

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΒΑΣΙΚΩΝ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ
ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΜΟΡΙΑΚΗ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑ

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΑΕΡΟΒΙΑΣ ΑΣΚΗΣΗΣ ΕΝΑΛΛΑΣΣΟΜΕΝΗΣ ΕΝΤΑΣΗΣ ΣΤΗΝ
ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΤΦΟΡΜΙΝΗΣ**

Μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία του φοιτητή
Στέφανου Νικολαΐδη (Α.Μ. 66)
Πτυχιούχο ΤΕΦΑΑ-ΑΠΘ

που υποβάλλεται στο καθηγητικό σώμα της ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ του
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ για τη μερική εκπλήρωση των
υποχρεώσεων απόκτησης του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης
«Βασικών Βιοϊατρικών Επιστημών» στην κατεύθυνση της Μοριακής και
Εφαρμοσμένης Φαρμακολογίας

ΙΩΑΝΝΙΝΑ
ΙΟΥΛΙΟΣ 2020

Τριμελής επιτροπή:

Περικλής Παππάς, καθηγητής φαρμακολογίας (Επιβλέπων)
Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Γιώργος Λεονταρίτης, επίκουρος καθηγητής φαρμακολογίας
Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Πατρώνα Βεζυράκη, καθηγήτρια φυσιολογίας
Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

© Στέφανος Π. Νικολαΐδης

© Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΑΕΡΟΒΙΑΣ ΑΣΚΗΣΗΣ ΕΝΑΛΛΑΣΣΟΜΕΝΗΣ ΕΝΤΑΣΗΣ ΣΤΗΝ
ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΤΦΟΡΜΙΝΗΣ**

Από την παρούσα μελέτη προέκυψε το άρθρο:

Nikolaidis S, Virgiliou C, Vekiou M, Skari A, Kechagidou A, Gika H, Theodoridis G, Pappas P, Leondaritis G, Mougios V. Effect of exercise on key pharmacokinetic parameters related to metformin absorption in healthy humans: A pilot study. *Scand J Med Sci Sports*. 2020; in press.
DOI: 10.1111/sms.13628

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	Σελ.
Κατάλογος πινάκων	6
Κατάλογος γραφημάτων	7
Επεξήγηση όρων	8
Ευχαριστίες	9
Περίληψη	10
Abstract	12
Εισαγωγή	13
Βιβλιογραφική ανασκόπηση	18
Σκοπός	19
Μέθοδος	20
Συμμετέχοντες	20
Πειραματικό πρωτόκολλο	20
Μέτρηση σωματικών χαρακτηριστικών	21
Μέτρηση μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου και μέγιστης καρδιακής συχνότητας	21
Έλεγχος διατροφής	22
Δοκιμασία άσκησης	23
Προσδιορισμός μετφορμίνης στο πλάσμα	24
Προσδιορισμός γαλακτικού στο αίμα	25
Μέτρηση γλυκόζης στο αίμα	26
Φαρμακοκινητική και Στατιστική ανάλυση	26
Αποτελέσματα	28
Συζήτηση	32
Περιορισμοί της μελέτης	37
Συμπεράσματα – Προοπτικές	38
Βιβλιογραφία	39
Παράρτημα Α	44
Παράρτημα Β	45
Παράρτημα Γ	46
Παράρτημα Δ	47
Παράρτημα Ε	48

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά συμμετεχόντων (ΜΤ ± ΤΑ, $n = 10$)

Πίνακας 2. Ενδοκατηγορικός συντελεστής συσχέτισης (ICC) και τα διαστήματα εμπιστοσύνης 95% (CI) για την πρόσληψη ενέργειας και μακροθρεπτικών συστατικών (ΜΤ ± ΤΑ) από το πρωινό μεταξύ των συνεδριών άσκησης και ελέγχου ($n = 10$)

Πίνακας 3. Φαρμακοκινητικές παράμετροι, γαλακτικό και γλυκόζη (ΜΤ ± ΤΑ), η στατιστική διαφορά μεταξύ των δύο συνεδριών (p), το μέγεθος επίδρασης (effect size) και η στατιστική ισχύς (power, $n = 10$)

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ

Γράφημα 1. Πειραματικό πρωτόκολλο. Η φέτα ψωμί με το μέλι απεικονίζουν το πρωινό. Οι ταμπλέτες απεικονίζουν τη λήψη της μετφορμίνης. Οι σύριγγες απεικονίζουν τις λήψεις φλεβικού αίματος για τον προσδιορισμό της μετφορμίνης. Οι σταγόνες αίματος απεικονίζουν τις λήψεις τριχοειδικού αίματος για τη μέτρηση του γαλακτικού και της γλυκόζης

Γράφημα 2. Πρωτόκολλο αυξανόμενης έντασης για τη μέτρηση της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου και της μέγιστης καρδιακής συχνότητας

Γράφημα 3. Καρδιακή συχνότητα συμμετεχόντων (% της ΜΚΣ, $MT \pm TA$) κατά τη δοκιμασία άσκησης για κάθε περίοδο μέτριας έντασης (πράσινο χρώμα), υψηλής έντασης (κόκκινο χρώμα) και ενεργητικής αποκατάστασης (μπλε χρώμα)

Γράφημα 4. Συγκέντρωση μετφορμίνης στο πλάσμα ($MT \pm TA$) κατά τη διάρκεια των συνεδριών άσκησης και ελέγχου

Γράφημα 5. Συγκέντρωση γαλακτικού στο αίμα ($MT \pm TA$) κατά τη διάρκεια των συνεδριών άσκησης και ελέγχου

Γράφημα 6. Συγκέντρωση γλυκόζης στο αίμα ($MT \pm TA$) κατά τη διάρκεια των συνεδριών άσκησης και ελέγχου

ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΟΡΩΝ

Αναλακτική αναερόβια ικανότητα: Η ικανότητα του οργανισμού να παράγει ενέργεια από το σύστημα της φωσφοκρεάτινης κατά τη σύντομη άσκηση (μέχρι 7 s) μέγιστης έντασης.

Αερόβια άσκηση: Παρατεταμένη άσκηση κατά την οποία η κύρια πηγή ενέργειας είναι ο αερόβιος μεταβολισμός

Αερόβια ικανότητα: Η ικανότητα του οργανισμού να εργάζεται για παρατεταμένο χρονικό διάστημα χρησιμοποιώντας ως κύρια πηγή ενέργειας τον αερόβιο μεταβολισμό.

Αναπνευστικό πηλίκο: Το πηλίκο του όγκου του διοξειδίου του άνθρακα που απελευθερώνεται προς τον όγκο οξυγόνου που προσλαμβάνεται σε κυτταρικό επίπεδο.

(Δάπεδο)Εργόμετρο: Όργανο άσκησης που επιτρέπει τη ρύθμιση και μέτρηση του έργου και της ισχύος ενός ατόμου. Ανάλογα με το είδος της άσκησης, διακρίνεται σε δαπεδοεργόμετρο, ποδηλατοεργόμετρο, κωπηλατοεργόμετρο κ.λπ.

Δείκτης υποκειμενικής αντίληψης της κόπωσης σε κλίμακα Borg: Αριθμητική κλίμακα (συνήθως από το 6 έως 20 ή από το 1 έως 10) που χρησιμοποιείται για την υποκειμενική εκτίμηση της καταπόνησης από την άσκηση.

Διαλειμματική άσκηση υψηλής έντασης: Μέθοδος άσκησης με επαναλαμβανόμενες προσπάθειες δευτερολέπτων ή λίγων λεπτών με ένταση $\geq 80\%$, συχνότερα μεταξύ 85-95%, της μέγιστης καρδιακής συχνότητας που διαχωρίζονται από παθητική ή ενεργητική αποκατάσταση (χαμηλή ένταση) δευτερολέπτων ή λίγων λεπτών

Εναλλασσόμενη ένταση: Συνεχόμενη άσκηση μεγάλης διάρκειας με προκαθορισμένες εναλλαγές στην ένταση.

Ενεργητική αποκατάσταση: Η ανάκαμψη ή ξεκούραση του οργανισμού μέσω κινητικής δραστηριότητας μέτριας ή χαμηλής έντασης.

Εργοσπιρόμετρο: Όργανο που αναλύει τα αέρια της εκπνοής κατά τη διάρκεια της άσκησης.

Μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου (Maximal oxygen uptake, VO₂max): Η μέγιστη ποσότητα οξυγόνου που καταναλώνεται από το σώμα κατά τη διάρκεια μέγιστης άσκησης.

Παθητική αποκατάσταση: Η ανάκαμψη ή ξεκούραση του οργανισμού υπό συνθήκες σχετικής ηρεμίας.

Προπόνηση με αντιστάσεις: Είδος προπόνηση με στόχο τη βελτίωση της μυϊκής δύναμης με τη χρήση εξωτερικών αντιστάσεων (ελεύθερα βάρη, μηχανήματα, λάστιχα)

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε έναν αριθμό ανθρώπων που με βοήθησαν να εκπονήσω αυτήν την εργασία. Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω τους καθηγητές μου, της τριμελούς επιτροπής, κ. Περικλή Παππά, κ. Γιώργο Λεονταρίτη και κα. Πάτρα Βεζυράκη για τη συγκατάθεση τους και την αποδοχή του θέματος της συγκεκριμένης εργασίας. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω ξεχωριστά τον κ. Παππά και την κα. Βεζυράκη για την ευκαιρία που μου έδωσαν να γνωρίσω μια καινούργια επιστήμη και να ανακαλύψω νέα ερευνητικά ενδιαφέροντα. Στη συνέχεια θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες προς τον κ. Βασίλη Μούγιο, καθηγητή Βιοχημείας της Άσκησης του ΤΕΦΑΑ-ΑΠΘ, για τη στήριξη του στη συγκεκριμένη εργασία αλλά και για την εμπιστοσύνη που δείχνει στο πρόσωπο μου και την ελευθερία που μου δίνει τα τελευταία 10 χρόνια, ώστε να δίνω απαντήσεις στα ερευνητικά μου ερωτήματα. Ένα μεγάλο ευχαριστώ προς τον κ. Γιώργο Θεοδωρίδη καθηγητή Αναλυτικής Χημείας στο τμήμα Χημείας-ΑΠΘ, την κ. Ελένη Γκίκα επίκουρη καθηγήτρια Τοξικολογίας της Ιατρικής σχολής-ΑΠΘ και τη Χριστίνα Βιργιλίου μεταδιδακτορική ερευνήτρια για το πολύ σημαντικό κομμάτι της εργαστηριακής μέτρησης της μετφορμίνης. Καθοριστική ήταν η βοήθεια της Μάγδας Βέκιου και της Χριστίνας Κεχαγίδου για την πραγματοποίηση των φλεβικών αιμοληψιών αλλά και της Αριάδνης Σκαρή, πτυχιούχο ΤΕΦΑΑ-ΑΠΘ, για τη στήριξη που μου πρόσφερε στο πειραματικό μέρος της έρευνας. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον συνεργάτη και φίλο Γιάννη Κοσμίδη για την ασταμάτητη στήριξη του όλα αυτά τα χρόνια. Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στους 10 εθελοντές που πήραν μέρος στη μελέτη, καθώς χωρίς τη συμμετοχή τους θα ήταν αδύνατη η διεξαγωγή αυτής της εργασίας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Είναι κοινά αποδεκτό ότι η σωματική άσκηση έχει θεραπευτικές ιδιότητες, συνεπώς είναι σημαντικό να γνωρίζουμε αν αλληλεπιδρά με τα φάρμακα. Ο σκοπός της παρούσας πιλοτικής μελέτης ήταν να εξετάσει την επίδραση της διαλειμματικής άσκησης υψηλής έντασης (γνωστή για την αντιδιαβητική δράση) σε βασικές φαρμακοκινητικές παραμέτρους σχετικά με την απορρόφηση της μετφορμίνης (φάρμακο εκλογής για τον Σακχαρώδη Διαβήτη Τύπου 2). Δέκα υγιείς άνδρες συμμετείχαν σε δύο συνεδρίες. Οι συνεδρίες πραγματοποιήθηκαν με τυχαία αντισταθμισμένη σειρά και μεταξύ τους μεσολάβησε περίοδος μία έως δύο εβδομάδων. Στις δύο συνεδρίες οι συμμετέχοντες έλαβαν 1000 mg μετφορμίνης από το στόμα, 1-1,5 ώρες μετά την κατανάλωση του πρωινού. Στη συνέχεια έτρεξαν για 60 λεπτά με εναλλασσόμενη ένταση, ξεκινώντας 40 λεπτά μετά τη λήψη της μετφορμίνης και για τις επόμενες τρεις ώρες ξεκουράζονταν χωρίς να καταναλώσουν φαγητό ή ξεκουράζονταν για όλη τη διάρκεια της συνεδρίας χωρίς να καταναλώσουν φαγητό. Πραγματοποιήθηκαν λήψεις φλεβικού αίματος πριν από τη χορήγηση της μετφορμίνης και στις 0,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, και 4,5 ώρες μετά τη χορήγηση της μετφορμίνης για τον προσδιορισμό της μετφορμίνης με υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με φασματοσκοπία μάζας σε σειρά. Επίσης, έγιναν λήψεις τριχοειδικού αίματος για τη μέτρηση του γαλακτικού και της γλυκόζης. Έγινε σύγκριση των δεδομένων από τις δύο συνεδρίες μέσω των τεστ Wilcoxon ή Student t test. Η μέγιστη συγκέντρωση της μετφορμίνης στο πλάσμα (C_{max}) αυξήθηκε στη συνεδρία άσκησης σε σύγκριση με τη συνεδρία ελέγχου ($p = 0.059$). Ο χρόνος για να φτάσει στη C_{max} (T_{max}) μειώθηκε με την άσκηση ($p = 0.009$) και η επιφάνεια κάτω από την καμπύλη συγκέντρωση-χρόνου της μετφορμίνης ήταν υψηλότερη στη συνεδρία άσκησης ($p = 0.047$). Ο συνδυασμός άσκησης και μετφορμίνης δεν προκάλεσε υπογλυκαιμία ή γαλακτική οξέωση. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματά μας δίνουν μια πρώτη ένδειξη ότι η άσκηση επηρεάζει βασικές φαρμακοκινητικές παραμέτρους της απορρόφησης της μετφορμίνης.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ

Απορρόφηση, βιοδιαθεσιμότητα, διαλειμματική άσκηση υψηλής έντασης, μετφορμίνη, σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2, υγρή χρωματογραφία, φαρμακοκινητική, φασματοσκοπία μάζας.

ABSTRACT

Exercise is widely accepted as having therapeutic effects; thus, it is important to know whether it interacts with medications. The aim of the present pilot study was to examine the effect of high-intensity interval exercise (known to have antidiabetic action) on key pharmacokinetic parameters related to absorption of metformin (the first-line medication against type 2 diabetes). Ten healthy men participated in two sessions, spaced one to two weeks apart in random, counterbalanced order. In both sessions, participants received 1000 mg of metformin orally, 1-1.5 h after breakfast. Then, they either ran for 60 min at alternating intensity, starting at 40 min after metformin administration, and rested without food consumption over the next 3 h or they rested without food consumption during the entire testing period. Venous blood samples were collected before and at 0.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4 and 4.5 h after metformin administration for metformin determination by liquid chromatography – tandem mass spectrometry. Capillary blood samples were also collected for lactate and glucose measurements. Data from the two sessions were compared through Wilcoxon or Student's *t* test, as appropriate. Maximum plasma concentration of metformin (C_{max}) was higher at exercise compared to rest ($p = 0.059$). Time to reach C_{max} (T_{max}) decreased with exercise ($p = 0.009$), and the area under the metformin concentration vs time curve was higher at exercise ($p = 0.047$). The addition of exercise to metformin administration did not cause hypoglycemia or lactic acidosis. In conclusion, our results provide the first evidence that pharmacokinetic values related to metformin absorption are affected by exercise.

KEYWORDS

Absorption, bioavailability, high intensity interval exercise, liquid chromatography, mass spectrometry, metformin, pharmacokinetics, type 2 diabetes.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο Σακχαρώδης Διαβήτης Τύπου 2 (ΣΔΤ2) είναι μία χρόνια θανατηφόρα νόσος του μεταβολισμού, με αλματωδώς αυξανόμενο επιπολασμό καθώς εκτιμάται ότι μέχρι το 2040 θα νοσούν 642 εκατομμύρια άνθρωποι πάνω στον πλανήτη, αποτελώντας σημαντική οικονομική επιβάρυνση για τα εθνικά συστήματα υγείας (Cho 2016· Upadhyay et al., 2018). Τα χαρακτηριστικά του ΣΔΤ2 είναι η αντίσταση στην ινσουλίνη σε διάφορους ιστούς (κυρίως μυϊκό και λιπώδη ιστό) και η μειωμένη έκκριση ινσουλίνης από τα βήτα κύτταρα του παγκρέατος (Upadhyay et al., 2018). Ο συνδυασμός των παραπάνω χαρακτηριστικών οδηγεί αρχικά σε υπερτροφία των βήτα παγκρεατικών κυττάρων με αυξημένη έκκριση της ινσουλίνης και υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης του αίματος. Η παρατεταμένη υπεργλυκαιμία οδηγεί σε ατροφία των παγκρεατικών κυττάρων με περαιτέρω μείωση της έκκρισης ινσουλίνης, γλυκοτοξικότητα, λιποτοξικότητα και αυξημένο οξειδωτικό στρες αποτέλεσμα των οποίων είναι οι καρδιακές, νεφρικές, νευρικές καθώς και άλλων συστημάτων δυσλειτουργίες (Upadhyay et al., 2018· Δίπλα και συν., 2013). Για την αντιμετώπιση του ΣΔΤ2 απαιτείται αλλαγή του τρόπου ζωής, που περιλαμβάνει την υιοθέτηση μιας υγιεινής διατροφής και τη συμμετοχή σε προγράμματα άσκησης, καθώς και φαρμακευτική αγωγή (Derosa & Sibilla, 2007).

Η σωματική άσκηση συστήνεται ως θεραπεία για έναν μεγάλο αριθμό ασθενειών και είναι κοινά αποδεκτό ότι έχει ισχυρή αντιδιαβητική δράση (Pedersen & Saltin 2015). Αποτελέσματα αρκετών μελετών υποδεικνύουν ότι η άσκηση αυξάνει την πρόσληψη γλυκόζης από τους σκελετικούς μύες με ινσουλινοεξαρτώμενο μηχανισμό, αυξάνοντας την ευαισθησία στην ινσουλίνη και με μη-ινσουλινοεξαρτώμενο μηχανισμό μέσω της κυτταρικής σύσπασης, καθώς η απελευθέρωση ασβεστίου και η αύξηση του AMP/ATP ενεργοποιούν μονοπάτια κινασών που αυξάνουν τη μεταφορά γλυκόζης στο κύτταρο. Αξίζει να σημειωθεί ότι η αυξημένη μεταφορά γλυκόζης στο κύτταρο συνεχίζεται και μετά τη λήξη της άσκησης (Δίπλα και συν., 2013). Για τα άτομα με ΣΔΤ2, η Αμερικάνικη Διαβητολογική Εταιρεία προτείνει να συμμετέχουν σε προγράμματα άσκησης διάρκειας τουλάχιστον 150 λεπτών την εβδομάδα με μέτρια ή μέτρια προς υψηλή ένταση (Colberg et al., 2016). Η επίδραση της άσκησης στους διαβητικούς ασθενείς

εξαρτάται από το είδος της (αντιστάσεις, αερόβια άσκηση) και από την επιβάρυνση της (κυρίως η σχέση ένταση – ποσότητα). Πρόσφατες μετά-αναλύσεις αναφέρουν ότι η υψηλής έντασης διαλειμματική άσκηση έχει την ίδια ή θετικότερη επίδραση στους ασθενείς με ΣΔΤ2 σε σύγκριση με τη συνεχόμενη αερόβια άσκηση μέτριας έντασης (De et al., 2018 · Liu et al., 2019). Η υψηλής έντασης διαλειμματική άσκηση ορίζεται ως «επαναλαμβανόμενες προσπάθειες δευτερολέπτων ή λίγων λεπτών με ένταση $\geq 80\%$, συχνότερα μεταξύ 85-95%, της μέγιστης καρδιακής συχνότητας που διαχωρίζονται από παθητική ή ενεργητική αποκατάσταση (χαμηλή ένταση) δευτερολέπτων ή λίγων λεπτών» (MacInnis & Gibala 2017). Τέλος, θετική είναι η επίδραση της άσκησης με αντιστάσεις στους ασθενείς με ΣΔΤ2, καθώς το συγκεκριμένο είδος άσκησης προκαλεί υπερτροφία των μυϊκών κυττάρων με αποτέλεσμα να αυξάνονται οι ενεργειακές απαιτήσεις και κατά συνέπεια και η πρόσληψη γλυκόζης (Δίπλα και συν., 2013).

Για τη θεραπεία του ΣΔΤ2 υπάρχουν πολλές κατηγορίες φαρμάκων όπως τα διγουανίδια, οι σουλφονουλουρίες, οι γλινίδες, οι θειαζολιδινεδιόνες, οι ινσουλίνες και νεότερα φάρμακα όπως οι αναστολείς του συμμεταφορέα 2 νατρίου-γλυκόζης και τα ανάλογα ινκρετινών (Upadhyay et al., 2018). Η μετφορμίνη ανήκει στα διγουανίδια και είναι φάρμακο εκλογής για τον ΣΔΤ2, επιπλέον, συστήνεται για το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών και πραγματοποιούνται αρκετές έρευνες σχετικά με τη δράση της στην καταπολέμηση και άλλων ασθενειών όπως ο καρκίνος, η νόσος Αλτσχάιμερ, η παχυσαρκία και για τις αντιγηραντικές τις ιδιότητες (Adak et al., 2018· Upadhyay et al., 2018). Σε λίγες μελέτες έχει ερευνηθεί η πιθανή εργογόνος δράση της μετφορμίνης με θετικές ενδείξεις όσον αφορά στην ανασύνθεση του μυϊκού γλυκογόνου σε υπομετρικό περιβάλλον και στην αύξηση της αγαλακτικής αναερόβιας ικανότητας (Scalzo et al., 2017· Learsy et al., 2015). Η μετφορμίνη προέρχεται από το φυτό *Galega officinalis*, γνωστό και ως το γαλλικό λιλά (Adak et al., 2018). Όσον αφορά τις φυσικοχημικές της ιδιότητες, η μετφορμίνη είναι μία ισχυρή βάση (pK_a 11.5) και στο ανθρώπινο βιολογικό περιβάλλον παρουσιάζεται ως υδρόφιλο κατιόν ($\log P$ -1.43). Ως μόριο με χαμηλή λιποφιλικότητα, η διαπερατότητα της από τις κυτταρικές μεμβράνες με παθητική διάχυση είναι σχεδόν αδύνατη (Graham et al., 2011).

Η μετφορμίνη χορηγείται μέσω του στόματος (per os) με δόση από 0,5 μέχρι 3 g ημερησίως, ως επί το πλείστον διατίθεται σε ταμπλέτες άμεσης απελευθέρωσης (χρόνος μέγιστης συγκέντρωσης T_{max} σε περίπου 3 ώρες) και σε μερικές χώρες διατίθεται σε ταμπλέτες παρατεταμένης απελευθέρωσης (T_{max} περίπου 7 ώρες). Όσον αφορά στη φαρμακοκινητική της μετφορμίνης, απορροφάται από το λεπτό έντερο και ως μόριο με χαμηλή λιποφιλικότητα παρουσιάζει χαμηλή απορρόφηση όπως και βιοδιαθεσιμότητα (55 ± 16%) καθώς δεν υπόκειται σε μεταβολισμό πρώτης διόδου από το ήπαρ. Η μέγιστη συγκέντρωση της είναι περίπου στα 3 mg/L μετά από δόση 1,5 g, ο χρόνος ημιζωής του φαρμάκου είναι 2 με 5 ώρες, δε συνδέεται με πρωτεΐνες στο αίμα, δε μεταβολίζεται στο ήπαρ και απεκκρίνεται αναλλοίωτο στα ούρα, παρουσιάζει μεγάλο φαινομενικό όγκο κατανομής (περίπου 300 L) και αρκετά υψηλό ρυθμό απέκκρισης (περίπου τέσσερις φορές υψηλότερο από την κρεατινίνη). Μετά από μία απλή δόση χρειάζονται περίπου 24 ώρες για να απεκκριθεί από τον οργανισμό η συνολική ποσότητα του φαρμάκου (Graham et al., 2011). Τέλος, η φαρμακοκινητική της επηρεάζεται από φυσιολογικές και παθοφυσιολογικές καταστάσεις όπως τη λήψη τροφής, τη λήψη άλλων φαρμάκων, την εγκυμοσύνη και τη νεφρική δυσλειτουργία (Graham et al., 2011· Liao et al., 2020· Marathe et al., 2000).

Οι κύριοι τρόποι δράσης της μετφορμίνης είναι η μείωση της παραγωγής γλυκόζης στο ήπαρ αναστέλλοντας τη γλυκονεογένεση, και η βελτίωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη, μέσω της επίδρασης της σε έναν αριθμό σηματοδοτικών μονοπατιών και κυρίως στην αναστολή του συμπλέγματος I της αναπνευστικής αλυσίδας των μιτοχονδρίων. Άλλοι πιθανοί τρόποι δράσης της μετφορμίνης είναι η προαγωγή της λειτουργίας των βήτα κυττάρων του παγκρέατος και η ρύθμιση του μεταβολισμού της γλυκόζης στον γαστρεντερικό σωλήνα (Zhou et al., 2018).

Οι κύριες παρενέργειες της μετφορμίνης είναι οι γαστρεντερικές διαταραχές λόγω των υψηλών δόσεων που λαμβάνουν οι ασθενείς. Πιο σπάνιες παρενέργειες είναι η υπογλυκαιμία που συμβαίνει συνήθως όταν συν-χορηγούνται και άλλα φάρμακα, και η γαλακτική οξέωση που συμβαίνει κυρίως σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια (Adak et al., 2018).

Τέλος αξίζει να σημειωθεί ότι, όπως προαναφέρθηκε ένας πιθανός και σε μεγάλο βαθμό αποδεκτός μηχανισμός δράσης της μετφορμίνης είναι η αναστολή του συμπλέγματος I της αναπνευστικής αλυσίδας των μιτοχονδρίων (Zhou et al., 2018). Συνεπώς, εικάζεται αλλά και αναφέρεται σε μερικές μελέτες ότι η μετφορμίνη μειώνει την αερόβια ικανότητα (Das et al., 2017). Σε μια πρόσφατη μετά-ανάλυση (Saibal et al., 2018) αναφέρεται ότι η χορήγηση μετφορμίνης δεν επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την αερόβια ικανότητα. Συγκεκριμένα αναφέρθηκε μείωση της VO_{2max} χωρίς όμως στατιστικά σημαντική διαφορά, σημαντική μείωση του αναπνευστικού πηλίκου και σημαντική αύξηση του δείκτη υποκειμενικής αντίληψης της κόπωσης. Στη μελέτη των Κοπορκα και συν (2019) αναφέρεται ότι σε άτομα ηλικίας 60 ετών μετά από πρόγραμμα αερόβιας άσκησης 12 εβδομάδων σε συνδυασμό με χορήγηση μετφορμίνης ή εικονικού σκευάσματος (placebo), η VO_{2max} ήταν χαμηλότερη στην ομάδα που λάμβανε μετφορμίνη, ωστόσο η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Επιπλέον οι ερευνητές αναφέρουν ότι η μετφορμίνη προκάλεσε αναστολή της ανάπτυξης της μιτοχονδριακής αναπνοής που επιτυγχάνεται από την αερόβια άσκηση. Από την άλλη πλευρά, νεότερες μελέτες αναφέρουν ότι η μετφορμίνη αναστέλλει εκλεκτικά το σύμπλεγμα I της αναπνευστικής αλυσίδας, μειώνοντας τον ρυθμό $NADH/NAD^+$ σε τέτοιο βαθμό που όμως δεν επηρεάζει αρνητικά τη λειτουργία των μιτοχονδρίων (Cameron et al., 2018). Οι Wang και συν (2019), αναφέρουν ότι η μετφορμίνη, σε δόσεις που χορηγούνται στη κλινική πράξη, έχει θετική επίδραση στη λειτουργία της αναπνευστικής αλυσίδας και ότι η αναστολή της αναπνευστικής αλυσίδας είναι αποτέλεσμα των πολύ υψηλών δόσεων που συνήθως χρησιμοποιούνται στις *in vitro* μελέτες (Fontaine et al., 2018). Οι Martin-Rogriguez και συν (2020) στην ανασκόπηση τους, καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η μετφορμίνη, σε φυσιολογικές δόσεις, δεν προκαλεί δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων, ωστόσο υποστηρίζουν την περαιτέρω διερεύνηση του θέματος. Από όλα τα παραπάνω προκύπτει το ερώτημα αν τα μιτοχόνδρια των σκελετικών μυών αποτελούν διαμέρισμα της μετφορμίνης υπό συνθήκες σωματικής άσκησης. Η μετφορμίνη ως υδρόφιλο μόριο παρουσιάζει μεγάλο όγκο κατανομής και οι σκελετικοί μύες θεωρούνται ένα από τα διαμερίσματα της (Gormsen et al., 2016· Graham et al., 2011). Αν και δεν υπάρχουν αναφορές για κύτταρα σκελετικών μυών, αποτελέσματα *in vitro* ερευνών

αναφέρουν ότι το μεγαλύτερο ποσοστό της μετφορμίνης συγκεντρώνεται στο κυττοσόλιο των ηπατικών κυττάρων και δεν έχουν ανακαλυφθεί μεταφορείς που εισάγουν την ελάχιστη ποσότητα μετφορμίνης μέσα στα μιτοχόνδρια (Fontaine et al., 2018· Gormsen et al., 2016· Wang et al., 2019). Η σωματική άσκηση πιθανώς να επηρεάσει τον όγκο κατανομής της μετφορμίνης στέλνοντας μεγαλύτερη ποσότητα φαρμάκου στους εργαζόμενους σκελετικούς μύες λόγω αύξησης της αιματικής ροής (McLaughlin & Jacobs 2017). Αν το τελευταίο επιβεβαιωθεί, θα ήταν σημαντικό να εξεταστεί αν κάποια ποσότητα της μετφορμίνης εισάγεται στα μιτοχόνδρια των σκελετικών μυϊκών κυττάρων κατά την άσκηση δίνοντας μια πιθανή απάντηση γιατί η λήψη μετφορμίνης δεν επιτρέπει σε ικανοποιητικό βαθμό την ανάπτυξη της αερόβιας ικανότητας όταν συν-χρηγείται με σωματική άσκηση.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

Η Αμερικάνικη Διαβητολογική Εταιρεία (2013) συστήνει ως πρώτη θεραπεία για τον ΣΔΤ2 και τον προ-διαβήτη τον συνδυασμό άσκησης και μετφορμίνης. Συνεπώς, η κλινική δράση του συνδυασμού μετφορμίνης και άσκησης έχει μελετηθεί με τη διεξαγωγή αρκετών ερευνών χωρίς να έχει ξεκαθαριστεί αν η δράση τους είναι ανταγωνιστική ή συνεργιστική (Malin & Braun 2011). Είναι γνωστό ότι η σωματική άσκηση διαταράσσει τη φυσιολογία προκαλώντας αρκετές αλλαγές όπως η μείωση της κινητικότητας του εντέρου, η αύξηση της αιματικής ροής προς τους σκελετικούς μύες και η μείωση του ρυθμού σπειραματικής διήθησης, οι οποίες μπορούν να επηρεάσουν τη φαρμακοκινητική (McLaughlin & Jacobs 2017). Αν και σε τι βαθμό θα επηρεαστεί η φαρμακοκινητική ενός φαρμάκου από τη σωματική άσκηση, εξαρτάται από το είδος, την ένταση και την ποσότητα της άσκησης και από τις φυσικοχημικές ιδιότητες και τα φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά του φαρμάκου (McLaughlin & Jacobs 2017). Όπως αναφέρθηκε παραπάνω η μετφορμίνη είναι ένα μόριο με χαμηλή λιποφιλικότητα με αποτέλεσμα να μη διαπερνάει τη μεμβράνη των εντεροκυττάρων με παθητική διάχυση και συνεπώς παρουσιάζει χαμηλή απορρόφηση και βιοδιαθεσιμότητα. Ως εκ τούτου, ερευνητές προσπαθούν να αυξήσουν την απορρόφηση και τη βιοδιαθεσιμότητα της μετφορμίνης είτε με την τροποποίηση της φαρμακοτεχνικής της μορφή είτε με τη συν-χορήγηση άλλων φαρμάκων (Marathe et al., 2000· Markowicz-Piasecka et al., 2017). Σε λίγες έρευνες έχει μελετηθεί η επίδραση της άσκησης στην εντερική απορρόφηση της λεβοντόπας και της ακεταμινοφαίνης, χωρίς να έχουν βρεθεί στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα (Loniweski et al., 2001· Lopane et al., 2010· Muhlack et al., 2007· Reuter et al., 2000). Δεν εντοπίσαμε κάποια έρευνα στη βιβλιογραφία σχετικά με την επίδραση της σωματικής άσκησης στην απορρόφηση της μετφορμίνης.

ΣΚΟΠΟΣ

Με βάση τα παραπάνω και λαμβάνοντας υπόψη το πόσο σημαντικός είναι ο συνδυασμός σωματικής άσκησης και μετφορμίνης για τη θεραπεία του ΣΔΤ2, πρώτος σκοπός της παρούσας πιλοτικής μελέτης ήταν να ερευνηθεί την επίδραση της υψηλής έντασης διαλειμματικής άσκησης σε βασικές φαρμακοκινητικές παραμέτρους της εντερικής απορρόφησης της μετφορμίνης. Ο δεύτερος σκοπός ήταν να εξετάσει αν ο συνδυασμός άσκησης και μετφορμίνης θα διαταράξει την ομοιόσταση της γλυκόζης και αν θα αυξήσει τη συγκέντρωση του γαλακτικού στο αίμα.

ΜΕΘΟΔΟΣ

Συμμετέχοντες

Δέκα υγιείς, μη καπνιστές άνδρες συμμετείχαν εθελοντικά στη μελέτη. Τα χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων παρουσιάζονται στον Πίνακα 1. Οι συμμετέχοντες δε λάμβαναν κάποια φαρμακευτική αγωγή ή συμπληρώματα διατροφής και μετά από προφορική και γραπτή ενημέρωση για τον σκοπό, τους πιθανούς κίνδυνους και τα οφέλη της μελέτης έδωσαν γραπτή συγκατάθεση για τη συμμετοχή τους στην έρευνα. Κατά την πρώτη επίσκεψη των εθελοντών στο εργαστήριο, μετρήθηκε η μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου (VO₂max) και η μέγιστη καρδιακή συχνότητα (ΜΚΣ) εκτελώντας ένα πρωτόκολλο αυξανόμενης έντασης.

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά συμμετεχόντων (ΜΤ ± ΤΑ, *n* = 10)

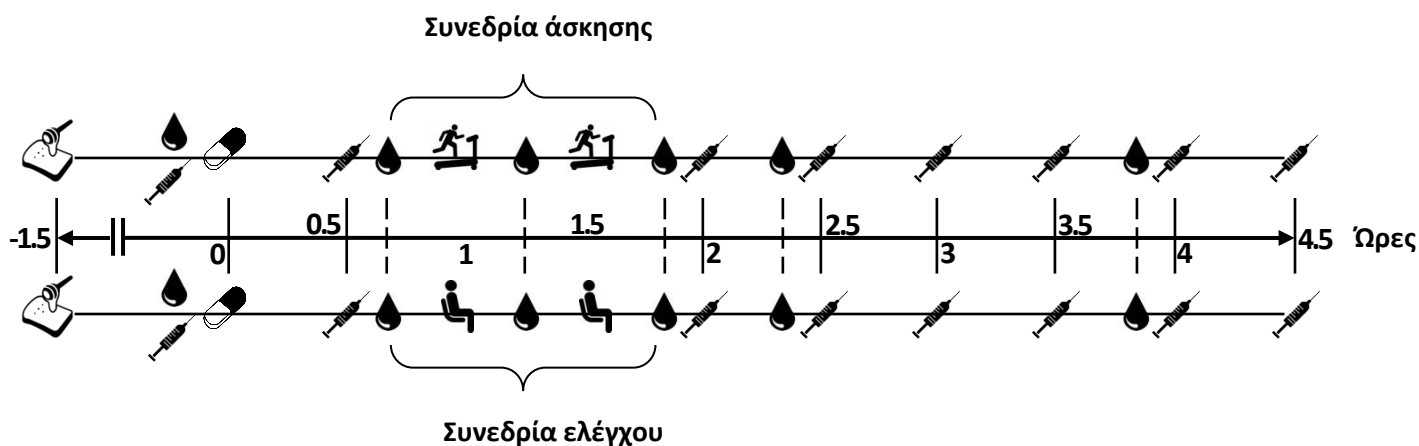
Ηλικία (έτη)	30,9 ± 3,3
Ύψος (m)	1,79 ± 0,07
Σωματική μάζα (kg)	77,6 ± 8,2
ΔΜΣ (kg m ⁻²)	24,3 ± 2,2
VO ₂ max (ml/kg/min)	50,9 ± 4,5
ΜΚΣ (bpm [†])	193 ± 7

[†]bpm, beats per minute

Πειραματικό πρωτόκολλο

Το πειραματικό πρωτόκολλο απεικονίζεται στο Γράφημα 1. Όλοι οι συμμετέχοντες ολοκλήρωσαν δυο συνεδρίες (άσκησης και ελέγχου) διάρκειας πέντε ωρών η κάθε μία (11 πμ – 4 μμ), σε διαφορετικές μέρες και με χρονική περίοδο μεταξύ των δυο συνεδριών από μια μέχρι δυο εβδομάδες. Η έναρξη της κάθε συνεδρίας καθοριζόταν από τη λήψη 1000 mg μετφορμίνης per os (Glucophage, Merck KGaA; Ταμπλέτες άμεσης απελευθέρωσης), 1 με 1,5 ώρες πριν από την κατανάλωση πρωινού. Στη μια από τις δύο συνεδρίες, οι συμμετέχοντες εκτέλεσαν 60 λεπτά τρέξιμο με εναλλασσόμενη ένταση, ξεκινώντας 40 λεπτά μετά τη λήψη της μετφορμίνης. Οι συμμετέχοντες δεν κατανάλωσαν καθόλου φαγητό κατά τη διάρκεια των δύο συνεδριών αλλά είχαν ελεύθερη πρόσβαση στην κατανάλωση νερού εκτός κατά τη δοκιμασία άσκησης. Οι συνεδρίες πραγματοποιήθηκαν με

τυχαία αντισταθμισμένη σειρά. Πραγματοποιήθηκε λήψη δειγμάτων φλεβικού αίματος για τον προσδιορισμό της μετφορμίνης και τριχοειδικού αίματος για τη μέτρηση της γλυκόζης και του γαλακτικού.



Γράφημα 1. Πειραματικό πρωτόκολλο. Η φέτα ψωμί με το μέλι απεικονίζουν το πρωινό. Οι ταμπλέτες απεικονίζουν τη λήψη της μετφορμίνης. Οι σύριγγες απεικονίζουν τις λήψεις φλεβικού αίματος για τον προσδιορισμό της μετφορμίνης. Οι σταγόνες αίματος απεικονίζουν τις λήψεις τριχοειδικού αίματος για τη μέτρηση του γαλακτικού και της γλυκόζης

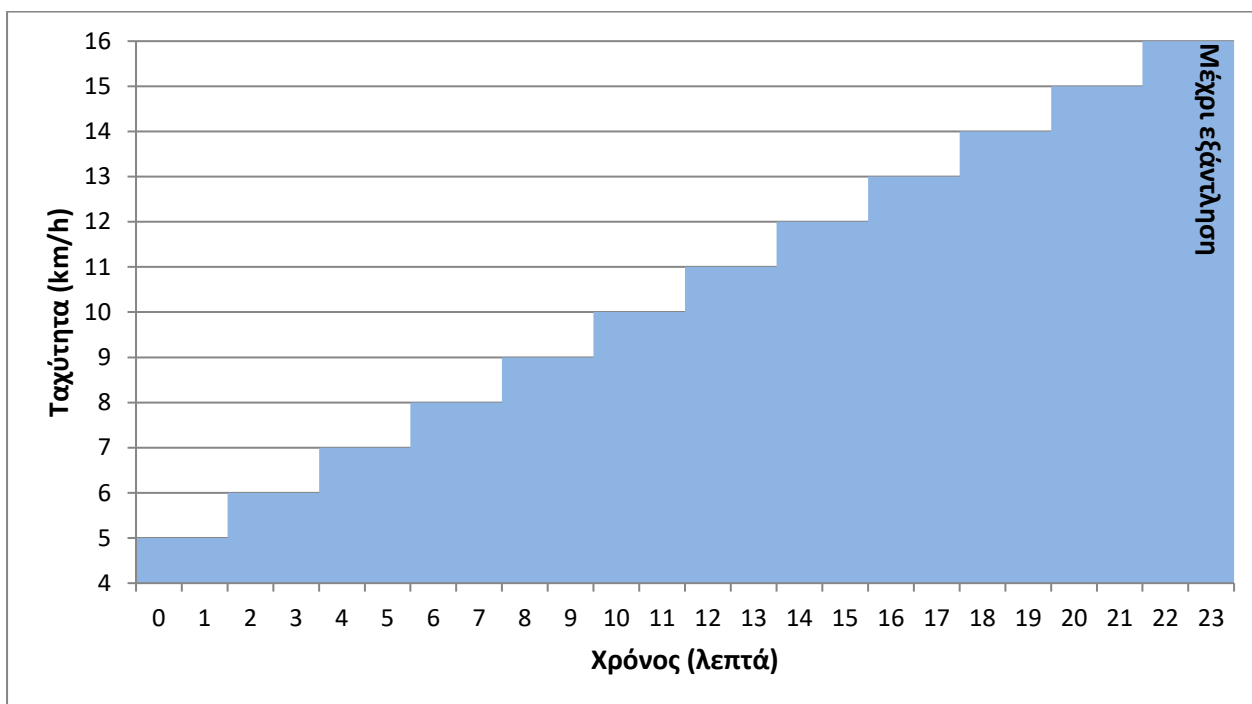
Μέτρηση σωματικών χαρακτηριστικών

Μετρήθηκε η σωματική μάζα και το ύψος των συμμετεχόντων με τη χρήση ηλεκτρονικού ζυγού με στήλη και ενσωματωμένο αναστημομετρο (Seca, Hamburg, Γερμανία). Από τις δυο αυτές παραμέτρους υπολογίστηκε ο δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ).

Μέτρηση μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου και μέγιστης καρδιακής συχνότητας

Για τη μέτρηση της VO_{2max} χρησιμοποιήθηκε το δαπεδοεργόμετρο h/p/cosmos pulsar 3p 4.0 (Nussdorf, Traunstein), το σταθερό εργοσπιρόμετρο Oxycon-Pro (Jaeger Wurzburg) και η ΜΚΣ μετρήθηκε με φορητό καρδιοσυχνόμετρο (Polar, Φινλανδία), συνδεδεμένο με το εργοσπιρόμετρο. Μετά από έλεγχο του δαπεδοεργομέτρου και βαθμονόμηση του εργοσπιρομέτρου, τοποθετήθηκε στους εθελοντές η μάσκα που είναι συνδεδεμένη με το εργοσπιρόμετρο. Με τη χρήση της συγκεκριμένης μάσκας, οι εθελοντές εισπνέουν τον αέρα του περιβάλλοντος ενώ η εκπνοή τους οδηγείται μέσα στο εργοσπιρόμετρο για την ανάλυση των αερίων κατά τη διάρκεια που τρέχουν πάνω στο δαπεδοεργόμετρο. Οι εθελοντές εκτέλεσαν ένα πρωτόκολλο αυξανόμενης έντασης (Γράφημα 2). Το πρωτόκολλο ξεκινούσε με

περπάτημα στα 5 km/h για δύο λεπτά και στη συνέχεια η ταχύτητα αυξανόταν ανά 1 km/h κάθε δύο λεπτά μέχρι την εξάντληση του εθελοντή. Η κλίση του δαπεδοεργομέτρου ήταν 0% σε όλη τη διάρκεια του πρωτοκόλλου, και πραγματοποιούταν καταγραφή της καρδιακής συχνότητας καθ' όλη τη διάρκεια.



Γράφημα 2. Πρωτόκολλο αυξανόμενης έντασης για τη μέτρηση της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου και της μέγιστης καρδιακής συχνότητας

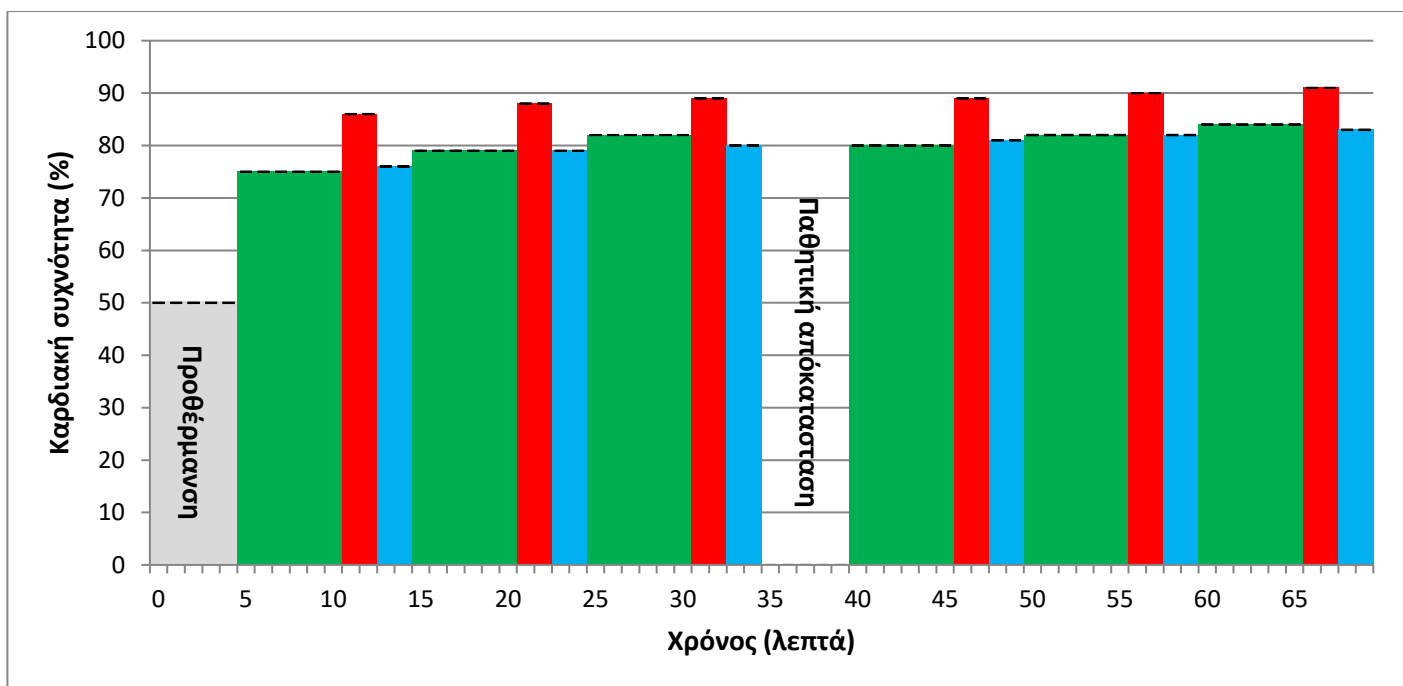
Έλεγχος διατροφής

Όλοι οι συμμετέχοντες δεν κατανάλωσαν καφεΐνη και αλκοόλ για 12 και 48 ώρες αντίστοιχα πριν από κάθε συνεδρία. Κατά τη διάρκεια των συνεδριών, οι συμμετέχοντες μπορούσαν να καταναλώσουν μόνο νερό. Επειδή η βιοδιαθεσιμότητα της μετφορμίνης μπορεί να επηρεαστεί από την πρόσληψη τροφής (Graham et al., 2011), ζητήθηκε από τους εθελοντές να καταγράψουν το πρωινό τους, σε ειδικές φόρμες, πριν από την πρώτη συνεδρία και να καταναλώσουν το ίδιο πρωινό και να το καταγράψουν πριν από τη δεύτερη συνεδρία. Ακολούθησε ανάλυση διατροφής των συμμετεχόντων σε πρόγραμμα που έχει δημιουργηθεί σε περιβάλλον Microsoft Access (Nutrinalysis, © 2008 Βασίλης Μούγιος), σύμφωνα με δημοσιευμένα δεδομένα της Food Standard Agency (2002).

Δοκιμασία άσκησης

Οι συμμετέχοντες έτρεξαν για 60 λεπτά με εναλλασσόμενη ένταση επάνω στον διάδρομο, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος 21°C. Οι εθελοντές μετά από 5 λεπτά προθέρμανση στα 5 km/h, εκτέλεσαν 6 σετ διάρκειας 10 λεπτών με 5 λεπτά παθητική αποκατάσταση μεταξύ του τρίτου και τέταρτου σετ. Οι συμμετέχοντες ασκήθηκαν σε κάθε σετ για 6 λεπτά στο $80 \pm 3\%$ [¶] της ΜΚΣ, για 2 λεπτά στο $89 \pm 2\%$ [¶] της ΜΚΣ και στα τελευταία 2 λεπτά περπατούσαν με ταχύτητα 5 km/h (Γράφημα 3). Η ταχύτητα που αντιστοιχούσε σε κάθε ένταση, προσδιορίστηκε από τη μέτρηση της ΜΚΣ στο πρωτόκολλο αυξανόμενης έντασης και αν ήταν απαραίτητο η ταχύτητα προσαρμοζόταν με βάση την παρακολούθηση της καρδιακής συχνότητας που πραγματοποιούταν κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας. Ζητήθηκε από τους εθελοντές να καταναλώσουν από 400 μέχρι 1000 ml νερού κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας ώστε να διατηρηθούν καλά ενυδατωμένοι και μετρήθηκε η σωματική τους μάζα πριν και μετά την άσκηση, αφού άδειασαν την ουροδόχο κύστη τους, για να εκτιμηθεί η ενυδάτωση τους (Silva et al., 2011). Μετά το τέλος της δοκιμασίας, οι εθελοντές αξιολόγησαν τη δυσκολία της δοκιμασίας, με βάση τον δείκτη υποκειμενικής αντίληψης της κόπωσης σε 10 βαθμών κλίμακα Borg.

[¶]Αναφέρεται η μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση των έξι 6-λέπτων και έξι 2-λέπτων αντίστοιχα



Γράφημα 3. Καρδιακή συχνότητα συμμετεχόντων (% της ΜΚΣ, $MT \pm TA$) κατά τη δοκιμασία άσκησης για κάθε περίοδο μέτριας έντασης (πράσινο χρώμα), υψηλής έντασης (κόκκινο χρώμα) και ενεργητικής αποκατάστασης (μπλε χρώμα)

Προσδιορισμός μετφορμίνης στο πλάσμα

Πραγματοποιήθηκε λήψη 2 mL φλεβικού αίματος πριν από τη χορήγηση της μετφορμίνης και 0,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, και 4,5 ώρες μετά τη χορήγηση της μετφορμίνης στις δύο συνεδρίες, τοποθετώντας καθετήρα στη βραχιόνια φλέβα, για τον προσδιορισμό της μετφορμίνης. Τα δείγματα αίματος τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικό σωλήνα που περιείχαν αντιπηκτικό (EDTA) και στη συνέχεια φυγοκεντρήθηκαν στις 1500 g για 3 λεπτά στους 4°C. Το υπερκείμενο πλάσμα συλλέχθηκε και τοποθετήθηκε στους -80°C μέχρι να αναλυθεί. Πριν από την ανάλυση τα δείγματα ξεπάγωσαν σε θερμοκρασία εσωτερικού περιβάλλοντος. 150 μL παγωμένου ακετονιτριλίου προστέθηκαν σε 50 μL πλάσματος ώστε να υπάρξει κατακρήμνιση πρωτεϊνών. Ακολούθησε ανάδευση των δειγμάτων για 1 λεπτό σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και φυγοκέντρηση στις 6700 g για 10 λεπτά, 4°C. Το υπερκείμενο υγρό μεταφέρθηκε σε φιαλίδια για ανάλυση με υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με φασματοσκοπία μάζας σε σειρά.

Ο χρωματογραφικός διαχωρισμός πραγματοποιήθηκε σε στήλη αμιδίου (Acquity UPLC BEH Amide, 2.1 mm × 150 mm, particle size 1.7 μm; Waters), με

σύστημα Υγρής Χρωματογραφίας Υπερ-υψηλής Πίεσης υπό βαθμωτή έκλουση. Η κινητή φάση αποτελείται από το διάλειμμα (A) ακετονιτρίλιο - νερό 95/5 (v/v) και (B) που ακετονιτρίλιο - νερό 30/70 (v/v), και τα δύο διαλείμματα περιείχαν 10 mmol/L μυρμηγκικό αμμώνιο. Το πρόγραμμα έκλουσης ξεκινά από 100% (A) αυξάνεται γραμμικά στο 50% (B) σε διάρκεια 5 λεπτών και καταλήγει σε 85% (A) εντός 1 λεπτού. Τέλος η στήλη εξισορροπεί για 4 λεπτά στις αρχικές συνθήκες πριν την επόμενη ανάλυση. Η ταχύτητα ροής ορίστηκε στα 0,5 mL/min και η θερμοκρασία στήλης στους 40°C. Το σύστημα εισαγωγής δείγματος υποβάλλεται σε δύο κύκλους πλύσης με ένα ισχυρό διάλειμμα (ακετονιτρίλιο-νερό 95:5, 0,1% μυρμηγκικό οξύ) και ένα ασθενές διάλειμμα (μεθανόλη-νερό 30:70, 0,1% μυρμηγκικό οξύ) πριν την έγχυση των δειγμάτων.

Χρησιμοποιήθηκε σύστημα φασματοσκοπίας μάζας Xevo TQD (Waters) και εφαρμόστηκε θετικός ιονισμός ηλεκτροψεκασμού. Το δυναμικό του τριχοειδούς ρυθμίστηκε στα +3,5 kv. Οι θερμοκρασίες της πηγής και του εξατμιστή ήταν 150°C και 350°C αντίστοιχα. Η ταχύτητα ροής του αερίου επιδιαλύτωσης ορίστηκε στα 650 L/h και η ταχύτητα ροής του προστατευτικού αερίου στα 50 L/h. Το δυναμικό του κώνου 28 V και η ενέργεια θραυσματοποίησης 25 V βελτιστοποιήθηκαν για τη μετφορμίνη σε κατάσταση άμεσης έγχυσης. Εφαρμόστηκε μέθοδος παρακολούθησης πολλαπλών μεταπτώσεων για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση του αναλυτή (m/z transition ions 130 > 60 and 130 > 71). Η μέθοδος αποδείχτηκε αξιόπιστη, ευαίσθητη και γραμμική σε μεγάλο εύρος συγκεντρώσεων (0,05 – 5 µg/mL).

Προσδιορισμός γαλακτικού στο αίμα

Για τον προσδιορισμό του γαλακτικού στο αίμα έγινε λήψη 14 µL τριχοειδικού αίματος από το δάχτυλο του χεριού, το οποίο αναμείχτηκε με 140 µL 0,3 mol/L υπερχλωρικού οξέος, πριν από τη χορήγηση της μετφορμίνης και 0,7, 1,3, 1,8, 2,3 και 3,8 ώρες μετά τη χορήγηση της μετφορμίνης στις δύο συνεδρίες. Για την ανάλυση τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στις 5000 g για 4 min στους 18°C και το υπερκείμενο χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση του γαλακτικού φασματοφωτομετρικά. Συγκεκριμένα, παρασκευάστηκε ένα διάλυμα εργασίας χρησιμοποιώντας 50 mg NAD (Applichem, Darmstadt, Germany), 10 mL 0,6 mol/L

glycine buffer (Sigma), 20 mL νερό και 500 U γαλακτικής αφυδρογονάσης (Sigma). Αναμείχτηκε το υπερκείμενο με το διάλυμα εργασίας σε αναλογία όγκων 1:29 και μετά από 30 min αναμονής στους 37°C ολοκληρώθηκε η αντίδραση μετατροπής γαλακτικού και NAD⁺ σε πυροσταφυλικό και NADH και, στη συνέχεια, μετρήθηκε η συγκέντρωση του NADH σε μήκος κύματος 340 nm. Για τη μέτρηση χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης SpectroQuest SQ4802 της Unico (Dayton, NJ, Η.Π.Α.).

Μέτρηση γλυκόζης στο αίμα

Για τον προσδιορισμό της γλυκόζης στο αίμα έγινε λήψη μιας σταγόνας αίματος από το δάχτυλο του χεριού, πριν από τη χορήγηση της μετφορμίνης και 0,7, 1,3, 1,8, 2,3 και 3,8 ώρες μετά τη χορήγηση της μετφορμίνης στις δύο συνεδρίες. Η γλυκόζη μετρήθηκε με τη χρήση αυτόματου φορητού μετρητή (BIONIME Rightest GM550).

Φαρμακοκινητική και Στατιστική ανάλυση

Πραγματοποιήθηκε μη διαμερισματική ανάλυση με τη χρήση του λογισμικού PKSolver (Zhang et al., 2010) για να υπολογιστεί η μέγιστη συγκέντρωση της μετφορμίνης (C_{max}), ο χρόνος που απαιτείται για τη μέγιστη συγκέντρωση της μετφορμίνης (T_{max}) και η επιφάνεια κάτω από την καμπύλη συγκέντρωση-χρόνου (AUC).

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση (MT ± TA). Η κατανομή των δεδομένων ελέγχτηκε με τη δοκιμασία του Shapiro-Wilk, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της οποίας, Wilcoxon τεστ εφαρμόστηκε για τις φαρμακοκινητικές παραμέτρους της μετφορμίνης και t Student τεστ για τις παραμέτρους της γλυκόζης και του γαλακτικού, εκτός από τη σύγκριση του γαλακτικού στα 30 λεπτά της άσκησης όπου εφαρμόστηκε Wilcoxon τεστ. Η επίδραση μεγέθους του Rusenthal ($r = Z/\sqrt{\text{παρατηρήσεις}}$) χρησιμοποιήθηκε για τον έλεγχο των σημαντικών διαφορών. Τιμές του 0,1, 0,3 και 0,5 θεωρούνται μικρό, μέτριο και υψηλό μέγεθος επίδρασης αντίστοιχα (Cohen 1988). Post-hoc στατιστική ισχύς υπολογίστηκε με το λογισμικό G*Power. Για τον έλεγχο της αξιοπιστίας (επαναληψιμότητας) των διατροφικών δεδομένων μεταξύ των δύο συνεδριών χρησιμοποιήθηκε ο ενδοκατηγορικός συντελεστής συσχέτισης (Intraclass

Correlation Coefficient, ICC) και η ερμηνεία των αποτελεσμάτων περιγράφηκε όπως προτείνεται από τους ερευνητές (Nikolaidis et al., 2016). Το επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο $\alpha = 0,05$ για όλα τα τεστ και για τη στατιστική επεξεργασία χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό SPSS v. 23.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η VO₂max και η ΜΚΣ των συμμετεχόντων ήταν 50.9 ± 4.5 mL/kg/min και 193 ± 7 bpm (Πίνακας 1). Μετά τη λήξη των 60 λεπτών άσκησης η σωματική μάζα των συμμετεχόντων μειώθηκε μόλις κατά $0,6 \pm 0,4\%$, υποδεικνύοντας ότι οι συμμετέχοντες παρέμειναν καλά ενυδατωμένοι κατά τη διάρκεια της άσκησης (ACSM, Sawka et al., 2007). Οι συμμετέχοντες αξιολόγησαν την κόπωση τους από τη δοκιμασία άσκησης ως μέτρια με την τιμή κλίμακας Borg $5,9 \pm 1,5$. Η αξιοπιστία των διατροφικών δεδομένων ήταν από υψηλή έως άριστη (ICC 0,84-0,97 Πίνακας 2). Δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο συνεδριών για τη συγκέντρωση της μετφορμίνης ακριβώς πριν την έναρξη της άσκησης. Τα δύο τελευταία αποτελέσματα αποτελούν σημαντική βάση για να εξεταστεί η επίδραση της άσκησης στην απορρόφηση της μετφορμίνης.

Τα αποτελέσματα των φαρμακοκινητικών παραμέτρων, του γαλακτικού και της γλυκόζης παρουσιάζονται στον Πίνακα 3. Στη συνεδρία που εκτελέστηκε μία ώρα άσκηση βρέθηκε σημαντική αύξηση της C_{max} και της AUC, όπως και σημαντική μείωση του T_{max} (Γράφημα 4) σε σύγκριση με τη συνεδρία ελέγχου.

Βρέθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση της AUC του γαλακτικού (Γράφημα 5) μεταξύ των δύο συνεδριών, η συγκεκριμένη αύξηση είναι αποτέλεσμα της επίδρασης της άσκησης. Τέλος, η AUC της γλυκόζης δε διέφερε μεταξύ των δύο συνεδριών (Γράφημα 6).

Πίνακας 2. Ενδοκατηγορικός συντελεστής συσχέτισης (ICC) και τα διαστήματα εμπιστοσύνης 95% (CI)[†] για την πρόσληψη ενέργειας και μακροθρεπτικών συστατικών (MT ± TA) από το πρωινό μεταξύ των συνεδριών άσκησης και ελέγχου ($n = 10$)

Παράμετρος	Συνεδρία άσκησης	Συνεδρία ελέγχου	ICC	95% CI
Ενέργεια (kcal)	715 ± 349	667 ± 352	0,96*	0,860-0,990
Υδατάνθρακες (g)	86 ± 52	80 ± 55	0,96*	0,869-0,891
Υδατάνθρακες (% της ενέργεια)	50 ± 16	48 ± 17	0,93*	0,748-0,981
Λίπη (g)	26 ± 16	23 ± 15	0,90*	0,675-0,974
Λίπη (% της ενέργεια)	31 ± 13	30 ± 11	0,89*	0,638-0,971
Πρωτεΐνες (g)	35 ± 20	35 ± 19	0,97*	0,897-0,993
Πρωτεΐνες (% της ενέργεια)	19 ± 7	22 ± 9	0,84*	0,501-0,957

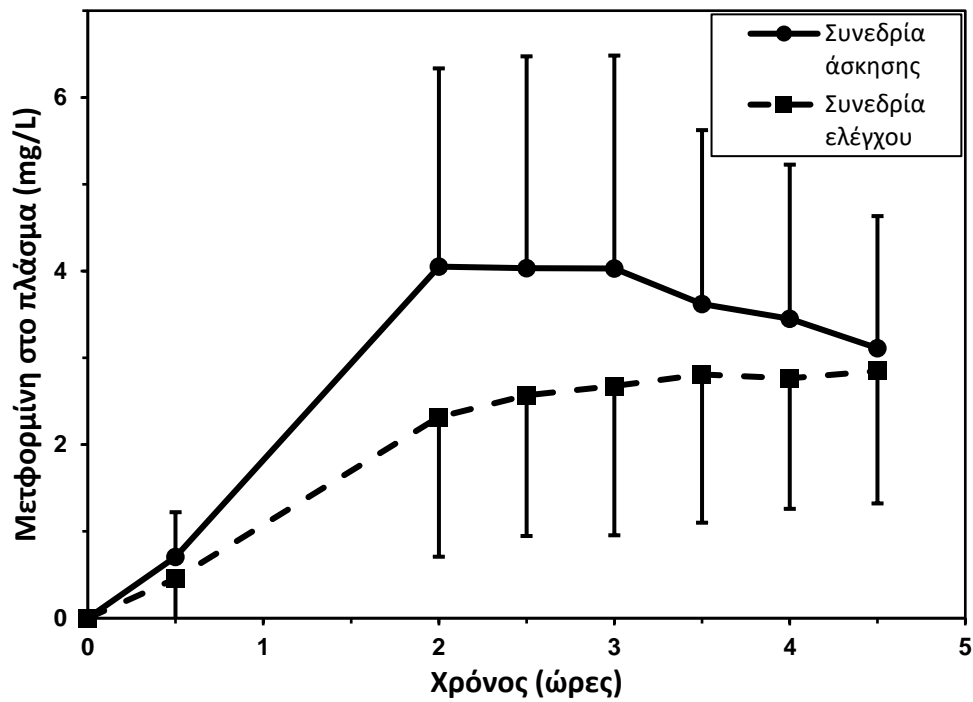
*Σημαντικά διαφορετικό από το 0 ($p < 0,05$).

[†]CI, Confidence Intervals

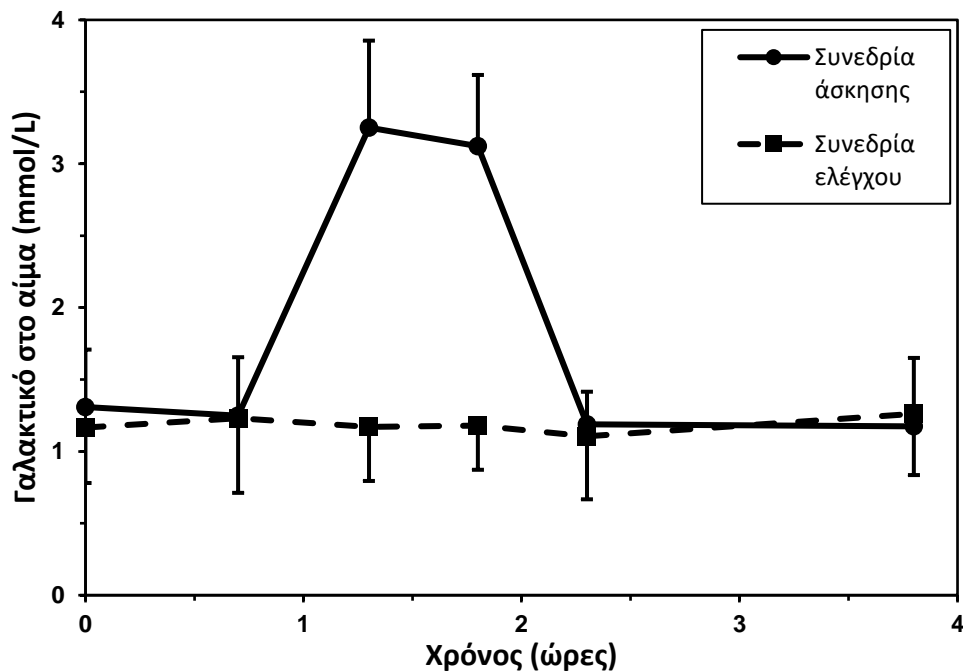
Πίνακας 3. Φαρμακοκινητικές παράμετροι, γαλακτικό και γλυκόζη (MT ± TA), η στατιστική διαφορά μεταξύ των δύο συνεδριών (p), το μέγεθος επίδρασης (effect size) και η στατιστική ισχύς (power, $n = 10$)

Παράμετρος	Συνεδρία άσκησης	Συνεδρία ελέγχου	p	Μέγεθος επίδρασης	Στατιστική ισχύς
<i>Μετφορμίνη</i>					
Πριν την άσκηση (mg/L)	0,7 ± 0,5	0,5 ± 0,5	0,110		
C _{max} (mg/L)	4,4 ± 2,5	3,2 ± 1,8	0,059	0,42	0,51
T _{max} (h)	2,7 ± 0,9	4 ± 0,6	0,009*	0,58	0,95
AUC (mg/L h)	13,2 ± 7	9 ± 5,2	0,047*	0,44	0,58
<i>Γαλακτικό</i>					
Πριν την άσκηση (mmol/L)	1,2 ± 0,4	1,2 ± 0,5	0,952		
30 λεπτά της άσκησης (mmol/L)	3,3 ± 0,6	1,2 ± 0,4	< 0,001*		
Μετά την άσκηση mmol/L)	3,1 ± 0,5	1,2 ± 0,3	0,005*		
AUC (mmol/L h)	6,9 ± 1,1	4,5 ± 1,1	< 0,001*		
<i>Γλυκόζη</i>					
AUC (mmol/L h)	18,9 ± 1,4	19,4 ± 0,8	0,219		

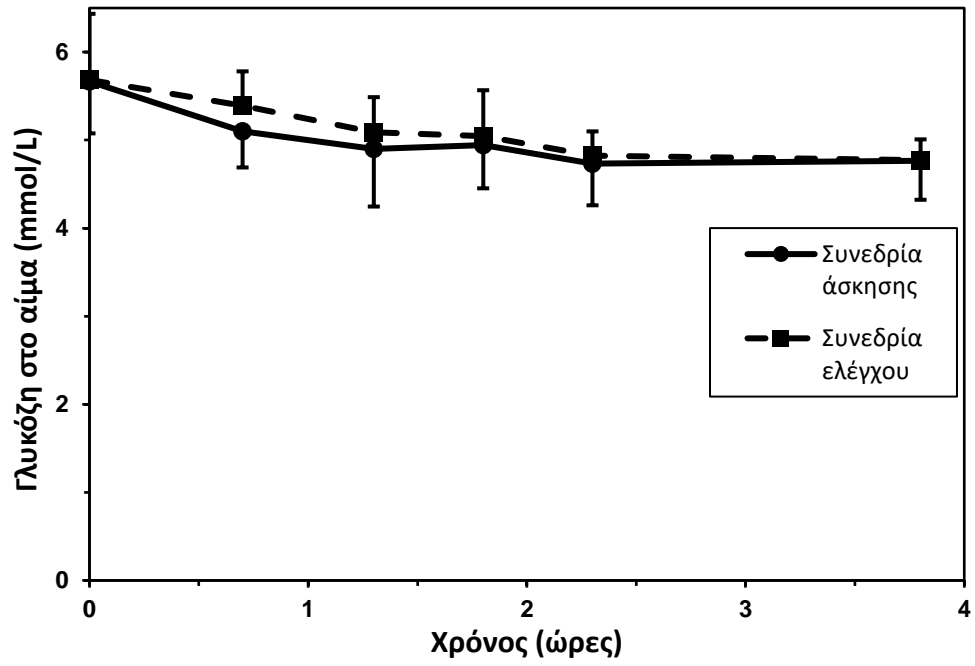
*Στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$).



Γράφημα 4. Συγκέντρωση μετφορμίνης στο πλάσμα (MT ± TA) κατά τη διάρκεια των συνεδριών άσκησης και ελέγχου



Γράφημα 5. Συγκέντρωση γαλακτικού στο αίμα (MT ± TA) κατά τη διάρκεια των συνεδριών άσκησης και ελέγχου



Γράφημα 6. Συγκέντρωση γλυκόζης στο αίμα ($MT \pm TA$) κατά τη διάρκεια των συνεδριών άσκησης και ελέγχου

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε η επίδραση της σωματικής άσκησης σε βασικές φαρμακοκινητικές παραμέτρους που σχετίζονται με την απορρόφηση της μετφορμίνης, φάρμακο εκλογής για τον ΣΔΤ2. Γνωρίζοντας την ισχυρή αντιδιαβητική δράση της σωματικής άσκησης και της μετφορμίνης καθώς επίσης και τη χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα της μετφορμίνης, θεωρήσαμε πολύ σημαντικό να εξετάσουμε την πιθανή επίδραση της άσκησης στην απορρόφηση της μετφορμίνης. Σαν πρώτη προσέγγιση, καθώς από όσο γνωρίζουμε δεν έχει ερευνηθεί στο παρελθόν η συγκεκριμένη υπόθεση, επιλέχθηκαν υγιείς άνδρες καθώς η φαρμακοκινητική της μετφορμίνης δεν επηρεάζεται από την παθοφυσιολογία του ΣΔΤ2 (Sambol et al., 1996), εκτός αν υπάρχει νεφρική δυσλειτουργία σε προχωρημένο στάδιο (Graham et al., 2011). Τα αποτελέσματα μας έδειξαν ότι η διαλειμματική άσκηση υψηλής έντασης επηρέασε τη C_{max}, τον T_{max} και την AUC της μετφορμίνης χωρίς να διαταράξει την ομοιόσταση της γλυκόζης και να αυξήσει τα επίπεδα του γαλακτικού σε μη φυσιολογικά επίπεδα.

Παρόλο που δεν έχει ερευνηθεί ποτέ η επίδραση της άσκησης στη φαρμακοκινητική της μετφορμίνης, σε αρκετές μελέτες έχει εξεταστεί η επίδραση του συνδυασμού μετφορμίνης και άσκησης στη ρύθμιση της γλυκόζης του αίματος, στην ευαισθησία στην ινσουλίνη, στην απώλεια βάρους, στην υπέρταση και στη δυσλιπιδαιμία σε σύγκριση με την επίδραση της άσκησης ή της μετφορμίνης ξεχωριστά στις προαναφερόμενες καταστάσεις (Malin & Braun 2011). Δεν είναι ξεκάθαρο, από τα αποτελέσματα των παραπάνω ερευνών, αν ο συνδυασμός μετφορμίνης και άσκησης έχει ανταγωνιστική ή συνεργιστική δράση στις προαναφερόμενες παθολογικές καταστάσεις. Ερευνητές υποστηρίζουν ότι για να αποσαφηνιστεί το συγκεκριμένο ζήτημα πρέπει να ερευνηθούν μερικά ερωτήματα όπως ποια είναι η ιδανική δόση μετφορμίνης σε συνδυασμό με άσκηση, ποιος είναι ο ιδανικός τύπος άσκησης σε συνδυασμό με τη μετφορμίνη και ποια είναι η ιδανική ώρα άσκησης και κατανάλωσης πρωινού σε σχέση με την ώρα χορήγησης της μετφορμίνης (Malin & Braun 2011· Huang et al., 2018). Επιπλέον, πιστεύουμε ότι το ζήτημα πρέπει να προσεγγιστεί φαρμακοκινητικά ώστε να προσδιοριστεί η βέλτιστη

χρονική στιγμή εκτέλεσης της άσκησης σε σχέση με την ώρα λήψης της μετφορμίνης.

Στην παρούσα έρευνα χρησιμοποιήσαμε μια δοκιμασία διαλειμματικής άσκησης υψηλής έντασης διάρκειας 60 λεπτών. Η Αμερικάνικη Διαβητολογική Εταιρεία συστήνει τουλάχιστον 150 λεπτά την εβδομάδα μέτριας προς έντονης έντασης άσκηση στους ασθενείς με ΣΔΤ2 (Colberg et al., 2016). Παρόλα αυτά μια άλλη μελέτη υποδεικνύει ότι άσκηση περισσότερη από 150 λεπτά την εβδομάδα μειώνει σε μεγαλύτερο βαθμό τη γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη σε σύγκριση με 150 λεπτά ή λιγότερα την εβδομάδα (Umpierre et al., 2011). Επιπλέον, δυο πρόσφατες μετά-αναλύσεις καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η διαλειμματική άσκηση υψηλής έντασης επιφέρει θετικότερα αποτελέσματα από τη μέτριας έντασης συνεχόμενη άσκηση στους ασθενείς με ΣΔΤ2 (De et al., 2018· Liu et al., 2019). Συνεπώς, δομήσαμε μια δοκιμασία άσκησης που περιείχε διαλειμματικές περιόδους υψηλής έντασης. Ομοίως, ο Nadeau (2014) προτείνει 45 με 60 λεπτά αερόβια άσκηση την ημέρα, κατά προτίμηση διαλειμματική άσκηση υψηλής έντασης, για τους διαβητικούς ασθενείς. Οι Sari-Sarraf και συν. (2015) εφάρμοσαν ένα συνδυαστικό πρωτόκολλο συνεχόμενης και διαλειμματικής άσκησης διάρκειας 54 λεπτών σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο και διαβητικούς ασθενείς, για 16 εβδομάδες με πληθώρα θετικών κλινικών επιδράσεων.

Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι η C_{max} της μετφορμίνης είναι περίπου 3 mg/L μετά από δόση 1,5 g και ο T_{max} περίπου στις 3 ώρες (Graham et al., 2011). Τα αποτελέσματα μας, της C_{max} και του T_{max} στη συνεδρία ελέγχου (που δεν πραγματοποιήθηκε άσκηση) δείχνουν παρόμοιες τιμές με αυτές που αναφέρονται στη βιβλιογραφία. Παρόλα αυτά, η άσκηση αύξησε τη C_{max} και μείωσε τον T_{max} . Σε μια άλλη έρευνα βρέθηκε ότι 35 λεπτά αυξανόμενης έντασης αερόβιας άσκησης αύξησαν τη συγκέντρωση της μετφορμίνης στο πλάσμα 20 λεπτά μετά τη λήξη της άσκησης (Boulé et al., 2011).

Η υψηλότερη C_{max} και AUC, που είναι αποτέλεσμα της άσκησης, αναδεικνύει το ερώτημα αν η επίδραση της άσκησης θα μπορούσε να επιδράσει στο θεραπευτικό εύρος της μετφορμίνης αυξάνοντας τη συγκέντρωση της σε τοξικά επίπεδα. Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι η AUC δεν επηρεάζεται από τις

πολλαπλές δόσεις (Graham et al., 2011· Sambol et al., 1996), συνεπώς η αυξημένη C_{max} και η AUC που προέκυψαν από την άσκηση θα μπορούσε να επηρεάσει την κατάσταση σταθερής συγκέντρωσης της μετφορμίνης στο αίμα μετά από ημέρες συνδυασμού μετφορμίνης και σωματικής άσκησης. Καθώς δεν υπάρχει ομοφωνία σχετικά με τη θεραπευτική συγκέντρωση της στο πλάσμα και η καταλληλότερη μέθοδος προσδιορισμού της δόσης είναι η παρακολούθηση των συγκεντρώσεων της μετφορμίνης στο αίμα που ανταποκρίνονται στη ρύθμιση της γλυκόζης του αίματος (Graham et al., 2011· Kajbaf et al., 2016), απαιτείται η διεξαγωγή μιας μελέτης με διάρκεια έτσι ώστε να αξιολογηθεί αν ο συνδυασμός μετφορμίνης και άσκησης θα μπορούσε να φτάσει τη συγκέντρωση της μετφορμίνης σε τοξικά επίπεδα.

Με τα δεδομένα που υπάρχουν έως τώρα είναι πολύ δύσκολο να εξηγηθεί το αποτέλεσμα της άσκησης σχετικά με την αύξηση της C_{max} και τη μείωση του T_{max} . Όπως αναφέρθηκε στην εισαγωγή, η μετφορμίνη είναι ένα μόριο με χαμηλή λιποφιλικότητα με αποτέλεσμα να μην μπορεί να διαπεράσει τη μεμβράνη των εντεροκυττάρων με παθητική διάχυση (Graham et al., 2011). Παρόλο που ο μηχανισμός με τον οποίο η μετφορμίνη διαπερνά το λεπτό έντερο δεν έχει αποσαφηνιστεί με ακρίβεια, δεδομένα από *in vitro* μελέτες υποδεικνύουν την εμπλοκή μεταφορέων – πρωτεϊνών στην ακιδωτή μεμβράνη των εντεροκυττάρων και την ύπαρξη παρακυτταρικής πορείας (δηλαδή μεταξύ των εντεροκυττάρων Παράρτημα Γ) για την απορρόφηση της μετφορμίνης (Han et al., 2015· Proctor et al., 2008). Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι υψηλής έντασης αερόβια άσκηση αύξησε τη διαπερατότητα των εντεροκυττάρων μέσω της παρακυτταρικής οδού, καθώς οι σφιχτές συνδέσεις των εντεροκυττάρων μεταξύ τους χαλάρωσαν κατά τη διάρκεια της άσκησης (Pals et al., 1997). Μια άλλη πιθανή εξήγηση είναι η μειωμένη κινητικότητα του εντέρου που προκαλείται από την άσκηση (McLaughlin & Jacobs 2017), με αποτέλεσμα η μετφορμίνη να μένει για περισσότερη ώρα στο λεπτό έντερο και πιθανώς να επιτρέπεται να απορροφηθεί μεγαλύτερη ποσότητα. Μια τρίτη πιθανή εξήγηση θα μπορούσε να ήταν το γεγονός ότι η ροή πολλών ιόντων στο λεπτό έντερο ρυθμίζεται από πολλούς παράγοντες όπως η αυξητική ορμόνη, η οποία αυξάνει την απορρόφηση του νερού και των ιόντων αλληλεπιδρώντας

απευθείας με τα εντεροκύτταρα, όπως έχει βρεθεί από έρευνες σε κυτταρικές σειρές και πειραματόζωα (Berni Canani et al., 2006, 1996· Guarino et al., 1995). Η άσκηση υψηλής έντασης αυξάνει τη συγκέντρωση της αυξητικής ορμόνης στο αίμα, χωρίς η αύξηση της να σχετίζεται με την κατανάλωση γλυκόζης πριν από την άσκηση (Guerra et al., 2011). Συνεπώς, η αύξηση της αυξητικής ορμόνης που προκαλείται από την άσκηση θα μπορούσε να διεγείρει την εντερική απορρόφηση της μετφορμίνης επιδρώντας στους μεταφορείς κατιόντων στην ακιδωτή μεμβράνη των εντεροκυττάρων.

Η γαλακτική οξέωση και η υπογλυκαιμία αναφέρονται ως σπάνιες παρενέργειες της μετφορμίνης (Adak et al., 2018). Η συγκέντρωση του γαλακτικού στο αίμα αυξάνεται κατά τη διάρκεια της άσκησης και η παρατεταμένη αερόβια άσκηση θα μπορούσε να προκαλέσει υπογλυκαιμία (Mougiou 2019), συνεπώς μετρήσαμε τη συγκέντρωση του γαλακτικού και της γλυκόζης στο αίμα για να εξετάσουμε αν και σε ποιο βαθμό η σωματική άσκηση θα επιδρούσε αθροιστικά στις συγκεκριμένες σπάνιες παρενέργειες της μετφορμίνης. Τα αποτελέσματα μας έδειξαν ότι δεν υπήρξαν σημάδια γαλακτικής οξέωσης καθώς η αύξηση του γαλακτικού ήταν μέτρια κατά τη διάρκεια της άσκησης (3,5 mmol/L) και μίση ώρα μετά τη λήξη της, η συγκέντρωση του γαλακτικού επέστρεψε σε τιμές πριν από την άσκηση αλλά και πριν τη λήψη της μετφορμίνης (1,2 mmol/L). Τα αποτελέσματα μας συμφωνούν με άλλες μελέτες που εξέτασαν τον συνδυασμό μετφορμίνης και άσκησης στη συγκέντρωση του γαλακτικού στο αίμα (Huang et al., 2017· Gudat et al., 1997). Ομοίως, ο συνδυασμός μετφορμίνης και άσκησης δε διατάραξε τη συγκέντρωση της γλυκόζης, η οποία κυμάνθηκε σε φυσιολογικές και παρόμοιες τιμές και στις δύο συνεδρίες. Τα αποτελέσματα μας συμφωνούν με τα αποτελέσματα άλλων ερευνών και ανασκοπήσεων (Gudat et al., 1997· Shahar & Hamdy 2015). Συγκεκριμένα στην έρευνα των Gudat και συν. (1997) δε βρέθηκαν διαφορές στη συγκέντρωση του γαλακτικού και της γλυκόζης στο αίμα μετά από 60 λεπτά έντονης άσκησης μεταξύ χορήγησης τεσσάρων ημερών μετφορμίνης και placebo.

Τέλος αξίζει να συζητηθεί το ότι στη μελέτη μας δε μετρήθηκε η αιμοσυμπύκνωση. Κατά τη διάρκεια της άσκησης αυξάνεται η συγκέντρωση

αιμοσφαιρίνης στο αίμα καθώς σημειώνεται απώλεια νερού από τα αιμοφόρα αγγεία στον ιδρώτα, αυτό το φαινόμενο αποκαλείται αιμοσυμπύκνωση και μπορεί να υπολογιστεί με τη μέτρηση της συγκέντρωσης της αιμοσφαιρίνης σε ολικό αίμα. Επιπλέον, μπορεί να υπολογιστεί και η μεταβολή του όγκου πλάσματος μετρώντας εκτός από τη συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης και τον αιματοκρίτη πριν και μετά την άσκηση (Mougiou 2019). Συνεπώς προκύπτει το ερώτημα αν η αιμοσυμπύκνωση θα μπορούσε να επηρεάσει τη συγκέντρωση ουσιών στο αίμα και κυρίως των μορίων που συνδέονται με πρωτεΐνες του αίματος. Στη μελέτη μας δε μετρήσαμε τη συγκέντρωση της μετφορμίνης στο πλάσμα ως προς την πιθανή αλλαγή του όγκου πλάσματος καθώς η μετφορμίνη είναι μόριο με χαμηλή μοριακή μάζα (129 g/mol), δε συνδέεται με τις πρωτεΐνες του πλάσματος (Dunn & Peters 1995), και πιθανώς απομακρύνεται από τα αιμοφόρα αγγεία όπως και το νερό. Επιπλέον, οι Dill και Costil (1974) αναφέρουν ότι και μακρομόρια όπως οι πρωτεΐνες απομακρύνονται από την κυκλοφορία του αίματος μέσω της αιμοσυμπύκνωσης. Συνεπώς, θεωρούμε ότι δε θα ήταν πιθανό η συγκέντρωση της μετφορμίνης να επηρεαστεί από την αλλαγή του όγκου πλάσματος. Πέρα από το γεγονός αυτό, αποτελέσματα από έναν μεγάλο αριθμό ερευνών αναφέρουν ότι αμέσως μετά τη λήξη δοκιμασιών διαφόρων τύπου άσκησης (συμπεριλαμβάνονται δοκιμασίες διαλειμματικής άσκησης υψηλής έντασης) η αιμοσυμπύκνωση ήταν περίπου στο 10 με 15% και 15 με 30 λεπτά μετά τη λήξη της άσκησης μειώθηκε περίπου στο 5% ή επανήλθε στις τιμές ηρεμίας (Alis et al., 2015· Kargotich et al., 1998· Rhibi et al., 2019). Επομένως, ακόμα και αν η συγκέντρωση της μετφορμίνης επηρεαζόταν από την πιθανή αλλαγή του όγκου πλάσματος, δε θα μπορούσε να δικαιολογηθεί η κατά 40% αύξηση της συγκέντρωσης της μετφορμίνης σχεδόν μια ώρα μετά τη λήξη της δοκιμασίας άσκησης. Τέλος, οι Kargotich και συν. (1998) αναφέρουν ότι σημαντικό ρόλο για την αποφυγή της αιμοσυμπύκνωσης έχουν τα επίπεδα της ενυδάτωσης πριν και κατά τη διάρκεια της άσκησης. Όπως αναφέρθηκε η σωματική μάζα των συμμετεχόντων μειώθηκε μόλις κατά $0,6 \pm 0,4\%$, υποδεικνύοντας ότι παρέμειναν καλά ενυδατωμένοι κατά τη δοκιμασία άσκησης.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η μελέτη μας παρουσιάζει έναν αριθμό από περιορισμούς και μειονεκτήματα, παρόλα αυτά είναι μία πιλοτική μελέτη εξετάζοντας ένα ερώτημα το οποίο δεν έχει μελετηθεί έως τώρα. Αρχικά, ο μικρός αριθμός του δείγματος που είχε ως αποτέλεσμα τη χαμηλή στατιστική ισχύ για την ανίχνευση της στατιστικά σημαντικής διαφοράς στη Cmax. Δεύτερον, το γεγονός ότι το δείγμα περιελάμβανε μόνο άνδρες για να αποφύγουμε την πιθανή επίδραση του έμμηνου κύκλου που προκαλεί κατακράτηση υγρών με πιθανή επίδραση στις παραμέτρους που αξιολογήθηκαν. Τέλος, πραγματοποιήσαμε αιμοληψίες για τον προσδιορισμό της μετφορμίνης μόλις για 4,5 ώρες ενώ η τυπική AUC της μετφορμίνης απαιτεί δειγματοληψίες αίματος για τουλάχιστον 24 ώρες μετά τη λήψη της.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας δείχνουν ότι 60 λεπτά διαλειμματική άσκηση υψηλής έντασης αύξησαν τη C_{max} και την AUC και μείωσαν τον T_{max} . Επιπλέον, ο συνδυασμός άσκησης και μετφορμίνης δεν προκάλεσε γαλακτική οξέωση και υπογλυκαιμία. Παρόλα τα μειονεκτήματα που προαναφέρθηκαν, θεωρούμε ότι η μελέτη μας προσπαθεί να δώσει απάντηση σε ένα ερώτημα με μεγάλη κλινική σημασία. Αν τα αποτελέσματα μας επιβεβαιωθούν σε ασθενείς με ΣΔΤ2, η σωματική άσκηση θα είχε ένα ακόμα πλεονέκτημα, το οποίο είναι η υψηλότερη βιοδιαθεσιμότητα, και συνεπώς κλινική δράση, με μικρότερη δόση μετφορμίνης ή ίδια βιοδιαθεσιμότητα με μικρότερη δόση. Η μικρότερη δόση της μετφορμίνης πιθανώς να μείωνε τις γαστρεντερικές διαταραχές. Επιπλέον, για να διεξαχθούν τέτοιου είδους μελέτες σε διαβητικούς ασθενείς, θα ήταν σημαντικό να μελετηθούν διάφοροι τύποι άσκησης (συνεχόμενη άσκηση μέτριας έντασης, άσκηση με αντιστάσεις) και διάφορα πρωτόκολλα σχετικά με την ένταση και τη διάρκεια. Παρουσιάζοντας για πρώτη φορά ότι η σωματική άσκηση επηρεάζει βασικές φαρμακοκινητικές παραμέτρους της απορρόφησης της μετφορμίνης, πιστεύουμε ότι θα ήταν πολύ σημαντικό να ερευνηθεί η επίδραση της άσκησης σε ολόκληρο το φαρμακοκινητικό προφίλ της μετφορμίνης, έτσι ώστε να δομηθούν βέλτιστα δοσομετρικά σχήματα μετφορμίνης και άσκησης.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. American College of Sports Medicine, Sawka MN, Burke LM, Eichner ER, Maughan RJ, Montain SJ, Stachenfeld NS. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and fluid replacement. *Med Sci Sports Exerc.* 2007;39:377-390.
2. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes - 2013. *Diabetes Care.* 2013;36:SUPPL 1:S11-66.
3. Adak T, Samadi A, Ünal AZ, Sabuncuoğlu S. A reappraisal on metformin. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2018;92:324-332.
4. Alis R, Sanchis-Gomar F, Lippi G, Roamgnoli M. Microcentrifuge or automated hematological analyzer to assess hematocrit in exercise? Effect on plasma volume loss calculation. *J Lab Autom.* 2016;21:470-477.
5. Berni Canani R, Cirillo P, Mallardo G, et al. Growth hormone regulates intestinal ion transport through modulation of the constitutive nitric oxide synthase-nitric oxide-cAMP pathway. *World J Gastroenterol.* 2006;12:4710-4715.
6. Berni Canani R, Iafusco M, Russo R, Bisceglia M, Polito G, Guarino A. Comparative effects of growth hormone on water and ion transport in rat jejunum, ileum and colon. *Dig Dis Sci.* 1996;41:1076-1081.
7. Boulé NG, Robert C, Bell GJ, et al. Metformin and exercise in type 2 diabetes: Examining treatment modality interactions. *Diabetes Care.* 2011;34:1469-1474.
8. Cameron AR, Logie L, Patel K, et al. Metformin selectively targets redox control of complex I energy transduction. *Redox Biol.* 2018;14:187-197.
9. Cho NH. Q&A: Five questions on the 2015 IDF Diabetes Atlas. *Diabetes Res Clin Pract.* 2016;115:157-159.
10. Cohen J. *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences.* Hillsdale: Erlbaum; 1988.
11. Colberg SR, Sigal RJ, Yardley JE et al. Physical activity/exercise and diabetes: A position statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care.* 2016;39:2065-2079.
12. Das S, Behera SK, Srinivasan A, et al. Effect of metformin on exercise capacity: A meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract.* 2018;144:270-278.

13. De Nardi AT, Tolves T, Lenzi TL, Signori LU, Silva AMVD. High-intensity interval training versus continuous training on physiological and metabolic variables in prediabetes and type 2 diabetes: A meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract.* 2018;137:149-159.
14. Derosa G, Sibilla S. Optimizing combination treatment in the management of type 2 diabetes. *Vasc Health Risk Manag.* 2007;3:665-671.
15. Dill DB, Costill DL. Calculation of percentage changes in volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration. *J Appl Physiol.* 1974;37:247-248.
16. Dunn CJ, Peters DH. Metformin. A review of its pharmacological properties and therapeutic use in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Drugs.* 1995;49:721-749.
17. Food Standards Agency. *McCance & Widdowson's the Composition of Foods.* Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry; 2002.
18. Fontaine E. Metformin-induced mitochondrial complex I inhibition: Facts, uncertainties, and consequences. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018;9:753.
19. Gormsen LC, Sundelin EI, Jensen JB, et al. In vivo imaging of human ¹¹C-metformin in peripheral organs: Dosimetry, biodistribution and kinetic analyses. *J Nucl Med.* 2016;57:1920-1926.
20. Graham GG, Punt J, Arora M, et al. Clinical pharmacokinetics of metformin. *Clin Pharmacokinet.* 2011;50:81-98.
21. Guarino A, Canani RB, Iafusco M, Casola A, Russo R, Rubino A. In vivo and in vitro effects of human growth hormone on rat intestinal ion transport. *Pediatr Res.* 1995;37:576-580.
22. Gudat U, Convent G, Heinemann L. Metformin and exercise: No additive effect on blood lactate levels in healthy volunteers. *Diabet Med.* 1997;14:138-142.
23. Guerra B, Olmedillas H, Guadalupe-Grau A, et al. Is sprint exercise a leptin signaling mimetic in human skeletal muscle? *J Appl Physiol.* 2011;111:715-725.
24. Han T, Proctor WR, Costales CL, Cai H, Everett RS, Thakker DR. Four cation-selective transporters contribute to apical uptake and accumulation of metformin in Caco-2 cell monolayers. *J Pharmacol Exp Ther.* 2015;352:519-528.
25. Huang W, Castelino RL, Peterson GM. Lactate levels with chronic metformin use: A narrative review. *Clin Drug Investig.* 2017;37:991-1007.

26. Huang T, Lu C, Schumann M, et al. Timing of exercise affects glycemic control in type 2 diabetes patients treated with metformin. *J Diabetes Res*. 2018;2483273.
27. Kajbaf F, De Broe ME, Lalau JD. Therapeutic concentrations of metformin: A systematic review. *Clin Pharmacokinet*. 2016;55:439-459.
28. Kargotich S, Goodman C, Keast D, Morton AR. The influence of exercise-induced plasma volume changes of the interpretation of biochemical parameter used for monitoring exercise, training and sport. *Sports Med*. 1998;26:101-117.
29. Konopka AR, Laurin JL, Schoenberg, et al. Metformin inhibits mitochondrial adaptations to aerobic exercise training in older adults. *Aging Cell*. 2019;18:e12880.
30. Learsi SK, Bastos-Silva VJ, Lima-Silva AE, Bertuzzi R, De Araujo GG. Metformin improves performance in high-intensity exercise, but not anaerobic capacity in healthy male subjects. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2015;42:1025-1029.
31. Liao MZ, Flood Nichols SK, Ahmed M, et al. Effects of pregnancy of the pharmacokinetics of metformin. *Drug Metab Dispos*. 2020;24:dmn.119.088435.
32. Liu JX, Zhu L, Li PG, Li N, Xu YB. Effectiveness of high-intensity interval training on glycemic control and cardiorespiratory fitness in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Aging Clin Exp Res*. 2019;31:575-593.
33. Loniewski I, Sawrymowicz M, Pawlik A, Wojcicki J, Drozdik M. Lack of effect of physical exercise on pharmacokinetics of acetaminophen tablets in healthy subjects. *Acta Pol Pharm*. 2001;58:141-144.
34. Lopane G, Contin M, Scaglione C, Albani F, Baruzzi A, Martinelli P. The effect of a clinically practical exercise on levodopa bioavailability and motor response in patients with Parkinson disease. *Clin Neuropharmacol*. 2010;33:254-256.
35. MacInnis MJ, Gibala MJ. Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. *J Physiol*. 2017;595:2915-2930.
36. Malin SK, Braun B. Impact of metformin on exercise-induced metabolic adaptations to lower type 2 diabetes risk. *Exerc Sport Sci Rev*. 2016;44:4-11.
37. Marathe PH, Wen Y, Norton J, et al. Effect of altered gastric emptying and gastrointestinal motility on metformin absorption. *Br J Clin Pharmacol*. 2000;50:325-332.

38. Markowicz-Piasecka M, Huttunen KM, Mateusiak L, Mikiciuk-Olasik E, Sikora J. Is metformin a perfect drug? Updates in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Curr Pharm Des.* 2017;23:2532-2550.
39. Martin-Rodrigues S, De Pablos-Velasco P, Calbet JAL. Mitochondrial complex I inhibition by metformin: Drug-exercise interactions. *Trends Endocrinol Metab.* 2020;in press.
40. McLaughlin M, Jacobs I. Exercise is medicine, but does it interfere with medicine? *Exerc Sport Sci Rev.* 2017;45:127-135.
41. Mougios V. *Exercise Biochemistry.* 2nd edition. Champaign, IL: Human Kinetics; 2019.
42. Muhlack S, Welnic J, Woitalla D, Müller T. Exercise improves efficacy of levodopa in patients with Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2007;22:427-430.
43. Nadeau DA. Management of type 2 diabetes mellitus in self-motivated patients: Optimized diet, exercise, and medication for weight loss and cardiometabolic fitness. *Phys Sportsmed.* 2014;42:49-59.
44. Nikolaidis S, Karpouzi C, Tsalis G, Kabasakalis A, Papaioannou KG, Mougios V. Reliability of urine lactate as a novel biomarker of lactate production capacity in maximal swimming. *Biomarkers.* 2016;21:328-334.
45. Pals KL, Chang RT, Ryan AJ, Gisolfi C V. Effect of running intensity on intestinal permeability. *J Appl Physiol.* 1997;82:571-576.
46. Paul AA, Dkhar SA, Kamalanathan S, et al. Effect of metformin on exercise capacity in metabolic syndrome. *Diabetes Metab Syndr.* 2017;11:s403-s406.
47. Pedersen BK, Saltin B. Exercise as medicine – evidence for prescribing exercise as therapy for 26 different chronic diseases. *Scand J Med Sci Sports.* 2015;25:1-72.
48. Proctor WR, Bourdet DL, Thakker DR. Mechanisms underlying saturable intestinal absorption of metformin. *Drug Metab Dispos.* 2008;36:1650-1658.
49. Reuter I, Harder S, Engelhardt M, Baas H. The effect of exercise on pharmacokinetics and pharmacodynamics of levodopa. *Mov Disord.* 2000;15:862-868.
50. Rhibi F, Prioux J, Attia MB, et al. Increase interval training intensity improves plasma volume variations and aerobic performances in response to intermittent exercise. *Physiol Behav.* 2019;199:137-145.

51. Sambol NC, Chiang G, O'Conner M, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of metformin in healthy subjects and patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Pharmacol*. 1996;36:1012-1021.
52. Sari-Sarraf V, Aliasgarzadeh A, Naderali MM, Esmaeili H, Naderali EK. A combined continuous and interval aerobic training improves metabolic syndrome risk factors in men. *Int J Gen Med*. 2015;8:203-210.
53. Scalzo RL, Paris HL, Binns SE, et al. Ergogenic properties of metformin in simulated high altitude. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2017;44:729-738.
54. Shahar J, Hamdy O. Medication and exercise interactions: Considering and managing hypoglycemia risk. *Diabetes Spectr*. 2015;28:64-67.
55. Silva RP, Mündel T, Natali AJ, et al. Fluid balance of elite Brazilian youth soccer players during consecutive days of training. *J Sports Sci*. 2011;29:725-732.
56. Umpierre D, Ribeiro PA, Kramer CK, et al. Physical activity advice only or structured exercise training and association with HbA1c levels in type 2 diabetes. *JAMA*. 2011;305:1790-1799.
57. Upadhyay J, Polyzos SA, Perakakis N, et al. Pharmacotherapy of type 2 diabetes: An update. *Metabolism*. 2018;78:13-42.
58. Wang Y, An H, Liu T, et al. Metformin improves mitochondrial respiratory activity through activation of AMPK. *Cell Rep*. 2019;29:1511-1523.
59. Zhang Y, Huo M, Zhou J, Xie S. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Comput Methods Programs Biomed*. 2010;99:306-314.
60. Zhou T, Xu X, Du M, Zhao T, Wang J. A preclinical overview of metformin for the treatment of type 2 diabetes. *Biomed Pharmacother*. 2018;106:1227-1235.
61. Δίπλα Κ, Ζαφειρίδης Α, Σακκάς Γ, Καρατράντου Κ, Νικολαΐδης Μ. *Η άσκηση ως μέσο πρόληψης και αποκατάσταση χρόνιων παθήσεων*. Κεφ 5. Τρίκαλα, 2013. www.exerciseforhealth.gr

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α

ΔΕΛΤΙΟ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

Γενικές οδηγίες

Παρακαλούμε να σημειώσετε τη διατροφή σας πριν από κάθε συνεδρία. Θα πρέπει να καταγράψετε όλα τα τρόφιμα που καταναλώνετε με ειλικρίνεια. **Είναι πολύ σημαντικό για τον σκοπό της μελέτης να καταναλώσετε το ίδιο πρωινό πριν από κάθε συνεδρία, μία ώρα πριν από την ώρα έναρξης της πειραματικής διαδικασίας. Η κατανάλωση πρωινού είναι απαραίτητη.**

Το πρωινό σας θα πρέπει να είναι **χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπη και να ΜΗΝ περιλαμβάνει καφεΐνη και γάλα**. Τα προτεινόμενα τρόφιμα είναι: τοστ με γαλοπούλα και κασέρι με χαμηλά λιπαρά, φρυγανιές, παξιμάδια, ψωμί, μέλι, μαρμελάδα, αβγά, δημητριακά **ΧΩΡΙΣ γάλα**, φρούτα της επιλογής σας, φυσικό ή συσκευασμένο χυμό της επιλογής σας. Σε περίπτωση που αδυνατείτε να ανταποκριθείτε στα προτεινόμενα τρόφιμα, καταναλώστε κάτι παρόμοιο. Τρόφιμα που **δεν** επιτρέπεται να καταναλώσετε: Καφές, τσάι, αναψυκτικά, γάλα, αλκοολούχα ποτά, μεγάλη ποσότητα σοκολάτας.

Καταγράψτε την ποσότητα της τροφής που θα καταναλώσετε πριν από κάθε μέτρηση με όσο το δυνατόν μεγαλύτερη ακρίβεια. Π.χ. ένα τοστ με λευκό ψωμί, με μια φέτα γαλοπούλα και δύο φέτες κασέρι με λίγα λιπαρά. Ένα μεγάλο ποτήρι χυμό πορτοκάλι συσκευασμένο.

Θα πρέπει να επιστρέψετε τα έντυπα συμπληρωμένα μετά τη λήξη της δεύτερης μέτρησης σε έντυπη ή ηλεκτρονική μορφή.

Πρότυπα πρωινά

1. Ένα τοστ με μια φέτα γαλοπούλα και μια φέτα κασέρι με χαμηλά λιπαρά, ένα κουλούρι Θεσσαλονίκης, ένα μέτριο ποτήρι χυμό.
2. Τέσσερις φέτες ψωμί αλειμμένες με μέλι και ένα μέτριο ποτήρι χυμό.

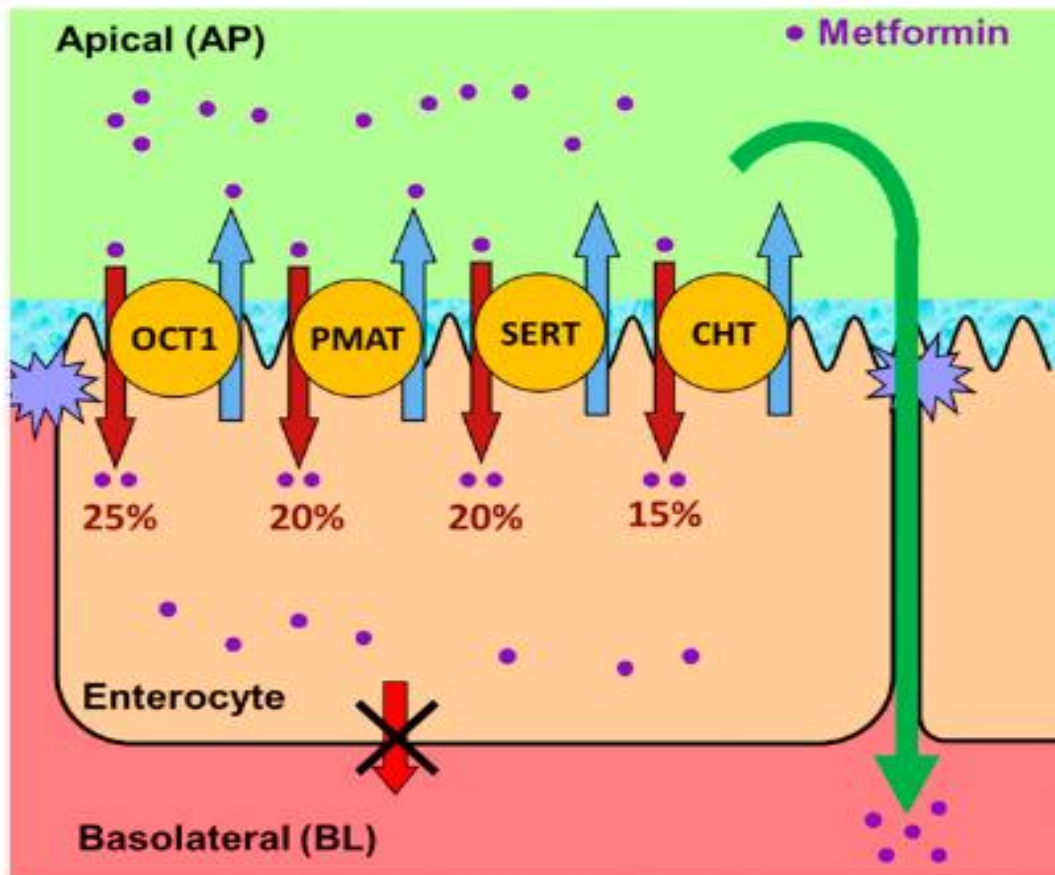
Ονοματεπώνυμο:

1^η Συνεδρία, ημερομηνία:

2^η Συνεδρία, ημερομηνία:

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β

ΔΙΑΠΕΡΑΣΗ ΜΕΤΦΟΡΜΙΝΗΣ ΤΟΥ ΛΕΠΤΟΥ ΕΝΤΕΡΟΥ ΜΕΣΩ ΠΑΡΑΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΟΔΟΥ



Han et al. *J Pharmacol Exp Ther.* 2015

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Γ

Εξίσωση 1. Υπολογισμός μεταβολής σωματικής μάζας κατά την άσκηση

$$\text{ποσοστό απώλειας Σωματικής Μάζας (\%)} = \frac{(\Sigma\text{Μπριν} - \Sigma\text{Μμετά})}{(\Sigma\text{Μπριν}) \times 100}$$

Silva et al. *J Sports Sci.* 2011

Εξίσωση 2. Υπολογισμός μεταβολής του όγκου πλάσματος κατά την άσκηση

$$\frac{\text{όγκος πλάσματος μετά}}{\text{όγκος πλάσματος πριν}} = \frac{\text{αιμοσφαιρίνη πριν}}{\text{αιμοσφαιρίνη μετά}} \times \frac{(100 - \text{αιμτοκρίτης μετά})}{(100 - \text{αιμτοκρίτης πριν})}$$

Mougiou V. *Exercise Biochemistry.* 2019

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Δ

ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΜΕΘΟΔΩΝ

Μέτρηση της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου με τη χρήση εργοσπιρομέτρου και δαπεδοεργομέτρου

<http://humanperformancelab.phed.auth.gr/wp-content/uploads/2018/11/%CE%95%CE%91%CE%92%CE%91%CE%91-17-%CE%95%CF%81%CE%B3%CE%BF%CF%83%CF%80%CE%B9%CF%81%CE%BF%CE%BC%CE%AD%CF%84%CF%81%CE%B7%CF%83%CE%B7-%CE%AD%CE%BA%CE%B4.1.pdf>

Προσδιορισμός γαλακτικού στο αίμα με εργαστηριακή μέθοδο

<http://humanperformancelab.phed.auth.gr/wp-content/uploads/2018/09/%CE%95%CE%91%CE%92%CE%91%CE%91-5-%CE%93%CE%B1%CE%BB%CE%B1%CE%BA%CF%84%CE%B9%CE%BA%CF%8C-%CF%83%CF%84%CE%BF-%CE%B5%CF%81%CE%B3%CE%B1%CF%83%CF%84%CE%AE%CF%81%CE%B9%CE%BF-%CE%AD%CE%BA%CE%B4.1.pdf>

Μέτρηση γλυκόζης αίματος με αυτόματο φορητό μετρητή

<http://humanperformancelab.phed.auth.gr/wp-content/uploads/2018/11/%CE%95%CE%91%CE%92%CE%91%CE%91-16-%CE%93%CE%BB%CF%85%CE%BA%CF%8C%CE%B6%CE%B7-%CE%BC%CE%B5-%CE%BC%CE%B5%CF%84%CF%81%CE%B7%CF%84%CE%AE-%CE%B5%CE%BA%CE%B4.1.pdf>

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ε

ΛΕΞΙΚΟ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΟΥ ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ

<http://www.eevfa.gr/site/documents/Lexiko.pdf>