

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΟΞΕΙΑΣ ΑΕΡΟΒΙΑΣ ΑΣΚΗΣΗΣ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΩΝ
ΕΡΥΘΡΩΝ ΚΑΙ ΛΕΥΚΩΝ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΩΝ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΣΕ ΑΤΟΜΑ ΜΕ
ΕΛΛΕΙΨΗ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗ ΤΗΣ 6-ΦΩΣΦΟΡΙΚΗΣ
ΓΛΥΚΟΖΗΣ (G6PD)**

**της
Χριστίνας Υφαντή**

**Μεταπτυχιακή διατριβή που υποβάλλεται
στο καθηγητικό σώμα για τη μερική εκπλήρωση των υποχρεώσεων για την
απόκτηση του μεταπτυχιακού τίτλου του Διατμηματικού Μεταπτυχιακού
Προγράμματος «Άσκηση και Ποιότητα Ζωής» των Τμημάτων Επιστήμης Φυσικής
Αγωγής και Αθλητισμού του Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης και του
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στην κατεύθυνση «Πρόληψη-Παρέμβαση-
Αποκατάσταση».**

**Τρίκαλα
2005**

Εγκεκριμένο από το Καθηγητικό σώμα:

1^{ος} Επιβλέπων Καθηγητής: Τζιαμούρτας Αθανάσιος

2^{ος} Επιβλέπων Καθηγητής: Φατούρος Ιωάννης

3^{ος} Επιβλέπων Καθηγητής: Κουτεντάκης Ιωάννης



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»

Αριθ. Εισ.: 4677/1
Ημερ. Εισ.: 20-10-2005
Δωρεά: _____
Ταξιθετικός Κωδικός: Δ
612 . 015 1
ΥΦΑ



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΥΦΑΝΤΗ ΧΡΙΣΤΙΝΑ: Η επίδραση της οξείας αερόβιας άσκησης στη συγκέντρωση των λευκών και ερυθρών αιμοσφαιρίων του αίματος σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου Αφυδογονάση της 6-Φωσφορικής Γλυκόζης (G6PD).

(Υπό την επίβλεψη του κ. Τζιαμούρτα Αθανάσιο)

Ένας μεγάλος αριθμός ερευνών πιστοποιεί ότι η οξεία αερόβια άσκηση προκαλεί αύξηση του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων του αίματος. Παράλληλα, η άσκηση είναι συνδεδεμένη με την καταστροφή των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Οι μεταβολές αυτές στον αριθμό των κυττάρων του αίματος είναι αποτέλεσμα της επίδρασης διαφόρων ορμονών, όπως είναι οι κατεχολαμίνες και η κορτιζόλη, αλλά και του παραγόμενου από την άσκηση οξειδωτικού στρες. Επιπρόσθετα, υπάρχουν ελάχιστα ερευνητικά δεδομένα που να εξετάζουν την επίδραση του παραγόμενου από την άσκηση οξειδωτικού στρες σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD, αλλά δεν υπάρχει καμία αναφορά που να μελετά την επίδραση της άσκησης στη συγκέντρωση των λευκών και ερυθρών αιμοσφαιρίων σε άτομα με έλλειψη G6PD. Επομένως, σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να εξετάσει την επίδραση της άσκησης στη συγκέντρωση των λευκών και ερυθρών αιμοσφαιρίων σε άτομα με έλλειψη G6PD. Στην έρευνα πήραν μέρος συνολικά δεκαοκτώ άτομα, εννέα με έλλειψη του ενζύμου (D) και εννέα φυσιολογικά (N). Όλοι οι συμμετέχοντες έτρεξαν στο δαπεδοεργόμετρο 45 λεπτά, με ένταση ίση με το 70-75% της Μέγιστης Καρδιακής Συχνότητας (ΜΚΣ). Πριν και μετά το τέλος της άσκησης, πραγματοποιούνταν αιμοληψία για τον προσδιορισμό του αριθμού των λευκών και ερυθρών αιμοσφαιρίων. Από την ανάλυση διακύμανσης για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις που πραγματοποιήθηκε, δεν διαπιστώθηκαν μεταβολές στον αριθμό των λευκών αίματος. Η οξεία αερόβια άσκηση, μέτριας έντασης, δεν προκαλεί αλλαγή στον αριθμό των λευκών και ερυθρών αιμοσφαιρίων του αίματος, σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD.

Λέξεις κλειδιά: Οξειδωτικό στρες, αίμα, οδός φωσφορυλιωμένων πεντοζών

ABSTRACT

Yfanti Christina: The effect of an acute bout of aerobic exercise on white and red blood cell count in individuals with Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD) deficiency.

(Under the supervision of Dr Jamurtas Athanasios)

A number of studies indicate that acute aerobic exercise results in increased plasma leukocyte number. Furthermore, exercise is related to erythrocyte damage. These alterations in blood cell count are the result of the activation of various hormones, such as catecholamines and cortisol, and the exercise-induced oxidative stress. In addition, there is a limited number of studies that have evaluated the exercise-induced oxidative stress in individuals with Glucose-6-Phosphate-Dehydrogenase (G6PD) deficiency, but there are no reports about the effect of exercise on white and red blood cell count in these individuals. Therefore, the purpose of this study was to investigate the effect of an acute bout of aerobic exercise on white and red blood cell count in individuals with G6PD deficiency. Eighteen individuals participated in the present study, nine with G6PD deficiency (D) and nine with normal levels of G6PD (N). All participants ran on a treadmill for 45 min at an intensity corresponding to 70-75 % of their Maximal Heart Rate. Before and at the end of the exercise bout, blood samples were collected in order to evaluate the white and red blood cell count. Repeated measures ANOVA were performed to test for differences in the changing patterns of white and red blood cell count before and after exercise between D and N. The results revealed that there were no significant differences in any of the assessed variables. The results indicate that an acute bout of aerobic exercise of moderate intensity does not alter the white or the red blood cell count in individuals with G6PD deficiency.

Key words: Oxidative stress, blood, pentose phosphate pathway

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε κάποιους ανθρώπους, οι οποίοι συνέβαλαν ουσιαστικά στην εκπόνηση και την ολοκλήρωση αυτής της διατριβής. Θεωρώ τον εαυτό μου πραγματικά τυχερό που είχε την ευκαιρία να συνεργαστεί και να λάβει τη βοήθεια αυτών των ανθρώπων και ξέρω ότι τους οφείλω πολλά περισσότερα από αυτές τις ευχαριστίες.

Αρχικά, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον κύριο Αθανάσιο Τζιαμούρτα, ο οποίος υπήρξε για μένα, εκτός από επιβλέπων καθηγητής, πραγματικός εμπνευστής. Τον ευχαριστώ για την πολύτιμη βοήθειά του και την καθοδήγησή του όλα αυτά τα χρόνια και ακόμη περισσότερο για τη συμπαράστασή του στις δύσκολες στιγμές.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα άλλα δύο μέλη της τριμελούς επιτροπής, τον κύριο Γιάννη Κουτεντάκη και τον κύριο Ιωάννη Φατούρο για τη βοήθεια, τις συμβουλές και τις συστάσεις.

Πολλά ευχαριστώ οφείλω και στους συνεργάτες και τώρα πια φίλους, του Κέντρου Έρευνας και Αξιολόγησης της Φυσικής Απόδοσης, Τόφα Τρύφωνα, Πασχάλη Βασίλη και Θεοχάρη Βασίλη για την συνεργασία, τη βοήθειά τους, αλλά και για τις όμορφες στιγμές που περάσαμε εκτός Πανεπιστημίου. Επίσης στους Μάνθου Ειρήνη και Κουκόσια Νικόλαο, για την συμμετοχή τους στη συλλογή των δεδομένων και την συνεργασία στην ολοκλήρωση της διατριβής.

Τέλος, ευχαριστώ πολύ τους γονείς μου Γιώργο και Παρασκευή και τα αδέρφια μου Παναγιώτη και Θανάση, για την κατανόηση και την στήριξη που μου προσέφεραν.

Υφαντή Χριστίνα

Ιούνιος 2005

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

	Σελίδα
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	ii
ABSTRACT	iii
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	iv
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ	v
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	vii
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ	viii
Κεφάλαιο	
I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
Ερευνητικές υποθέσεις.....	3
Στατιστικές υποθέσεις.....	3
Περιορισμοί της έρευνας.....	4
Οριοθετήσεις της έρευνας.....	4
II. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ	5
Έμμορφα συστατικά του αίματος.....	5
Οδός φωσφορυλιωμένων πεντοζών.....	6
Ανεπάρκεια του ενζύμου G6PD.....	11
Ελεύθερες ρίζες.....	13
Παραγωγή ελευθέρων ριζών κατά την άσκηση.....	15
Αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί.....	16
Η αντιοξειδωτική δράση της γλουταθειόνης.....	18
Οξειδωτικό στρες σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD.....	20
Άσκηση και οξειδωτικό στρες σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD.....	21
III. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ	22
Δείγμα.....	22

Σωματοδομή.....	22
Υπολογισμός VO_{2max}	23
Αερόβια προπόνηση.....	23
Αιμοληψία.....	24
Μέτρηση της ενεργότητας του ενζύμου G6PD.....	24
Υπολογισμός αιματοκρίτη και αιμοσφαιρίνης.....	26
Υπολογισμός αριθμού λευκών και ερυθρών αιμοσφαιρίων.....	26
Σχεδιασμός της έρευνας.....	26
IV. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	27
Προσωπικά στοιχεία συμμετεχόντων.....	27
Ενεργότητα ενζύμου G6PD.....	27
Αριθμός ερυθρών αιμοσφαιρίων.....	28
Αριθμός συνόλου λευκών αιμοσφαιρίων.....	29
Αριθμός υποκατηγοριών λευκών αιμοσφαιρίων.....	30
Αριθμός ουδετερόφιλων.....	30
Αριθμός βασεόφιλων.....	31
Αριθμός ηωσινόφιλων.....	32
Αριθμός μονοκυττάρων.....	33
Αριθμός λεμφοκυττάρων.....	34
Συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης.....	35
Συγκέντρωση αιματοκρίτη.....	36
V. ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	37
VI. ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΕΡΕΥΝΕΣ.....	40
VII. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ.....	41
VIII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	44

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1. Προσωπικά στοιχεία και στοιχεία άσκησης ($x \pm SD$) των συμμετεχόντων.....	27
Πίνακας 2. Μέση τιμή ($\pm SD$) επιπέδων ενεργότητας G6PD (U/g Hb) των συμμετεχόντων.....	27



ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1. Μεταβολικές οδοί του ερυθρού αιμοσφαιρίου μαζί με τα υπεύθυνα ένζυμα.....	8
Σχήμα 2. Ο μεταβολισμός του γλουταθείου.....	10
Σχήμα 3. Βιοσύνθεσης της Γλουταθειόνης.....	19
Σχήμα 4. Μεταβολές του αριθμού των ερυθρών αιμοσφαιρίων για τις δύο ομάδες, πριν και μετά την άσκηση.....	28
Σχήμα 5. Μεταβολές του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων για τις δύο ομάδες, πριν και μετά την άσκηση.....	29
Σχήμα 6. Μεταβολές του αριθμού των ουδετερόφιλων για τις δύο ομάδες, πριν και μετά την άσκηση.....	30
Σχήμα 7. Μεταβολές του αριθμού των βασεόφιλων για τις δύο ομάδες, πριν και μετά την άσκηση.....	31
Σχήμα 8. Μεταβολές του αριθμού των ηωσινόφιλων για τις δύο ομάδες, πριν και μετά την άσκηση.....	32
Σχήμα 9. Μεταβολές του αριθμού των μονοκυττάρων για τις δύο ομάδες, πριν και μετά την άσκηση.....	33
Σχήμα 10. Μεταβολές του αριθμού των λεμφοκυττάρων για τις δύο ομάδες, πριν και μετά την άσκηση.....	34
Σχήμα 11. Μεταβολές στη συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης για τις δύο ομάδες, πριν και μετά την άσκηση.....	35
Σχήμα 12. Μεταβολές στη συγκέντρωση του αιματοκρίτη για τις δύο ομάδες, πριν και μετά την άσκηση.....	36

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΟΞΕΙΑΣ ΑΕΡΟΒΙΑΣ ΑΣΚΗΣΗΣ ΣΤΗΝ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΤΩΝ ΕΡΥΘΡΩΝ ΚΑΙ ΛΕΥΚΩΝ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΩΝ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΣΕ ΑΤΟΜΑ ΜΕ ΕΛΛΕΙΨΗ ΤΟΥ ΕΝΖΥΜΟΥ ΑΦΥΔΡΟΓΟΝΑΣΗ ΤΗΣ 6-ΦΩΣΦΟΡΙΚΗΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ (G6PD)

Η αφυδρογονάση της 6-φωσφορικής γλυκόζης (G6PD) είναι ένα ένζυμο του κυτταροπλάσματος, που το συναντάμε στο φωσφογλυκονικό δρόμο μεταβολής της γλυκόζης. Ο δρόμος αυτός είναι μια εναλλακτική πορεία του μεταβολισμού της γλυκόζης που συνεπάγεται την παραγωγή πεντοζών (ενώσεων με πέντε άτομα άνθρακα) και την αναγωγή του NADP σε NADPH.

Πιο συγκεκριμένα, το ένζυμο G6PD καταλύει την πρώτη αντίδραση του μεταβολικού αυτού δρόμου, μετατρέποντας την 6-φωσφορική γλυκόζη σε 6-φωσφογλυκονολακτόνη και δίνει σαν τελικά προϊόντα πεντόζες. Σημαντικότερη από αυτές είναι η ριβόζη, η οποία αποτελεί δομικό συστατικό των DNA και RNA. Ωστόσο, σε περίπτωση αδυναμίας πραγματοποίησης της παραπάνω αντίδρασης, η ριβόζη είναι δυνατό να παραχθεί και από άλλα μεταβολικά μονοπάτια (Yoshida & Beutler, 1986).

Το NADPH που παράγεται επίσης από την αντίδραση αυτή, αποτελεί δότη ηλεκτρονίων για τη βιοσύνθεση διάφορων μορίων αλλά συμμετέχει και στην υψίστης σημασίας αντίδραση παραγωγής ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH) από την οξειδωμένη της μορφή (GSSG). Η ανηγμένη γλουταθειόνη είναι υπεύθυνη για την εξουδετέρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) και οργανικών υπεροξειδίων που μπορούν να προκαλέσουν οξειδωτικές βλάβες στο κύτταρο καθώς και για τη διατήρηση των σουλφυδρυλικών ομάδων των πρωτεϊνών της αιμοσφαιρίνης (Τρακατέλλης, 1992)

Η ανεπάρκεια της αφυδρογονάσης της 6-φωσφορικής γλυκόζης είναι μια κοινή κληρονομική ενζυμική διαταραχή διαδεδομένη σε πληθυσμούς της Μεσογείου, της Αφρικής και της Ασίας. Έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη παραγωγή NADPH και όπως ξέρουμε στα ερυθρά αιμοσφαίρια η μόνη πηγή NADPH είναι οι δύο πρώτες αντιδράσεις του μεταβολικού δρόμου των φωσφορικών πεντοζών. Οι μεταλλάξεις που συμβαίνουν στο γονίδιο του G6PD έχουν ως αποτέλεσμα τη μειωμένη λειτουργία του ενζύμου. Επακολουθεί η μειωμένη παραγωγή NADPH και επαγωγικά η μειωμένη αναπαραγωγή

ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH) από οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG). Τελικά επισυμβαίνει οξειδωση λόγω των μειωμένων επιπέδων της ανηγμένης γλουταθειόνης και των αυξημένων επιπέδων των ενδοκυτταρικών οξειδωτικών (πχ. H_2O_2 , O_2^-).

Συγκεκριμένα, επέρχεται οξείδωση της σουλφυδρυλικής ομάδας της αιμοσφαιρίνης που οδηγεί στο ξεδίπλωμα των πεπτιδικών αλυσίδων και έκθεση των σουλφυδρυλικών ομάδων στην οξειδωτική δράση. Αποτέλεσμα είναι η οξειδωτική μετουσίωση της πρωτεΐνης. Η μετουσιωμένη αιμοσφαιρίνη κατακρημνίζεται ενδοκυττάρια και σχηματίζει σωματία Heinz (Τρακατέλλης, 1992). Δεν φαίνονται στις κοινές χρώσεις και η αναζήτηση τους απαιτεί έμβιο χρώση (methyl violet). Η παρουσία τους δείχνει ότι τα ερυθρά έχουν υποστεί οξειδωτικό στρες και αυτό παραπέμπει σε αιμόλυση (Murtay, 1993).

Σε αιμολυτική κρίση μπορεί να οδηγήσει η κατανάλωση κουκιών καθώς και η πρόσληψη συγκεκριμένων φαρμάκων. Είναι γνωστό πως όλα τα φάρμακα κατά της ελονοσίας αντενδείκνυται στους πάσχοντες από έλλειψη του ενζύμου G6PD. Εντούτοις, είναι ενδιαφέρον να αναφερθεί ότι η ανεπάρκεια του ενζύμου έχει αποδειχθεί πως εμποδίζει την ανάπτυξη του πλασμώδιου της ελονοσίας (*plasmodium falciparum*). Το φαινόμενο αυτό εξηγείται με βάση το γεγονός ότι τα παράσιτα της ελονοσίας, τα οποία εμφανίζουν μια υψηλή ευαισθησία στο οξειδωτικό στρες, απαιτούν γλουταθειόνη και τα προϊόντα της οξειδωτικού δρόμου της G6PD για άριστη ανάπτυξη. Συνεπώς η ανεπάρκεια του ενζύμου αποθαρρύνει την επιβίωση των πρωτοζώων στα ερυθροκύτταρα (Scriver, 1995; Stryer, 1998).

Άτομα τα οποία πάσχουν από έλλειψη ενζύμου G6PD έχει βρεθεί ότι έχουν μεγαλύτερη προδιάθεση για εμφάνιση υπέρτασης και καταρράκτη, κυρίως όταν καταναλώνουν απλούς υδατάνθρακες, ενώ τα ίδια άτομα όταν καταναλώνουν κουκιά έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν αιμολυτική κρίση, γνωστή και σαν κυάμωση, εξαιτίας της μείωσης της ανηγμένης γλουταθειόνης. Η μειωμένη ανασύνθεση της ανηγμένης γλουταθειόνης οδηγεί στο σχηματισμό ελευθέρων ριζών και υπεροξειδίου του υδρογόνου (Yahya & Alallawi, 1993).

Οι ελεύθερες ρίζες είναι ουσίες που παράγονται από μεταβολικές αντιδράσεις όπως ο αερόβιος μεταβολισμός και οδηγούν στην οξείδωση και καταστροφή ουσιών με τις οποίες συνδέονται (λιπίδια μεμβρανών, πρωτεΐνες και νουκλεϊκά οξέα του DNA). Όταν τα άτομα αυτά, στα οποία η ενεργότητα του ενζύμου είναι χαμηλή, βρεθούν σε κατάσταση αυξημένου οξειδωτικού στρες, μπορεί να οδηγηθούν σε καταστροφή διαφόρων βιομορίων του ερυθροκυττάρου και σε επερχόμενη αιμολυτική αναιμία. Η άσκηση έχει βρεθεί πως αποτελεί έναν παράγοντα δημιουργίας ελευθέρων ριζών λόγω της αυξημένης παροχής

οξυγόνου κατά την διάρκεια αυτής, προκειμένου να παραχθεί η απαιτούμενη ενέργεια. Επομένως τα άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD πιθανά να υφίστανται μεγαλύτερο οξειδωτικό στρες κατά την άσκηση με αποτέλεσμα την μεταβολή στη συγκέντρωση των ερυθροκυττάρων.

Κάτι ανάλογο φαίνεται να συμβαίνει και στα λευκά αιμοσφαίρια. Σε άτομα δηλ. με χαμηλή συγκέντρωση του ενζύμου, η επίδραση οξειδωτικού στρες ή συγκεκριμένων φαρμάκων μπορεί να οδηγήσει σε απόπτωση των ουδετερόφιλων (Efferth, Fabry, Glatte, & Osieka, 1995; Mesbah-Namin, Nemati, & Tiraihi, 2004) ή των μονοπύρηνων λευκοκυττάρων (Efferth, Fabry, & Osieka, 2001). Επίσης, η ανεπάρκεια της G6PD συνδέεται με τη μειωμένη παραγωγή ιντερφερονών σε περίπτωση που το άτομο έχει προσβληθεί από ιό ή σε περίπτωση σοβαρού τραυματισμού (Liese, Siddigi, Siegel, Deitch, & Spolarics, 2002; Spolarics et al., 2001). Υπάρχουν ωστόσο και ερευνητικά δεδομένα που υποστηρίζουν πως η έλλειψη του ενζύμου δεν επηρεάζει τη δράση και την αποτελεσματικότητα των λευκών αιμοσφαιρίων (Wolach et al., 2004; Ardati, Bajakian, & Tabbara, 1997).

Σκοπός λοιπόν της παρούσας εργασίας ήταν να ερευνηθεί την επίδραση της οξείας αερόβιας προπόνησης στη συγκέντρωση των λευκών και ερυθρών αιμοσφαιρίων του αίματος σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου αφυδρογονάση της 6-φωσφορικής γλυκόζης.

Ερευνητικές υποθέσεις

- α) Η οξεία αερόβια άσκηση θα προκαλέσει μείωση στη συγκέντρωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων του αίματος, στα άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD.
- β) Η οξεία αερόβια άσκηση θα προκαλέσει μείωση στη συγκέντρωση των λευκών αιμοσφαιρίων του αίματος, στα άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD.

Στατιστικές υποθέσεις

Μηδενικές υποθέσεις

- α) Μηδενική υπόθεση ($\mu_1 = \mu_2$): Δεν θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά την άσκηση), στη συγκέντρωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων του αίματος.

β) Μηδενική υπόθεση ($\mu_1 = \mu_2$): Δεν θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά την άσκηση), στη συγκέντρωση των λευκών αιμοσφαιρίων του αίματος.

Εναλλακτικές υποθέσεις

α) Εναλλακτική υπόθεση ($\mu_1 \neq \mu_2$): Θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά την άσκηση), στη συγκέντρωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων του αίματος.

β) Εναλλακτική υπόθεση ($\mu_1 \neq \mu_2$): Θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά την άσκηση), στη συγκέντρωση των λευκών αιμοσφαιρίων του αίματος.

Περιορισμοί της έρευνας

Οι περιορισμοί της συγκεκριμένης εργασίας έγκειται στο γεγονός ότι δεν μετρήθηκαν μεταβολές σε δείκτες οξειδωτικού στρες και στη συγκέντρωση αντιοξειδωτικών παραγόντων.

Οριοθετήσεις της έρευνας

Η συγκεκριμένη έρευνα περιορίστηκε στην επίδραση μιας μόνο αερόβιας προπόνησης. Επίσης, μετρήθηκε μόνο ο αριθμός των έμμορφων συστατικών του αίματος, χωρίς να υπολογιστεί η συγκέντρωση άλλων αιματολογικών ουσιών.

Ανασκόπηση Βιβλιογραφίας

Εμμορφα συστατικά του αίματος

Τα έμμορφα συστατικά του αίματος διακρίνονται στις παρακάτω κατηγορίες:

- α) Τα ερυθροκύτταρα (red blood cells ή erythrocytes). Πρόκειται για απύρρηνα κύτταρα σε σχήμα αμφίκυκλου δίσκου. Η διάμετρός τους είναι 7-8 μ, και το πάχος τους στην περιφέρεια 2 μ. Βασικό συστατικό των ερυθρών αιμοσφαιρίων και ταυτόχρονα κύριος φορέας της λειτουργικότητάς τους είναι η χρωμοπρωτεΐνη αιμοσφαιρίνη. Η αιμοσφαιρίνη είναι υπεύθυνη για τη δέσμευση και τη μεταφορά του οξυγόνου από τους πνεύμονες στους ιστούς. Το σχήμα των ερυθροκυττάρων συμβάλλει καθοριστικά στο βιολογικό αυτό ρόλο τους καθώς αυξάνει την επιφάνειά τους για δέσμευση περισσότερων μορίων οξυγόνου ανά κύτταρο. Επίσης, η δισκοειδής μορφή, τους δίνει τη δυνατότητα να υφίστανται μια προσωρινή παραμόρφωση κατά τη διέλευσή τους διαμέσου των τριχοειδών αγγείων, η διάμετρος των οποίων ενδέχεται να είναι μικρότερη από τη διάμετρο του ερυθροκυτταρικού δίσκου (Αποστολάκης, 1993; Ηλιόπουλος, 1999). Εκτός από την αιμοσφαιρίνη το ερυθρό αιμοσφαίριο περιέχει πολυάριθμες άλλες ουσίες όπως υδατάνθρακες, λιποειδή, βιταμίνες, ιόντα κλπ. καθώς και σύστημα παραγωγής ενέργειας που του είναι απαραίτητα για την εκτέλεση της βιολογικής του αποστολής και την ικανοποίηση δικών του μεταβολικών αναγκών. Η μεμβράνη του ερυθρού αιμοσφαιρίου αποτελείται κατά 40% από λιπίδια, κατά 50% από πρωτεΐνες και κατά 10% από υδατάνθρακες. Οι λειτουργίες της μεμβράνης του είναι η διατήρηση της ευκαμπτότητας του ερυθρού ώστε να διέρχεται αλώβητο τη μικροκυκλοφορία κυρίως του σπλήνα, η διατήρηση του όγκου του ερυθροκυττάρου (με την είσοδο και έξοδο ηλεκτρολυτών), η εξασφάλιση της ομοιόστασης του ασβεστίου (διαθέτει ισχυρή αντλία εξόδου του ασβεστίου από το κυτταρόπλασμα) και ανταλλαγή των ανιόντων (μεταφορά HCO_3^- στους πνεύμονες) (Φερτάκης, 1992).
- β) Τα λευκοκύτταρα (white blood cells ή leukocytes). Είναι εμπύρρηνα κύτταρα τα οποία χωρίζονται μορφολογικά σε τρεις επιμέρους κατηγορίες: τα κοκκιοκύτταρα, τα λεμφοκύτταρα και τα μονοκύτταρα. Επιπλέον, τα κοκκιοκύτταρα διακρίνονται σε ουδετερόφιλα, ηωσινόφιλα και βασεόφιλα πολυμορφοπύρρηνα. Τα λευκά αιμοσφαίρια είναι κυρίως καταναμεμημένα ανάμεσα στα λευκοποιητικά όργανα και τους περιφερικούς

ιστούς του σώματος, ενώ μόνο το 5% του συνολικού αριθμού τους κυκλοφορεί ελεύθερα στο αίμα. Βασικό χαρακτηριστικό τους είναι η αμοιβαδοειδής κίνηση, με την οποία επιτυγχάνεται η διείσδυση των λευκοκυττάρων στο τριχοειδικό τοίχωμα και η άφιξή τους στους ιστούς που πρόκειται να δράσουν. Βασικός ρόλος όλων των λευκοκυττάρων είναι η εξασφάλιση της άμυνας του οργανισμού έναντι των ποικίλης φύσης βλαπτικών βιολογικών παραγόντων του περιβάλλοντος. Η αμυντική αυτή δράση επιτυγχάνεται κυρίως με την φαγοκυττάρωση, κατά την οποία τα λευκά αιμοσφαίρια (περισσότερο τα ουδετερόφιλα και τα μονοκύτταρα) φαγοκυτταρώνουν βακτηρίδια και άλλα μικρά ή μεγαλύτερα σωματίδια και τα καταστρέφουν. Όλες οι κατηγορίες των λευκοκυττάρων περιέχουν διάφορα ένζυμα, όπως είναι η υπεροξειδάση η οποία συμβάλλει στην παραγωγή διάφορων βακτηριοκτόνων ιόντων. Άλλες ουσίες που απαντώνται στα κύτταρα αυτά είναι η ισταμίνη, η ηπαρίνη, η λυσοζύμη και πληθώρα πρωτεολυτικών και υδρολυτικών ενζύμων (Αποστολάκης, 1993; Ηλιόπουλος, 1999).

- γ) Τα αιμοπετάλια (plateles ή thrombocytes). Πρόκειται για μικρούς απύρηνους δίσκους, βασική αποστολή των οποίων είναι η εξασφάλιση της αιμόστασης (Ηλιόπουλος, 1999).

Οδός Φωσφορυλιωμένων Πεντοζών

Όταν το ερυθρό αιμοσφαίριο εισέρχεται στην κυκλοφορία από το μυελό των οστών, έχει ανάγκη ενέργειας για την εξασφάλιση της ακεραιότητάς του, του σχήματός του και στην διατήρηση της αιμοσφαιρίνης στην αναχθείσα μορφή. Η καύσιμη ύλη του ερυθρού αιμοσφαιρίου είναι η γλυκόζη η οποία μετά την είσοδό της στα ερυθρά αιμοσφαίρια, φωσφορυλιώνεται σε 6-φωσφορική γλυκόζη.

Ο παραπέρα μεταβολισμός της γίνεται με δύο οδούς:

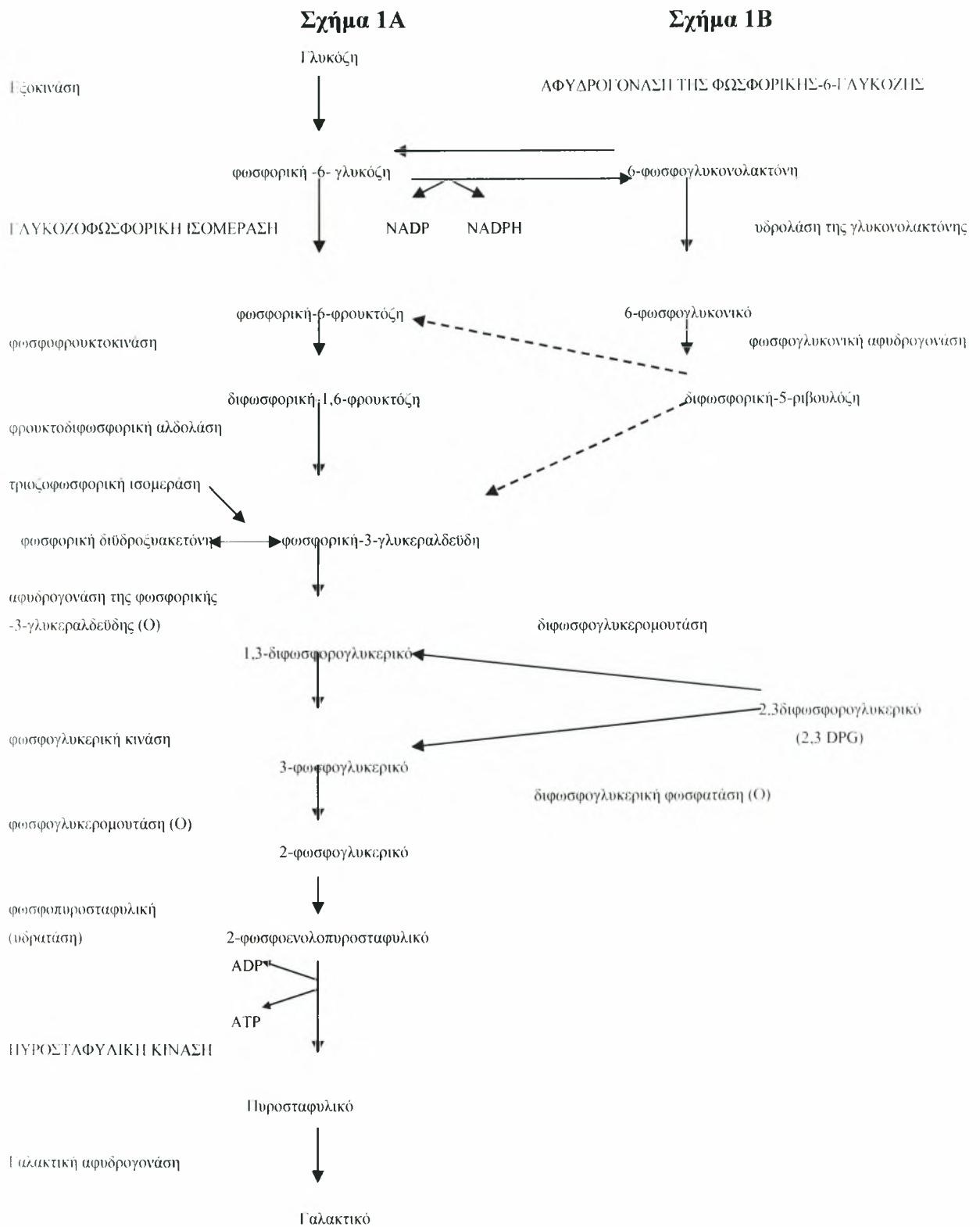
- α) της γλυκολυτικής αναερόβιας οδού των Embden-Meyedorf όπου μεταβολίζεται το 90% της φωσφορικής γλυκόζης (Σχήμα 1Α) και καταλήγει μετά από μια σειρά ενδιάμεσων μεταβολικών προϊόντων στο σχηματισμό του γαλακτικού οξέος.
- β) της μονοφωσφορικής εξόζης (Hexose Monophosphate Shunt) όπου μεταβολίζεται το υπόλοιπο 10% της γλυκόζης (Σχήμα 1Β).

Η σημασία αυτής της οδού είναι μεγάλη γιατί εξασφαλίζει τη συνεχή παραγωγή ανηγμένης γλουταθειόνης, η οποία προφυλάσσει την αιμοσφαιρίνη και την μεμβράνη του ερυθροκυττάρου από την οξειδωτική δράση διαφόρων οξειδωτικών ουσιών ενδογενών ή

εξωγενών. Συντελεί επίσης στη διατήρηση των σουλφυδρυλικών ομάδων των πρωτεϊνών του κυττάρου και της αιμοσφαιρίνης (Τρακατέλλης, 1992). Με το μεταβολισμό της γλυκόζης του ερυθρού αιμοσφαιρίου εξασφαλίζονται οι ενεργειακές του ανάγκες: Το ATP εξασφαλίζει την λειτουργία της αντλίας $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ και ασβεστίου, την ευκαμψία της μεμβράνης του, την διόρθωση των βλαβών του κατά την δίοδο του από την μικροκυκλοφορία κ.α. (Τρακατέλλης, 1992). Επίσης η πορεία των φωσφορικών πεντοζών είναι η μόνη πηγή του NADPH για τα ερυθρά αιμοσφαίρια, λόγω της έλλειψης αυτών σε μιτοχόνδρια, άρα και η παραγωγή NADPH από αυτά μειώνεται στο ελάχιστο από τη συγκεκριμένη ανεπάρκεια (Stryer, 1997).

Το ερυθρό αιμοσφαίριο ζει 120 ημέρες και καταστρέφεται με φαγοκυττάρωση κυρίως στον σπλήνα, από το σύστημα μονοπύρηνων μακροφάγων ή αλλιώς δυκτιοενδοθυλιακό σύστημα. Με την καταστροφή του η σφαιρίνη της αιμοσφαιρίνης διασπάται σε αμινοξέα που εισέρχονται στην κυκλοφορία, ο δακτύλιος της αίμης διανοίγεται για τον σχηματισμό των χολοχρωστικών, ενώ ο σίδηρος εναποθηκεύεται στα μόρια της φερριτίνης που αποτελεί μια μορφή αποθήκευσης του Fe^{++} (Φερτάκης, 1992).

Όσον αφορά τα λευκά αιμοσφαίρια, η βιολογική σημασία της οδού αυτής έγκειται στην χρησιμοποίηση από τα φαγοκύτταρα του NADPH σαν υπόστρωμα για τη δράση του ενζύμου οξειδάση του NADPH, το οποίο συμβάλλει στην καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών. Στην περίπτωση μάλιστα που το φαγοκυτωθέν σωματίδιο είναι βακτήριο, η θανάτωσή του γίνεται με διάφορους μηχανισμούς, κυρίως με την απελευθέρωση οξειδωτικών ριζών, κατιοντικών πρωτεϊνών και χημικά δραστικών αλλογονούχων ιόντων. Συγκεκριμένα, η υπεροξειδάση διασπά το υπάρχον υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) (που προέρχεται από το μεταβολισμό του φαγοκυττάρου αλλά και από το μεταβολισμό του βακτηρίου) σε νερό και ενεργό οξυγόνο. Η απελευθέρωση ενεργού οξυγόνου συνεπάγεται την οξειδωση διαφόρων αλλογονούχων υποστρωμάτων και την παραγωγή δραστικών ιόντων, τα οποία βλάπτουν την μεμβράνη του βακτηρίου και ιδιαίτερα των μιτοχονδρίων του. Έτσι, το βακτήριο αδυνατεί να παράγει τα απαιτούμενα ποσά ενέργειας και καταστρέφεται. Φαίνεται λοιπόν, πως η οξειδάση του NADPH ενεργοποιεί μηχανισμούς με ή και χωρίς την παρουσία οξυγόνου που παίζουν καθοριστικό ρόλο στην εξουδετέρωση των μικροβίων (Wolach et al, 2004; Ηλιόπουλος, 1999).



Σχήμα 1: Μεταβολικές οδοί του ερυθρού αιμοσφαιρίου μαζί με τα υπεύθυνα ένζυμα. Αν η ένδειξη του ενζύμου είναι συχνή αναγράφεται με κεφαλαία στοιχεία. Τα ένζυμα στα οποία δεν έχει περιγραφεί ανεπάρκεια σημειώνονται με το (O).

Στο Σχήμα 1 παριστάνονται απλοποιημένες οι δύο κύριες μεταβολικές οδοί του ερυθρού αιμοσφαιρίου, η γλυκολυτική οδός (Α) και η οδός των φωσφορυλιωμένων πεντοζών (Β). Ταυτόχρονα σημειώνονται και τα ένζυμα που είναι υπεύθυνα για κάθε μεταβολικό βήμα. Κάθε ένα από αυτά τα ένζυμα ρυθμίζεται από ένα ζεύγος αλληλόμορφων γονιδίων. Εάν σε ένα άτομο υπάρχει κληρονομική έλλειψη του ενός γονιδίου, το άτομο αυτό είναι ετεροζυγώτης και δεν πάσχει. Οι ίδιες μεταβολικές οδοί λαμβάνουν χώρα και στα λευκά αιμοσφαίρια.

Αυτές οι ενζυμικές ανεπάρκειες μπορούν να αφορούν οποιοδήποτε ένζυμο (Α) αναερόβιας γλυκολυτικής οδού και (Β) της οδού των φωσφορυλιωμένων πεντοζών. Το φαινόμενο αυτό οδηγεί σε ελάττωση της παραγωγής των ενεργειακών μορίων προκαλώντας σημαντική βράχυνση της ζωής του αιμοσφαιρίου (Τρακατέλλης, 1992). Στην (Α) περίπτωση παράγεται χρόνια αιμολυτική αναιμία ενώ στη (Β) αναπτύσσεται μια ιδιαίτερη ευαισθησία σε ορισμένα φάρμακα (ουσίες) με πρόκληση οξείας αιμόλυσης (Φερτάκης, 1992; Ninfali et al., 1993).

Όπως έχει λεχθεί το 10% του μεταβολισμού των υδατανθράκων ακολουθεί την οδό των φωσφορυλιωμένων πεντοζών. Η οδός αυτή είναι επίσης γνωστή και σαν οδός της μονοφωσφορικής εξόζης ή σαν οδός φωσφογλυκονικού οξέος.

Όπως φαίνεται στο Σχήμα 1 ένα μέρος της 6-φωσφορικής γλυκόζης με τη βοήθεια του ενζύμου αφυδρογονάση (δευδρογενάση) της 6-φωσφορικής γλυκόζης (Glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD) μετατρέπεται σε 6-φωσφογλυκο-λακτόνη και στη συνέχεια σε 6-φωσφογλυκονικό.

Το 6-φωσφογλυκονικό μετατρέπεται σε μια πεντόζη τη διφωσφορική 5-ριβουλόζη. Η πεντόζη αυτή μετατρέπεται αφενός σε φωσφορική - 6 - φρουκτόζη και αφετέρου σε φωσφορική - 3 - γλυκεραλδεύδη οπότε και ακολουθείται ο γλυκολυτικός κύκλος ανάποδα προς τον επανασχηματισμό δηλαδή της γλυκόζης. Εντούτοις από τα 6 μόρια γλυκόζης που ακολουθούν την οδό των πεντοζών επανασχηματίζονται τα 5 και "χάνεται" το ένα σε κάθε κύκλο (Φερτάκης, 1998). Όταν λείπει το ένζυμο αφυδρογονάση της 6-φωσφορικής γλυκόζης ο κύκλος των φωσφορυλιωμένων πεντοζών δεν μπορεί να λειτουργήσει κανονικά (Φερτάκης, 1998).



Γλουταμινικό οξύ + κυστεΐνη

συνθετάση

Γλυταμίνης-κυστεΐνης



Γ-γλουταμυλ-κυστεΐνη
(+ γλυκίνη)

συνθετάση του γλουταθειού



Αναχθέν γλουταθειό
(GSH)

NADP⁺

Αναγωγή
του γλουταθειού

NADPH



υπεροξειδάση
του γλουταθειού

Οξειδωθέν γλουταθειό
(GSSG)

Σχήμα 2: Ο μεταβολισμός του γλουταθειού

Η αφυδρογονάση της 6 φωσφορικής γλυκόζης το πρώτο ένζυμο της πορείας των φωσφορικών πεντοζών, ανακαλύφθηκε από τον Otto Warburg το 1931 και το ολοκληρωμένο σχήμα της πορείας προτάθηκε στη συνέχεια από τους Friz Limann - Frank Dickeus - Bernard Horecker και Racker (Stryer, 1997).

Ανεπάρκεια του ενζύμου G6PD

Η ανεπάρκεια της G6PD είναι κοινή κληρονομική ενζυμική διαταραχή που χρονολογείται από τον 5^ο π.Χ αιώνα. Περιγράφηκε στο παρελθόν σαν αναιμία της Βαγδάτης και κύαμωση, μια ευαισθησία στη γύρη και τα κουκιά αντίστοιχα. Οι υποφέροντες πάσχοντες συχνά εμφανίζουν σημάδια ίκτερου με σκοτεινά και συχνά μαύρα ούρα (Senozan & Thielman, 1991). Σήμερα εκτιμάται ότι 200 - 400 εκατομμύρια σε όλο τον κόσμο υποφέρουν από ανεπάρκεια της G6PD (Beutler, 1991).

Η ανεπάρκεια της G6PD δεν ήταν πολύ γνωστή μέχρι νωρίς το 1950 όταν χρησιμοποιήθηκε ο στρατός των Η.Π.Α. για να προσδιοριστεί η αιτία της ευαισθησίας σε κάποιο φάρμακο, η οποία εμφανιζόταν σε ποσοστό 15% στους μαύρους στρατιώτες (Senozan & Thielman, 1991). Το φάρμακο αυτό ήταν η πριμακίνη, ένα ανθελονοσιακό φάρμακο το οποίο είχε εισαχθεί στην αγορά το 1926.

Η G6PD είναι ένα πολυπεπτιδίο 515 αμινοξέων δομημένο από αυτόνομες υπομονάδες με M.B 59.625 η κάθε μια. Το ένζυμο είναι πλούσιο σε σουλφυδριλικές ομάδες (SH) περιέχοντας έντεκα SHs ανά υπομονάδα (Senozan & Thielman, 1991). Το γονίδιο βρίσκεται στη Xq 28 περιοχή του μακρού σκέλους του X χρωματοσώματος. Η νόσος είναι κληρονομική και φυλοσύνδετου τύπου. Η πλειοψηφία των μεταλλάξεων οφείλεται σε σημειακή μετάλλαξη και επιτρέπει την αντικατάσταση ενός αμινοξέος στον κώδικα δομής του γονιδίου για την G6PD.

Η έλλειψη G6PD έχει κατανομή στις χώρες όπου παλαιότερα ενδημούσε η ελονοσία, καθώς φαίνεται πως η έλλειψη παρέχει ένα είδος προστασίας ενάντια στο πλασμώδιο της ελονοσίας (*Plasmodium falciparum*) (Scriver, 1995; Παπαδημητρίου, 1998). Η ανεπάρκεια λοιπόν της G6PD δημιουργεί ένα αφιλόξενο περιβάλλον για τα παράσιτα της ελονοσίας, αποθαρρύνοντας έτσι την επιβίωση των πρωτόζωων στα ερυθροκύτταρα (Τρακατέλλης, 1992).

Οι δύο πιο κοινές μορφές ενζυμικής ανεπάρκειας είναι οι εξής: η Αφρικάνικου τύπου (-A) και η Μεσογειακού τύπου (-B) (Beutler, 1996). Οι διαφοροποιήσεις αυτές οφείλονται σε δύο μεταλλάξεις που συμβαίνουν στο υπεύθυνο γονίδιο. Η πρώτη μετάλλαξη λαμβάνει χώρα στο νουκλεοτίδιο 376 και συμβαίνει και στις δύο περιπτώσεις και η δεύτερη μετάλλαξη αφορά στα νουκλεοτίδια 202, 680 ή 968. Ο πρώτος συνδυασμός μεταλλάξεων αναφέρεται σαν τύπου A-_{202/376} και απαντάται με συχνότητα 10%, ενώ ο συνδυασμός των δύο άλλων, A-_{680/376} και A-_{968/376}, απαντάται με συχνότητα <2% (Beutler, Kuhl, & Vives-Connors, 1989).

Τα άτομα με Αφρικάνικου τύπου ανεπάρκεια, όπου τα δυκτιοκύτταρα και τα νεαρά ερυθροκύτταρα διατηρούν το 10% της ενεργότητας της G6PD, είναι συνήθως ασυμπτωματικά μέχρι την έκθεσή τους σε οξειδωτικό στρες. Τα επεισόδια της αιμόλυσης είναι συνήθως σύντομα επειδή τα νεοπαράγόμενα ερυθροκύτταρα έχουν συχνά ενεργότητα G6PD, συγκρίσιμη με τα κανονικά. Αντιθέτως εκείνα του Μεσογειακού τύπου έχουν μειωμένη ενεργότητα G6PD ακόμη και στα νεαρά ερυθροκύτταρα με συνέπεια να υποφέρουν από πολλά σοβαρά αιμολυτικά επεισόδια (Senozan & Thielman, 1991; Παπαδημητρίου, 1998).

Οι συνέπειες της ανεπάρκειας του ενζύμου είναι η αιμολυτική αναιμία, ο ίκτερος των νεογνών, κοιλιακοί πόνοι και πόνοι στην πλάτη, ζάλη, πονοκέφαλοι, δύσπνοια και ταχυπαλμίες (Cecil, 1992). Από τις προηγούμενες, σημαντικότερες είναι η αιμολυτική αναιμία και ο ίκτερος. Η αιμόλυση που επισυμβαίνει, οφείλεται σε συνδυασμό ερυθροκυτταρικού (ένδοια G6PD) και εξωερυθροκυτταρικού αιτίου (οξειδωτικοί παράγοντες) (Παπαδημητρίου, 1998).

Η G6PD είναι ένζυμο απαραίτητο για την επιβίωση του ερυθρο-κυττάρου, η βιολογική γήρανση του οποίου εξαρτάται από την μείωσή της. Όσο νεαρότερα είναι τα ερυθροκύτταρα τόσο μεγαλύτερη ποσότητα G6PD περιέχουν (Παπαδημητρίου, 1998). Στα ερυθροκύτταρα που πάσχουν από οξειδωτικό stress το 10% της γλυκόζης μεταβολίζεται στην αεροβική οδό των φωσφορυλιωμένων πεντοζών. Αυτή η οδός μέσω του ενζύμου G6PD δίνει περισσότερο NADPH στα κύτταρα απαραίτητο στις αντιδράσεις διαφόρων βιοσυνθετικών μονοπατιών, στην σταθερότητα της καταλάσης και την αναγέννηση της γλουταθειόνης (GSH) από την οξειδωμένη γλουταθειόνη (Παπαδημητρίου, 1998). Το NADPH, η καταλάση και η GSH είναι τα κύρια ενδογενή αντιοξειδωτικά του κυττάρου. Με τον τρόπο αυτό η G6PD είναι μια πηγή αναγόμενης ισχύος, η οποία διατηρεί την ακεραιότητα των SH των κυτταρικών μεμβρανικών πρωτεϊνών και τα SH των λιπιδίων και βοηθάει στην αποτοξίνωση από τις ελεύθερες ρίζες και υπεροξειδία (Τρακατέλλης, 1992).

Η θεραπεία έγκειται στην αποφυγή λήψης συγκεκριμένων φαρμάκων και ουσιών που μπορεί να οδηγήσουν σε αιμολυτική κρίση και στην παροχή οξυγόνου στους ιστούς του ανθρώπινου σώματος από τα ερυθροκύτταρα. Στην περίπτωση αιμολυτικού επεισοδίου, γίνεται παροχή οξυγόνου δια της μύτης και οι ασθενείς τοποθετούνται για ξεκούραση στο κρεβάτι, ώστε να υπάρξει ύφεση των συμπτωμάτων (Cecil, 1992). Ακόμη, κάποιες φορές, σε άτομα που υφίστανται αιμολυτικό επεισόδιο γίνεται μετάγγιση αίματος ή τους παρέχεται μια πρωτεΐνη ικανή να δεσμεύσει την ελεύθερη αιμοσφαιρίνη του

πλάσματος (haptoglobin) (Ohga et al., 1995). Σε οξύ αιμολυτικό επεισόδιο, δίνεται φολικό οξύ (Cecil, 1992).

Ελεύθερες Ρίζες

Όπως γνωρίζουμε, το μεγαλύτερο μέρος της ενέργειας για τις βιολογικές μας ανάγκες προέρχεται από την οξείδωση (καύση) των διαφόρων συστατικών της τροφής που προσλαμβάνουμε. Όλες οι οξειδώσεις όμως δεν είναι ωφέλιμες αλλά υπάρχουν και ορισμένες οι οποίες μπορεί να αποβούν βλαβερές για τον οργανισμό. Αυτές προκαλούνται από ουσίες που ονομάζονται δραστικά είδη οξυγόνου (ROS) και αζώτου (RNS), που παράγονται από μεταβολικές αντιδράσεις (π.χ. αερόβιος μεταβολισμός του σώματός μας) και στην πλειονότητά τους είναι ελεύθερες ρίζες (Μούγιος, 1999). Ελεύθερες ρίζες είναι χημικές ουσίες (άτομα ή μόρια, φορτισμένα και αφόρτιστα) που διαθέτουν ένα τουλάχιστον ασύζευκτο ηλεκτρόνιο στην εξώτατη στιβάδα. Είναι πολύ δραστικές γιατί το ασύζευκτο ηλεκτρόνιο έχει την τάση να γίνει ζεύγος αποσπώντας ηλεκτρόνιο από άλλη ουσία με αποτέλεσμα να την οξειδώνει και να την καταστρέφει. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται οξειδωτικό stress. Επίσης οι ελεύθερες ρίζες εκτός από την παραγωγή τους κατά τον φυσιολογικό μεταβολισμό, δημιουργούνται και από την έκθεσή μας σε περιβαλλοντολογικά αίτια όπως: παράγοντες λοίμωξης, μολύνσεις, υπερϊώδης ακτινοβολία, ακτίνες X, χημικές ουσίες κλπ (Schroeder, Tierney, Mc Phee, Papadakis, & Kuyup, 1993; Τρακατέλλης, 1992). Οι κυριότεροι εκπρόσωποι αυτών είναι:

- α) Το ανιόν υπεροξειδίου (O_2^-)
- β) Το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2)
- γ) Το ανιόν του υδροξυλίου (HO^-)
- δ) Οι ρίζες του νιτρικού οξέος (NO^+) ή ενδογενές νιτρικό άλας.

Έχει βρεθεί πως το οξειδωτικό stress αυξάνει την πιθανότητα εκφυλισμού των κυττάρων πράγμα που έχει συσχετισθεί με το προηγμένο γήρας, την αρτηριακή υπέρταση, την υπερτριγλυκεριδαιμία, τον καρκίνο, τον σακχαρώδη διαβήτη, την στεφανιαία νόσο, τις εκφυλιστικές παθήσεις του Κ.Ν.Σ. και του ανοσολογικού συστήματος, την ρευματοειδή αρθρίτιδα (Diplock, 1998) και αλλοιώσεις στο DNA (Poulsen, Welmann, & Loft, 1999).

Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να παραχθούν μέσω της δράσης πολλών οξειδωτικών ενζύμων σε διάφορες θέσεις του κυττάρου π.χ. κυτταρόπλασμα, μιτοχόνδρια, λυσοσώματα και πλασματικές μεμβράνες (Schroeder et al., 1993; Τρακατέλλης, 1992) και διαμέσου της αλληλεπίδρασης με μέταλλα (πχ. σίδηρος, χαλκός) (στην αντίδραση του

Fenton H_2O_2) ($Mt^{n+} + H_2O_2 \rightarrow Mt^{(n+1)+} + HO\cdot + HO^-$). Συνήθως ο περισσότερος σίδηρος είναι τρισθενής Fe^{+++} και ανάγεται σε δισθενή Fe^{++} ώστε να είναι δραστικός στην αντίδραση Fenton. Άλλη περίπτωση παραγωγής ελευθέρων ριζών είναι διαμέσου της Heber-Weiss αντίδρασης ($O_2^- + H_2O_2 \rightarrow O_2 + HO\cdot + HO^-$).

Οι κυριότερες επιδράσεις αυτών των δραστικών ειδών είναι επί των μεμβρανών των λιπιδίων, των σουφλυδρικών ομάδων, πρωτεϊνών καθώς και των νουκλεϊκών οξέων του DNA. Αλληλεπιδράσεις με το DNA επάγουν μεταλλάξεις στο γενετικό κώδικα, οι οποίες εφόσον δεν επισκευασθούν επιφέρουν κυτταρικές διαταραχές, αλλά και αναστολή της αντιγραφής του DNA. Όλες οι προαναφερθείσες ρίζες περιλαμβάνονται στην καταστροφή του DNA. Επίσης μπορούν να προκαλέσουν οξειδωση των λιπιδίων της μεμβράνης, του ενδοπλασματικού δικτύου των μιτοχονδρίων και άλλων μικροσωμικών συστατικών. Διασύνδεση των μεμβρανικών πρωτεϊνών μπορεί να γίνει με το σχηματισμό δισουλφιδικού δεσμού (τα πλέον ασταθή αμινοξέα είναι η μεθειονίνη ή ιστιδίνη, κυστεΐνη και λυσίνη), ή επίσης να συμβεί ολική καταστροφή του κυττάρου, απενεργοποιώντας ένζυμα που περιέχουν σουφλυδρίλια (SH). Η οξειδωση των λιπιδίων είναι ένας από τους καλύτερα μελετημένους μηχανισμούς, (όμως όχι πάντοτε ο κύριος) βλάβης από ελεύθερες ρίζες. Αρχίζει με ρίζες υδροξυλίου, οι οποίες αντιδρούν με ακόρεστα λιπαρά οξέα φωσφολιπιδίων της μεμβράνης, για να σχηματισθούν ελεύθερες ρίζες οργανικών οξέων, οι οποίες με την σειρά τους αντιδρούν ταχέως με το οξυγόνο για να σχηματιστούν ανιόντα υπεροξειδίου. Τα ανιόντα υπεροξειδίου δρουν κατόπιν σαν ελεύθερες ρίζες, ξεκινώντας μια αποκαλυπτική αλυσίδα αντιδράσεων, συντελώντας έτσι σε ευρεία απώλεια ακόρεστων λιπαρών οξέων και σε εκτεταμένες μεμβρανικές καταστροφές (Schroeder et al., 1993; Τρακατέλλης, 1992).

Θεωρείται απαραίτητο τέλος να αναφερθούμε, πως αν και οι ελεύθερες ρίζες κατηγορούνται για την επικίνδυνη δράση τους και τις καταστροφικές τους ιδιότητες στα κύτταρα, η δημιουργία τους είναι μια κατά βάση βιολογική και φυσιολογική διαδικασία απαραίτητη για την κυτταρική σύνθεση, στην δημιουργία του DNA και του RNA όπως και συγκεκριμένων ορμονών. Χαρακτηριστικό είναι ότι τα λευκά αιμοσφαίρια «εκμεταλλεύονται» τις ιδιότητες αυτών και τις χρησιμοποιούν για άσηπτες και ανοσοποιητικές λειτουργίες τους (Karlsson, 1997; Radak, 2000).

Παραγωγή ελευθέρων ριζών κατά την άσκηση

Η πιο σημαντική πηγή ελευθέρων ριζών κατά την άσκηση θεωρείται η διαφυγή ηλεκτρονίων από την αναπνευστική αλυσίδα των μιτοχονδρίων κατά τον αερόβιο μεταβολισμό. Κατά τη διάρκεια της άσκησης, ιδιαίτερα όταν αυτή είναι έντονη, οι ενεργειακές απαιτήσεις πολλαπλασιάζονται με αποτέλεσμα να αυξάνεται η πρόσληψη οξυγόνου για την πραγματοποίηση του αερόβιου μεταβολισμού και την παραγωγή ενέργειας. Είναι όμως δυνατό κάποια ηλεκτρόνια να διαφύγουν και να οδηγήσουν στην παραγωγή ριζών υπεροξειδίου (Cooper, Vollaard, Choueiri & Wilson, 2002).

Πλήθος ερευνών που έχουν γίνει τις τελευταίες δεκαετίες, συμφωνούν ότι η άσκηση οδηγεί στην παραγωγή ελευθέρων ριζών (Cooper et al., 2002; Urso & Clarkson, 2003). Η παραγωγή αυτή επιτυγχάνεται με διάφορους μηχανισμούς. Η αυξημένη απελευθέρωση κατεχολαμινών κατά την άσκηση είναι ένας από τους μηχανισμούς αυτούς, όπως επίσης και η μυϊκή καταστροφή που επέρχεται με την έντονη άσκηση. Η καταστροφή του μυϊκού ιστού προκαλεί φλεγμονή και απελευθέρωση υπεροξειδίων με την επίδραση της οξειδάσης του NADPH των ουδετερόφιλων λευκοκυττάρων.

Ένας άλλος μηχανισμός που μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία ριζών είναι το φαινόμενο της ισχαιμίας – επαναιμάτωσης που επισυμβαίνει κατά τη μυϊκή προσπάθεια. Η έντονη άσκηση επιφέρει παροδική ισχαιμία σε πολλά όργανα του σώματος (όπως στους νεφρούς και σε άλλα σπλαχνικά όργανα) καθώς το αίμα προωθείται στους ασκούμενους μυς. Επιπλέον, όταν η ένταση της άσκησης είναι πολύ υψηλή, μπορεί να παρατηρηθεί υποξία σε μυϊκές ίνες λόγω αδυναμίας κάλυψης των αναγκών από το παρεχόμενο οξυγόνο (Koyama et al., 1999). Η επαναοξυγόνωση μετά το τέλος της άσκησης στους ιστούς αυτούς συνεπάγεται παραγωγή ελευθέρων ριζών (Koyama et al., 1999; Packer, 1997).

Για τελευταία χρόνια γίνονται μελέτες που εξετάζουν τη σχέση των πρωτεϊνών της αίμης με το οξειδωτικό στρες. Τόσο η αιμοσφαιρίνη όσο και η μυοσφαιρίνη, έχουν τη δυνατότητα να παράγουν ελεύθερες ρίζες οι οποίες αλληλεπιδρούν με άλλα στοιχεία. Σαν κύρια επίδραση των ριζών αυτών αναφέρεται η υπεροξειδωση των λιπιδίων. Το φαινόμενο αυτό της παραγωγής ελευθέρων ριζών από τις πρωτεΐνες της αίμης είναι ιδιαίτερα έντονο όταν μειώνεται το παρεχόμενο οξυγόνο στα τριχοειδή (Cooper et al., 2002).

Υπάρχουν ωστόσο δεδομένα που αποδεικνύουν πως η άσκηση μέτριας ή χαμηλής έντασης μπορεί να ενισχύσει τους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς, προστατεύοντας έτσι τους ιστούς από τις βλαπτικές επιδράσεις των ελευθέρων ριζών. Το φαινόμενο αυτό παρατηρείται κυρίως σε προπονημένα άτομα στα οποία η καλή φυσική κατάσταση που

έχουν αναπτύξει, συμβάλλει καθοριστικά στη δράση των αντιοξειδωτικών ενζύμων κατά τη διάρκεια της άσκησης (Bruunsgard & Pedersen, 2000).

Αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί

Αντιοξειδωτικές είναι οι ουσίες, η παρουσία των οποίων μπορεί να καθυστερήσει σημαντικά ή και να ανακόψει τη διαδικασία οξείδωσης κάποιων ευαίσθητων υποστρωμάτων. Οι ουσίες αυτές είναι συνδεδεμένες με πρωτεΐνες ή βρίσκονται σε εξειδικευμένα οργανίδια (όπως η καταλάση στα υπεροξειδιοσώματα). Άλλες επίσης βρίσκονται διάχυτες στο κυτταρόπλασμα ή μέσα στα μιτοχόνδρια (όπως η γλουταθειόνη) (Spletstoeser & Schuff-Werner, 2002).

Οι αντιοξειδωτικές μπορούν να διακριθούν σε ενδοκυτταρικές και εξωκυτταρικές. Οι ουσίες που δρουν έξω από το χώρο του κυττάρου είναι οι εξής:

- α) Η βιταμίνη C ή ασκορβικό οξύ. Αποτελεί αντιοξειδωτικό παράγοντα και μάλιστα ισχυρό. Είναι πηγή ηλεκτρονίων (e^-) για την διατήρηση του O_2 σε μορφή μη ελεύθερης ρίζας. Λειτουργεί ως προστατευτικός μηχανισμός και διατηρεί τον Fe^{++} και τον Cu^+ στην ανηγμένη μορφή. Προστατεύει άλλα αντιοξειδωτικά (με την καταστροφή της) όπως την βιταμίνη E και A και τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (Burton & Ingold, 1989). Υπάρχουν ενδείξεις πως η βιταμίνη C μπορεί να επαναφέρει την βιταμίνη E πίσω στην ανηγμένη της μορφή από την οξειδωμένη της κατάσταση. Βρίσκεται σε μεγάλες ποσότητες στα λευκοκύτταρα (φαγοκύτταρα) που προστατεύει από την αυτοοξείδωση τους απ' τις ελεύθερες ρίζες (Linder, 1991).
- β) Η τρανσφερίνη και η λακτοφερίνη. Οι πρωτεΐνες αυτές δεσμεύουν τα ελεύθερα ιόντα δισθενούς σιδήρου Fe^{++} και προλαμβάνουν με τον τρόπο αυτό τη συμμετοχή τους στη δημιουργία ριζών υδροξυλίου (Halliwell & Gutteridge, 1990). Η τρανσφερίνη δρα κυρίως στο πλάσμα ενώ η λακτοφερίνη συντίθεται και απελευθερώνεται και από τα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα. Τα μακροφάγα ωστόσο, δεν παράγουν λακτοφερίνη αλλά διαθέτουν εξειδικευμένους υποδοχείς λακτοφερίνης (Britigan, Serody, Hayek, Charniga & Cohen, 1991; Halliwell & Gutteridge, 1990).
- γ) Η χαλκοπλασμίνη, η οποία έχει την ιδιότητα να οξειδώνει τον Fe^{++} σε Fe^{+++} , μειώνοντας το ποσοστό των σχηματιζόμενων ριζών υδροξυλίου. Επιπλέον, η ικανότητα σύνδεσης του ενζύμου αυτού με ιόντα χαλκού (Cu^{++}), δρα ανασταλτικά στην πραγματοποίηση αντιδράσεων που καταλύονται από το χαλκό και οδηγούν στο σχηματισμό ριζών (Gutteridge, 1991).

δ) Διάφορες άλλες ουσίες με δράση κατά των ελεύθερων ριζών, όπως είναι το ουρικό οξύ (DeLange & Glazer, 1989), η χολερυθρίνη (Stocker, Yamamoto, McDonagh, Glazer & Ames, 1987) και η αλβουμίνη (Wasil, Halliwell, Hutchison & Baum, 1987). Η χολερυθρίνη παράγεται κατά την αποδόμηση της αίμης με συμμετοχή του NADPH, αποτελεί ισχυρό αντιοξειδωτικό και είναι αυξημένη σε ορισμένες καταστάσεις όπως αιμόλυση και νεογνικός ίκτερος (Stryer, 1997). Η χολερυθρίνη, το ουρικό και το ασκορβικό οξύ, είναι τα κύρια αντιοξειδωτικά στο πλάσμα.

Οι αντιοξειδωτικές ουσίες που η δράση τους λαμβάνει χώρα εντός του κυττάρου είναι οι παρακάτω:

A) Το ένζυμο καταλάση, το οποίο βρίσκεται μέσα στα υπεροξειδισώματα και καταλύει την διάσπαση του υπεροξειδίου του υδρογόνου σε νερό και οξυγόνο (Parke & Sapota, 1996).

β) Η δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD). Πρόκειται για ισχυρό αντιοξειδωτικό ένζυμο που βρίσκεται σε διάφορα σημεία του κυττάρου (όπως στα μιτοχόνδρια και το κυτταρόπλασμα) και δρα ενάντια στα ανιόντα υπεροξειδίου (O_2^-), τις πιο εύκολα παραγόμενες και περισσότερο διαδεδομένες ρίζες (Speltstoeser et al., 2002).

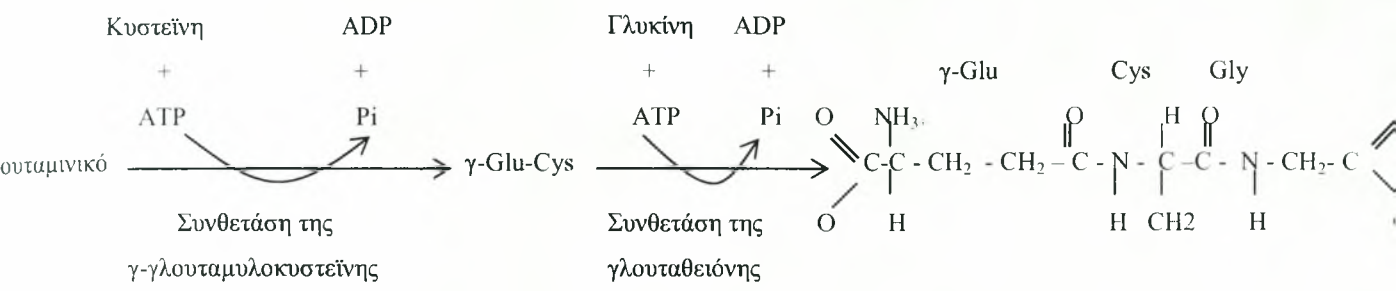
γ) Η βιταμίνη E (α-τοκοφερόλη). Είναι εγκατεστημένη στις στιβάδες λιπιδίων διαφόρων μεμβρανών και αντιδρά κυρίως με ρίζες υπεροξειδίου, μεμονομένο οξυγόνο και υπεροξειδία λιπιδίων. Η βιταμίνη E οξειδώνεται πολύ εύκολα και με αυτό τον τρόπο, δεσμεύει άλλες ουσίες από οξειδώσεις δεσμεύοντας το οξυγόνο του περιβάλλοντός τους. Με τον τρόπο αυτό, καταστρέφεται μεν η ίδια αλλά προστατεύει ουσίες στα τρόφιμα, όπως τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και η βιταμίνη A. Ασκει αντιοξειδωτική δράση στους πνεύμονες, προστατεύοντας τα ερυθρά και τα λευκά αιμοσφαίρια από την ρήξη των μεμβρανών τους. Η εν λόγω προστασία από την ρήξη των μεμβρανών των ερυθρών αιμοσφαιρίων (αιμόλυση ερυθροκυττάρων) προστατεύει ιδίως τα παιδιά από αιμολυτική αναιμία, ενώ η προστασία των λευκών αιμοσφαιρίων, παρέχει προστασία της άμυνας του οργανισμού κατά των ασθενειών (Ζερφυρίδης, 1998).

δ) Τα καροτινοειδή (β-καροτένιο, λυκοπένιο), των οποίων η δράση έγκειται στην αναστολή της οξειδωσης των λιπιδίων, στην ανενεργοποίηση της λιποξυγενάσης και στην απόσβεση των ελεύθερων ριζών οξυγόνου (Canfield, Forage & Valenzuela, 1992).

- ε) Το φλεβοένζυμο αναγωγάση της θειορεδοξίνης (TR) η οποία με το NADPH ανάγει την θειορεδοξίνη. Αυτή δρα ως δότης υδρογόνου στην αναγωγάση των ριβονουκλεοτιδίων, ένα ένζυμο που συνθέτει τριφωσφορικά δεοξυριβονουκλεοτιδία. Η θειορεδοξίνη προστατεύει από Tumor Necrosis Factor (TNF) επαγόμενη κυτταροτοξικότητα, οξειδωτικό στρες ανάγει το H₂O₂ και εκκαθαρίζει ελεύθερες ρίζες.
- στ) Το σελήνιο (Se). Είναι ιχνοστοιχείο το οποίο μαζί με την βιταμίνη E προστατεύει ουσίες του οργανισμού που είναι ευαίσθητες σε οξείδωση (Harper 's 1984). Περιέχεται στην υπεροξειδάση της γλουταθειόνης η οποία είναι ένζυμο με 4 υπομονάδες και σε κάθε μια βρίσκεται Se με την μορφή σεληνοκυστεΐνης (Linder, 1991).
- ζ) Ένα οξειδοαναγωγικό σύστημα το οποίο χρησιμοποιεί NAD / NADPH σαν πηγή ηλεκτρονίων για την ανακύκλωση των οξειδωμένων εξουδετερωτών των ελευθέρων ριζών. Με τον τρόπο οι αντιοξειδωτικές αυτές ουσίες καθίστανται και πάλι ενεργές για προστασία ενάντια στην οξείδωση των λιπιδίων και στην προγραμματισμένη απόπτωση των κυττάρων που έχουν υποστεί οξειδωτικό στρες (Rodriguez-Aguilera et al., 2000).
- η) Η γλουταθειόνη. Αποτελεί σημαντικό αντιοξειδωτικό παράγοντα και αναλύεται παρακάτω.

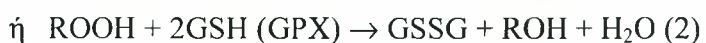
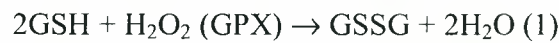
Η αντιοξειδωτική δράση της γλουταθειόνης

Η γλουταθειόνη αποτελεί μία ενδογενή αντιοξειδωτική ουσία η οποία είναι άμεσα εξαρτώμενη από την ενεργότητα του ενζύμου G6PD. Πρόκειται για ένα τριπεπτίδιο που αποτελείται από γλυκίνη, κυστεΐνη και εστέρα του γλουταμινικού οξέος. Έχει την εξαιρετική ιδιότητα να δρα ενάντια σε όλες τις επαγόμενες ρίζες, τα υπεροξείδια και τους μεταβολίτες που παράγονται από τη διαδικασία του κυτταρικού μεταβολισμού (Rahmann & MacNee, 2000). Συγκέντρωση της γλουταθειόνης της τάξης των 2-4 mM ενδοκυτταρικά, θεωρείται επαρκής για την προστασία των σουλφιδικών ομάδων των περισσότερων πρωτεϊνών και ενζύμων, άρα και για τη διατήρηση της λειτουργίας τους (Splettstoesser et al., 2002). Βρίσκεται σε όλα τα ζωικά κύτταρα όπου συντίθεται με την δράση των ενζύμων, συνθετάση της γ-γλουταμιλοκυστεΐνης και συνθετάση της γλουταθειόνης.

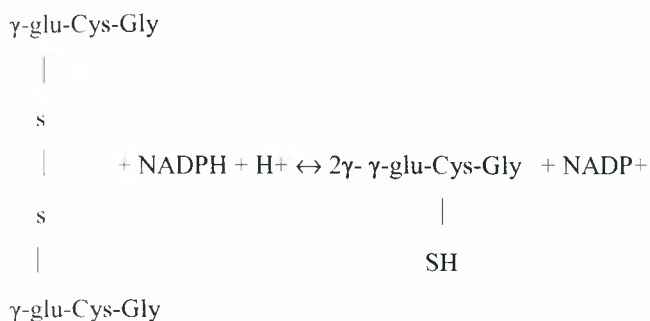


Σχήμα 3: Βιοσύνθεσης της Γλουταθειόνης

Η γλουταθειόνη (GSH) χρησιμοποιείται στην εξουδετέρωση H₂O₂ (αντίδραση1) και οργανικών υπεροξειδίων (αντίδραση2), που δημιουργούνται ύστερα από την επίδραση οξειδωτικών ουσιών κατά την αναπνοή, με τις τροφές ή ακόμα με ορισμένα φάρμακα.



Αυτές οι αντιδράσεις καταλύονται από το ένζυμο υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPX, glutathione peroxidase) που περιέχει σελήνιο και η οποία καταλύει την ικανότητα της ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH) να εξουδετερώνει ελεύθερες ρίζες, όπως τις παραπάνω. Ακόμη η γλουταθειόνη δρα με αντιδράσεις αλληλοανταλλαγής δισουλφιδρυλικών ομάδων πρωτεϊνών και οξειδώνεται στη μορφή (GSSG). Η αναγέννηση της μορφής της θειόλης (GSH) από (GSSG) γίνεται με την ενζυμική δράση μιας φλαβοπρωτεΐνης, της αναγωγάσης της γλουταθειόνης παρουσία NADPH.



Οξειδωμένη μορφή
Γλουταθειόνης (GSSG)

Ανειγμένη μορφή γλουταθειόνης (GSH)

Στα περισσότερα κύτταρα η σχέση GSH / GSSG είναι μεγαλύτερη από 500 (Τρακατέλλης 1992). Η σχέση αυτή μειώνεται σε καταστάσεις οξειδωτικού στρες (Urso et al. 2003) και υπάρχουν έρευνες που έχουν αποδείξει ότι μετά από άσκηση, η οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG) αυξάνεται και κατά συνέπεια ο λόγος GSH / GSSG μειώνεται, γεγονός που αποδεικνύει ότι η άσκηση αποτελεί παράγοντα οξειδωτικού στρες (Laaksonen et al., 1999; Sastre et al., 1999; Sen, 1999).

Οξειδωτικό στρες σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD

Υπάρχουν αναφορές στη βιβλιογραφία που υποδεικνύουν πως άτομα που πάσχουν από έλλειψη G6PD παρουσιάζουν αυξημένο οξειδωτικό στρες σε διάφορους ιστούς. Έχει αναφερθεί ότι άτομα με έλλειψη G6PD παρουσιάζουν αυξημένη γλυκοσυλίωση πρωτεϊνών, κυρίως όσων σχετίζονται με τον κερατοειδή χιτώνα του ματιού. Αυτό μπορεί να προκαλέσει καταρράκτη σε αυτά τα άτομα. Υπάρχουν επίσης αρκετές αναφορές που υποδεικνύουν πως όταν η δραστηριότητα της G6PD είναι πολύ χαμηλή και το οξειδωτικό στρες αυξημένο, τότε μπορεί να προκληθεί αυξημένη καταστροφή ερυθρών αιμοσφαιρίων, και κατά συνέπεια να εμφανιστεί αιμολυτική αναιμία (Cooper et al., 2002).

Πρόσφατες έρευνες υποστηρίζουν πως το οξειδωτικό στρες μπορεί να προκαλέσει καταστροφή του DNA των λευκοκυττάρων σε άτομα με έλλειψη του G6PD (Mesbah-Namin et al., 2004). Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί πως η χαμηλή συγκέντρωση ή η πλήρης έλλειψη του συγκεκριμένου ενζύμου σχετίζεται με δυσλειτουργία των ουδετερόφιλων λευκοκυττάρων και αυξημένη ευαισθησία σε μολύνσεις (Tsai et al., 1998).

Ένας από τους λόγους που τα άτομα με έλλειψη G6PD παρουσιάζουν μεγαλύτερη προδιάθεση για τη δημιουργία οξειδωτικού στρες μπορεί να είναι τα χαμηλά επίπεδα αντιοξειδωτικών ουσιών των ατόμων αυτών. Για παράδειγμα, έχει αναφερθεί ότι άτομα με έλλειψη G6PD έχουν χαμηλότερα επίπεδα βιταμίνης E, βιταμίνης C, καροτενοειδών και γλουταθειόνης (Cooper et al., 2002).

Άσκηση και οξειδωτικό στρες σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD.

Όπως έχει προαναφερθεί, η άσκηση συνεπάγεται παραγωγή ελευθέρων ριζών, οι οποίες όμως μπορούν να εξουδετερωθούν στο μεγαλύτερο ποσοστό τους από τις ποικίλες αντιοξειδωτικές ουσίες που διαθέτει ο ανθρώπινος οργανισμός. Με δεδομένο ότι τα άτομα που στερούνται του ενζύμου G6PD, παράγουν μικρότερη ποσότητα NADPH, άρα και μικρότερη ποσότητα ανηγμένης γλουταθειόνης, δυσκολεύονται ή αδυνατούν να αντιμετωπίσουν τις παραγόμενες ρίζες με συνέπεια να υφίστανται τις βλαβερές συνέπειες της δράσης τους.

Τα δεδομένα που υπάρχουν για την επίδραση του οξειδωτικού στρες που προκαλεί η άσκηση σε πάσχοντες από την έλλειψη του συγκεκριμένου ενζύμου είναι ελάχιστα. Οι έρευνες αυτές υποστηρίζουν πως η έντονη άσκηση έχει σαν συνέπεια την καταστροφή μυϊκού ιστού που πιστοποιείται από την από τα αυξημένα επίπεδα μυοσφαιρίνης αλλά και από τα σκουρόχρωμα ούρα (Bresolin et al., 1989; Ninfali et al., 1995).

Μεθοδολογία

Δείγμα

Στην συγκεκριμένη μελέτη έλαβαν μέρος 9 άτομα με έλλειψη ενζύμου G6PD (8 άνδρες, 1 γυναίκα) και 9 άτομα με φυσιολογικά επίπεδα G6PD (8 άνδρες, 1 γυναίκα). Οι συμμετέχοντες δεν έκαναν χρήση αντιφλεγμονωδών φαρμάκων ή συμπληρωμάτων διατροφής. Τα χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων φαίνονται αναλυτικά στον πίνακα 1. Οι συμμετέχοντες διάβασαν και υπέγραψαν ένα ενημερωτικό συμφωνητικό (Συναίνεση δοκιμαζομένου, ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α), το οποίο ήταν σύμφωνο με τη διακήρυξη του Ελσίνκι για την ηθική μεταχείριση ανθρώπων, συμμετεχόντων σε ερευνητικές μελέτες.

Σωματοδομή

Με την είσοδό τους στο εργαστήριο οι συμμετέχοντες υποβλήθηκαν σε μετρήσεις για την αξιολόγηση της σωματοδομής. Πιο συγκεκριμένα μετρήθηκε το βάρος, το ύψος, και το ποσοστό λίπους. Η μέτρηση του βάρους και του ύψους πραγματοποιήθηκε σε ζυγαριά ακριβείας (Beam Balance 710, Seca, UK), στην οποία υπήρχε και αναστημόμετρο (Stadiometer 208, Seca, UK), της οποίας η βαθμονόμηση γινόταν πριν από κάθε μέτρηση.

Ο προσδιορισμός του ποσοστού λίπους έγινε με τη μέθοδο των 7 δερματοπτυχών με δερματοπτυχόμετρο (Harpenden, UK). Η αρχή της συγκεκριμένης μελέτης βασίζεται στο γεγονός ότι το ποσό του λίπους που βρίσκεται υποδόρια (περίπου 50%) είναι ανάλογο με το συνολικό ποσοστό λίπους. Η εγκυρότητα στην πρόβλεψη της τιμής του ποσοστού λίπους με τη συγκεκριμένη μέθοδο είναι υψηλή και το ποσοστό λάθους υπολογίζεται στο 3.5%. Οι δερματοπτυχές οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν είναι οι παρακάτω, όπως προβλέπει η εν λόγω μέθοδος σε συγκεκριμένα ανατομικά σημεία του σώματος:

- α) στήθος/θώρακας
- β) μεσομασχαλιαία
- γ) τρικέφαλος
- δ) υποπλάτιος
- ε) κοιλιά

στ) υπερλαγόνιος

ζ) τετρακέφαλος

Για κάθε δερματοπτυχή πραγματοποιήθηκαν διπλές μετρήσεις ενώ όλες πραγματοποιήθηκαν στη δεξιά πλευρά του σώματος του συμμετέχοντα. Ακολουθήθηκαν οι αρχές της Αμερικάνικης Αθλητιατρικής Εταιρείας (American College of Sports Medicine, 2000) για να προσδιοριστεί η πυκνότητα του σώματος. Το ποσοστό λίπους προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας την εξίσωση του Siri.

Υπολογισμός VO₂max

Η αερόβια προπόνηση που θα έκαναν οι συμμετέχοντες, θα πραγματοποιούνταν με ένταση 70-75% της μέγιστης καρδιακής συχνότητας (ΜΚΣ). Η ΜΚΣ προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας την εξίσωση $MKS = 220 - ηλικία$. Σύμφωνα με τις οδηγίες άσκησης της Αμερικανικής Αθλητιατρικής Εταιρείας, το 70-75% της ΜΚΣ αντιστοιχεί στο 50-60% της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου (VO₂max). Για να επιβεβαιωθεί η ένταση με την οποία θα ασκούσαν οι ασκούμενοι, πραγματοποιήθηκε ένα υπομέγιστο τεστ πρόβλεψης της VO₂max. Το τεστ αυτό πραγματοποιούνταν στην αρχή της άσκησης των 45 λεπτών και κατά τη διάρκεια αυτού οι δοκιμαζόμενοι βιάζονταν στο δαπεδοεργόμετρο με μια σταθερή ταχύτητα (2.0-4.5 mph) και με κλίση 5% για 4 λεπτά. Στο τέλος της περιόδου των 4 λεπτών προσδιοριζόταν η καρδιακή συχνότητα και χρησιμοποιείτο η παρακάτω εξίσωση για την πρόβλεψη της VO₂max:

$$VO_{2max} = 48.3502 + [10.0651 \times \text{γένος (άνδρας} = 1, \text{ γυναίκα} = 0)] - (0.2769 \times \text{ηλικία}) - (0.2088 \times \text{βάρος}) + [10.1168 \times \text{ταχύτητα (mph)}] - [0.1633 \times \text{ΚΣ (καρδιακούς σφυγμούς / λεπτό)}].$$

Αερόβια προπόνηση

Μετά τη διαδικασία της αξιολόγησης της σωματοδομής ο συμμετέχοντας ξεκουραζόταν καθιστός στο εργαστήριο για μισή ώρα πριν να τρέξει για 45 λεπτά στο δαπεδοεργόμετρο (POWERJOG GXC200, USA). Ένας ηλεκτρονικός παλμογράφος, που συνοδεύεται από οθόνη ένδειξης χειρός (polar tester) προσαρμοζόταν στο στήθος του κάθε συμμετέχοντα, έτσι ώστε να υπάρχουν καθ' όλη τη διάρκεια της άσκησης τιμές καρδιακής συχνότητας. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένα, η ένταση της άσκησης με την οποία έπρεπε

να ασκούνται οι δοκιμαζόμενοι ήταν μεταξύ 70-75% της μέγιστης καρδιακής συχνότητας (ΜΚΣ).

Για να διαπιστωθεί το ποσοστό της VO_{2max} με το οποίο ασκούνταν οι συμμετέχοντες, χρησιμοποιήθηκε ένας αναλυτής αερίων (Vmax29, Sensormedics, USA) στον οποίο κάθε πέντε λεπτά παίρνονταν δείγματα εισπνεόμενου και εκπνεόμενου αέρα για να διαπιστωθεί η VO_{2max} , το αναπνευστικό πηλίκο και ο πνευμονικός αερισμός. Τροποποιήσεις στην ταχύτητα και στην κλίση του δαπεδοεργομέτρου γίνονταν, ώστε τα άτομα να τηρούν το 70-75% της προκαθορισμένης ΜΚΣ. Για να αποφευχθούν αλλαγές στον όγκο πλάσματος εξαιτίας της εφίδρωσης, οι συμμετέχοντες έπιναν τουλάχιστον 500 ml νερού.

Αιμοληψία

Πριν και μετά το τέλος της άσκησης, σε χρόνο λιγότερο από 2 λεπτά μετά το πέρας αυτής γινόταν αιμοληψία φλεβικού αίματος από τη βασιλική ή μεσοβασιλική ή κεφαλική φλέβα των άνω άκρων ενώ ο συμμετέχων βρισκόταν στην ύπτια θέση. Τηρούνταν όλοι οι προβλεπόμενοι κανόνες ασηψίας, αντισηψίας, ενώ τα υλικά τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ήταν μιας χρήσης για την αποφυγή μολύνσεων. Σε κάθε αιμοληψία λαμβάνονταν 10ml αίματος, το οποίο προοριζόταν για τις εξής εξετάσεις:

- α) προσδιορισμού της ενεργότητας του ενζύμου G6PD
- β) προσδιορισμού του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων (συνολικά αλλά και των επιμέρους κατηγοριών)
- γ) προσδιορισμού του αριθμού των ερυθρών αιμοσφαιρίων
- δ) υπολογισμού του αιματοκρίτη
- ε) υπολογισμού της αιμοσφαιρίνης

Μέτρηση της ενεργότητας του ενζύμου G6PD

Η ενεργότητα της G6PD μετρήθηκε χρησιμοποιώντας αντιδραστήρια τα οποία αγοράστηκαν από τη φαρμακευτική εταιρεία Sigma (SIGMA #525). Η ενεργότητα μετρήθηκε σε ολικό αίμα ενώ όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν εις διπλούν. Η διαδικασία είχε ως εξής:

- α) Προετοιμάζουμε το μείγμα της αντίδρασης χρησιμοποιώντας μονό φιαλίδιο χημικής ανάλυσης NO. 345-1
- 1) Προσθέτουμε 0.01mL αίματος κατευθείαν σε φιαλίδιο που περιέχει διάλυμα χημικής ανάλυσης G-6-PDH και αναμειγνύουμε έτσι ώστε να διασκορπίσουμε τα ερυθροκύτταρα. Αφήνουμε σε θερμοκρασία δωματίου (18-26°C) για 5-10 λεπτά.
- 2) Προσθέτουμε 2 mL διάλυμα υποστρώματος G-6-PDH κατευθείαν σε φιαλίδιο και αναμειγνύουμε προσεκτικά με ανατροπή αρκετές φορές.
- 3) Μεταφέρουμε το περιεχόμενο του φιαλιδίου σε κιουβέττα, ονομασμένη TEST.
- β) Τοποθετούμε την κιουβέττα σε σταθερή θερμοκρασία ή υδατόλουτρο και επωάζουμε για περίπου 5 λεπτά έτσι ώστε να επιτύχουμε θερμική ισορροπία.
- γ) Διαβάζουμε και καταγράφουμε την απορροφητικότητα (A) του TEST στα 340nm ενάντια σε νερό ή Potassium Dichromate Solution. Αυτό είναι INITIAL A (αρχικό A) (Αν χρησιμοποιούμε υδατόλουτρο ή επώαση, οι κιουβέττες επιστρέφονται σε αυτό).
- δ) Ακριβώς 5 λεπτά μετά, ξαναδιαβάζουμε και καταγράφουμε την απορροφητικότητα. Αυτό είναι FINAL A (τελικό A).

Υπολογισμοί:

Μεταβολή A ανά λεπτό = $\frac{\text{Τελικό A} - \text{Αρχικό A}}{5}$

$$\begin{aligned} \text{G-6-PDH (U/g Hb)} &= \Delta A \text{ per min} \times \frac{100 \times 3.01}{0.01 \times 6.22 \times \text{Hb(g/dL)}} \times \text{TCF} = \\ &= \Delta A \text{ per min} \times \underline{4839} \times \text{TCF Hb(g/dL)} \end{aligned}$$

Όπου:

100 = Παράγοντας για τη μετατροπή της δραστηριότητας σε 100mL

3.01 = Ολικός όγκος αντίδρασης (mL)

0.01 = Όγκος δείγματος (mL)

6.22 = Μιλλιμοριακή ικανότητα απορρόφησης του NADPH στα 340nm

Hb (g/dL) = Συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης καθοριζόμενη από κάθε συστατικό

TCF = Παράγοντας διόρθωσης θερμοκρασίας (1 στους 30°C)

Υπολογισμός αιματοκρίτη και αιμοσφαιρίνης

Αναλυτικότερα, για τις αναλύσεις αιματοκρίτη και αιμοσφαιρίνης, ολικό αίμα (3ml) τοποθετείτο σε φιαλίδιο το οποίο περιείχε αντιπηκτικό (K3 EDTA). Ο αιματοκρίτης και η αιμοσφαιρίνη μετρήθηκαν σε αυτόματο αναλυτή τύπου Sysmex K-1000 (TOA Electronics, Japan) με αντιδραστήρια της ίδιας εταιρείας.

Υπολογισμός αριθμού λευκών και ερυθρών αιμοσφαιρίων

Ο αριθμός των ερυθρών, του συνόλου των λευκών και των υποκατηγοριών των λευκών αιμοσφαιρίων μετρήθηκε σε αυτόματο αναλυτή τύπου Sysmex K-1000 (TOA Electronics, Japan).

Σχεδιασμός της έρευνας

Ανεξάρτητες μεταβλητές: Στη συγκεκριμένη έρευνα, όπως ήδη αναφέρθηκε, έλαβαν μέρος συνολικά 18 άτομα (16 άνδρες και 2 γυναίκες). Τα εννέα από αυτά είχαν φυσιολογικές τιμές συγκέντρωσης του ενζύμου G6PD ενώ τα υπόλοιπα είχαν μερική ή πλήρη έλλειψη του ενζύμου.

Εξαρτημένες μεταβλητές: Οι παράμετροι που αξιολογήθηκαν ήταν ο αριθμός των ερυθροκυττάρων, των υποκατηγοριών των λευκών αιμοσφαιρίων του αίματος, του αιματοκρίτη και της αιμοσφαιρίνης, πριν και μετά από μία αερόβια προπόνηση διάρκειας 45 λεπτών.

Στατιστική ανάλυση: Η στατιστική ανάλυση που χρησιμοποιήθηκε ήταν η ανάλυση διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες, εκ των οποίων ο ένας ήταν επαναλαμβανόμενος (Two – Way Repeated measures ANOVA). Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε στην τιμή $p < 0.05$.

Αποτελέσματα

Προσωπικά στοιχεία συμμετεχόντων

Στην εργασία αυτή έλαβαν μέρος 18 συνολικά άτομα τα οποία ήταν χωρισμένα σε δύο ομάδες των εννέα ατόμων. Ο μέσος όρος ηλικίας, το ύψος, το βάρος, το ποσοστό λίπους, η μέγιστη καρδιακή συχνότητα, η καρδιακή συχνότητα της άσκησης και το ποσοστό της καρδιακής συχνότητας άσκησης των συμμετεχόντων εμφανίζονται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1: Προσωπικά στοιχεία και στοιχεία άσκησης ($x \pm SD$) των συμμετεχόντων

Μεταβλητή	Έλλειψη	Φυσιολογικά
Ηλικία	29.1 \pm 9.1	29.0 \pm 6.0
Ύψος	175 \pm 8	175 \pm 9
Βάρος	75.9 \pm 16.4	73.8 \pm 29.3
% Λίπους	17.6 \pm 8.1	18.4 \pm 4.9
ΜΚΣ	190.8 \pm 9.0	191 \pm 6.0
% ΜΚΣ	77.3 \pm 4.2	78.6 \pm 2.7
VO _{2max}	44 ml/kg/min	44 ml/kg/min

Ενεργότητα ενζύμου G6PD

Τα αποτελέσματα των δειγμάτων έδειξαν πως η ομάδα με έλλειψη ενζύμου G6PD είχε σημαντικά μικρότερα επίπεδα G6PD συγκριτικά με την ομάδα των φυσιολογικών ατόμων (Πίνακας 2).

Πίνακας 2: Μέση τιμή ($\pm SD$) επιπέδων ενεργότητας G6PD (U/g Hb) των συμμετεχόντων

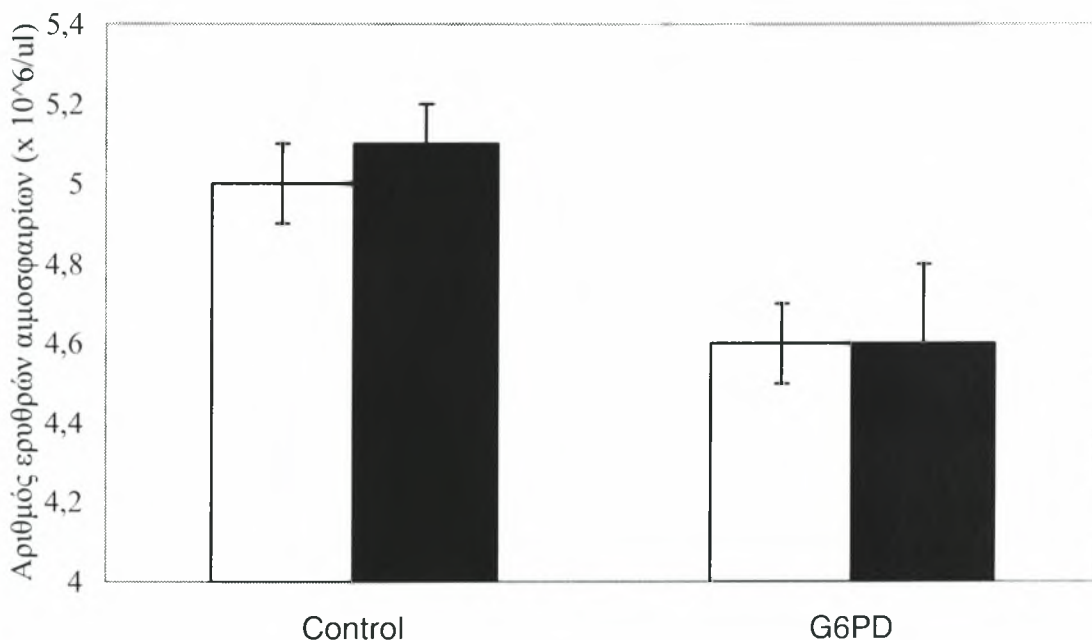
Μεταβλητή	Έλλειψη	Φυσιολογικά
Ενεργότητα G6PD	0.41 \pm 0.16 U/g	8.8 \pm 0.57 U/g

Για την διερεύνηση διαφορών στη μεταβολή του αριθμού των ερυθρών και των λευκών αιμοσφαιρίων, ανάμεσα στις δύο ομάδες, αυτή με φυσιολογικές τιμές συγκέντρωσης του ενζύμου G6PD (Control) και σε αυτή με έλλειψη (G6PD), πριν και μετά την υπομέγιστη αερόβια άσκηση, πραγματοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης ως προς δύο παράγοντες εκ των οποίων ο ένας ήταν επαναλαμβανόμενος (Two – Way Repeated measures ANOVA).

Αριθμός ερυθρών αιμοσφαιρίων

Η ανάλυση για την αλληλεπίδραση ομάδας και χρονικής στιγμής για τον αριθμό των ερυθρών αιμοσφαιρίων, έδειξε μη στατιστικά σημαντικές διαφορές στις μεταβολές που σημειώθηκαν πριν και μετά την άσκηση, $F_{(1,16)} = 0.9$, $p = .35$. Οι μεταβολές παρουσιάζονται στο σχήμα 4.

Σχήμα 4: Μεταβολές του αριθμού των ερυθρών αιμοσφαιρίων για τις δύο ομάδες, πριν (λευκό) και μετά (μαύρο) την άσκηση.

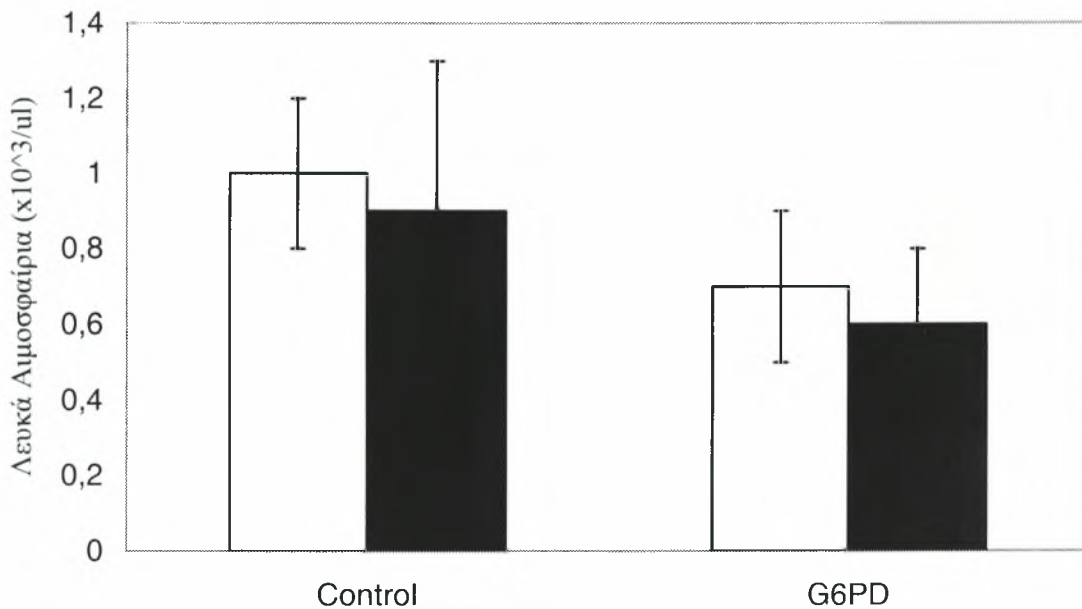




Αριθμός συνόλου λευκών αιμοσφαιρίων

Η ανάλυση για την αλληλεπίδραση ομάδας και χρονικής στιγμής για τον αριθμό των ερυθρών αιμοσφαιρίων, έδειξε μη στατιστικά σημαντικές διαφορές στις μεταβολές που σημειώθηκαν πριν και μετά την άσκηση, $F_{(1,16)} = 0.6$, $p = .81$. Οι μεταβολές παρουσιάζονται στο σχήμα 5.

Σχήμα 5: Μεταβολές του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων για τις δύο ομάδες, πριν (λευκό) και μετά (μαύρο) την άσκηση.

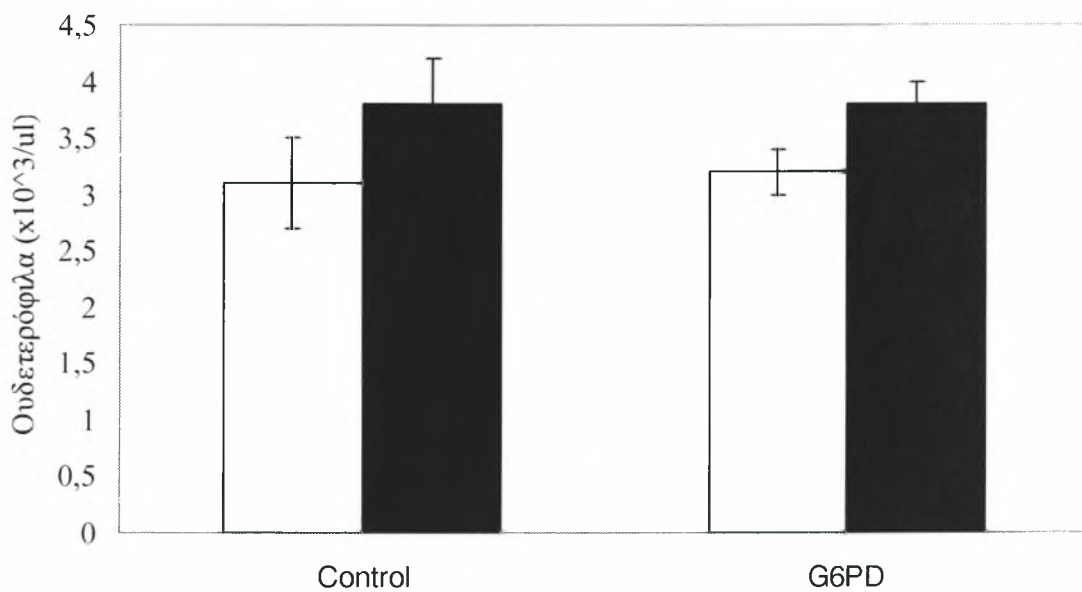


Αριθμός υποκατηγοριών λευκών αιμοσφαιρίων

Αριθμός ουδετερόφιλων

Η ανάλυση για την αλληλεπίδραση ομάδας και χρονικής στιγμής για τον αριθμό των ουδετερόφιλων, έδειξε μη στατιστικά σημαντικές διαφορές στις μεταβολές που σημειώθηκαν πριν και μετά την άσκηση, $F_{(1,16)} = .03$, $p = .87$. Οι μεταβολές παρουσιάζονται στο σχήμα 6.

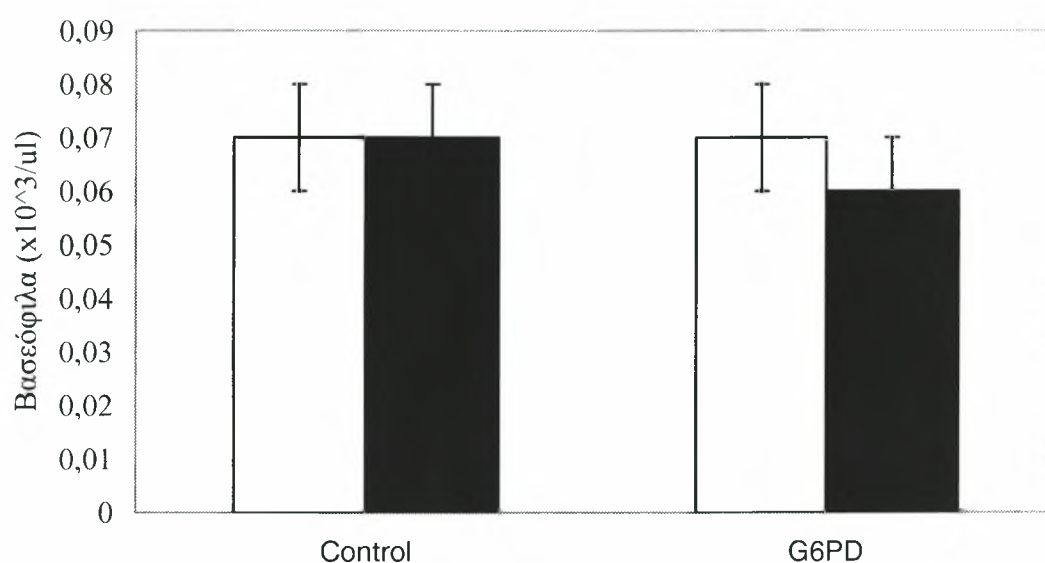
Σχήμα 6: Μεταβολές του αριθμού των ουδετερόφιλων για τις δύο ομάδες, πριν (λευκό) και μετά (μαύρο) την άσκηση.



Αριθμός Βασεόφιλων

Η ανάλυση για την αλληλεπίδραση ομάδας και χρονικής στιγμής για τον αριθμό των βασεόφιλων, έδειξε μη στατιστικά σημαντικές διαφορές στις μεταβολές που σημειώθηκαν πριν και μετά την άσκηση, $F_{(1,16)} = .26$, $p = .62$. Οι μεταβολές παρουσιάζονται στο σχήμα 7.

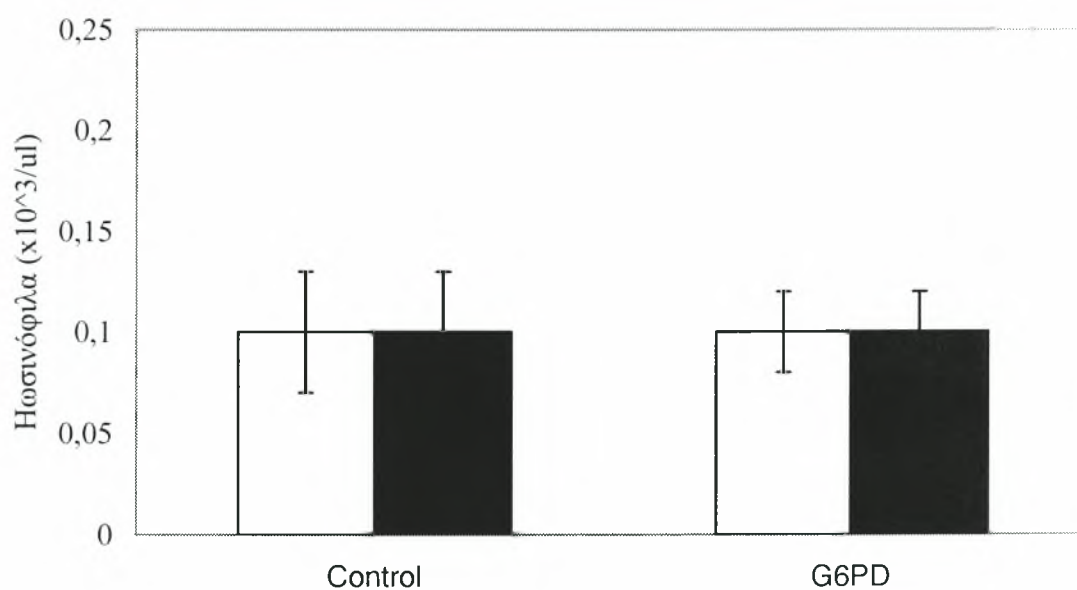
Σχήμα 7: Μεταβολές του αριθμού των βασεόφιλων για τις δύο ομάδες, πριν (λευκό) και μετά (μαύρο) την άσκηση.



Αριθμός Ηωσινόφιλων

Η ανάλυση για την αλληλεπίδραση ομάδας και χρονικής στιγμής για τον αριθμό των ηωσινόφιλων, έδειξε μη στατιστικά σημαντικές διαφορές στις μεταβολές που σημειώθηκαν πριν και μετά την άσκηση, $F_{(1,16)} = .38$, $p = .55$. Οι μεταβολές παρουσιάζονται στο σχήμα 8.

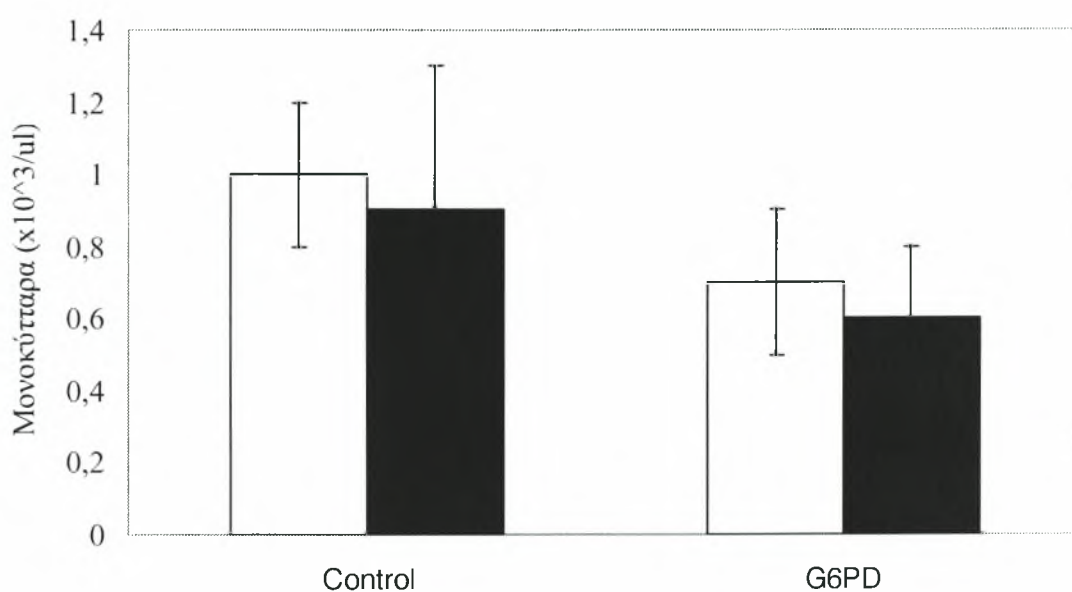
Σχήμα 8: Μεταβολές του αριθμού των ηωσινόφιλων για τις δύο ομάδες, πριν (λευκό) και μετά (μαύρο) την άσκηση.



Αριθμός Μονοκυττάρων

Η ανάλυση για την αλληλεπίδραση ομάδας και χρονικής στιγμής για τον αριθμό των μονοκυττάρων, έδειξε μη στατιστικά σημαντικές διαφορές στις μεταβολές που σημειώθηκαν πριν και μετά την άσκηση, $F_{(1,16)} = .05$, $p = .82$. Οι μεταβολές παρουσιάζονται στο σχήμα 9.

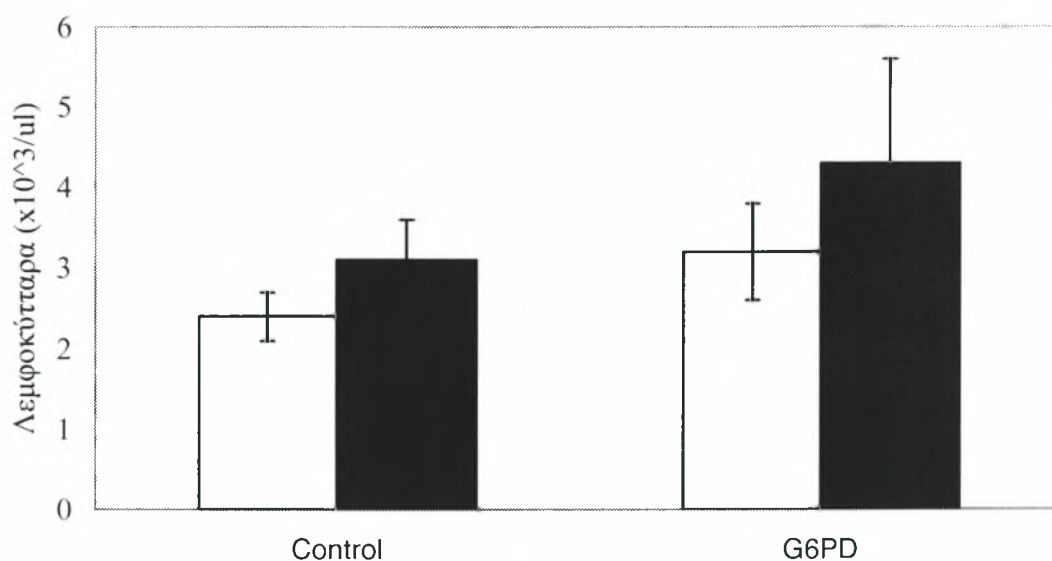
Σχήμα 9: Μεταβολές του αριθμού των μονοκυττάρων για τις δύο ομάδες, πριν (λευκό) και μετά (μαύρο) την άσκηση.



Αριθμός Λεμφοκυττάρων

Η ανάλυση για την αλληλεπίδραση ομάδας και χρονικής στιγμής για τον αριθμό των λεμφοκυττάρων, έδειξε μη στατιστικά σημαντικές διαφορές στις μεταβολές που σημειώθηκαν πριν και μετά την άσκηση, $F_{(1,16)} = .16$, $p = .69$. Οι μεταβολές παρουσιάζονται στο σχήμα 10.

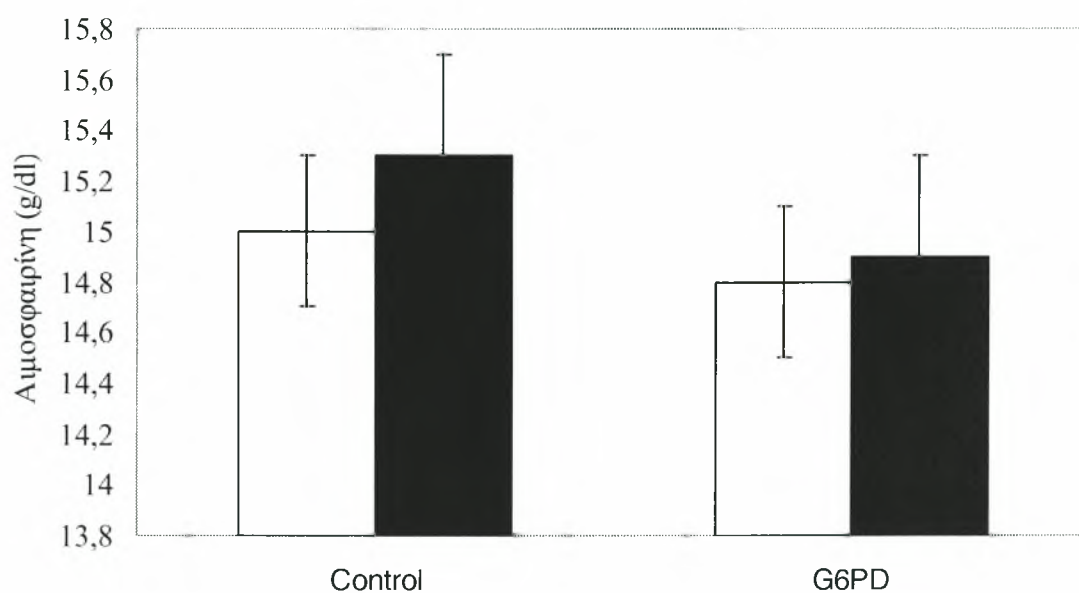
Σχήμα 10: Μεταβολές του αριθμού των λεμφοκυττάρων για τις δύο ομάδες, πριν (λευκό) και μετά (μαύρο) την άσκηση.



Συγκέντρωση Αιμοσφαιρίνης

Η ανάλυση για την αλληλεπίδραση ομάδας και χρονικής στιγμής για την συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης, έδειξε μη στατιστικά σημαντικές διαφορές στις μεταβολές που σημειώθηκαν πριν και μετά την άσκηση, $F_{(1,16)} = .1, p = .33$. Οι μεταβολές παρουσιάζονται στο σχήμα 11.

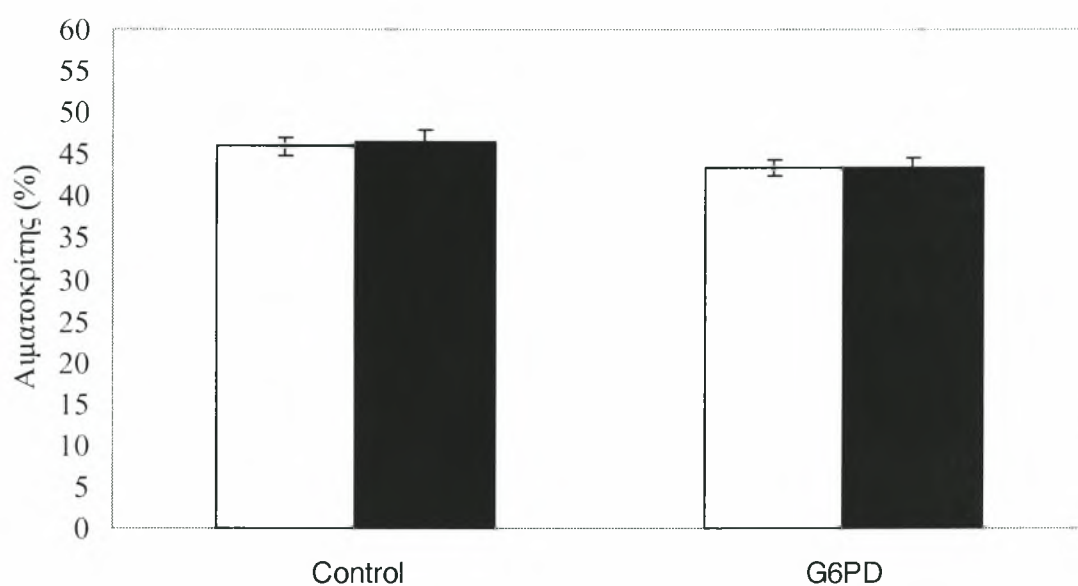
Σχήμα 11: Μεταβολές στη συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης για τις δύο ομάδες, πριν (λευκό) και μετά (μαύρο) την άσκηση.



Συγκέντρωση αιματοκρίτη

Η ανάλυση για την αλληλεπίδραση ομάδας και χρονικής στιγμής για την συγκέντρωση του αιματοκρίτη, έδειξε μη στατιστικά σημαντικές διαφορές στις μεταβολές που σημειώθηκαν πριν και μετά την άσκηση, $F_{(1,16)} = .84$, $p = .37$. Οι μεταβολές παρουσιάζονται στο σχήμα 12.

Σχήμα 12: Μεταβολές στη συγκέντρωση του αιματοκρίτη για τις δύο ομάδες, πριν (λευκό) και μετά (μαύρο) την άσκηση.



Συζήτηση - Συμπεράσματα

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να εξετάσει την επίδραση της οξείας αερόβιας άσκησης στη συγκέντρωση των ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων του αίματος σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου αφυδρογονάση της 6 – φωσφορικής γλυκόζης (G6PD). Όπως φαίνεται και από τον μέσο όρο των τιμών του ενζύμου τα άτομα τα οποία είχαν έλλειψη παρουσίασαν μία μέση τιμή ενζύμου που ήταν ίση με 0.41 ± 0.16 U/g Hb ενώ η ομάδα των φυσιολογικών ατόμων είχε μία μέση τιμή που ήταν ίση με 8.8 ± 0.57 U/g Hb. Οι τιμές αυτές πιστοποιούν τον ορθό διαχωρισμό των δύο ομάδων (Πίνακας 2).

Υπάρχουν αναφορές στη βιβλιογραφία που υποδεικνύουν πως η αερόβια άσκηση για αρκετό χρονικό διάστημα μπορεί να επιφέρει μεταβολές στα επίπεδα του όγκου του πλάσματος (Μούγιος, 2002). Οι μεταβολές είναι δυνατό να επηρεάσουν τις τιμές ουσιών που μετρούνται στο αίμα μετά την επίδραση οξείας αερόβιας άσκησης. Στην περίπτωση που συμβαίνει κάτι τέτοιο, πρέπει να χρησιμοποιούνται συγκεκριμένες εξισώσεις για τον υπολογισμό των ουσιών αυτών, οι οποίες περιλαμβάνουν τις τιμές του αιματοκρίτη και της αιμοσφαιρίνης την αντίστοιχη χρονική στιγμή. Στη συγκεκριμένη εργασία, όπως φαίνεται από τα Γραφήματα 7 και 8, οι μεταβολές στη συγκέντρωση του αιματοκρίτη και της αιμοσφαιρίνης δεν ήταν στατιστικά σημαντικές, πριν και μετά την άσκηση, για καμιά από τις δύο ομάδες. Επομένως, δεν είναι απαραίτητη η χρήση των εξισώσεων αυτών.

Ο αριθμός των ερυθρών αιμοσφαιρίων δεν μεταβλήθηκε σημαντικά αμέσως μετά την άσκηση. Δεν υπάρχουν ερευνητικά δεδομένα που να εξετάζουν το συνολικό αριθμό των ερυθροκυττάρων στο αίμα, σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD μετά την επίδραση άσκησης. Οι περισσότεροι ερευνητές που έχουν ασχοληθεί με τα άτομα που πάσχουν από έλλειψη του συγκεκριμένου ενζύμου, μελετούν συνήθως το βαθμό αιμόλυσης που υφίστανται σε στρεσογόνες καταστάσεις, όπως είναι η άσκηση (Scriver, 1995; Stryer, 1997). Η άσκηση, όπως ήδη αναφέρθηκε προηγουμένα, αποτελεί παράγοντα δημιουργίας οξειδωτικού στρες που έχει δυσμενείς συνέπειες για το ερυθροκύτταρο. Κάτι τέτοιο όμως δεν παρατηρήθηκε στη συγκεκριμένη μελέτη.

Σχεδόν αμετάβλητος παρέμεινε και ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων μετά την άσκηση και για τις δύο ομάδες, τόσο στο σύνολό τους όσο και για κάθε υποκατηγορία ξεχωριστά. Όπως και στην περίπτωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων, δεν υπάρχουν μελέτες οι οποίες να δίνουν πληροφορίες για την επίδραση της άσκησης στη συγκέντρωση των λευκοκυττάρων στο αίμα. Ο μικρός αριθμός ερευνητικών δεδομένων που υπάρχει σχετικά με τη λειτουργία και τη συμπεριφορά των λευκών αιμοσφαιρίων, σε άτομα με έλλειψη G6PD, περιορίζεται στην ανοχή των λευκών στο οξειδωτικό στρες και τη διαφορά που παρουσιάζεται στην ανοσολογική τους ικανότητα. Η πλειοψηφία αυτών, υποστηρίζει ότι η παραγωγή ελευθέρων ριζών, καθώς και η λήψη συγκεκριμένων φαρμάκων, οδηγεί σε απόπτωση των ουδετερόφιλων (Efferth et al., 1995; Mesbah-Namin et al., 2004) και των μονοπύρηνων (Efferth et al., 2001). Η σταθερότητα του αριθμού των κυττάρων στη συγκεκριμένη εργασία, πιστοποιεί ότι η οξεία αερόβια άσκηση δεν είχε παρόμοιες επιπτώσεις.

Το κυριότερο συμπέρασμα που εξάγεται από τη συγκεκριμένη ερευνητική εργασία και με βάση τα παραπάνω, είναι πως οξεία αερόβια άσκηση μέτριας έντασης δεν συνεπάγεται οξειδωτικό στρες, ή τουλάχιστον δεν επιφέρει τόσο μεγάλη παραγωγή ελευθέρων ριζών, ικανή να μεταβάλλει τον αριθμό των έμμορφων συστατικών του αίματος. Παλαιότερες έρευνες αναφέρουν πως η άσκηση αυξάνει τα επίπεδα δεικτών που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες (Alessio, 1993; Alessio et al., 1988; Goldfarb et al., 1993). Σε αυτές όμως τις εργασίες η ένταση της άσκησης ήταν ιδιαίτερα υψηλή και μάλιστα αρκετά υψηλότερη από το 50 - 60% της VO₂max, που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία. Επομένως, η ένταση αυτή, δεν επιτείνει την παραγωγή οξειδωτικών παραγόντων σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD, αλλά ούτε και σε φυσιολογικά άτομα. Το γεγονός αυτό συμφωνεί και με τα αποτελέσματα των Chung, Goldfarb, Jamurtas, Hegde & Lee (1998), οι οποίοι έχουν βρει πως όταν η ένταση της άσκησης δεν είναι αρκετά υψηλή, η παραγωγή δεικτών οξειδωτικού στρες μπορεί να μην είναι σημαντικά αυξημένη.

Παράλληλα, τα άτομα που πήραν μέρος στην εργασία, είχαν υψηλή αερόβια ικανότητα (πίνακας 1) (American College of Sports Medicine, 2000). Είναι γνωστό πως τα άτομα εκείνα, τα οποία χαρακτηρίζονται από υψηλό αθλητικό προφίλ, παρουσιάζουν μεγαλύτερη ανοχή στις μεταβολές της συγκέντρωσης των αντιοξειδωτικών ενζύμων του πλάσματος και γενικότερα στις βλαβερές επιδράσεις του οξειδωτικού στρες (Ji, 1999; Oh-ishi et al., 2000). Σε αυτό το συμπέρασμα κατέληξαν



επίσης οι Jamurtas, Fatouros, Alexiou, Chung & Goldfarb (2004), όπου σε μια έρευνας ατομικής περίπτωσης, δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές στους δείκτες οξειδωτικού στρες, μετά από 30 λεπτά άσκησης στο 70-75% VO₂max. Το αποτέλεσμα αυτό πιθανά να οφείλεται στο γεγονός ότι ο συμμετέχων είχε αρκετά υψηλή αερόβια ικανότητα. Συνεπώς, η φυσική κατάσταση του δείγματος μπορεί να ήταν ένας από τους παράγοντες που συνετέλεσαν στο να μην υπάρξουν μεταβολές στον αριθμό των έμμορφων συστατικών του αίματος.

Επιπρόσθετα, όπως φαίνεται από τον πίνακα 1, τα άτομα που συμμετείχαν στην έρευνα ήταν αρκετά νεαρά, καθώς η μέση ηλικία αυτών ήταν 29 έτη. Το γεγονός μπορεί να δικαιολογεί την σταθερότητα του αριθμού των ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων που προέκυψε, αφού είναι γνωστό πως σε νεαρά άτομα, οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί είναι περισσότερο αποτελεσματικοί έναντι των παραγόμενων ελευθέρων ριζών (Tian, Cai & Wei, 1998). Υπάρχουν πρόσφατα ερευνητικά δεδομένα που έχουν δείξει ότι η ικανότητα αντιμετώπισης των ελευθέρων ριζών από τους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς του οργανισμού, μειώνεται με το πέρασμα του χρόνου και είναι ιδιαίτερα μειωμένη στην προχωρημένη ηλικία (Goraka, 2004; Giorgadze et al., 2005). Η προοδευτική αυτή αποδυνάμωση των αντιοξειδωτικών παραγόντων ίσως είναι αποτέλεσμα της συσσώρευσης των οξειδωμένων πρωτεϊνών που παρατηρείται με την αύξηση της ηλικίας (Giorgadze et al., 2005). Επομένως, το γεγονός ότι δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές στον αριθμό των ερυθροκυττάρων και λευκοκυττάρων, ίσως είναι αποτέλεσμα επιτυχούς αντιμετώπισης των, έστω και λιγοστών ελευθέρων ριζών, από τους μηχανισμούς που διαθέτει ο οργανισμός.

Συμπερασματικά, η οξεία αερόβια άσκηση μέτριας έντασης, δεν συνεπάγεται μεταβολές στον αριθμό των λευκών και ερυθρών αιμοσφαιρίων του πλάσματος, σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD. Τα άτομα λοιπόν αυτά μπορούν να συμμετέχουν σε προγράμματα αερόβιας άσκησης, μέτριας έντασης και διάρκειας, χωρίς να κινδυνεύουν από τις βλαβερές επιδράσεις του οξειδωτικού στρες. Αντίθετα, η άσκηση αυτής της μορφής, που είναι αποδεδειγμένο ότι βελτιώνει την φυσική κατάσταση του ατόμου (American College of Sports Medicine, 2000), μπορεί να βοηθήσει στη διατήρηση της καλής υγείας των ατόμων αυτών και να βελτιώσει το αθλητικό τους προφίλ.

Μελλοντικές Έρευνες

Η συγκεκριμένη μελέτη αποτελεί ένα ισχυρό ερέθισμα για την υλοποίηση μελλοντικών ερευνών, οι οποίες θα δώσουν περισσότερες χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με την άσκηση και την έλλειψη του ενζύμου G6PD. Συγκεκριμένα, θα μπορούσε να μελετηθεί:

- α) Η επίδραση της άσκησης με αντιστάσεις στο οξειδωτικό στρες και στη μεταβολή του αριθμού των λευκών και ερυθρών αιμοσφαιρίων σε άτομα με έλλειψη του G6PD.
- β) Η επίδραση προπονητικών προγραμμάτων διαφορετικής έντασης και διάρκειας στον αριθμό των έμμορφων συστατικών του αίματος.
- γ) Η επίδραση ποικίλων προγραμμάτων άσκησης διαφορετικής έντασης και διάρκειας στις μεταβολές των λευκοκυττάρων και ερυθροκυττάρων του αίματος, σε άτομα που δεν γυμνάζονται.
- δ) Η επίδραση ποικίλων προγραμμάτων άσκησης διαφορετικής έντασης και διάρκειας στις μεταβολές των λευκοκυττάρων και ερυθροκυττάρων του αίματος, σε άτομα διαφορετικών ηλικιών.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α

Συναίνεση Δοκιμαζόμενου για συμμετοχή σε ερευνητική εργασία

Όνοματεπώνυμο: _____

Τίτλος Εργασίας: Η επίδραση της οξείας αερόβιας άσκησης στη συγκέντρωση των ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων του αίματος σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου αφυδρογονάση της 6-φωσφορικής γλυκόζης (G-6-PD)

Αναγνωρίζω ότι ο σκοπός αυτής της εργασίας είναι να εξεταστεί η επίδραση που έχει η άσκηση και η συμπληρωματική λήψη βιταμίνης Ε στα επίπεδα ελευθέρων ριζών σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου αφυδρογονάση της 6-φωσφορικής γλυκόζης (G-6-PD). Ενώ τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας μπορεί να μην επηρεάσουν άμεσα εμένα, μπορεί να βοηθήσουν στην δημιουργία πρωτογενούς γνώσεως.

Κατά τη διάρκεια αυτής της εργασίας θα χρειαστεί να παρουσιαστώ στο Κέντρο Έρευνας και Αξιολόγησης της Φυσικής Απόδοσης του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας συνολικά τρεις φορές. Την πρώτη φορά θα πραγματοποιηθεί μία αξιολόγηση των επιπέδων του ενζύμου G-6-PD. Στη συνέχεια θα χρειαστεί να παρουσιαστώ στο εργαστήριο για την πραγματοποίηση μίας προπόνησης της οποίας η ένταση θα αντιστοιχεί στο 70-75% της Μέγιστης Καρδιακής Συχνότητας για 45 λεπτά. Πριν και μετά από την πραγματοποίηση της προπόνησης θα πραγματοποιηθεί αιμοληψία (10 mL αίματος) από μία φλέβα στην περιοχή του αγκώνα. Αναγνωρίζω ότι η είσοδος και η απομάκρυνση της βελόνας μπορεί να είναι λίγο επώδυνη αλλά ο πόνος θα απομακρυνθεί πολύ σύντομα. Η πιθανή δημιουργία ενός μικρού μώλωπα θα αποφευχθεί με την άμεση πίεση που θα ασκηθεί στην περιοχή αμέσως μετά την απομάκρυνση της βελόνας. Η πιθανότητα της δημιουργίας φλεγμονής θα μειωθεί στο έπακρο με τη χρησιμοποίηση αποστειρωμένων βελονών.

Επιβεβαιώνω πως η συμμετοχή μου στην εργασία είναι απόλυτα εθελοντική και δεν ασκήθηκε καμία πίεση για τη συνεργασία μου σε αυτή. Επίσης γνωρίζω ότι μπορώ να αποχωρήσω οποιαδήποτε στιγμή το επιθυμώ από την εργασία. Επιπρόσθετα, κατανοώ πως οι πληροφορίες που θα συλλεχθούν από τη συγκεκριμένη εργασία θα είναι απόλυτα

εμπιστευτικές και πως η περίληψη των αποτελεσμάτων της εργασίας δύναται να μου δοθεί εάν το ζητήσω.

Επιβεβαιώνω πως η μεθοδολογία της εργασίας έγινε γνωστή σε μένα, οι ερωτήσεις που είχα γύρω από τη μεθοδολογία που θα ακολουθηθεί απαντήθηκαν ικανοποιητικά και επιθυμώ να συμμετάσχω εθελοντικά στην εργασία.

Υπογραφή συμμετέχοντα

Τηλέφωνο

Μάρτυρας Υπογραφής

Ημερομηνία

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β

ΦΥΛΛΟ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Όνοματεπώνυμο	
ID	
Ημερομηνία	
Ημερ. Γέννησης	
Βάρος	
Ύψος	
% λίπους	
ΜΚΣ	
70-75% ΜΚΣ	

Λεπτό	5	10	15	20	25	30	35	40	45
ΚΣ									
VO ₂									
V _e									
RQ									

1 PRE

1 = πριν τη λήψη συμπληρώματος 2 = μετά τη λήψη συμπληρώματος

■ = αριθμός συμμετέχοντα

PRE = πριν την άσκηση των 45 λεπτών

Βιβλιογραφία

- Alessio, H.M. (1993). Exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc*, 25(2), 218-24.
- Alessio, H.M., Goldfarb, A.H. & Cutler, R.G. (1988). MDA content increases in fast- and slow-twitch skeletal muscle with intensity of exercise in a rat. *Am J Physiol*, 255(6 Pt 1), C874-7.
- American College of Sports Medicine (2000). *ACSM's Guidelines for Exercise testing and Prescription*. Franklin BA(eds), Lippincott Williams & Wilkins (Philadelphia).
- Ardati, K.O., Bajakian, K.M. & Tabbara K.S. (1997). Effect of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency on neutrophil function. *Acta Haematol*, 97, 211-5.
- Beutler, E. (1996). G6PD: Population genetics and clinical manifestations. *Blood Rev*, 10, 45-52.
- Beutler, E. (1991). Glucose -6-phosphate dehydrogenase deficiency. *New England Journal of Medicine*, 324(3), 169-174.
- Beutler, E., Kuhl, W. & Vives-Connors, J.L. (1989). Molecular eterogeneity of glucose-6-phosphate dehydrogenase A-. *Blood*, 74, 2550-2555.
- Bresolin, N., Bet, L., Moggio, M., Meola, G., Fortunato, F., Comi, G., Adobbati, L., Geremia, L., Pittalis, S. & Scarlato, G. (1989). Muscle glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *J Neurol*, 236, 193-198.
- Britigan, B.E., Serody, J.S., Hayek, M.B., Charniga, L.M. & Cohen, M.S. (1991). Uptake of lactoferrin by mononuclear phagocytes inhibits their ability to form hydroxyl radical and protects them from membrane autoperoxidation. *J Immunol*, 147, 4271-4277.
- Brunsgard, H. & Pedersen, B.K. (2000). Special features for the Olympics: effects of exercise on the immune system: effects of exercise on the immune system in the elderly population. *Immunol Cell Biol*, 78 (5), 523 -31.
- Burton, G.W. & Ingold, D.U. (1989). Vitamin E as an in vitro and in vivo antioxidant. *Ann N. Y. Acad Sci*, 570, 7-22.
- Canfield, L.M., Forage, J.W. & Valenzuela, J.G. (1992). Carotenoids as cellular antioxidants. *Proc Soc Exp Biol Med*, 200, 260-265.
- Carson, P.E. (1956). Enzymatic deficiency in primaquine-sensitive erythrocytes. *Science*, 124, 484.
- Cecil, K. (1992). *Textbook of medicine*. Philadelphia: Saunders.
- Chung, S.C., Goldfarb, A.H., Jamurtas, A.Z., Hegde, S.S. & Lee, J. (1999). Effect of exercise during the follicular and luteal phases on indices of oxidative stress in healthy women. *Med Sci Sports Exerc*, 31(3), 409-13.
- Cooper, C.E., Vollaard, N.B.J., Choueiri, T. & Wilson, M.T. (2002). Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem Soc Trans*, 30, 280-285.
- DeLange, R.J. & Glazer, A.N. (1989). Phycoerythrin in fluorescence-based assay for peroxy radicals: a screen for biologically relevant protective agents. *Anal Biochem*, 177, 300-306.
- Diplock, A. (1998). Lifestyles: Nutrition and physical activity. In Gurr M., *Antioxidant nutrients* (pp. 20-26). Brussels: ILSI Europe.

- Efferth, T., Fabry, U. & Osieka, R. (2001). DNA damage and apoptosis in mononuclear cells from glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient patients (G6PD Aachen variant) after UV irradiation. *J Leuko Biol*, 69(3), 340-2.
- Efferth, T., Fabry, U., Glatte, P. & Osieka, R. (1995). Increased induction of apoptosis in mononuclear cells of a glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient patient. *J Mol Med*, 73, 47-9.
- Giorgadze, S., Rukhandze, R. & Sanikindze, T. (2005). The ESR study of redox state of hepatocytes during aging in white rats. *Georgian Med News*, 1, 62-4.
- Goldfarb, A.H. (1993). Antioxidants: Role of supplementation to prevent exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc*, 25(2),232-6.
- Goraga, A. (2004). Assessment of total antioxidant capacity in human plasma. *Folia Med (Plovdiv)*, 46(4), 16-21.
- Gutteridge, J.M. (1991). Plasma ascorbate levels and inhibition of the antioxidant activity of caeruloplasmin. *Clin Sci*, 81, 413-417.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J.M. (1990). The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys*, 280, 1-8.
- Harper's. (1984) *Βιοχημεία*, Αθήνα: Επιστημονικές εκδόσεις Παριζιάνος.
- Jamurtas, A.Z., Fatouros, I.G., Alexiou, V.S., Chung, S.C. & Goldfarb, A.H. (2004). Exercise-induced oxidative damage in a person with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *J Hum Mov Stud*, 47,393-403.
- Ji, L.L. (1999). Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proc Soc Exp Biol Med*, 222, 283-292.
- Karlsson, L. (1997). *Antioxidants and exercise*.
- Koyama, K., Kaya, M., Ishigaki, T., Tsujita, J., Hori, S., Seino, T. & Kasugai, A. (1999). Role of xanthine oxidase in delayed lipid peroxidation in rat liver induced by acute exhausting exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 80, 28-33.
- Laaksonen, D.E., Atalay, M., Niskanen, L., Uusitupa, M., Hanninen, O. & Sen, C.K. (1999). Blood glutathione homeostasis as a determinant of resting and exercise-induced oxidative stress in young men. *Redox Rep*, 4(1-2), 53-59.
- Liese, A.M., Siddigi, M.Q., Siegel, J.H., Deitch, E.A. & Spolarics Z. (2002). Attenuated monocyte IL-10 production in glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient trauma patients. *Shock*, 18, 18-23.
- Linder, M. (1991). *Nutritional Biochemistry and Metabolism*. New York: Elsevier.
- Mehta, A.B. (1994). Glucose -6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Postgraduate Medical Journal*, 70(830), 871-877.
- Mesbah-Namin, S.A., Nemati, A. & Tiraihi T. (2004). Evaluation of DNA damage in leukocytes of G6PD-deficient Iranians newborns (Mediterranean variant) using comet assay. *Mutation Research*, 568,179-185.
- Murray, R.K. (1993). Red & white blood cells. In Norwalk, CT: Appleton & Lange, *Harper's Biochemistry*, (pp. 688-700).
- Ninfali, P., Baronciani, I., Ruzzo, A., Fortini, C., Amadori, E., Dall'ara, G., Magnani, M. & Beutler, E. (1993). Molecular analysis of G6PD variants in northern Italy: a study on the population from the Ferrara district. *Hum Genet*, 92, 139-42.
- Ninfali, P. & Bresolin, N. (1995). Muscle glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency and oxidant stress during physical exercise. *Cell Biochem Funct*, 13, 297-298.

- Ohga, S., Higashi, E., Nomura, A., Matsuzaki, A., Hirono, A., Miwa, S., Fujii, H. & Ueda, K. (1995). Haptoglobin therapy for acute favism: a Japanese boy with glucose-6-phosphate dehydrogenase Guadalajara. *Br J Haematol*, 89(2), 421-23.
- Oh-ishi, S., Heinecke, J.W., Ookawara, T., Miyazaki, H., Haga, S., Radák, Z., Kizaki, T. & Ohno, H. (2000). Role of lipid and lipoprotein oxidation. In: Radák, Z., *Free radicals in exercise and aging*. Champaign: Human Kinetics.
- Packer, L. (1997). Oxidants, antioxidant nutrients and the athlete. *J Sports Sci*, 15, 353-63.
- Parke, D.V. & Sapota, A. (1996). Chemical toxicity and reactive oxygen species. *Int J Occup Med Environ Health*, 9, 331-340.
- Poulsen, H.E., Welmann, A. & Loft, S. (1999). Methods to detect DNA damage by free radicals: relation to exercise. *Proc Nutr Soc*, 58 (4), 1007 –14.
- Radak, Z. (2000). *Free Radicals in exercise and aging*. Human Kinetics.
- Rahmann, I. & MacNee, W. (2000). Oxidative stress and regulation of glutathione in lung inflammation. *Eur Respir J*, 16, 534-554.
- Rodriguez-Aguilera, J.C., Lopez-Lluch, G., Santos-Ocana, C., Villalba, J.M., Gomez-Diaz, C. & Navas, P. (2000). Plasma membrane redox system protects cell against oxidative stress. *Redox Rep*, 5, 148-150.
- Sastre, J., Asensi, M., Gasgo, E., Pallardo, F., Ferrero, J., Furukawa, T. & Vina, J. (1992). Exhaustive physical exercise causes oxidation of glutathione status in blood: prevention by antioxidant administration. *Am J Physiol*, 263, R992-R995
- Scriver, C.R. (1995). The metabolic and molecular bases of inherited disease. In McGraw-Hill (7th ed), *Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency* (pp. 3367-98).
- Schroeder, S.L., Tierney, S., Mc Phee, M., Papadakis, & Krupp, M. (1993). *Διαγνωστική και θεραπευτική, Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισσιανός*
- Sen, C.K. (1999). Glutathione homeostasis in response to exercise training and nutritional supplements. *Mol Cell Biochem*, 196, 31-42.
- Senozan, N.M. & Thielman, C.A. (1991). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency – an inherited element that affects 100 million people. *Journal of Chemical Education*, 68(1), 7-10.
- Spletstoesser, W.D. & Schuff-Werner, P. (2002). Oxidative stress in phagocytes-“The enemy within”. *Microscopy research and technique*, 57, 441-455.
- Spolarics, Z., Siddigi, M., Siegel, J.H., Garcia, Z.C., Stein, D.S., Ong, H., Livingston, D.H., Denny, T. & Deitch, E.A. (2001). Increased incidence of sepsis and altered monocyte functions in severely injured type A- glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient African American trauma patients. *Crit Care Med*, 29, 728-736.
- Stocker, R., Yamamoto, Y., McDonagh, A.F., Glazer, A.N. & Ames B.N. (1987). Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science*, 235, 1043-1046.
- Stryer, L. (1997). *Βιοχημεία*. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης.
- Tian, L., Cai, Q. & Wei, H. (1998). Alterations of antioxidant enzymes and oxidative damage to macromolecules in different organs of rats during aging. *Free Radical Biology and Medicine*, 24(9), 1477-1484.
- Tsai, K.J., Hung, I.J., Chow, C.K., Stern, A., Chao, S. S. & Chiu, D. T. (1998). Impaired production of nitric oxide, superoxide and hydrogen peroxide in

- glucose 6-phosphate-dehydrogenase-deficient granulocytes. *FEBS Letters*, 436, 411-414.
- Urso, M.L. & Clarkson, P.M (2003). Oxidative stress, exercise and antioxidant supplementation. *Toxicology*, 189, 41-54.
- Wasil, M., Halliwell, B., Hutchison, D.C. & Baum H. (1987). The antioxidant action of human extracellular fluids. Effect of human serum and its protein components on the inactivation of alpha 1-antiproteinase by hypochlorous acid and by hydrogen peroxide. *Biochem J*, 243, 219-223.
- Wolach, B., Ashkenazi, M., Grossmann, R., Gavrieli, R., Friedman, Z., Bashan, N. & Roos, D. (2004). Diurnal Fluctuation of Leukocyte G6PD activity. A possible explanation for the normal neutrophil bactericidal activity and the low incidence of pyogenic infections in patients with severe G6PD deficiency in Israel. *Pediatr Res*, 55, 807-813.
- Yahya, H.I. & Alallawi, N.A.S. (1993). Acute hemolytic episodes and fava bean consumption in G6PD deficient Iraqis. *Indian Journal of Medical Research section B- Biochemical Research Other Than Infectious Diseases*, 98, 290-292.
- Yoshida, A. & Beutler, E. (1986). *Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase*. Academic Press.
- Αποστολάκης, Μ.Ι. (1993). Στοιχεία Φυσιολογίας του Ανθρώπου.
- Ζερφυρίδης, Κ.Γ. (1998). *Διατροφή του Ανθρώπου*, Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Γιαχούδη – Γιαπούλη
- Ηλιόπουλος, Γ. (1999). Φυσιολογία και φυσιοπαθολογία του αίματος και των αιμοποιητικών οργάνων. Ιατρικές εκδόσεις Πασχαλίδης.
- Μούγιος, Β. (1999). *Πρακτικά επιμορφωτικού σεμιναρίου με θέμα διατροφή και άθληση*.
- Παπαδημητρίου, Μ. (1998). *Εσωτερική Παθολογία*, Univercity studio Press.
- Τρακατέλλης, Α. (1992). *Βιοχημεία*. Εκδόσεις Κυριακίδη
- Φερτάκης, Α. (1992). *Βιβλίο Αιματολογίας*. Εκδόσεις Πασχαλίδης.