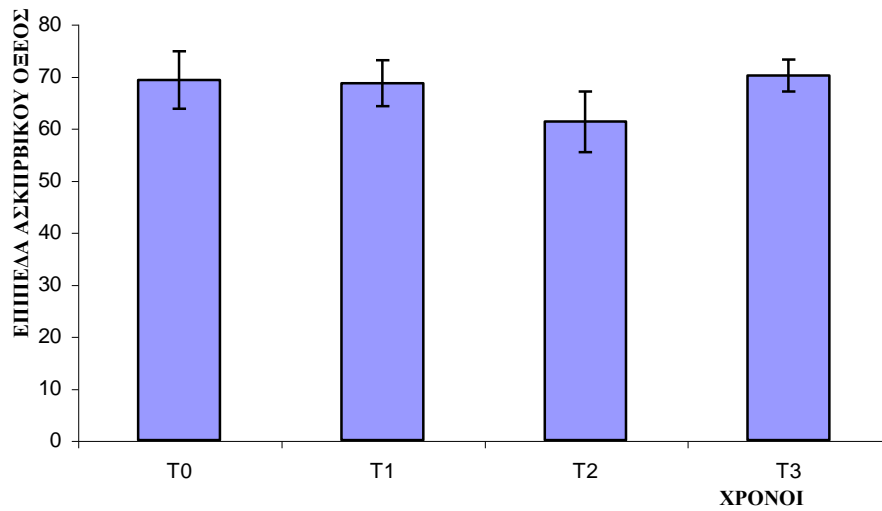
**Πίνακας 4: Μέτρηση δεϋδροασκορβικού οξέος σε αθλητές με λήψη Βιταμ. C.**

Χρόνοι	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
Δεϋδροασκορβικό οξύ	58±9,28μM	8,45±3,41μM	65,6±6,5μM	62,6±5,3μM



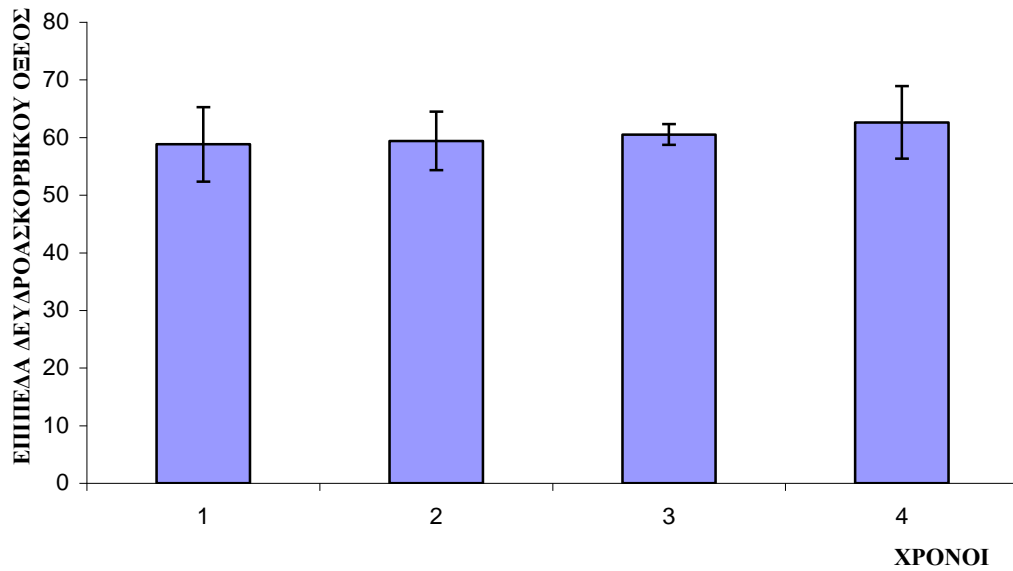
**Πίνακας 5: Μέτρηση ασκορβικού οξέος σε μη αθλητές.**

Χρόνοι	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
Ασκορβικό οξύ	84±4,1 μM	82±4,2 Μμ	80±6,5 μM	82,9±3,6 μM



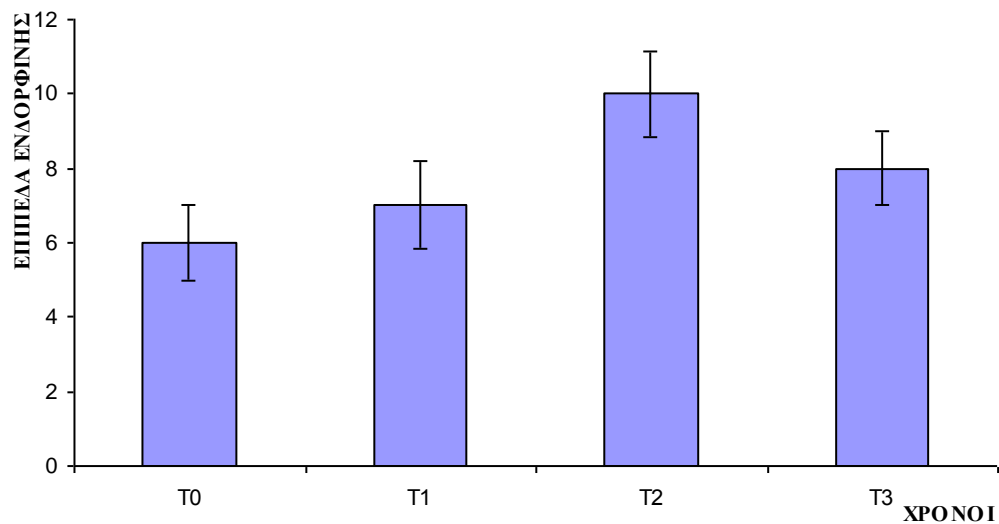
**Πίνακας 6: Μέτρηση Δεϋδροασκορβικού οξέος σε μη αθλητές.**

Χρόνοι	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
Δεϋδροασκορβικό οξύ	58,8±6,46μM	59,4±5,08μM	60,5±1,8μM	62,6±6,3μM



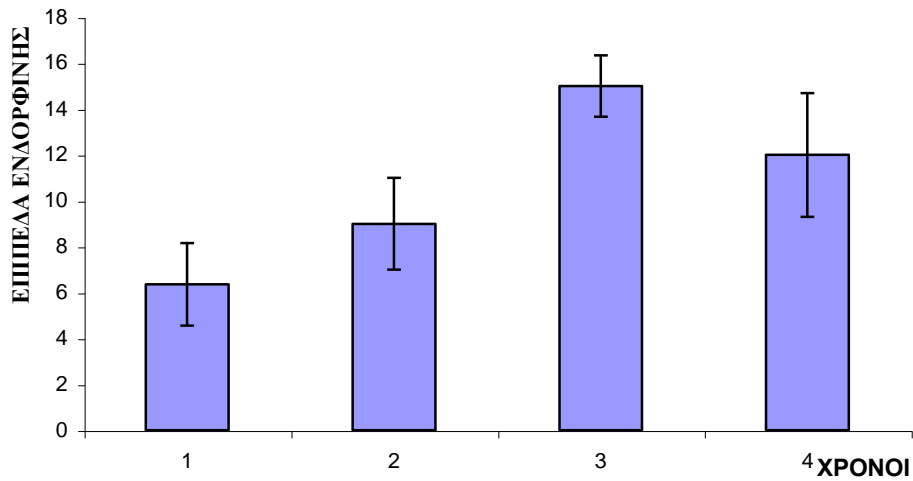
**Πίνακας 7: Μεταβολές επιπέδων β-ενδορφίνης στους αθλητές χωρίς Βιταμ. C.**

Χρόνοι	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
Ενδορφίνη	6±1fM	7±1,18fM	10±1,16fM	8±1fM



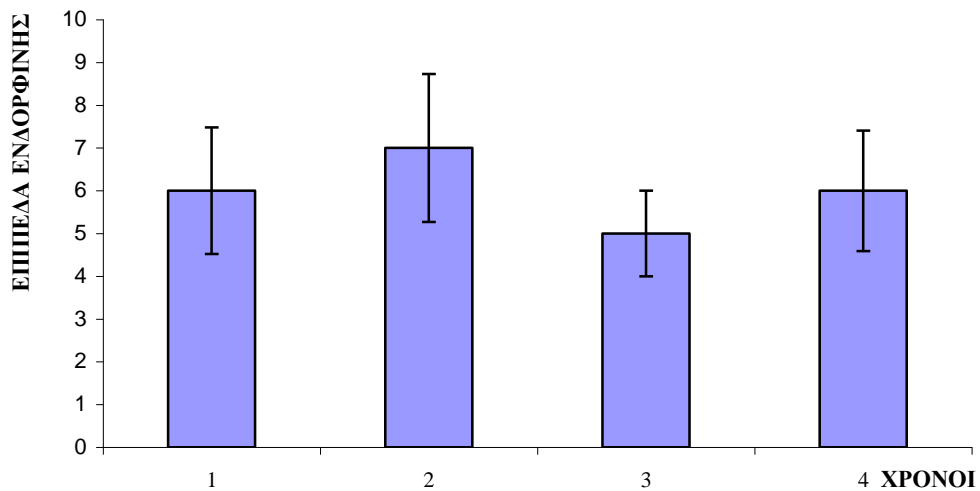
**Πίνακας 8: Μεταβολές επιπέδων β-ενδορφίνης στους αθλητές με Βιταμίνη C.**

Χρόνοι	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
Ενδορφίνη	6,36±1,8fM	9±2fM	15±1,34fM	12±2,7fM



**Πίνακας 9: Μεταβολές επιπέδων β-ενδορφίνης σε μη αθλητές.**

Χρόνοι	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
Ενδορφίνη	6±1,48fM	7±1,73fM	5±1fM	6±1,41fM



## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Acheson RM, Williams R. Does consumption of fruit and vegetables protect against stroke. *Lancet* 1983; 1:1191-1193.
2. Akil H, Watsorr SJ, Young E, et al. Endogenous opioids: Biology and function. *Ann Rev Neurosci* 1984; 7:223-255.
3. Armstrong B, Mann J, Adelstein A, et al. Commodity consumption and ischemic heart disease mortality, with special reference to dietary practices. *J Chronic Dis* 1975; 36:673-676.
4. Atwech SF, Kuchar MJ. Distribution and physiological significance of opioids receptor in the brain. *Brit Med Bulletin* 1983; 39:47-52.
5. Avakawa N, Nemoto S, Suraki E. Role hydrogenperoxid in the inhibitory effect on ascorbate on cell growth. *Nutr Sci Vitaminol* 1994; 40:219-227.
6. Beetens J, Hermen A. Ascorbic acid and prostaglandin formation. *Int J Vitam Nutr Res* 1983; 245(suppl):131-144.
7. Beetens J, Coene M, Vetchyen A, et al. Vitamin C increase prostacylin production and degrades the vascular lesions in experimental atherosclerosis in rabbits. *Prostagandins* 1986; 32:335-352.
8. Bocan T, Mueller S, Brown E, et al. Antiatherosclerotic effects of antioxidants are lesion-specific when evaluated in hypercholesterolemic. New Zealand Rabbits. *Exp Mol Pathol* 1992; 57:70-83.
9. Bodnar RJ. Supraspinal circuitry mediate opioid antinociception antagonist and synergy in multiple sites. *J Biomed Sci* 2000; 7:181-194.
10. Brantigan C, Brantigan T, Joseph N. Effect of beta blockade and beta stimulation on stage fright. *Am J Med* 1982; 72(1):88-94.
11. Cameron E, Pauling L. The orthomolecular treatment of cancer I. The role of ascorbic acid in host resistance. *Chem Biol Interact* 1973; 9:273-283
12. Cameron E, Campbell A. The orthomolecular treatment of cancer II. Clinical Trials of high-dose ascorbic acid supplements in advanced human cancer. *Chem Biol Interact* 1974; 9:285-315
13. Cameron E, Campbell A, Jack T. The orthomolecular treatment of cancer III. Reticulum cell sarcoma: double complete regression induced by high-dose ascorbic acid therapy. *Chem Biol Interact* 1975; 11:387-393

14. Cameron E, Pauling L. Supplementary ascorbate in the supportive treatment of cancer: prolongation of survival times in terminal human cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976; 73:3685-3689
15. Cameron E, Pauling L. Experimental studies designed to evaluate the management of patients with incurable cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75:6252
16. Cameron E, Pauling L. *Cancer and Vitamin C. A discussion of the Nature Causes, Prevention and treatment of Cancer with Special Reference to the Value of Vitamin C.* The Linus Pauling Institute of Science and Medicine, 1979.
17. Charalabopoulos K, Karkabounas S, Charalabopoulou A, et al. Inhibition of benzo(a)pyrene induced carcinogenesis by vitamin C alone, and by pairs of vitamin C/vitamin E and selenium glutathione. *Biol Trace Elem Res* 2003; 93:201-211.
18. Cannon WB. Bodily changes in pain. In: *Fear and Rage, Hunger*, New York 1929
19. Cannon WB. *The wisdom of the body*, Norton, New York 1932.
20. Christopher M. A broader view of trauma: a biopsychosocial-evolutionary view of the role of the traumatic stress response in the emergence of pathology and/or growth. *Clin Psychol Rev* 2004; 24(1):75-98.
21. Combs J. *The Vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition and Health*, Academic Press San Diego, 1992.
22. Daniels A, Dean G, Viveros O, et al. Secretion of newly taken-up ascorbic acid by adrenomedullary chromaffin cells. *Science* 1982; 216:737-739.
23. Daruwala R, Song J, Koh W, et al. Cloning and functional characterization of the human sodium-dependent vitamin C transporters hSVCT1 and hSVCT2. *Lett* 1999; 460:480-484.
24. de Kloet ER. Hormones, brain and stress. *Endocr Regul* 2003; 37(2):51-68.
25. Dickenson A. Pharmacology of pain transmission control. In: James Cambell (Ed): *Pain* 1996, An updated review. IASP press, Seattle 1996; pp 113-21.
26. Diliberto E, Daniels A, Viveros O. Multicompartmental secretion of ascorbate and its dual role in dopamine beta-hydroxylation. *Am J Clin Nutr* 1991; 54:1163S-1172S.
27. Dohms JE, Metz A. Stress-mechanisms of immunosuppression. *Vet Immunol Immunopathol* 1991; 30(1):89-109.

28. Eipper B, Mains R. The role ascorbate in the biosynthesis of neuroendocrine peptides. *Am J Clin Nutr* 1991; 54:11535-11565
29. Eipper B, Mains R, Glembotski C. Identification in pituitary tissue of a peptide  $\alpha$ -amidation activity that act on glycine-extended peptides and requires molecular oxygen, copper and ascorbic acid. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80:5144-5148.
30. Evangelou A, Kalpouzos G, Karkabounas S, et al. Dose related preventive and therapeutic effects of antioxidants-anticarcinogens on experimentally induced malignant tumors in Wistar rats. *Letters* 1997; 115:105-111
31. Evangelou A, Karkabounas S, Kalpouzos G, et al. Comparison of the therapeutic effects of two vanadium complexer administered at low doses on benzo(a)pyrene-induced malignant tumors in rats. *Cancer Letter* 1997; 118:1-5
32. Evangelou A, Kalfakakou V, Georgakas P, et al. Ascorbic acid (Vitamin C) Effects on Withdrawal of Heroin Abusers. *In vivo* 2000; 14:363-366
33. Evangelou A, Kalfakakou V, Georgakas P, et al. The effects of antioxidants on painful syndromes. 1<sup>st</sup> Panhellenic A Congress on Free Radicals and Oxidative Stress, Ioannina, Greece 1998 Abst Book pg. 84.
34. Evans A, Khan S, Smith M. Evidence for hormonal action beta endorphin to increase glucose uptake in resting and contracting skeletal muscle. *J Endocrinol* 1997; 155(2):387-392.
35. Facchinetti F, Napi G, Savoldi F, et al. Primary headaches: reduced circulating  $\beta$ -lipotropin and  $\beta$ -endorphin levels with impaired reactivity to acupuncture. *Cephalalgia* 1981; 1:195-201.
36. Farrell P, Gustafson A, Morgan W, et al. Enkephalins, catecholamines and physiological moods alterations: Effects of prolonged exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 1987; 19:347-353.
37. Favre A, Bauman A, Loudes C, et al. Ontogenesis of peptidylglycyl  $\alpha$ -amidation activity in the mouse hypothalamus in vitro and in serum-free medium cultures. Relation with thyroliberin (TRH) accumulation and release in vitro. *Brain Res* 1988; 468:261-267.
38. Ferrante F. Σύγχρονες απόψεις για νευρικές οδούς και μηχανισμούς πόνου. Αντίδραση σε βλαπτικά ερεθίσματα. Συμπόσιο: Οξύς πόνος Ηράκλειο Κρήτης 1996; pg 12-14.

39. Freeman B. Biological sites and mechanisms of free radical production, in Free Radical Molecular Biology, Aging and Disease, Meeting, Washington DC, 1983; New York 1984; 43.
40. Frei B, England L, Ames B. Ascorbic is an outstanding antioxidant in human blood plasma. Proc Nutl Acad USA 1989; 86:6377-6381.
41. Fries D. Opioid Analgesics. In Williams D, Lemke T. Foye's Principles of Medicine Chemistry (5ed.) Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
42. Fox E, Melzack R. Transcutaneous electrical stimulation and acupuncture: Comparison of treatment for low back pain. Pain 1976; 2:141-148.
43. Iverson L. The brain. The Scientific American Book, McGraw Hill, New York 1979.
44. Genazzani A, Napi G, Facchinetti F. Progressive Impairment of CSF Level in Migraine Sufferers. Elsevier Science Publishers 1984; 18:127-133.
45. Gilbert P, Gilbert J, Irons C. Life events, entrapments and arrested anger in depression. J Affect Disord 2004; 79(1-3):149-60.
46. Ginter E, Bobek P, Babala J, et al. The effect of ascorbic on the lipid metabolism of guinea-pigs fed an atherogenic diet. Cor. Vasa 1969; 11:65-73.
47. Glembotski C. The role of ascorbic acid in the biosynthesis of the neuroendocrine peptides a-MSH and TRH. Annu NY Acad Sci 1987; 498:54-62.
48. Goldfard A, Hatfield B, Potts J, et al. Beta endorphin time course response to intensity of exercise: Effect of training status. International Journal of Sports Medicine 1989; 12:264-268.
49. Gonzales M, Jorje R, et al. Orthomolecular Oncology Review: Ascorbic Acid and Cancer 25 Year Later 2005; 4(1):32-44
50. Gonzalez M, Mora E, Riodan N, et al. Rethinking vitamin C and cancer: An update on nutritional oncology. Cancer Pain Prev Int 1998; 3:215-224.
51. Groopman J. The Anatomy of hope. New York: Random House 2004; 169-173.
52. Guthrie H. Introductory Nutrition. 7<sup>th</sup> ed. St Louis, Mo: Mosby College Publishing 1989; pg 381-382.
53. Han JS, Xie GX, Ding XZ, et al. High a low frequency electrocupuncture analgesia are mediated by different opioid peptides. Pain 1984a; (suppl)2:369
54. Han JS, Xie GX, Folkesson R, et al. Acupuncture mechanism in rabbits studied with microinjection of antibodies against endorphin, enkephalin and substance P. Neuropharmacology 1984b; 23:1-5.

55. Harber V, Sutton JR. Endorphins and Exercises. *Sports Med* 1984; 1:54-171.
56. Hassan AH, Pzewlocki R, Herz A. Dynorphin, a preferential ligand for kappa-opioid receptors, is present in nerve fibers and immune cells within inflamed tissue of the rat. *Neurosci Lett* 1992; 140: 85-88.
57. Harman D. Free radical theory of aging: the «free radical» diseases, *Age* 1984; 7:111.
58. Henry JP. Biological basis of the stress response. *Integr Physiol Behav Sci* 1992; 27(1):66-83.
59. Hoffman P, Terenius L, Thoren P. Cerebrospinal fluid immunoreactive beta endorphin concentration is increased by long-lasting voluntary exercise in the spontaneously hypertensive rat. *Regulatory Peptides* 1990; 28:233-239.
60. Hohtari H, Salminen-Lappalainen K, Laatikainen T. Response of plasma endorphins, corticotrophin, cortisol and luteinizing hormone in the corticotrophin-releasing hormone stimulation test in eumenorrhic and amenorrhic athletes. *Fertility and Sterility* 1997; 55(2):276-280.
61. Holsboer F. Psychiatric implications of altered limbic-hypothalamic-pituitary-adrenocortical activity 1989; 238(5-6):302-22.
62. Hopson J, Wessells N. *Essentials of Biology*. McGraw Hill, New York 1990.
63. Horning D. Distribution of ascorbic acid, metabolites and analogues in man and animals. *Annu NY Acad Sci* 1975; 158:103-118.
64. Hughes J, Smith TW, Kosrrelitz HW, et al. Identification of two related pentapeptides from brain with potent opiate agonist activity. *Nature* 1975; 258: 577-579.
65. Huang W, Yang Z, Lee D, et al. Ascorbic acid enhances forskolin-induced cyclic AMP production and pro-ANP mRNA expression of hypothalamic neurons in culture. *Endocrinology* 1992; 132:2271-2273.
66. Inturrisi C. Clinical pharmacology of opioids for pain. *Clin J Pain* 2002; 18(4 suppl):3-13.
67. Jampel H. Ascorbic acid is cytotoxic to dividing human Tenon's capsule fibroblasts. *Arch Ophthalmol* 1990; 108:1323-1325.
68. Jansen AS, Nauven XV, Karpitskiv V, et al. Central command neurons of the sympathetic nervous system: basis of the fight-or-flight response. *Science* 1995; 270(5236):644-6.



69. Kallistratos G, Fasske E. Endogenous and Exogenous inhibitors of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon, Carcinogenesis. *Folia Biochim et Biol Graeca* 1980; Vol XVII Fasc ½.
70. Kallistratos G, Evangelou A, Agnantis N, et al. Clinical application of the positive experimental results of natural anticarcinogenesis in terminal cancer cases. *Materia Medica Graeca* 1992; 20(5):430-438.
71. Kandel ER, Schwartz JH. *Principles of Neural Science*, 2<sup>nd</sup> ed. Elsevier, New York.
72. Karkabounas S, Bikolis J, Zelovitis N, et al. Inhibition and modification of benzo(a)pyrene chemical carcinogenesis by ascorbic acid alone or in combination with tocopherol in Wistar rats. *Exp Oncol* 2002; 24:274-278.
73. Keel M, Trentz O. Pathophysiology of polytrauma. *Injury* 2005; 36(6):691-709.
74. Kjaer M. Regulation of hormonal and metabolic responses during exercise in humans. *Exercise and Sport Sciences Reviews* 1996; 20: 161-184.
75. Kraemer W, Fleck S, Callister R, et al. Training response of plasma  $\beta$ -endorphin, adrenocorticotropin and cortisol. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 1989; 21:146-143.
76. Komarova SV, Ataulakhanow F, Globus R. Bioenergetics and mitochondrial transmembrane potential during differentiation of cultured osteoblasts. *Am J Physiol* 2000; 279:1220-1229.
77. Lascelles Bd. Clinical pharmacology of analgesics agents. In: *Animal Pain*. Ed. Hellebrekers LJ. Van der Wees Utigeverij, Utrecht: The Netherlands 2000; pp 85-116.
78. Leibovitz B, Mueller J, Carnitine J. *Optimal Nutr* 1993; 2:90-109.
79. Leung P, Miyashita K, Young M, et al. Cytotoxic effect of acrobate and its derivative on cultured malignant and non-malignant cell lines. *Anticancer Res* 1993; 13:47-80.
80. Levine M, Morita K. Ascorbic acid in endocrine systems. *Vitam Horm* 1985; 42:1-64
81. Levine M. New concepts in the biology and biochemistry of ascorbic acid *N Engl J Med* 1986; 314:892-902.
82. Levinthal C. *Messengers of paradise: opiates and brain*. Doybleday, New York.
83. Liang W, Johnson O. Vitamin C transport systems of mammalian cells. *Mol Memb Biol* 2001; 18:87-95.

84. Light AR. The initial processing of pain and its descending control. *Spinal and Trigeminal Systems* 1989; 101-105.
85. Lobstein D, Ismail AH. Decreases in resting plasma  $\beta$ -endorphin\lipotropin after endurance training. *Medicine and Science in Sports and Exercises* 1989; 19:161-166.
86. Lopez JA, Peran F, Altuzarra A, et al. Plasmatic  $\beta$ -endorphin levels and thalamic surgery for pain. *Neurosurgical Res* 1985; 7:35-38.
87. Lord J, Waterfield A, Hughes J. Endogenous opioid peptides: Multiple agonist and receptors. *Nature* 1977; 267:495-499.
88. Mains R, Cullen E, May V The role of secretory granules in peptide biosynthesis. *Annu NY Acad Sci* 1978; 493:278-291.
89. Marshall D. Pain mechanisms and pain syndromes. In James Cambel (Ed): *Pain* 1996, An update review. IASP press, Seattle 1996; pp103-12.
90. McCormic WJ. Ascorbic acid as chemotherapeutic agent. *Arch. Pediat* 1952; 69:151-155.
91. McMurrey RG, Hill D, Field K. Diurnal variations of beta endorphin at rest and after moderate intensity exercise. *Chronobiol-Int* 1990; 7(2):135-142.
92. Merskey H, Bogduk N. Classification of chronic pain. In James N Cambell (Ed): *Pain* 1994, An updated review. IASP press, Seattle 1994; pp210.
93. Michael J, Gonzales, Jorje R, et al. Orthomolecular Oncology Review: Ascorbic Acid and Cancer 25 Year Later 2005; 4(1):32-44.
94. Mikino Y, Sakagami H, Takeda M. Induction of cell death by ascorbic and derivatives in human renal carcinoma and glioblastoma cell lines. *Anticancer Res* 1999; 19:3125-3132.
95. Milby K, Oke A, Adams R. Detailed mapping of ascorbate distribution in rat brain. *Neurosci Lett* 1982; 28:15-20.
96. Millan MJ. Descending control of pain. *Prog Neurobiol* 2002; 66:355-74.
97. Miller B, Ciccro T. Ascorbic acid enhances the release of luteining hormone-releasing hormone from the mediobasal hypothalamus in vitro. *Life Sci* 1986; 39:2447-2454.
98. Miquel J, Economos A, Fleming J, et al. Mitochondria role in cell aging. *Exp Gerontol* 1980; 15:575

99. Miquel J, Fleming J. Theoretical and experimental support for an «oxygen radical-mitochondria injury» hypothesis of cell aging. *Free Radicals, Aging and Degenerative Diseases*, Alan R Liss, New York, 1986; 41.
100. Morita K, Levine M, Heldman E, et al. Ascorbic acid and catecholamine release from digitonin-treated chromaffin cells. *J Biol Chem* 1985; 260:15112-15116.
101. Morre D, Crane F, Sun I. The role of ascorbate in biomembrane energetics. *Annu NY Acad Sci* 1987; 498:153-171.
102. Munoz E, Blazquez M, Ortiz C, et al. Role of ascorbate in activation of NF-kB by tumour necrosis factor- $\alpha$  in T-cells. *Biochem J* 1997; 325:23-28.
103. Mystakidou K, Befon S, Hondros K, et al. Continuous subcutaneous administration of high-dose calcitonin in bone metastasis: pain control and beta endorphin plasma levels. *J Pain Symptom Manage* 1999; 18:323-330.
104. Nabil El, Boswell V. Plasma beta endorphin levels before and after relief of cancer pain. *Pain Physician* 2004; 7:67-70.
105. Niki E. Action of ascorbic acid as a scavenger of active and stable oxygen radicals. *Am J Nutr* 1991; 54:1119s-1124s.
106. Njus D, Knoth J, Cook C et al. Electron transfer across the chromaffin granule membrane. *J Biol Chem* 1983; 258:27-30.
107. Ottoson D, Lundeberg T. Pain treatment. A practical manual by TENS. Springer Verlag, Berlin 1998).
108. Padh H. Cellular functions of ascorbic acid. *Biochem. Cell Biol* 1990; 68:1166-1173.
109. Pascoe PJ. Opioid analgesics. *Vet. Clin N Am Small* 2000b; 30:917-32.
110. Panuch R, Delafuente J. Modulation of certain Immunologic Responses by Vitamin C, in *Vitamin C – Recent Advances and Aspects in Virus Diseases, Cancer and Lipid Metabolism* 1979, pg:179-200.
111. Peets J, Pomeranz B. CXBK mice deficient in opiate receptors show poor electroacupuncture analgesia. *Nature* 1978;273(5664):675-6
112. Peets J, Pomeranz B. Acupuncture-Like Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation Analgesia is influenced by spinal cord Endorphins but not Serotonin: An Intrathecal Pharmacological Study. In: Fiels H et al (Eds) *Advances in Pain Research and therapy*. Raven Press New York 1985; vol 9.
113. Polani PE. Attacks of anxiety, panic and frenzy, and their related depression: a hypothesis. *Med Hypotheses* 2004; 63(1):124-7.

114. Pomeranz B, Stux G. Basics of acupuncture. Springer-Verlag 2nd Berlin 1991, pp2-21.
115. Poydoc M, Peikert D, Rice J, et al. Inhibiting effect of dehydroascorbic acid on cell division in ascites tumours in mice. *Exp Cell Biol* 1982; 50:34-38.
116. Prinz W, Bortz R, Hersch M, et al. Vitamin C and Hormonal Immune Response in Vitamin C – Recent Advances and Aspects in Virus Diseases, Cancer and Lipid Metabolism 1979, pg:25-34.
117. Przewlocki R, Hassan AH, Lason W, et al. Gene expression and localizations of opioid peptides in immune cells of inflamed tissue: functional role antinociception. *Neuroscience* 1992; 48:491-500.
118. Pussell J, Levine M, Njus D. Electron transfer across posterior pituitary neurosecretory vesicle membranes. *J Biol Chem* 1985; 260:226-231.
119. Rainville P. Brain mechanisms of pain affect and pain modulation. *Curr Opin Neurobiol* 2002; 12:195-204.
120. Ramp W, Thornton P. The effects of ascorbic acid on glycolytic and respiratory metabolism of embryonic chick tibias. *Calcif Tissue Res* 1968; 2:77-82.
121. Riedel W, Neck G. Nociception pain and antinociception: current concepts. *Z. Rheumatol* 2001; 60:404-15.
122. Ruffin M, Hunter R, Arendt E: Exercise and secondary amenorrhoea linked through endogenous opioids. *Sports Medicine* 1994; 10(2):65-71.
123. Sakagami H, Satoh K: Pro-oxidant action of two antioxidants: ascorbic and gallic acid. *Anticancer* 1997; 17:221-224.
124. Schmitt K. Modulation of peripheral endogenous opioid analgesia by central afferent blockade. *Anaesthesiology*: 2003; 98:195-202.
125. Schuz B, Wimmer-Greineckerks G, Merka M et al Beta endorphin levels during the climacteric period. *Maturitas* 1988; 10(1).
126. Schwarz L, Kindermann W Beta endorphin, adrenocorticotrophic hormone, cortisol and catecholamines during aerobic exercise. *Eur J Physiology* 1990; 62(3-4):165-171
127. Schwarz L, Kindermann W Changes in beta endorphin levels in response to aerobic and anaerobic exercise. *Sports Med* 1992; 13(1): 25-36.
128. Siefer D, Collins R. Current concepts of beta-endorphin physiology in female reproductive dysfunction. *Fertil-Steril* 1990; 54(5):757-771.

129. Sies H, Stahl W, Sundquist A. Antioxidant functions of vitamins. *Ann NY Acad Sci* 1992; 669:7-20.
130. Siegel B, Morton J. Vitamin C, Interferon and Immune Response in Reevaluation of Vitamin C. eds: A. Hanek and G. Ritzel 1977; pg 245-266.
131. Smith A, Lee S, NM. Opioid receptor interactions: Local and non local symmetric and asymmetric, physical and functional. *Life Sci* 2003; 7(15): 1873-1893.
132. Sotiriou S, Gispert S, Cheng J, et al. Ascorbic acid transporter Slc23a1 is essential for vitamin C transport into the brain and perinatal survival. *Nut. Med* 2002; 8:514-517.
133. Stratakis C, Tagmans S, Song J. Mapping of the human genes (SLC23A2 and SLC23A1) coding for vitamin C transporters 1 and 2 (SVCT1 and SVCT2) to 5q23 and 20p12, respectively. *J Med Genet* 2000; 37:E20.
134. Sternberg EM, Chrousos GP, Wilder RL, et al. The stress response and the regulation of inflammatory disease. *Ann Intern Med* 1992; 15; 117(10):854-66.
135. Stener-Victorin E, Lindholm C. Immunity and  $\beta$ -endorphin concentration in hypothalamus and plasma in rats with steroid-induced polycystic ovaries: Effect of low-frequency electroacupuncture. *Biology of Reproduction* 2004; 70:329-333.
136. Sulkin N, Sulkin D. Tissue changes induced by marginal vitamin C deficiency. *Ann N Y Acad Sci* 1975; 258:317-327.
137. Takesige C, Kamada T, Oka L, et al. The relationship between midbrain neurons (periaqueduct central gray and midbrain reticular formation) and acupuncture analgesia. *Animal hypnosis. Second world congress on pain* 1978; Modreal, p156
138. Takesige C, Tonaca N, Suto T, et al. Mechanism of individual variation in effectiveness of acupuncture analgesia based on animal experiment. *European Journal of Pain* 1990; 11:109-113.
139. Tendzegolskis Z, Viru A, Orlova E. Exercise-induced changes of endorphin contents in hypothalamus, hypophysis, adrenals and blood plasma. *Int J Sports MED* 1991; 12:495-497.
140. Treed RD, Meyer RA, Raja SN, et al. Peripheral and central mechanisms of cutaneous hyperalgesia. *Prog Neurobiol* 1992; 38:397-421.

141. Terenius L. Families of Opioid Peptides and Classes of Opioid Receptors In Fields H et al (Eds). *Advances in Pain Research and Therapy*. Raven Press New York 1985; vol 9.
142. Tsao CS. *CRC Handbook of Free Radicals and Antioxidants in Biomedicine* vol III CRC Press 1989.
143. Tseng LF. Evidence for epsilon-opioid receptor-mediated beta-endorphin-induced analgesia. *Trends Pharmacol Sci* 2001; 22:623-630.
144. Tsolaki M. Νευροφυσιολογία του πόνου στο βιβλίο, *Συνεχιζόμενη Εκπαίδευση στην Ανασθησιολογία, Υπό την αιγίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης* 1993; 21-48
145. Tsolaki M Ο πόνος και η αντιμετώπισή του. *Θέματα Ανασθησιολογίας και Εντατικής Ιατρικής* 1994; 8:7-38.
146. Thoren P, Floras J, Homffman P et al. Endorphins and exercise: physiological mechanisms and clinical implications. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 1990; 22(4): 417-428.
147. Udelsman R, Holbrook NJ. Endocrine and molecular responses to surgical stress. *Curr Probl Surg* 1994; 31(8):653-72.
148. Vadalouka A, Kalfakakou V, Galini A. Zn-metallopeptidase levels during anesthesia procedures and pain management. In «*Highlight in Regional Anesthesia and Pain Therapy*» Ed: A Vanzundett, Permanyer Publ 1995; 4:67-69.
149. Verlangeri A, Kapeghian J, El Dean S, et al. Fruit and vegetable consumption and cardiovascular disease mortality. *Med Hypoth* 1985; 16:7-15.
150. Viru A, Tendzegolskis Z, Smirnova T. Changes in  $\beta$ endorphin level in blood during prolonged exercise. *Endocrine Exper* 1990; 24:63-68
151. Viru A. Plasma hormones and physical exercise: a review. In *Sports Med* 1992; 13:201-209.
152. Waterman-Pearson E. Analgesia. In: Seymour C, Gleed R (Eds): *Manual of small animal anesthesia and analgesia*, British Small Animal Veterinary Association UK 1999; pp59-70.
153. Willis G. An experimental study of the intimal ground substance in atherosclerosis, *Can Med Assos J*: 1953; 69:17-22.
154. Willner Paul. *Depression a Psychobiological Synthesis*. John Wiley and Sons 1985.

- 155.** Wolf S, Gersh M, Rao V. Examination of electrode placements and stimulating parameters in treating chronic pain with conventional transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS). *Pain* 1981; 11:37-47.
- 156.** Wong Y, Mackenzie B, Tuskagch H et al. Human vitamin C (L-ascorbic acid) transporter SVCT1. *Biochem Biophys. Res Commun* 2000; 267:488-494.
- 157.** Wuster M, Schulz R, Herz A. Specificity of opioids towards the  $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\sigma$ , opiate receptors. *Neuroscience letters*: 1989; 15:193-198.
- 158.** Yang Z Copolov-Davide L, Lim-Alan T. Ascorbic acid augments the adenylyl cyclase-cAMP system mediated POMC mRNA expression and  $\beta$ -endorphin secretion from hypothalamic neurons in culture. *Brain Research* 1996; 706:243-248.