



Του  
Λεωνίδα Πετρίδη

Επιβλέπων καθηγητής  
Τζιαμούρτας Αθανάσιος, Επίκουρος Καθηγητής

Μεταπτυχιακή Διατριβή που υποβάλλεται στο καθηγητικό σώμα για τη μερική εκπλήρωση των υποχρεώσεων απόκτησης του μεταπτυχιακού τίτλου του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών «Άσκηση και Υγεία» του Τμήματος Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Τριμελής Επιτροπή  
Δρ. Τζιαμούρτας Αθανάσιος, Επίκουρος Καθηγητής  
Δρ. Κουρέτας Δημήτρης, Καθηγητής  
Δρ. Φατούρος Ιωάννης, Επίκουρος Καθηγητής

Τρίκαλα, 2009

## Περιεχόμενα

	K .....	3
	.....	4
<b>ABSTRACT</b> .....		5
1. ....		6
1.1. Οξειδωτικό στρες.....		6
1.2. Ελεύθερες ρίζες και Δραστικά Είδη Οξυγόνου (ROS).....		9
1.3. Αντιοξειδωτική άμυνα .....		12
1.4. Οξειδωτικό στρες και άσκηση.....		14
1.5. Η Υδατοσφαίριση .....		17
1.6. Σκοπός και στόχοι της έρευνας .....		21
2. ....		24
2.1. Αερόβια άσκηση παρατεταμένης διάρκειας.....		24
2.2. Αναερόβια άσκηση .....		30
2.3. Σύγκριση αερόβιας και αναερόβιας άσκησης .....		33
2.4. Μεσοπρόθεσμη και μακροχρόνια επίδραση της άσκησης.....		38
2.5. Το οξειδωτικό στρες στα ομαδικά αθλήματα.....		39
3. ....		42
3.1. Συμμετέχοντες .....		42
3.2. Η άσκηση.....		42
3.3. Αιμοληψία – Βιοχημικές αναλύσεις .....		43
3.4. Στατιστική ανάλυση.....		49
4. ....		51
5. ....		64
5.1. Λιπιδική υπεροξειδωση.....		64
5.2. Πρωτεϊνικά καρβονύλια .....		67
5.3. Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) .....		69
5.4. Καταλάση .....		71
5.5. Η οξειδοαναγωγική κατάσταση της γλουταθειόνης .....		73
6. ....		77
.....		80
.....		81
.....		96

## ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΠΙΝΑΚΩΝ

Γράφημα 1:	Μέσες τιμές του αιματοκρίτη πριν και μετά τον αγώνα	51
Γράφημα 2:	Μέσες τιμές της αιμοσφαιρίνης πριν και μετά τον αγώνα	52
Γράφημα 3:	Μέσες τιμές των TBARS πριν και μετά τον αγώνα	53
Γράφημα 4:	Ατομικές τιμές στα TBARS πριν και μετά τον αγώνα	53
Γράφημα 5:	Μέσες τιμές των πρωτεϊνικών καρβονυλίων πριν και μετά τον αγώνα	54
Γράφημα 6:	Ατομικές τιμές των πρωτεϊνικών καρβονυλίων πριν και μετά τον αγώνα	55
Γράφημα 7:	Μέσες τιμές της ανηγμένης γλουταθειόνης πριν και μετά τον αγώνα	56
Γράφημα 8:	Ατομικές τιμές της ανηγμένης γλουταθειόνης πριν και μετά τον αγώνα	56
Γράφημα 9:	Μέσες τιμές της οξειδωμένης γλουταθειόνης πριν και μετά τον αγώνα	58
Γράφημα 10:	Ατομικές τιμές της οξειδωμένης γλουταθειόνης πριν και μετά τον αγώνα	58
Γράφημα 11:	Μέσες τιμές της αναλογίας GSH/GSSG πριν και μετά τον αγώνα	59
Γράφημα 12:	Ατομικές τιμές της αναλογίας GSH/GSSG πριν και μετά τον αγώνα	60
Γράφημα 13:	Μέσες τιμές της καταλάσης πριν και μετά τον αγώνα	61
Γράφημα 14:	Ατομικές τιμές της καταλάσης του κάθε αθλητή πριν και μετά τον αγώνα	61
Γράφημα 15:	Μέσες τιμές ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας πριν και μετά τον αγώνα	62
Γράφημα 16:	Ατομικές τιμές ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας πριν και μετά τον αγώνα	63
Πίνακας 1:	Σωματικά και φυσιολογικά στοιχεία των συμμετεχόντων	47
Πίνακας 2:	Σύγκριση της ανηγμένης γλουταθειόνης μεταξύ των δύο ομάδων	57
Πίνακας 3:	Σύγκριση της TAC μεταξύ των δύο ομάδων	63
Πίνακας 4:	Οι αναλυτικές τιμές αιματοκρίτη, αιμοσφαιρίνης του κάθε αθλητή	96
Πίνακας 5:	Οι αναλυτικές τιμές των TBARS για κάθε αθλητή ξεχωριστά	96
Πίνακας 6:	Οι αναλυτικές τιμές των πρωτεϊνικών καρβονυλίων του κάθε αθλητή	97
Πίνακας 7:	Οι αναλυτικές τιμές της ανηγμένης γλουταθειόνης του κάθε αθλητή	97
Πίνακας 8:	Οι αναλυτικές τιμές των οξειδωμένης γλουταθειόνης του κάθε αθλητή	98
Πίνακας 9:	Οι αναλυτικές τιμές της αναλογίας GSH/GSSG του κάθε αθλητή	98
Πίνακας 10:	Οι αναλυτικές τιμές της καταλάσης του κάθε αθλητή	99
Πίνακας 11:	Οι αναλυτικές τιμές της TAC του κάθε αθλητή	99
Πίνακας 12:	Συγκεντρωτικός πίνακας μεταβολών του κάθε αθλητή	100

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας έρευνας ήταν να εξετάσει την επίδραση ενός αγώνα υδατοσφαίρισης σε οξειδωτικούς και αντιοξειδωτικούς δείκτες των υδατοσφαιριστών. Η βιβλιογραφία των ομαδικών αθλημάτων είναι σχετικά περιορισμένη, και ακόμη περισσότερο των μετρήσεων σε πραγματικές συνθήκες αγώνα. Επίσης, απ' όσο γνωρίζουμε παρόμοια έρευνα με υδατοσφαιριστές μέχρι τώρα δεν έχει διεξαχθεί. Η σημασία της έρευνας έγκειται στο γεγονός ότι για πρώτη φορά θα καταγραφούν οι οξειδωτικοί και αντιοξειδωτικοί δείκτες λαμβάνοντας υπόψη τις ιδιαιτερότητες και υψηλές απαιτήσεις της υδατοσφαίρισης. Δείγματα αίματος συλλέχθηκαν από δώδεκα υδατοσφαιριστές ( $25,8 \pm 3,7$  ετών) πριν και μετά από δύο επίσημους αγώνες υδατοσφαίρισης. Η ένταση της άσκησης καταγράφηκε με τις τιμές του γαλακτικού οξέος αμέσως μετά τον αγώνα και βρέθηκε να είναι  $9,16 \pm 3,91$  mmol/L. Οι δείκτες που μετρήθηκαν ήταν τα TBARS, για την υπεροξείδωση των πρωτεϊνών τα πρωτεϊνικά καρβονύλια, η ανηγμένη (GSH) και η οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG), η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) και η καταλάση. Αύξηση μετά την άσκηση βρέθηκε στα TBARS, στην GSH και στην καταλάση, ενώ η GSSG παρουσίασε αύξηση οριακής στατιστικής σημαντικότητας ( $p=0,06$ ). Ο αγώνας υδατοσφαίρισης αποτέλεσε ισχυρό ερέθισμα για την ανάπτυξη του οξειδωτικού στρες, όπως αυτό φαίνεται από τα TBARS, ενώ μεταβολές φαίνονται και στην αντιοξειδωτική άμυνα, όπως καταγράφηκε από την καταλάση και την GSH. Η αύξηση της τελευταίας είναι αντίθετη με τη συνήθη τάση να μειώνεται μετά την άσκηση. Μια πιθανή ερμηνεία γι' αυτό είναι η ενεργοποίηση της σύνθεσης της κυρίως στο συκώτι, για να καλύψει τις αυξημένες ανάγκες τις αντιοξειδωτικής άμυνας, ενώ θα πρέπει να λάβουμε υπόψη και τα 10-20 λεπτά της αιμοληψίας, όπου σε προπονημένα άτομα είναι πιθανή μία άμεση μετατροπή της GSSG σε GSH. Ωστόσο, παρά την ενισχυμένη αντιοξειδωτική δράση η δημιουργία οξειδωτικού στρες δεν μπόρεσε να αποτραπεί.

## ABSTRACT

The purpose of this study was to examine the effects of a real water polo game on the oxidative stress and antioxidants markers of the players. The studies with team sports in the literature are limited, even more in real game conditions. To the best of our knowledge, there is no similar study with water polo players. The importance of this study is that is the first one to examine the oxidative stress and antioxidants markers after a water polo game, considering the specific and high demands of water polo. Twelve water polo players ( $25.8 \pm 3.7$  yrs) were measured from two different teams after two official games. Exercise intensity was recorded by the post game lactate levels and was found to be  $9.16 \pm 3.91$  mmol/L. The oxidative stress and antioxidants markers who were measured were TBARS for lipid peroxidation, Protein Carbonyls for protein oxidation, reduced (GSH) and oxidized glutathione (GSSG), Total Antioxidant Capacity (TAC) and Catalase. An increase was found after the game for TBARS, for GSH and for catalase, while GSSG showed an increase of marginal statistical significance ( $p=0.06$ ). The water polo game was found to be a strong stimulus for oxidative stress as this was indicated by TBARS, while alterations seem to appear on the antioxidant capability, indicated by catalase and GSH. The increase of the latter is controversial to the usual effect post exercise. A possible explanation for this is the activation of GSH synthesis, mainly in the liver in order to meet the increased needs for antioxidant protection. It should be also considered that blood samples were taken 10-20 min. after the game, so it is possible that in well trained subjects this time period is enough for conversion of GSSG back to GSH. However, it can be stated that despite the enhanced antioxidant defense of the players, oxidative stress could not be prevented.

**Key words: water polo, oxidative stress, free radicals, antioxidant defense**

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1. Οξειδωτικό στρες

Κατά την εξέλιξη της ζωής στη γη με τη συνεχόμενη αύξηση του οξυγόνου ( $O_2$ ) στην ατμόσφαιρα οι οργανισμοί που επιβίωσαν ανέπτυξαν μηχανισμούς για τη χρήση του  $O_2$  στις μεταβολικές διαδικασίες για παραγωγή ενέργειας. Παράλληλα, όμως, ανέπτυξαν και αμυντικούς μηχανισμούς προστασίας από την τοξική δράση του. Αυτός ο συνδυασμός της χρήσης του  $O_2$  με την αντιοξειδωτική άμυνα αποτέλεσε σημαντικό παράγοντα για την ανάπτυξη και διατήρηση της ζωής σε ανθρώπους και ζώα. Ωστόσο, η ισορροπία της οξειδωτικής δράσης του  $O_2$  και της αντιοξειδωτικής ικανότητας των ανθρώπων και ζώων ποτέ δεν ήταν απόλυτη και στατική, αλλά επηρεαζόμενη από διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες, παρουσιάζει αύξηση ή μείωση εκατέρωθεν πλευρών. Η τοξική δράση του οξυγόνου εκφράζεται μέσω της παραγωγής ελευθέρων ριζών και δραστικών οξειδωτικών οξυγονούχων και αζωτούχων ενώσεων (Reactive Oxygen Species – ROS; Reactive Nitrogen Species – RNS), παράγωγα του αερόβιου και αναερόβιου μεταβολισμού. Η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ της παραγωγής ελευθέρων ριζών και δραστικών οξειδωτικών οξυγονούχων ενώσεων και της αντιοξειδωτικής ικανότητας του οργανισμού ορίζεται ως οξειδωτικό στρες (Urso & Clarkson, 2003; Halliwell & Whiteman, 2004). Πιστεύεται, ότι η μακροχρόνια έκθεση του οργανισμού στο οξειδωτικό στρες με την αντίστοιχη μείωση της αντιοξειδωτικής ικανότητάς του μπορεί να οδηγήσει σε χρόνιες βλάβες των ιστών και των κυττάρων, σε παθολογικές καταστάσεις και χρόνιες ασθένειες, φλεγμονές ή κυτταρικές δυσλειτουργίες, μπορεί να αυξήσει την απόπτωση των κυττάρων σε υγιή κύτταρα και εν τέλει να επιταχύνει την γήρανση των βιολογικών οργανισμών (Halliwell, 2001).

Ελεύθερες ρίζες καλούνται μόρια ή στοιχεία που είναι ικανά να υπάρχουν ανεξάρτητα (γι' αυτό και ονομάζονται ελεύθερες) και που έχουν ένα μονήρες ασύζευκτο ηλεκτρόνιο ( $\downarrow$ ) (Halliwell, 2001). Είναι ασταθείς ενώσεις με υψηλή δραστηριότητα, λόγω της

τάσης που έχουν να αποσπών από χημικά μόρια ένα άτομο με ηλεκτρόνιο για να σχηματίσουν ζεύγος ( $\downarrow\uparrow$ ). Μια ρίζα αντιδρά με ένα άλλο μόριο αποσπώντας απ' αυτό ένα ηλεκτρόνιο. Έτσι η αρχική ρίζα εξουδετερώνεται, ενώ το μόριο που έδωσε το ηλεκτρόνιο μετατρέπεται σε μια δεύτερη ρίζα κατά τον τύπο:  $A^\cdot + B \rightarrow A + B^\cdot$

Η δεύτερη ρίζα με τη σειρά της θα αντιδράσει με ένα τρίτο μόριο προς παραγωγή μιας τρίτης ρίζας. Η τρίτη ρίζα είναι πιθανό να αντιδράσει με την αρχική ρίζα, οπότε έχουμε τη δημιουργία αλυσιδωτής αντίδρασης μέχρι να υπάρξει μια τερματική αντίδραση. Σε περίπτωση που δεν προκύψει τερματική αντίδραση, οι αλυσιδωτές αντιδράσεις μπορεί να προκαλέσουν τοξικές βλάβες ή θραύσεις στα διάφορα βιολογικά συστήματα (υπεροξειδωση πρωτεϊνών ή λιπιδίων κυτταρικών μεμβρανών κ.α.). Τερματική αντίδραση έχουμε όταν δύο ελεύθερες ρίζες αντιδρούν μεταξύ τους και αλληλοεξουδετερωθούν, χάνοντας έτσι την ικανότητά τους για παραγωγή νέων ριζών:  $R^\cdot + R^\cdot \rightarrow RR$ ,

όπου το R αντιπροσωπεύει την ελεύθερη ρίζα. Η τυπική αντίδραση δύο ριζών υδρογόνου είναι:  $H^\cdot + H^\cdot \rightarrow H_2$ .

Οι ελεύθερες ρίζες αποσπών κυρίως άτομα υδρογόνου από οργανικές ενώσεις κατά την αντίδραση:  $X^\cdot + RH \rightarrow XH + R^\cdot$

Μερικές από τις κυριότερες ελεύθερες ρίζες είναι:

- $HO^\cdot$  = ρίζα υδροξυλίου (hydroxyl radical)
- $O_2^-$  = ρίζα υπεροξειδικού ανιόντος (superoxide anion)
- $NO^\cdot$  = ρίζα νιτρικού οξέος (nitric oxid)
- $RO^\cdot$  = ρίζα αλκοξυλίου (alkoxyl radical)
- $ROO^\cdot$  = ρίζα υπεροξυλίου (peroxyl radical)
- $HOO^\cdot$  = ρίζα υδροϋπεροξυλίου (hydroperoxyl radical)

Οι πηγές των ελευθέρων ριζών μπορεί να είναι εξωγενείς ή ενδογενείς. Οι ενδογενείς πηγές είναι αυτές που προέρχονται από το εσωτερικό των κυττάρων. Τέτοιες είναι:

1. Η διαδικασία παραγωγής ενέργειας στα κύτταρα διενεργείται μέσω της μικροσωμικής ή μιτοχονδριακής αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων. Τα μιτοχόνδρια χρησιμοποιούν το οξυγόνο για να παράγουν ενέργεια, απαραίτητη για τις διάφορες λειτουργίες των ιστών και των κυττάρων. Τα ηλεκτρόνια περνάνε μέσω οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων από πρωτεΐνες με τελικό αποδέκτη το οξυγόνο, το οποίο ανάγεται σε νερό. Ωστόσο, ένα μικρό ποσοστό του οξυγόνου (2-5%) που δεν χρησιμοποιείται για παραγωγή ενέργειας χάνει ηλεκτρόνια από τη σύνθεσή του προάγοντας έτσι τη δημιουργία ελεύθερων ριζών.
2. Η χαμηλή προμήθεια αίματος (όπως στις καρδιακές προσβολές και στα εγκεφαλικά επεισόδια) συνοδεύεται με προσωρινά μειωμένη παροχή οξυγόνου. Η αύξηση στην συγκέντρωση του οξυγόνου κατά την αποκατάσταση του ισχαιμικού επεισοδίου σχηματίζει ελεύθερες ρίζες.
3. Οξειδωτικά ένζυμα, όπως η οξειδάση της ξανθίνης, διοξυγενάση της ινδολεαμίνης, διοξυγενάση της τρυπτοφάνης, οξειδάση της γαλακτόζης, λιποξυγενάση, οξειδάση της μονοαμίνης.
4. Επίσης, φαγοκυτταρικά κύτταρα (ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα και μακροφάγα, ηωσινόφιλα, ενδοθηλιακά κύτταρα) κατά την αντίδραση τους με άλλα μόρια μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται αναπνευστική έκρηξη (respiratory burst).
5. Μία άλλη πολύ σημαντική πηγή, η οποία δημιουργεί πολλές ελεύθερες ρίζες, είναι η παρουσία τοξικών βαρέων μετάλλων στο σώμα, ειδικότερα αυτών που έχουν μείνει στους κυτταρικούς ιστούς. Όλα τα μέταλλα, με εξαίρεση τον χαλκό, περιέχουν ένα ηλεκτρόνιο στο εξωτερικό τους κέλυφος και μπορούν να θεωρηθούν ελεύθερες ρίζες. Ο χαλκός, ενώ έχει πλήρες εξωτερικό κέλυφος 2 ηλεκτρονίων, χάνει το ηλεκτρόνιό του εύκολα και μπορεί να θεωρηθεί επίσης ελεύθερη ρίζα. Τα παρακάτω μέταλλα είναι, μείζονες παράγοντες δημιουργίας ελεύθερων ριζών στο σώμα: υδράργυρος, ασβέστιο, αργίλιο, μόλυβδος, χλώριο, σίδηρος.



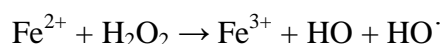
Εξωγενείς πηγές ελευθέρων ριζών μπορεί να είναι:

1. Η ηλιακή (UV-A, UV-B) και η ιονίζουσα ακτινοβολία, όπως και η μακροχρόνια έκθεση σε ακτίνες X.
2. Η θερμοπληξία και η υπερβολική έκθεση στον ήλιο.
3. Οι ουσίες που οξειδώνουν την γλουταθειόνη.
4. Καρκινογόνες ουσίες (βαριά μέταλλα, αμίαντος κ.α.).
5. Ο καπνός του τσιγάρου.
6. Ανθυγιεινές τροφές (τυποποιημένες τροφές, τηγανητές τροφές, ψητές στα κάρβουνα τροφές).
7. Υπερβολική σωματική άσκηση.
8. Οξειδωτικά αέρια της ατμοσφαιρικής ρύπανσης (οξειδία αζώτου, όζον, σωματίδια καυσαερίων).
9. Διάφορες τοξικές και χημικές ουσίες (όπως αυτές που βρίσκονται στα λούστρα των επίπλων και στις μπογιές, π.χ. βαλσαμικά υγρά, βενζίνη και φορμαλδεΐδη).
10. Οξειδώσεις απ' τη χορήγηση φαρμάκων και διάφορες παρασιτικές ασθένειες ή φλεγμονώδεις καταστάσεις (βακτήρια, ιοί).

### **1.2. Ελεύθερες ρίζες και Δραστικά Είδη Οξυγόνου (ROS)**

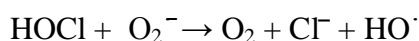
Η ρίζα υδροξυλίου (OH<sup>·</sup>) είναι ιδιαίτερα δραστική και αρκετά σημαντική ρίζα για βλάβες.

Παράγεται μέσω διαφόρων αντιδράσεων, όπως είναι η αντίδραση Fenton:



Μία άλλη πηγή της OH<sup>·</sup> είναι η ιοντίζουσα ακτινοβολία. Καθότι το σημαντικότερο συστατικό των ζωντανών οργανισμών είναι το νερό, η έκθεση σε ακτινοβολία υψηλής ενέργειας οδηγεί στην παραγωγή OH<sup>·</sup>. Η ρίζα υδροξυλίου που παράχθηκε κατ' αυτόν τον τρόπο θεωρείται υπεύθυνη για σοβαρές ζημιές στο DNA, στις πρωτεΐνες και τα λιπίδια

(Halliwell & Gutteridge, 1999). Επίσης,  $\text{OH}^\cdot$  παράγεται και από την υπέρυθρη ακτινοβολία, αλλά και από το υποχλωριώδες οξύ όταν αυτό αντιδράει με το υπεροξειδικό ανιόν:



Η ρίζα υδροξυλίου έχει χρόνο ημιζωής μικρότερο από άλλες ελεύθερες ρίζες ( $10^{-9}$  sec στους  $37^\circ\text{C}$ ). Όταν δύο ρίζες  $\text{HO}^\cdot$  αντιδράσουν μεταξύ τους σχηματίζεται υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $\text{HO}^\cdot + \text{HO}^\cdot \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$ ). Παρ' όλα αυτά η αντίδραση αυτή σπάνια παρατηρείται, καθώς η  $\text{HO}^\cdot$  αμέσως μετά τον σχηματισμό της αντιδράει με άλλα μόρια. Η αντίδραση της  $\text{HO}^\cdot$  με άλλες οργανικές ενώσεις γίνεται με τρεις τρόπους: απόσπαση υδρογόνου, προσθήκη ηλεκτρονίου και μεταφορά ηλεκτρονίου. Η παραγωγή ριζών υδροξυλίου οδηγεί στην έναρξη αλυσιδωτών αντιδράσεων που οδηγούν στην οξείδωση των οργανικών ενώσεων. Η καταλυτική οξείδωση των οργανικών ενώσεων οδηγεί στο σχηματισμό ολικώς ή μερικώς οξειδωμένων προϊόντων, όπως κετόνες, οξέα και αλκοόλες που γενικά είναι λιγότερο τοξικά και περισσότερο βιοδιασπώμενα σε σχέση με τις αρχικές ενώσεις.

Το υπεροξειδικό ανιόν ( $\text{O}_2^-$ ) είναι λιγότερο δραστικό απ' την ρίζα υδροξυλίου. Παράγεται ενδογενώς *in vivo* στους αερόβιους οργανισμούς από ενεργοποιημένα φαγοκύτταρα και από αρκετά ένζυμα με την αναγωγή του  $\text{O}_2$  κατά την αντίδραση με ηλεκτρόνια:  $\text{O}_2 \rightarrow \text{e}^- \rightarrow \text{O}_2^-$ . Η πιο σημαντική πηγή παραγωγής του είναι οι βιοχημικές αλυσίδες μεταφοράς ηλεκτρονίων. Οι αλυσίδες αυτές λειτουργούν κυρίως στα μιτοχόνδρια, βλάβες στα τελευταία προκαλούν διαρροή ηλεκτρονίων με αποτέλεσμα να επιταχύνεται η παραγωγή  $\text{O}_2^-$ . Ακόμα μπορεί να παραχθεί κατά τη δέσμευση του  $\text{O}_2$  από την αίμη στην αιμοσφαιρίνη:  $\text{αίμη} - \text{Fe}^{2+} - \text{O}_2 \leftrightarrow \text{αίμη} - \text{Fe}^{3+} - \text{O}_2^-$

Οι παραχθείσες ρίζες  $\text{O}_2^-$  από την αναπνοή μιτοχονδρίων οδηγούν σε βλάβες σε μιτοχονδριακές πρωτεΐνες, λιπίδια ή DNA. Ωστόσο, δεν χαρακτηρίζεται από άμεση οξειδωτική δράση σε βιομόρια, αλλά συνήθως ασκεί τη δράση του σε συνδυασμό με άλλες ρίζες (π.χ.  $\text{NO}^\cdot$ ).

Η ρίζα του νιτρικού οξέος ( $\text{NO}^\cdot$ ) είναι ένα άχρωμο αέριο με μέτρια διαλυτότητα στο νερό και όπως και το οξυγόνο ( $\text{O}_2$ ) είναι περισσότερο διαλυτό σε οργανικά διαλύματα. Έτσι το  $\text{NO}^\cdot$  μπορεί να διαχυθεί με ευκολία ανάμεσα στα κύτταρα. Το  $\text{NO}^\cdot$  συνθέτεται σε ζωντανούς οργανισμούς με τη βοήθεια των ενζύμων συνθετάσες του νιτρικού οξέος, οι οποίες μετατρέπουν το αμινοξύ L-αργινίνη σε  $\text{NO}^\cdot$ . Στη μετατροπή απαιτούνται πέντε ηλεκτρόνια που παρέχονται από την NADPH (φωσφορικό νικοτιναμιδο-αδενοδινουκλεοτίδιο). Ο ρόλος του  $\text{NO}^\cdot$  είναι πολύ προσεκτικά ρυθμισμένος σε υγιείς οργανισμούς. Έχουν βρεθεί τύποι νιτρικού οξέος σε ιστούς του νευρικού συστήματος, σε ενδοθηλιακά κύτταρα (με σημαντική συνεισφορά στη ρύθμιση της χαλάρωσης των αιμοφόρων αγγείων), αλλά κυρίως τονίζεται ο ρόλος του ως νευροδιαβιβαστή στον εγκέφαλο, με έμφαση στην πλαστικότητα των συνάψεων.

Οι ρίζες αλκοξυλίου ( $\text{RO}^\cdot$ ) και υπεροξυλίου ( $\text{RO}_2^\cdot$ ) αποτελούν σταθερούς παράγοντες οξειδωσης και μετατρέπονται εύκολα σε άλλες οργανικές ρίζες. Οι ρίζες αυτές έχουν την ικανότητα να αποσπάσουν H από άλλα μόρια, κάτι που συμβαίνει συχνά στην λιπιδική υπεροξειδωση. Οι  $\text{RO}^\cdot$  και  $\text{RO}_2^\cdot$  δημιουργούνται από την προσβολή οργανικών ουσιών με ρίζα υδροξυλίου. Σε αερόβιες συνθήκες οι ρίζες αντιδρούν με το οξυγόνο  $\text{R}^\cdot + \text{O}_2 \rightarrow \text{RO}_2^\cdot$ . Επίσης, η διάσπαση οργανικών υπεροξειδίων ( $\text{ROOH}$ ) μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό ριζών αλκοξυλίου και υπεροξυλίου.

Τα δραστικά είδη οξυγόνου δεν είναι ελεύθερες ρίζες, αλλά ενώσεις που έχουν σημαντική οξειδωτική δράση ή εύκολα μπορούν να μετατραπούν σε ελεύθερες ρίζες. Οι ενώσεις αυτές μπορεί να είναι οξυγονούχες (ROS), αζωτούχες (RNS) ή χλωριούχες (RCS).

Οι κυριότερες απ' αυτές είναι:

- $\text{H}_2\text{O}_2$  = υπεροξειδίο του υδρογόνου (hydrogen peroxide)
- $\text{HOCl}$  = υποχλωριώδες οξύ (hypochlorous acid)
- $\text{O}_3$  = όζον (ozone)

- $\text{ONOO}^-$  = υπεροξυνιτρώδες ανιόν (peroxynitrite)

Το υπεροξειδίο του υδρογόνου ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) είναι μία ήπια οξειδωτική και αναγωγική ένωση με χαμηλή δραστηριότητα. Γίνεται περισσότερο τοξική σε συγκεντρώσεις 10-100  $\mu\text{M}$ . Το  $\text{H}_2\text{O}_2$  παράγεται από τη δράση ορισμένων ενζύμων, όπως ξανθίνη, οξειδάσες του D-αμινοξέος κ.α. Επίσης, μπορεί να δημιουργηθεί εύκολα από το υπεροξειδικό ανιόν ( $\text{O}_2^-$ ) κατά την αντίδραση:  $2\text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$

Το  $\text{H}_2\text{O}_2$  μπορεί να διαχυθεί εύκολα μεταξύ των κυττάρων και αντιδρώντας με το σίδηρο μπορεί να παράγει την πολύ περισσότερο δραστική ρίζα του υδροξυλίου. Ακόμα μπορεί να διασπάσει μερικές πρωτεΐνες της αίμης (περιλαμβανομένης της μυοσφαιρίνης, αιμοσφαιρίνης και κυτοχρώματος c) και να απελευθερώσει ιόντα σιδήρου.

Το υποχλωρίδες οξύ ( $\text{HOCl}$ ) παράγεται από το ένζυμο μυελοϋπεροξειδάση (MPO) σε ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα σύμφωνα με την αντίδραση:  $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Cl}^- \rightarrow \text{HOCl} + \text{OH}^-$

Το  $\text{HOCl}$  έχει υψηλή δραστηριότητα και μπορεί να προκαλέσει διάφορες βλάβες, είτε άμεσα, είτε μετά από τη διάσπασή του σε χλώριο.

Το όζον είναι ένας αέριος ρύπος που βρίσκεται στην στρατόσφαιρα και σχηματίζει ένα προστατευτικό στρώμα από τις υπεριώδεις ακτίνες του ήλιου. Σε υδατικά διαλύματα διασπάται σε ρίζες υδροξυλίου, ενώ φαίνεται να έχει οξειδωτική δράση στα επιθηλιακά κύτταρα των πνευμόνων και αποτελεί μείζον παράγοντα καρκινογένεσης στους ανθρώπους.

### **1.3. Αντιοξειδωτική άμυνα**

Σε φυσιολογικές συνθήκες ο οργανισμός διαθέτει μηχανισμό εξουδετέρωσης των ελευθέρων ριζών, προστατεύοντας έτσι τους ιστούς από τις ανεπιθύμητες επιδράσεις που αυτές έχουν. Ο αντιοξειδωτικός μηχανισμός περιλαμβάνει ενζυματική δράση (καταλάση-CAT, υπεροξειδάση της γλουταθειόνης-GSX, δισμουτάση του υπεροξειδίου-SOD) και μη ενζυματική δράση. Η μη ενζυματική δράση περιλαμβάνει τα υδροδιαλυτά αντιοξειδωτικά

(ανηγμένη γλουταθειόνη-GSH, βιταμίνη C και ουρικό οξύ) και τα λιποδιαλυτά (βιταμίνη E και A και τις ουβικινόνες). Η δράση των αντιοξειδωτικών περιλαμβάνει την απομάκρυνση ελευθέρων ριζών και ROS, την μείωση της διαθεσιμότητας σε προοξειδωτικούς παράγοντες (π.χ. ιόντα σιδήρου, αίμη κ.α.), την προστασία των βιομορίων ενάντια στην οξειδωτική δράση και την ανίχνευση δραστικών ενώσεων. Μέρος των αντιοξειδωτικών ουσιών παράγεται *in vivo*, ενώ σημαντικός είναι και ο ρόλος της διατροφής στην επάρκεια αντιοξειδωτικής προστασίας. Οι δράσεις των κυριότερων αντιοξειδωτικών συνοψίζονται παρακάτω.

Καταλάση	Μετατρέπει το $H_2O_2$ σε νερό και οξυγόνο $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$
Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης	Μετατρέπεται στην οξειδωμένη μορφή της γλουταθειόνης (GSSG) με παράλληλη αναγωγή των υδρουπεροξειδίων (ROOH) σε αλκοόλες (ROH) και του $H_2O_2$ σε νερό. $H_2O_2 + 2GSH \rightarrow GSSG + 2H_2O$
Δισμουτάση του υπεροξειδίου	Αποτελεί την πρωταρχική άμυνα του κυττάρου ενάντια στις ρίζες. Μετατρέπει το υπεροξειδικό ανιόν σε $H_2O_2$ και $O_2$ . $2O_2^- + 2H_2 \rightarrow H_2O_2 + O_2$
Ανηγμένη γλουταθειόνη	Μετατρέπει τις δισουλφιδικές ομάδες σε θειόλες και αποτελεί υπόστρωμα για την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης. $H_2O_2 + 2GSH \rightarrow GSSG + 2H_2O$
Ασκορβικό οξύ	Αποτελεί αναγωγικό παράγοντα προσφέροντας αντιοξειδωτική προστασία. Εξουδετερώνει τις ρίζες $O_2^-$ και $HO^{\cdot}$ . Καθαρίζει από το υποχλωριώδες οξύ.
Βιταμίνη E	Έχει υψηλή αναγωγική ικανότητα ενισχύοντας την ανοσοποιητική δραστηριότητα του οργανισμού και μειώνοντας το οξειδωτικό στρες.

Έλλειψη της μπορεί να προκαλέσει λιπιδική υπεροξειδωση και διάφορες οξειδωτικές βλάβες.

**Καροτενοειδή** Αποτρέπουν τη δημιουργία ROS και ιδιαίτερα του μονήρες O<sub>2</sub>. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις οξυγόνου αναστέλλουν την λιπιδική υπεροξειδωση.

**Ουρικό οξύ** Αναφέρεται ως ο κυριότερος παράγοντας της συνολικής αντιοξειδωτικής άμυνας του οργανισμού. Αποτελεί το τελικό προϊόν της οξειδωσης των πουρινών. Μέσω της δράσης της οξειδάσης της ξανθίνης η υποξανθίνη οξειδώνεται σε ξανθίνη και ουρικό οξύ. Εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες και δεσμεύει τον τρισθενή σίδηρο (Fe<sup>3+</sup>) αναστέλλοντας έτσι την οξειδωτική του δράση στο ασκορβικό οξύ.

#### **1.4. Οξειδωτικό στρες και άσκηση**

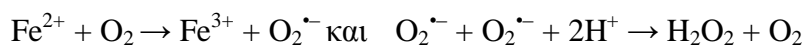
Πολλές έρευνες μέχρι τώρα έχουν συνδέσει την άσκηση με αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών και δραστικών ειδών οξυγόνου και κατά συνέπεια με αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες (Aquilo et al., 2005; Ashton et al., 1998; Bloomer, Goldfarb, Wideman, McKenzie, & Consitt, 2005; Goldfarb, Patrick, Bryer, & You, 2005; Ihlan, Kamanli, Ozmerdivenli, & Ihlan, 2004; Jammes, Steinberg, Brégeon, & Delliaux, 2004; Machefer et al., 2004; Mastaloudis, Leonard, & Traber, 2001). Βέβαια, η μελέτη της επίδρασης που έχει η φυσική δραστηριότητα στο οξειδωτικό στρες περιέχει αρκετούς αστάθμητους παράγοντες. Η διάρκεια, η ένταση και το είδος της άσκησης, ο βαθμός κόπωσης ή εξάντλησης και η προπονητική κατάσταση στην οποία βρίσκονται οι δοκιμαζόμενοι, το φύλο τους και η ηλικία τους, αλλά και η διατροφή που ακολουθούν διαφοροποιούν σημαντικά τα αποτελέσματα των μετρήσεων. Πάντως, είναι γενικά αποδεκτό, ότι η άσκηση για να προκαλέσει οξειδωτικό

στρες πρέπει να έχει σχετικά υψηλή ένταση ή/και παρατεταμένη διάρκεια. Οι μηχανισμοί που συνδέουν την άσκηση με το οξειδωτικό στρες ποικίλουν ανάλογα με το είδος της άσκησης, αλλά κυρίως χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες άσκησης, την αερόβια άσκηση μέτριας έντασης και μεγάλης διάρκειας και την αναερόβια άσκηση μέγιστης, ή ακόμα και υπερμέγιστης έντασης και μικρής διάρκειας.

Κατά την αερόβια άσκηση η επικρατέστερη πηγή ελευθέρων ριζών και ROS είναι η διαφυγή ηλεκτρονίων στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, τα οποία καταλήγουν να σχηματίζουν υπεροξειδικά ανιόντα. Στην άσκηση η συνολική κατανάλωση οξυγόνου μπορεί να αυξηθεί μέχρι και 15 φορές σε σχέση με τα επίπεδα ηρεμίας, ενώ στους συστελλόμενους μύες η ροή του οξυγόνου μπορεί να αυξηθεί μέχρι και 100 φορές (Sen, 1995), αύξηση της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου έχει βρεθεί να έχει σημαντική συσχέτιση με αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών.

Εκτός από τα ένζυμα της μιτοχονδριακής αναπνευστικής αλυσίδας, και άλλα μιτοχονδριακά ένζυμα φαίνεται να συμμετέχουν στην αύξηση των ελευθέρων ριζών κατά την άσκηση. Η mGPDH (membrane-bound glycerol-3-phosphate dehydrogenase) συμμετέχει στην μεταφορά της NADPH στα μιτοχόνδρια και η δράση της, η οποία ρυθμίζεται από το ασβέστιο, αυξάνεται με την άσκηση. Σύμφωνα με τους Vollaard, Shearman, & Cooper, (2005) η αυξημένη mGPDH έχει συνδεθεί με παραγωγή υπεροξειδίων υδρογόνου από την γλυκερόλη-3-φωσφατάση.

Σημαντικός είναι και ο ρόλος των πρωτεϊνών της αίμης σε ότι αφορά το σχηματισμό των ελευθέρων ριζών κατά την άσκηση. Τέτοιες είναι η οξυαιμοσφαιρίνη και η οξυμυοσφαιρίνη και η αυτοοξειδωσή τους σχηματίζει αρχικώς υπεροξειδικό ανιόν και κατόπιν υπεροξειδίου του υδρογόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) σύμφωνα με τις αντιδράσεις:



Το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> αντιδράει με την μεθαιμοσφαιρίνη και μεθμυοσφαιρίνη παράγοντας ισχυρά

δραστικές ενώσεις:  $R-Fe^{3+} + H_2O_2 \rightarrow R^{*+}-Fe^{4+}=O^{2-} + H_2O$ . Η αυτοοξειδωση της αιμοσφαιρίνης παρουσιάζει σχήμα U, δηλαδή σε αντίθεση με τα μιτοχόνδρια η παραγωγή των ROS, αυξάνεται με τη μείωση της μερικής πίεσης του οξυγόνου στις φλέβες και στα τριχοειδή (Cooper, Vollaard, Choueiri, & Wildon, 2002; Vollaard et al., 2005).

Ένας ακόμα μηχανισμός που έχει συνδεθεί με αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών κατά την άσκηση είναι η οξείδωση της υποξανθίνης σε ξανθίνη και της ξανθίνης σε ουρικό οξύ (McCord, 1985). Σε δραστηριότητες υψηλής έντασης η ενέργεια παράγεται υπό αναερόβιες συνθήκες, καθότι η πρόσληψη οξυγόνου δεν μπορεί να ικανοποιήσει τις ενεργειακές ανάγκες των ιστών. Λόγο της υποξίας στους ενεργούς μύες η αφυδρογονάση της ξανθίνης μετατρέπεται σε οξειδάση της ξανθίνης. Στη φάση της αποκατάστασης η τελευταία με τη σειρά της χρησιμοποιεί οξυγόνο ως αποδέκτη ηλεκτρονίων και μετατρέπει την υποξανθίνη σε ξανθίνη και ουρικό οξύ. Παραπροϊόντα της παραπάνω διαδικασίας είναι η παραγωγή υπεροξειδικού ανιόντος.

Κατά την αναερόβια κυρίως άσκηση η αυτοοξειδωση των κατεχολαμινών μπορεί να οδηγήσει σε συσσώρευση ελευθέρων ριζών (Cohen & Heikkila, 1974). Οι κατεχολαμίνες εκκρίνονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στην έντονη άσκηση και οι αυτοοξειδώσή τους συνοδεύεται με την παραγωγή δραστικών ενώσεων.

Σημαντική πηγή παραγωγής ελευθέρων ριζών είναι η μυϊκή καταστροφή που προκαλείται από την άσκηση, κάτι που είναι περισσότερο διακριτό σε δραστηριότητες με σημαντική παρουσία έκκεντρων μυϊκών συστολών. Κατά την μυϊκή καταστροφή προκαλείται αποδιοργάνωση της μυϊκής δομής και ανάπτυξη φλεγμονής, η οποία συνοδεύεται με απελευθέρωση ουδετερόφιλων, και άλλων φαγοκυτταρικών, κυττάρων. Η διαδικασία αυτή καταλήγει στην κατάσταση της αναπνευστικής έκρηξης με παράλληλη παραγωγή υπεροξειδικού ανιόντος, υπεροξειδίου του υδρογόνου και άλλων δραστικών ενώσεων. Στη συνέχεια η μυελοϋπεροξειδάση (MPO), η οποία περιέχεται στα ουδετερόφιλα,



καταλύει την μετατροπή του υπεροξειδικού ανιόντος στην πολύ δραστική ένωση του υποχλωριώδους οξέος (Leeuwenburgh & Heinecke, 2001)

Ακόμα, η δραστική συσσώρευση γαλακτικού οξέος, η οποία ελαττώνει το pH του πλάσματος, είναι ικανή να μετατρέψει μια ασθενή ρίζα (υπεροξειδικό ανιόν) σε μια ισχυρά δραστική ρίζα (ρίζα υδροξυλίου) (Siesjö, Bendek, Koide, Westerberg, & Wieloch, T., 1985).

Τέλος, η υπερθερμία, μπορεί να αποτελέσει πηγή ελευθέρων ριζών (McAnulty et al., 2005). Η αύξηση της θερμοκρασίας του σώματος, κυρίως στις αερόβιες δραστηριότητες παρατεταμένης διάρκειας, οδηγούν στο σχηματισμό υπεροξειδικού ανιόντος στα μιτοχόνδρια.

Συνοπτικά για την άσκηση και τις ελεύθερες ρίζες και δραστικές ενώσεις μπορούμε να θεμελιώσουμε τα εξής:

- Η έντονη ή/και η παρατεταμένη οξεία άσκηση γενικά αυξάνουν τη παραγωγή ελευθέρων ριζών και μειώνουν την αντιοξειδωτική αντίσταση του οργανισμού (Kanter, 1994; Vollaard, 2005). Αυτό, κατά κάποιο τρόπο αποτελεί ανεπιθύμητη παρενέργεια της άσκησης, η οποία και πρέπει να αντιμετωπιστεί ανάλογα.
- Ωστόσο, η μακροχρόνια, συστηματική άσκηση μπορεί να αποτελέσει ασπίδα προστασίας κατά των ελευθέρων ριζών και του οξειδωτικού στρες, ενισχύοντας τη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων και μειώνοντας τη παραγωγή ελευθέρων ριζών (Leeuwenburgh & Heinecke, 2001; Radak, Taylor, Ohno, & Goto, 2001).

### **1.5. Η Υδατοσφαίριση**

Η υδατοσφαίριση, όπως και τα περισσότερα ομαδικά αθλήματα, είναι ένα άθλημα διαλλειματικής φύσεως, το οποίο απαιτεί δραστηριότητες εναλλασσόμενης και διακοπτόμενης έντασης. Η προετοιμασία και οι αγώνες στην υδατοσφαίριση περιέχουν και

απαιτούν από τους αθλητές την ανάπτυξη και κατοχή πολύπλευρων ικανοτήτων, όπως φυσικών ικανοτήτων (ταχύτητα, δύναμη, αντοχή, εκρηκτικότητα, ευλυγισία), τεχνικών δεξιοτήτων συγχρονισμού και συντονισμού, αλλά και καλή εφαρμογή της κατά περίπτωση τακτικής. Οι παίκτες στο παιχνίδι βρίσκονται σε διαρκή ενεργοποίηση (λόγω και των λίγων περιορισμών απ' τους κανονισμούς), είτε αυτό σημαίνει κάποια μετακίνηση και αλλαγή θέσης, είτε την ευθύνη της προσωπικής φύλαξης του αντιπάλου. Ακόμα και η απλή στάση μέσα στο νερό δεν αποτελεί θέση ξεκούρασης, αλλά προϋποθέτει, έστω και την ελάχιστη προσπάθεια για να παραμείνει ο αθλητής στην επιφάνεια του νερού, κάτι που για τον αθλητή σημαίνει κατανάλωση ενέργειας. Σύμφωνα με έρευνες (Smith, 1991) η αναλογία ενεργοποίησης προς ανάπαυλας των υδατοσφαιριστών κατά τη διάρκεια ενός αγώνα υδατοσφαίρισης κυμαίνεται γύρω στα 5 προς 2, που σημαίνει, ότι κατά μέσο όρο ένας παίκτης έχει περίπου 62% συμμετοχή στη συνολική διάρκεια του αγώνα.

Σε έρευνες που μελέτησαν τα φυσιολογικά χαρακτηριστικά του αθλήματος φαίνεται ότι οι παίκτες οφείλουν να έχουν ανεπτυγμένη τόσο την αερόβια, όσο και την αναερόβια ικανότητα για να ανταπεξέλθουν στις απαιτήσεις των αγώνων. Από μετρήσεις της καρδιακής συχνότητας (Κ.Σ.) κατά τη διάρκεια του αγώνα, βλέπουμε, ότι οι υδατοσφαιριστές ολοκληρώνουν τον αγώνα κατά μέσο όρο στο 80-85% της μέγιστης καρδιακής τους συχνότητας (Platanou & Geladas, 2006; Pinnington, Dawson, & Blanksby, 1988), μια τιμή που συμπίπτει με το γαλακτικό κατώφλι. Το γεγονός ότι σχεδόν σ' όλη τη διάρκεια του αγώνα η καρδιακή συχνότητα δεν έπεφτε κάτω από το 80% (Pinnington, Dawson, & Blanksby, 1986) ερμηνεύεται με τα σύντομα, ανεπαρκή για πλήρη ανάνηψη διαστήματα ξεκούρασης δημιουργώντας έτσι υψηλό φόρτο στον αερόβιο μεταβολισμό (Smith, 1998). Η ισχυρή αεροβική βάση του αθλήματος φαίνεται και από μετρήσεις της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου ( $VO_2\max$ ) σε υδατοσφαιριστές, στις οποίες αναφέρονται τιμές στα 58 – 61 ml/kg/min (Smith, 1998; Cazorla & Montpetit, 1988). Οι τιμές αυτές αντιστοιχούν σε τιμές

και άλλων ομαδικών αθλημάτων, όπου η έντονη σωματική επαφή είναι συχνή (ράγκμπυ, χόκεϊ επί πάγου, καλαθοσφαίριση).

Σημαντικό χαρακτηριστικό της υδατοσφαίρισης είναι οι ατομικές ενέργειες μικρής διάρκειας και μεγάλης έντασης. Αυτό προϋποθέτει καλά αναπτυγμένη αναεροβική ικανότητα. Σε μετρήσεις της συγκέντρωσης του γαλακτικού οξέος, παρουσιάζονται κάποιες διακυμάνσεις από ερευνητή σε ερευνητή. Έτσι οι Platanou & Geladas (2006) κατέγραψαν μέση τιμή γαλακτικού οξέος  $3,90 \pm 1,89 \text{ mmol} \cdot \Gamma^{-1}$ , ενώ ο Rodriguez (1994) σε Ισπανούς υδατοσφαιριστές υψηλού επιπέδου μέτρησε 7-9  $\text{mmol} \cdot \Gamma^{-1}$ . Οι χαμηλές τιμές γαλακτικού οξέος στην πρώτη έρευνα, μπορεί να οφείλονται σε πιθανή χαμηλή αναεροβική ικανότητα των παικτών, όμως καθότι στην πλειονότητά τους πρόκειται για παίκτες με συμμετοχές σε Ολυμπιακούς Αγώνες, μάλλον αποδίδεται στη καλή αερόβια ικανότητα τους, που τους επιτρέπει πιο γρήγορη απομάκρυνση του γαλακτικού οξέος. Πάντως, σε συνδυασμό και με την καρδιακή συχνότητα, οι τιμές του γαλακτικού οξέος, προδίδουν σημαντική συμμετοχή του αναερόβιου μεταβολισμού. Τα υψηλά επίπεδα του γαλακτικού οξέος δεν προέρχονται αποκλειστικά από τον παράγοντα κολύμβησης σε έναν αγώνα. Προηγούμενες έρευνες (Hohmann & Frase, 1992; Avlonitou, 1991) έδειξαν, ότι η κολυμβητική ταχύτητα που εφάρμοζαν οι παίκτες στον αγώνα αντιστοιχούσε σε ταχύτητες, οι οποίες οδηγούσαν σε συγκεντρώσεις γαλακτικού οξέος  $< 2 \text{ mmol/L}$ , κάτι που δεν συμβαδίζει με τις τιμές γαλακτικού οξέος που μετρήθηκαν κατά τη διάρκεια και μετά από έναν αγώνα. Αυτό μας επιτρέπει να συμπεράνουμε, ότι η ένταση και η συνολική αναερόβια επιβάρυνση που δέχεται ένας υδατοσφαιριστής, δεν αντικατοπτρίζεται επαρκώς στην ένταση της κολυμβητικής ταχύτητας. Οι αλλαγές κατεύθυνσης, οι κατακόρυφες κινήσεις μέσα στο νερό και οι συνεχείς σωματικές επαφές με τον αντίπαλο, αποτελούν ουσιαστικούς παράγοντες της συνολικής επιβάρυνσης σ' έναν αγώνα υδατοσφαίρισης.

Όσον αφορά στις μετακινήσεις μέσα στο νερό, περίπου το 20% της συνολικής

διάρκειας ενός αγώνα καλύπτεται από κολύμπι μέγιστης ταχύτητας, διάρκειας περίπου 11-13 δευτερολέπτων, κάτι που σημαίνει, ότι ένα σημαντικό ποσοστό των ενεργειακών απαιτήσεων του αγώνα ενεργοποιεί το σύστημα της φωσφοκρεατίνης και του αναερόβιου γλυκολυτικού μεταβολισμού (Platanou & Geladas, 2006; Smith, 1991; Hohmann & Frase, 1992).

Εκτός απ' τα υψηλά επίπεδα αερόβιας και αναερόβιας αντοχής που πρέπει να έχουν οι υδατοσφαιριστές, σημαντική είναι και η συμβολή του νευρομυϊκού συντονισμού. Σε αντίθεση ίσως με άλλα ομαδικά αθλήματα, στα οποία επίσης παρατηρείται ποικιλία κινητικών δεξιοτήτων και κατά συνέπεια ποικίλης μυϊκής λειτουργίας, στην υδατοσφαίριση η παρουσία της μυϊκής συστολής ισοτονικού τύπου (ομόκεντρη και έκκεντρη), συμπληρώνεται σε υψηλό βαθμό από αυτή ισομετρικού τύπου, αλλά και από τις ιδιαιτερότητες της μυϊκής λειτουργίας κατά την προωθητική κίνηση στο νερό. Οι συνεχείς προσωπικές μονομαχίες μέσα στο νερό, καθώς και η κίνηση του σουτ περιέχουν σημαντική συνεισφορά της ισομετρικής μυϊκής λειτουργίας (Clarys, Cabri, & Teirlinck, 1992). Στα παραπάνω προστίθεται και το υδάτινο περιβάλλον, το οποίο, λόγω της αυξημένης αντίστασης που το χαρακτηρίζει, καθιστά τις κινήσεις πιο επίπονες και πιο αργές.

Από όλα τα παραπάνω προκύπτει, ότι η υδατοσφαίριση είναι ένα αρκετά απαιτητικό άθλημα, το οποίο και ενεργειακά και νευρομυϊκά περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα βιολογικών και προπονητικών προσαρμογών, οι οποίες και προϋποθέτουν μακροχρόνια και συστηματική εξειδικευμένη προπόνηση. Δεν είναι τυχαίο, ότι η αθλητική ολοκλήρωση ενός υδατοσφαιριστή προϋποθέτει 8-10 χρόνια συστηματικής ενασχόλησης, χωρίς να συνυπολογίζονται τα χρόνια της εκμάθησης κολύμβησης.

### **1.6. Σκοπός και στόχοι της έρευνας**

Στα ατομικά αθλήματα οι έρευνες σε εργαστήρια μπορούν να προσομοιώσουν το είδος της αθλητικής απόδοσης σε μεγάλο βαθμό και έτσι η μεταφορά των αποτελεσμάτων από τις μετρήσεις στην αθλητική απόδοση να γίνεται πιο εύκολα. Στα ομαδικά αθλήματα αυτό δεν βρίσκει εκτενή εφαρμογή λόγω των πολλών παραγόντων που καθορίζουν την απόδοση. Οι μετρήσεις σε συνθήκες προπόνησης και πολύ περισσότερο σε συνθήκες αγώνων εμπεριέχουν πολλές τεχνικές δυσκολίες, γεγονός που αντικατοπτρίζεται και στην περιορισμένη βιβλιογραφία τέτοιων ερευνών. Ο κύριος σκοπός της παρούσης έρευνας είναι να διερευνηθεί υπό κανονικές συνθήκες αγώνων, η επίδραση που έχει ο αγώνας υδατοσφαίρισης σε δείκτες του οξειδωτικού στρες και στον αντιοξειδωτικό μηχανισμό του οργανισμού, σε αθλητές υδατοσφαίρισης. Η σημασία της έρευνας έγκειται στο ότι οι μετρήσεις θα γίνουν σε κανονικό αγώνα υδατοσφαίρισης. Αυτό θα μας βοηθήσει να καταλάβουμε ακόμα περισσότερο το συνολικό φόρτο στον οποίο υποβάλλονται οι αθλητές κατά τη διάρκεια ενός αγώνα, όπως αυτός καταγράφεται μέσα από τους δείκτες του οξειδωτικού στρες και των αντιοξειδωτικών ουσιών. Η επιλογή της υδατοσφαίρισης έγινε λόγω των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών του αθλήματος. Αυτό εκφράζεται με τις υψηλές απαιτήσεις στα φυσικά χαρακτηριστικά των αθλητών (αερόβια και αναερόβια αντοχή, ταχύτητα – ταχυδύναμη, ευρύ φάσμα μυϊκής λειτουργίας), αλλά και με το περιβάλλον. Είναι πιθανό η θερμοκρασία του νερού, όπου διεξάγεται η άσκηση, να επηρεάζει τις βιολογικές λειτουργίες του οργανισμού και κατ' επέκταση την ανάπτυξη οξειδωτικού στρες. Οι υψηλές θερμοκρασίες και η υπερθερμία αποτελούν καταλυτικούς παράγοντες στην ανάπτυξη του οξειδωτικού στρες (Fehrenbach et al., 2000). Επειδή η αγωγιμότητα της θερμότητας στο νερό είναι 25 φορές μεγαλύτερη απ' ό,τι στον ατμοσφαιρικό αέρα, η θερμοκρασία του σώματος στο νερό χάνεται πιο εύκολα, ιδίως στην υδατοσφαίριση της διαλλειματικής και εναλλασσόμενης φύσεως οι μεταβολές στην θερμοκρασία του σώματος είναι πιο εμφανείς. Κάτι τέτοιο πιθανό να

επηρεάζει τους δείκτες του οξειδωτικού στρες.

Συγκεκριμένα τα ερωτήματα που διατυπώνονται στην έρευνα είναι τα εξής:

1. Αποτελεί ο αγώνας υδατοσφαίρισης της συγκεκριμένης αγωνιστικής κατηγορίας ισχυρό ερέθισμα για την ανάπτυξη οξειδωτικού στρες?
2. Υπάρχουν διαφορές στους υπό εξέταση δείκτες του οξειδωτικού στρες και των αντιοξειδωτικών ουσιών πριν και αμέσως μετά τον αγώνα και σε ποιους δείκτες επικεντρώνονται οι διαφορές αυτές?
3. Εμφανίζουν οι αθλητές υδατοσφαίρισης του συγκεκριμένου αγωνιστικού επιπέδου μακροχρόνιες προσαρμογές, οι οποίες να ενισχύουν και να συμπληρώνουν την αντιοξειδωτική δράση του οργανισμού?

Βάσει των ερωτημάτων που τέθηκαν οι στατιστικές υποθέσεις διαμορφώνονται ως εξής:

Ερευνητικές υποθέσεις:

1. Ο αγώνας υδατοσφαίρισης αποτελεί ισχυρό ερέθισμα συνολικής επιβάρυνσης ικανής να αναπτύξει συνθήκες οξειδωτικού στρες στους αθλητές.
2. Οι μετρήσεις στους υπό εξέταση δείκτες του οξειδωτικού στρες και των αντιοξειδωτικών ουσιών θα παρουσιάσουν στατιστικά σημαντικές διαφορές πριν και μετά τον αγώνα.
3. Οι αθλητές υδατοσφαίρισης λόγω της πολύχρονης ενασχόλησής τους με το άθλημα θα παρουσιάσουν σημάδια μακροχρόνιων προσαρμογών αντιοξειδωτικής προστασίας.

Μηδενικές υποθέσεις:

1. Ο αγώνας υδατοσφαίρισης δεν θα αποτελέσει ισχυρό ερέθισμα συνολικής επιβάρυνσης ικανής να αναπτύξει συνθήκες οξειδωτικού στρες στους αθλητές.

2. Οι μετρήσεις στους υπό εξέταση δείκτες του οξειδωτικού στρες και των αντιοξειδωτικών ουσιών δεν θα παρουσιάσουν στατιστικά καμία σημαντική διαφορά πριν και μετά τον αγώνα.
3. Οι αθλητές υδατοσφαίρισης δεν θα παρουσιάσουν σημάδια μακροχρόνιων προσαρμογών αντιοξειδωτικής προστασίας.

## 2. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

### 2.1. Αερόβια άσκηση παρατεταμένης διάρκειας

Οι έρευνες σχετικά με την άσκηση και το οξειδωτικό στρες περιέχουν πολλές πτυχές. Λόγω των πολλών αστάθμητων παραγόντων οι άμεσες συγκρίσεις μεταξύ των διαφορετικών αποτελεσμάτων μπορεί να είναι αβάσιμες. Η μοντελοποίηση της άσκησης για να γενικεύονται τα αποτελέσματα τεχνικά φαντάζει δύσκολη. Είναι γεγονός ότι η άσκηση ικανοποιητικής έντασης ή/και διάρκειας μπορεί να προκαλέσει οξειδωτικό στρες. Ένα είδος άσκησης που εύκολα προσφέρεται για μετρήσεις στους δείκτες οξειδωτικού είναι οι προσπάθειες παρατεταμένης διάρκειας (επιβαρύνσεις >6 ωρών) λόγω του ισχυρού ερεθίσματος που ασκούν στον οργανισμό. Στις περισσότερες απ' αυτές τις έρευνες τη μεγαλύτερη συχνότητα καταγραφής του οξειδωτικού στρες παρουσίαζε η υπεροξειδωση λιπιδίων, με διαφορετικούς όμως δείκτες εκτίμησης αυτών σε πολλές περιπτώσεις (Machefer et al., 2004; Mastaloudis et al., 2001; Nieman et al., 2002; Kanter, Lesmes, Kaminsky, La Ham-Saeger, & Nequin, 1998). Οι Machefer και συνεργάτες (2004) σε υπερμαραθώνιο αγώνα 7 ημερών εκτίμησαν την λιπιδική υπεροξειδωση μέσω των αυξημένων τιμών στα TBARS, κάτι που δεν συμμερίστηκαν οι Mastaloudis και συνεργάτες (2001), οι οποίοι θεώρησαν ως πιο αξιόπιστους και άμεσους δείκτες της λιπιδικής υπεροξειδωσης, τουλάχιστον για άσκηση παρατεταμένης διάρκειας (αγώνας 50 χιλιομέτρων) τα F<sub>2</sub>-ισοπροστάνια. Το τελευταίο επιβεβαιώνεται και από τους Nieman και συνεργάτες (2002) σε αγώνα 80 χιλιομέτρων. Και στις δύο αυτές έρευνες τα F<sub>2</sub>-ισοπροστάνια βρέθηκαν αυξημένα. Οι ισοπροστάνες είναι λιπίδια που σχηματίζονται κυρίως *in vivo* από ελεύθερες ρίζες με υπεροξειδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξαν και οι Skenderi και συνεργάτες (2008) σχετικά με την αξιοπιστία της μηλονικής διαλδεύδης (MDA) και το κατά πόσο αντικατοπτρίζει πλήρως τον βαθμό υπεροξειδωσης λιπιδίων σε μετρήσεις μετά από υπερμαραθώνιο αγώνα τρεξίματος.



Μερικοί ερευνητές ασχολήθηκαν με την επίδραση που μπορεί να έχει η άσκηση στην αθηρογενετική δράση που προκύπτει απ' την υπεροξειδωση των λιποπρωτεϊνών. Έρευνες έχουν δείξει (Witzum, 1994) ότι η οξειδωση των λιποπρωτεϊνών του πλάσματος (LDL, VLDL) αποτελεί σημαντικό παράγοντα αθηρογένεσης, άρα μείωση της οξειδωσης αυτών μπορεί να έχει ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία. Επίσης η οξειδωση των λιπιδίων μπορεί να προκαλέσει αλλαγές στην δομή της κυτταρικής μεμβράνης με αποτέλεσμα απώλεια ενδοκυτταρικών υγρών και διάφορες μιτοχονδριακές δυσλειτουργίες (Jackson, & O'Farell, 1993; Jenkins, 1988). Οι Kaikkonen και συνεργάτες (2002) σε αγώνα μααραθωνίου έδειξαν, ότι η άσκηση μείωσε την ευαισθησία των λιπιδίων του ορού στην οξειδωση, εύρημα πολύ σημαντικό όσον αφορά την υγεία των ασκουμένων. Σε αντίθεση με τους τελευταίους η ευαισθησία της LDL στην οξειδωση, πάλι σε αγώνα μααραθωνίου και αγώνα μεγάλης διάρκειας (>4 ωρών) παρουσιάστηκε αυξημένη (Liu et al. 1999; Sanchez-Quesada et al., 1995) με παράλληλη όμως, αύξηση και της αντιοξειδωτικής άμυνας και του ουρικού οξέος. Σχετικά με την οξειδοαναγωγική κατάσταση της γλουταθειόνης ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα των Machefer και συνεργατών (2004). Ενώ, στις περισσότερες έρευνες με εξαντλητικές προσπάθειες η ανηγμένη γλουταθειόνη παρουσιάζει μείωση με ταυτόχρονη αύξηση της οξειδωμένης γλουταθειόνης, στη συγκεκριμένη έρευνα, μετά από τον υπερμαραθώνιο αγώνα των 7 ημερών η ανηγμένη γλουταθειόνη αυξήθηκε. Η αύξηση της γλουταθειόνης μετά από άσκηση έχει αναφερθεί και από άλλους ερευνητές σε εργασίες ανασκόπησης (Deneke & Fanburg, 1989; Ji, Fu, & Mitchell, 1992). Σύμφωνα με τους Ji και συνεργάτες (1992) αυτό συνδέεται με το ότι κατά το οξειδωτικό στρες, είναι πιθανή η παραγωγή της γλουταθειόνης από άλλα όργανα (συκώτι) και η μεταφορά της στον μυϊκό ιστό, όπου στην άσκηση υπάρχει μεγαλύτερη ανάγκη προστασίας ενάντια στις ελεύθερες ρίζες.

Ένα ακόμα απρόσμενο αποτέλεσμα σε μετρήσεις δεικτών του οξειδωτικού στρες

ήταν στην έρευνα των Chevion και συνεργατών (2003), όπου μετά από δύο πορείες 50 και 80 χλμ. διάρκειας ~10 και 20 ωρών αντίστοιχα, παρατηρήθηκε μείωση στα πρωτεϊνικά καρβονύλια του πλάσματος. Αυτό αποδόθηκε από τους ερευνητές σε κάποιο μηχανισμό, ο οποίος απομακρύνει τις οξειδωμένες πρωτεΐνες από το αίμα ή σε κάποιον αντιοξειδωτικό μηχανισμό ικανό να εξουδετερώσει τις ελεύθερες ρίζες. Ήταν χαρακτηριστικό ότι η μείωση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων ήταν πιο έντονη μετά την πρώτη πορεία, ενώ είχε αποδυναμωθεί μετά την δεύτερη (ίσως και λόγω μη πλήρους αποκατάστασης μεταξύ των δύο προσπαθειών).

Η ανταπόκριση της αντιοξειδωτικής άμυνας του οργανισμού στην άσκηση ποικίλει ανάλογα και με την φυσική κατάσταση των ασκουμένων. Στην έρευνα των Machefer και συνεργατών (2004) παρατηρήθηκε μείωση στην δραστηριότητα της υπεροξειδάσης της δισμουτάσης και αύξηση στην ανηγμένη γλουταθειόνη, ενώ στην έρευνα των Mastaloudis και συνεργατών (2001) αύξηση στο ασκορβικό οξύ, στην τοκοφερόλη και στο ουρικό οξύ ως άμεση ανταπόκριση της αντιοξειδωτικής άμυνας του οργανισμού στο οξειδωτικό στρες που προκλήθηκε από τον αγώνα 50 χιλιομέτρων τρεξίματος. Την σπουδαιότητα του ουρικού οξέος, ως ενός εκ των πιο σημαντικών αντιοξειδωτικών σε αερόβιες επιβαρύνσεις μεγάλης διάρκειας αναφέρουν και οι Kaikkonen και συνεργάτες (2002) και οι Skenderi και συνεργάτες (2008) στις εργασίες τους.

Οι έρευνες σε ακραίες συνθήκες άσκησης ωστόσο, αφορούν ένα μικρό τμήμα του αθλούμενου, και φυσικά μη αθλούμενου, πληθυσμού και έτσι, δεν απαντούσαν επαρκώς στο ερώτημα αν και κατά πόσο οι συνηθισμένες μορφές άσκησης, αερόβιας (όπως τρέξιμο, ποδηλασία για 30-50 λεπτά ημερησίως) ή αναερόβιας (όπως αντιστάσεις, μέγιστες προσπάθειες δρόμων, ποδηλασίας) αποτελούν ισχυρό ερέθισμα για την ανάπτυξη οξειδωτικού στρες. Για τη μελέτη των επιδράσεων πιο συνηθισμένης αερόβιας άσκησης στους δείκτες του οξειδωτικού στρες, στις περισσότερες έρευνες εφαρμόστηκαν

τυποποιημένα και ελεγχόμενα πρωτόκολλα άσκησης σε εργαστήρια. Τα μοντέλα αερόβιας άσκησης περιλαμβάνουν κυρίως επιβαρύνσεις υπομέγιστης έντασης (60-80%  $\text{VO}_2\text{max}$ ) διάρκειας τουλάχιστον 30 λεπτών. Έτσι, αύξηση στα TBARS έχει παρατηρηθεί σε άσκηση υπομέγιστης έντασης 30-70 λεπτών (Sen, Rankinen, Väisänen, & Rauramaa, 1994; Alessio, Goldfarb & Cao, 1997; Child, Wilkinson, Fallowfield, & Donnelly, 1998; Child, Wilkinson & Fallowfield, 2000; Ihlan et.al. 2004), ενώ σε άλλες έρευνες με άσκηση παρόμοιας επιβάρυνσης (δαπεδοεργόμετρο στο 75% του  $\text{VO}_2\text{max}$  για 30 λεπτά) δεν βρέθηκε καμία αλλαγή στα TBARS (Goldfarb et al., 2005; Chung, Goldfarb, Jamurtas, Hegde, & Lee, 1999). Προφανώς, σημαντικό ρόλο κατέχει και η φυσική κατάσταση των δοκιμαζόμενων που θα καθορίσει και το μέγεθος επιβάρυνσης. Είναι χαρακτηριστικό, ότι σε μερικές έρευνες, ενώ βρέθηκε αξιοσημείωτη αύξηση στα TBARS, δεν επιβεβαιώθηκε και στατιστικά, ίσως λόγω μικρού αριθμού δείγματος ή της μεγάλης διακύμανσης των τιμών (Duthie, Roberstson, Maughan & Morrice, 1990). Σε άλλους δείκτες λιπιδικής υπεροξειδωσης βρέθηκε αύξηση στα F2-ισοπροστάνια μετά από υπομέγιστη άσκηση (Waring et al, 2003; Watson et al., 2005). Πρέπει να επισημανθεί, ότι στη δεύτερη έρευνα το πρωτόκολλο άσκησης μετά το 30λεπτο υπομέγιστης έντασης περιλάμβανε και μέγιστη ένταση μέχρι την εξάντληση. Άρα, η συνολική επιβάρυνση ήταν σαφώς μεγαλύτερη απ' ότι μόνο σε υπομέγιστες επιβαρύνσεις.

Η υπεροξειδωση των πρωτεϊνών έχει συνδεθεί περισσότερο με την αναερόβια άσκηση (Bloomer et al., 2006), ενώ μείζονος σημασίας είναι και η φυσική κατάσταση των συμμετεχόντων (Bloomer et al., 2005). Σε αερόβια άσκηση τα δεδομένα είναι περιορισμένα. Η μόνη έρευνα με αύξηση στα πρωτεϊνικά καρβονύλια ήταν των Alessio και συνεργατών (2000) σε άσκηση, όμως που έφτανε μέχρι την εξάντληση. Οι Bloomer και συνεργάτες (2005) κατέγραψαν μεν αύξηση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων μετά από άσκηση σε κυκλοεργόμετρο (75%  $\text{VO}_2\text{max}$ ), χωρίς στατιστική σημαντικότητα όμως. Πιθανά η ένταση της άσκησης να ήταν ανεπαρκής να προκαλέσει πρωτεϊνική υπεροξειδωση, κάτι που

φαίνεται καλύτερα σε έρευνες όπου η άσκηση είχε πιο ισχυρή επιβάρυνση (Davis et al., 2003; Goldfarb, You, Bloomer, Landes, & Murphy, 2002).

Αύξηση στην οξειδωμένη γλουταθειόνη καταγράφηκε από τους Goldfarb και συνεργάτες (2005) και Aquilo και συνεργάτες (2005), ενώ η πρώτη αναφορά για αύξηση στην GSH χωρίς μάλιστα παράλληλη μεταβολή στην GSSG έγινε από τους Ji et al. (1993) με άσκηση αερόβιου χαρακτήρα, αλλά μέχρι την εξάντληση (κυκλοεργόμετρο στο 70%  $VO_2max$ , με μέση διάρκεια  $134 \pm 19$  λεπτά). Η αύξηση αυτή αποδόθηκε κυρίως στο ρόλο του γλυκαγόνου, που απ' ότι φαίνεται αποτελεί ισχυρό ερέθισμα για την απελευθέρωση της GSH στο αίμα από το συκώτι. Όταν στους αθλητές χορηγήθηκε ρόφημα υδατανθράκων, και άρα αποτροπή της αύξησης του γλυκαγόνου η GSH παρέμεινε αμετάβλητη. Η GSSG δεν μεταβλήθηκε μετά την άσκηση, κάτι που δεν μπόρεσε να αιτιολογηθεί από τους ερευνητές. Είναι, όμως, πιθανό επειδή οι συμμετέχοντες στην έρευνα ήταν καλά προπονημένοι να οφείλεται στην καλή αντιοξειδωτική ικανότητα τους. Αυτό φάνηκε και από τα αυξημένα επίπεδα της αναγωγάσης της γλουταθειόνης η οποία απέτρεπε την οξείδωση της γλουταθειόνης σε GSSG.

Η αερόβια άσκηση βελτιώνει την μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου ( $VO_2max$ ) η οποία με τη σειρά της έχει βρεθεί να ενισχύει την αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού (Franzoni et al., 2004). Στη συγκεκριμένη έρευνα μετρήσεις με ηλικιωμένους και νέους έδειξαν την αύξηση του οξειδωτικού στρες με την ηλικία, ωστόσο όσοι ηλικιωμένοι διήγαν ενεργή ζωή και ασκούσαν συστηματικά είχαν μικρότερες φθορές λόγω γήρανσης με καλύτερη αντιοξειδωτική προστασία. Την ενισχυμένη αντιοξειδωτική ικανότητα σε δρομείς μαραθώνιου και ημιμαραθώνιου (19% και 11% αντίστοιχα) διαπίστωσαν και οι Nielsen και συνεργάτες (2004).

Στις λίγες έρευνες που έγιναν στην κολύμβηση οι Nikolaidis και συνεργάτες (2007) εφάρμοσαν διαλλειματική άσκηση  $12 \times 50$  μέτρα κολύμβησης υπομέγιστης έντασης (70-

75% της μέγιστης ταχύτητας στα 50 μ.). Το οξειδωτικό στρες καταγράφηκε από όλους τους δείκτες που μετρήθηκαν, με αύξηση στα TBARS, στα πρωτεϊνικά καρβονύλια, στην οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG), στην καταλάση (CAT) και στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) και μείωση στην ανηγμένη γλουταθειόνη (GSH). Η δραστική αυτή μεταβολή των δεικτών αυτών μπορεί να οφείλεται, σύμφωνα με τους ερευνητές, στο νεαρό της ηλικίας των αθλητών ( $10\pm 1,0$  τα αγόρια και  $9,9\pm 1,1$  χρόνων τα κορίτσια). Οι νέοι αθλητές έχουν πιο αυξημένη οξυγόνωση στη μιτοχονδριακή αλυσίδα, αλλά και μάλλον μειωμένη αντιοξειδωτική άμυνα σε σχέση με τους ενήλικους αθλητές.

Σε μία ακόμη έρευνα οι Aquiló και συνεργάτες (2003) μελέτησαν την επίδραση της έντασης της άσκησης και της προπονητικής κατάστασης στα επίπεδα αντιοξειδωτικών βιταμινών και του λιπιδαιμικού προφίλ (τριγλυκερίδια, LDL, VLDL, HDL, ολική χοληστερόλη). Η έρευνα έγινε σε ερασιτέχνες και επαγγελματίες ποδηλάτες. Η διάκριση αυτή, βάσει αγωνιστικού επιπέδου ήταν σωστή, ωστόσο πρέπει να επισημανθεί ότι και οι ερασιτέχνες ποδηλάτες ήταν σε καλή φυσική κατάσταση και ασκούσαν συστηματικά  $14\pm 1$  ώρες/εβδομάδα. Η μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου ( $VO_2max$ ) ήταν μεγαλύτερη μεν στους επαγγελματίες ποδηλάτες, αλλά κυμάνθηκε γενικά σε υψηλά επίπεδα και στους ερασιτέχνες ( $80,2\pm 1,6$  ml/kg/min και  $62,5\pm 1,8$  ml/kg/min αντίστοιχα). Οι ερευνητές παρατήρησαν διαφορές στα επίπεδα αντιοξειδωτικών βιταμινών C και E μετά την άσκηση (οι τελευταίες αυξήθηκαν μόνο στους επαγγελματίες ποδηλάτες), αλλά δεν διευκρινίζεται αν αυτό οφείλεται στην προπονητική κατάσταση ή στο διαφορετικό είδος άσκησης (εξαντλητικός αγώνας ή κυκλοεργόμετρο). Το είδος της άσκησης, σύμφωνα με τους ερευνητές, προκαλεί και διαφορετική ανταπόκριση των λιποπρωτεϊνών του πλάσματος. Έτσι, διατυπώθηκε ότι η οξεία άσκηση μέγιστης έντασης κινητοποιεί τα αποθέματα χοληστερόλης σε μέτρια προπονημένα άτομα, ενώ η υπομέγιστη άσκηση μεγάλης διάρκειας εξαλείφει την LDL-χοληστερόλη σε καλά προπονημένους. Για το λόγο αυτό, προτείνεται το δεύτερο είδος

άσκησης ως καταλληλότερο για τη διατήρηση καλής καρδιο-κυκλοφορικής λειτουργίας.

## **2.2. Αναερόβια άσκηση**

Τα πρωτόκολλα αναερόβιας άσκησης περιλαμβάνουν συνήθως άσκηση σε δαπεδοεργόμετρο ή κυκλοεργόμετρο μέχρι την εξάντληση, ασκήσεις με αντιστάσεις ή ασκήσεις επαναληπτικής μεθόδου σε εντάσεις >90%. Σε δαπεδοεργόμετρο και άσκηση μέχρι την εξάντληση σε άτομα από μέτρια έως καλή φυσική κατάσταση ( $VO_{2max} = 51,2 \pm 6,7 \text{ ml} \times \text{kg}^{-1} \times \text{min}^{-1}$ ) οι Quindry, Stone, King, & Broeder (2003) δεν βρήκαν αύξηση στην λιπιδική υπεροξειδωση (LOOH, MDA), σε αντίθεση με τις έρευνες όπου καταγράφηκε λιπιδική υπεροξειδωση (Sentürk et al., 2005; Ashton et al., 1998) και αύξηση στα πρωτεϊνικά καρβονύλια σε κυκλοεργόμετρο μέχρι την εξάντληση (Sentürk et al., 2005). Στην έρευνα των Quindry και συνεργατών (2003) η ύπαρξη οξειδωτικού στρες στις μέγιστες εντάσεις διαπιστώθηκε κυρίως με την μείωση του ασκορβικού οξέος και του ουρικού οξέος. Σε μια παρόμοια έρευνα (κυκλοεργόμετρο μέχρι την εξάντληση) οι Jammes και συνεργάτες (2004) μελέτησαν την κινητικότητα των ελευθέρων ριζών στα διάφορα στάδια της άσκησης (αναπνευστικό κατώφλι, φάση  $VO_{2max}$ ) και βρήκαν συνεχή αύξηση στα TBARS σύμφωνα με την εξέλιξη της άσκησης. Η GSH παρουσίασε αρχικά αύξηση και μείωση στα διαστήματα πριν την εξάντληση και αμέσως μετά την άσκηση. Μετά από κυκλική προπόνηση με αντιστάσεις στο 75% του 1RM (repetition maximum) παρατηρήθηκε λιπιδική υπεροξειδωση (αύξηση στην MDA), παρ' όλη την αύξηση στη συγκέντρωση αντιοξειδωτικών ουσιών (α και γ τοκοφερόλη, β καροτίνη) από τους Ramel, Wagner, & Elmadfa (2004). Οι τιμές δεν διέφεραν μεταξύ προπονημένων και απροπόνητων ατόμων, κάτι που παραπέμπει στην ισχυρή επίδραση της άσκησης. Παρόμοια άσκηση με αντιστάσεις υψηλής έντασης οδήγησε σε λιπιδική υπεροξειδωση και στην έρευνα των McBride, Kraemer, Triplett-McBrite, & Sebastianelli (1998).

Οι Groussard και συνεργάτες (2003) μελέτησαν την επίδραση της αναερόβιας

άσκησης εφαρμόζοντας το wingate test. Η λιπιδική υπεροξειδωση καταγράφηκε με την μέθοδο του ηλεκτρονικού μαγνητικού συντονισμού (ESR), παραδόξως, όμως αυτό δεν επιβεβαιώθηκε και με τα TBARS, τα οποία, όχι μόνο δεν αυξήθηκαν, αλλά παρουσίασαν μείωση στα 20 και στα 40 λεπτά της αποκατάστασης. Σύμφωνα με τους ερευνητές, αυτό πιθανά να οφείλεται στην γρήγορη απομάκρυνση της MDA κατά την αποκατάσταση (Leaf, Kleinman, Hamilton, & Barstow, 1997), αλλά μπορεί και να σημαίνει ότι η MDA δεν αποτελεί κατάλληλο δείκτη λιπιδικής υπεροξειδωσης για τις αναερόβιες επιβαρύνσεις μέγιστης έντασης

Η έκκεντρη άσκηση απασχόλησε τους ερευνητές, λόγω της σχέσης που έχει η ασκησιογενής μυϊκή βλάβη με το οξειδωτικό στρες. Από τις πρώτες έρευνες που μελέτησαν αυτή τη σχέση οι Lee & Clarkson (2003) δεν βρήκαν καμία μεταβολή στην αναλογία της GSH/GSSG μετά από μυϊκή βλάβη που προκλήθηκε από έκκεντρη άσκηση. Αντιθέτως καταγράφηκε αύξηση στα πρωτεϊνικά καρβονύλια στις 24 και 48 ώρες μετά την άσκηση. Φαίνεται, ότι για την εκτίμηση της μυϊκής βλάβης τα πρωτεϊνικά καρβονύλια αποτελούν πιο αξιόπιστο και σταθερό δείκτη, σε αντίθεση με την γλουταθειόνη, της οποίας οι μεταβολές είναι αναστρέψιμες και παρουσιάζουν συνεχή κινητικότητα. Προκαλώντας μυϊκή βλάβη, όπως διαπιστώθηκε από τα επίπεδα της κρεατινικής κινάσης (CK), με κατακόρυφα άλματα 6 × 30 δευτερολέπτων οι Ortenblad, Madsen, & Djurhuus (1997) δεν βρήκαν καμία μεταβολή στην MDA σε σχέση με τις τιμές ηρεμίας ούτε σε καλά προπονημένους, ούτε σε απροπόνητους. Παρομοίως, και για την συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών ενζύμων στο αίμα (SOD, GPx, GR, CAT). Διαφορές διαπιστώθηκαν στην ηρεμία, στα αντιοξειδωτικά ένζυμα στον μυ με μεγαλύτερες συγκεντρώσεις για τους προπονημένους υποδηλώνοντας, ότι η αναερόβια προπόνηση υψηλής έντασης μπορεί να δυναμώσει την αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού ενάντια στις ελεύθερες ρίζες, χωρίς όμως να μπορεί να αποτρέψει ή να διαφοροποιήσει τις μεταβολές στους δείκτες του οξειδωτικού στρες μετά την άσκηση. Ίσως,

σε άσκηση ισχυρότερης επιβάρυνσης οι διαφορές αυτές στην αντιοξειδωτική δράση να ήταν πιο εμφανείς.

Από τα πιο κλασσικά μοντέλα έκκεντρης άσκησης είναι το τρέξιμο σε κατηφόρα. Σε ένταση 75% του  $VO_2\max$  για 45 λεπτά οι Sacheck, Milbury, Cannon, Roubenoff, & Blumberg (2003) κατάφεραν να προκαλέσουν σε νέους και ηλικιωμένους ασκούμενους και αυξημένη οξυγόνωση των ιστών και ασκησιογενή μυϊκή βλάβη. Η λιπιδική υπεροξειδωση καταγράφηκε μέσω της αύξησης και της MDA και των F2-ισοπροστανών με διαφορά, όμως στην χρονική ανταπόκριση μετά την άσκηση. Η MDA αυξήθηκε αμέσως μετά την άσκηση και επέστρεψε στα βασικά επίπεδα 6 ώρες μετά, ενώ τα F2-ισοπροστάνια εμφάνισαν την πρώτη αύξηση 24 ώρες μετά την άσκηση. Η χρονική αυτή διαφορά υποδηλώνει μάλλον και τους διαφορετικούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στις μεταβολές αυτών των δεικτών. Η MDA φαίνεται, ότι επηρεάζεται περισσότερο από την αυξημένη κατανάλωση του οξυγόνου (απόρροια του συνεχούς τρεξίματος υπομέγιστης έντασης), ενώ τα F2-ισοπροστάνια από την μυϊκή βλάβη και τις σύνοδες διαδικασίες φλεγμονής (απόρροια του κατηφορικού τρεξίματος). Την σύνδεση της MDA με την αυξημένη κατανάλωση του οξυγόνου υποστηρίζουν και οι Simpson και συνεργάτες (2005). Προκαλώντας μυϊκή βλάβη μετά από αγώνα ορεινού τρεξίματος βρήκαν αύξηση στην MDA. Σε αντίστοιχες συνθήκες ασκησιογενούς μυϊκής βλάβης, που προκλήθηκε από ασκήσεις με αντιστάσεις, με μικρότερη κατανάλωση οξυγόνου απ' ότι στο τρέξιμο η MDA δεν μεταβλήθηκε (Child et al., 2000). Είναι πιθανό καθοριστικός παράγοντας για την μεταβολή της MDA να είναι περισσότερο η κατανάλωση οξυγόνου (χαρακτηριστικό ορεινού τρεξίματος) κι όχι τσο η μυϊκή βλάβη.

Οι Sastre και συνεργάτες (1992) εξέτασαν την οξειδοαναγωγική κατάσταση της γλουταθειόνης μετά από τρέξιμο σε δαπεδοεργόμετρο μέχρι την εξάντληση (πρωτόκολο Bruce). Δεν βρέθηκε μεταβολή στην GSH μετά την άσκηση, ενώ στα 30 και 60 λεπτά της ανάνηψης υπήρξε σημαντική μείωση. Αντιθέτως η GSSG αυξήθηκε σημαντικά αμέσως μετά



την άσκηση πιστοποιώντας έτσι την ύπαρξη οξειδωτικού στρες. Το πρωτόκολλο Bruce είναι αρκετά απαιτητικό και αποτελεί ισχυρό ερέθισμα, ιδίως για κάποιον με μέτρια φυσική κατάσταση. Το στρες που προκλήθηκε στους συμμετέχοντες στην έρευνα ήταν ισχυρό (γαλακτικό οξύ >12 μm). Είναι πιθανό σε συνθήκες τέτοιας έντασης, η σύνθεσης της γλουταθειόνης να παρεμποδίζεται από την άσκηση.

### **2.3. Σύγκριση αερόβιας και αναερόβιας άσκησης**

Σε μερικές μελέτες συγκρίνονται βασικά είδη ασκήσεων ή ίδια άσκηση διαφορετικής έντασης ή αθλητές διαφορετικών αθλημάτων προκειμένου να κατανοηθούν καλύτερα οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στις συγκεκριμένες επιβαρύνσεις. Συγκρίνοντας μέγιστες και υπομέγιστες προσπάθειες μεγάλης διάρκειας (90 λεπτά) σε κυκλοεργόμετρο οι Gohil, Vigui, Stanley, Brooks, & Packer (1988) βρήκαν αμετάβλητη την συγκέντρωση της γλουταθειόνης στην μέγιστη προσπάθεια και μείωση της ανηγμένης γλουταθειόνης με παράλληλη αύξηση της οξειδωμένης στην υπομέγιστη προσπάθεια. Μάλιστα, η μείωση αυτή ήταν εμφανής στα πρώτα 20 λεπτά της άσκησης, στη συνέχεια δεν υπήρξαν άλλες μεταβολές, ενώ μετά την άσκηση παρατηρήθηκε αύξηση της GSH. Η διαφορά αυτή αποδόθηκε πέρα απ' την διαφορά στην κατανάλωση του οξυγόνου, κυρίως στην συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος, η οποία ήταν μεγαλύτερη κατά την μέγιστη προσπάθεια θεωρώντας ότι το γαλακτικό οξύ μπορεί να λειτουργήσει ως ρυθμιστικός παράγοντας εξισορρόπησης της οξειδοαναγωγικής κατάστασης γλουταθειόνης.

Από τις πρώτες έρευνες που μελέτησαν την επίδραση αερόβιας και αναερόβιας άσκησης υψηλής επιβάρυνσης σε αντιστοίχως καλά προπονημένους αθλητές ήταν των Marzatico, Pansarasa, Bertorelli, Somenzini, & Della Valle (1997). Ενδιαφέρον παρουσίασε η καταγραφή των τιμών ηρεμίας, που τελικά αντικατόπτριζε τις μακροχρόνιες προσαρμογές των αθλητών στην ειδική άσκηση που διεξήγαγαν. Οι τιμές των αντιοξειδωτική ουσιών

(SOD, GSH-Px, CAT) στην ηρεμία ήταν υψηλότερες στους αθλητές σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, εκτός απ' την καταλάση που ήταν αυξημένη μόνο στους αθλητές αντοχής. Η λιπιδική υπεροξειδωση καταγράφηκε με τα επίπεδα της MDA, τα οποία βρέθηκαν αυξημένα στην ηρεμία, αποτέλεσμα που δείχνει την ύπαρξη ενός 'βασικού' οξειδωτικού στρες, λόγω των πολλαπλών προπονητικών μονάδων. Μετά την άσκηση η MDA αυξήθηκε ακόμα περισσότερο και στις δύο ομάδες αθλητών, παρά την καλή αντιοξειδωτική τους δράση. Η τελευταία φάνηκε στους αθλητές αντοχής, στους οποίους την αρχική αύξηση της MDA ακολούθησε συνεχή μείωση μέχρι τα βασικά επίπεδα καθ' όλη τη διάρκεια της ανάνηψης.

Οι Alessio και συνεργάτες (2000) σύγκριναν τις επιδράσεις οξείας αερόβιας και ισομετρικής άσκησης σε δείκτες οξειδωτικού στρες. Ο σχεδιασμός της έρευνας ήταν τέτοιος, ώστε η χρονική διάρκεια και η αίσθηση κόπωσης και επιβάρυνσης των συμμετεχόντων να μην διέφεραν ανάμεσα στις δύο μορφές άσκησης, ωστόσο διαφορές παρουσιάζονται στην ένταση της άσκησης και στις συμμετέχουσες μυϊκές ομάδες (κάτω άκρα έναντι. άνω άκρα). Τα αποτελέσματα έδειξαν υπεροξειδωση λιπιδίων και στις δύο μορφές άσκησης, ενώ διαφορά φάνηκε στα πρωτεϊνικά καρβονύλια, τα οποία ήταν αυξημένα κυρίως στην αερόβια άσκηση. Δεν διευκρινίζεται, πάντως, αν η αύξηση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων οφειλόταν στο είδος της άσκησης (αερόβια) ή στην μέγιστη επιβάρυνση που αυτή παρείχε. Η εμφάνιση λιπιδικής υπεροξειδωσης κατά την ισομετρική άσκηση, στην οποία οι μεταβολές στον όγκο οξυγόνου είναι μικρές, δείχνουν ότι η λιπιδική υπεροξειδωση συνδέεται και με άλλους μηχανισμούς, εκτός αυτών από την αυξημένη κατανάλωση οξυγόνου. Είναι πιθανό ο μηχανισμός αύξησης οξειδωτικού στρες σε τέτοιες μορφές ασκήσεων να τοποθετείται στην μυϊκή βλάβη και τις επακόλουθες διαδικασίες φλεγμονής (Saxton, Donnelly, & Roper, 1994).

Οι Ilan, Akyüz, Turgut, & Getsfrid (2001) σύγκριναν δύο πρωτόκολλα άσκησης σε κολυμβητές. 100 μέτρα κολύμβησης που αντιπροσώπευαν την αναερόβια άσκηση και 800 μέτρα άσκησης για την αερόβια άσκηση και μέτρησαν την αντίδραση των κολυμβητών στην

αντιοξειδωτική τους δράση. Αύξηση βρέθηκε στην GPx και την καταλάση, αποτέλεσμα που υποδεικνύει την επιστράτευση τους για εξουδετέρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Παρόμοια αντίδραση είχαμε και για την γλουταθειόνη, όπου η μείωσή της δείχνει σημαντική χρήση της στην αντιοξειδωτική άμυνα. Διαφορά μεταξύ των δύο ειδών άσκησης δεν υπήρχε αμέσως μετά την άσκηση, αλλά στο χρόνο επιστροφής μετά την άσκηση των συγκεντρώσεων στα φυσιολογικά επίπεδα. Ο χρόνος αυτός ήταν μεγαλύτερος μετά την αναερόβια άσκηση, η οποία όπως φαίνεται απ' την έρευνα αποτέλεσε ισχυρότερο ερέθισμα παραγωγής ελευθέρων ριζών.

Οι Phan, Kamanli, Ozmerdivenli, & Phan (2004) εφάρμοσαν οξεία άσκηση μόνο αερόβιας επιβάρυνσης, μόνο αναερόβιας επιβάρυνσης και μεικτά αερόβιας και αναερόβιας επιβάρυνσης σε τρεις διαφορετικές ομάδες. Δεν βρέθηκε καμία διαφορά στην γλουταθειόνη, ενώ σημαντική αύξηση στα TBARS υπήρξε στην ομάδα που έκανε αερόβια και αναερόβια άσκηση. Πρέπει να αναφερθεί ωστόσο, ότι και στις τιμές ηρεμίας και στις τιμές αμέσως μετά την άσκηση τα υψηλότερα επίπεδα TBARS τα είχε η ομάδα της αερόβιας άσκησης. Η ομάδα της αερόβιας και αναερόβιας άσκησης είχε αρκετά χαμηλά TBARS πριν την άσκηση, οπότε οποιαδήποτε μεταβολή αποδεικνύεται πιο εύκολα στατιστικά. Η έλλειψη σημαντικών μεταβολών, πρέπει να εξεταστεί και στο είδος της άσκησης. Η αερόβια άσκηση περιλάμβανε τρέξιμο σε δαπεδοεργόμετρο για 12 λεπτά με ταχύτητα 8,5 χλμ/ώρα και κλίση 4%, ενώ η αναερόβια μετά την απαραίτητη προθέρμανση ποδηλασία για 30 sec. Κανένα απ' τα δύο είδη ασκήσεων δεν θεωρείται ισχυρής συνολικής επιβάρυνσης, ικανής να προκαλέσει οξειδωτικό στρες. Δεν είναι περίεργο, λοιπόν, ότι η μικτή άσκηση (και άρα μεγαλύτερης συνολικής επιβάρυνσης) προκάλεσε και τις ισχυρότερες μεταβολές. Ίσως, σ' αυτή την έρευνα, ο συνολικός όγκος επιβάρυνσης να ήταν ο καθοριστικός παράγοντας, και όχι τόσο το είδος της άσκησης, που στις δύο πιο απλές μορφές της μάλλον ήταν ανεπαρκής για να προκαλέσει οξειδωτικό στρες.

Οι Bloomer και συνεργάτες (2005) σύγκριναν αερόβια και αναερόβια άσκηση ίσης διάρκειας. Οι μέχρι τότε έρευνες σύγκρισης αερόβιας και αναερόβιας άσκησης δεν διασφάλιζαν ίση διάρκεια άσκησης και επομένως ίσο όγκο επιβάρυνσης. Τα αποτελέσματα έτσι δεν μπορούσαν να είναι άμεσα συγκρίσιμα. Σ' αυτή την έρευνα οι ερευνητές επεδίωξαν να εξασφαλίσουν ίδιες συνθήκες άσκησης (υπομέγιστη άσκηση στο 70% του  $VO_{2max}$  για 30 λεπτά με τις ίδιες εμπλεκόμενες μυϊκές ομάδες) στα ίδια άτομα, παίρνοντας συνολικά πέντε δείγματα αίματος (πριν, αμέσως μετά, 1 ώρα μετά, 6 ώρες μετά και 24 ώρες μετά την άσκηση). Παρ' όλα αυτά, η κατανάλωση οξυγόνου, όπως αναμενόταν, ήταν μεγαλύτερη στην αερόβια άσκηση απ' ό,τι στην αναερόβια. Φαίνεται, ότι για να πετύχουμε ισοσκελίση στην κατανάλωση οξυγόνου, θα πρέπει η αναερόβια άσκηση να γίνεται σε μεγαλύτερη ένταση ή/και διάρκεια απ' την αερόβια άσκηση. Αλλά, έτσι, θα έχουμε διαφοροποιήσεις σε άλλους παράγοντες της άσκησης. Τα αποτελέσματα έδειξαν διαφορές στα πρωτεϊνικά καρβονύλια σε σχέση με τις τιμές πριν την άσκηση 6 και 24 ώρες μετά την άσκηση μόνο κατά την αναερόβια άσκηση. Είναι χαρακτηριστικό ότι, στην αναερόβια άσκηση τα πρωτεϊνικά καρβονύλια παρουσίασαν ελαφριά αύξηση μετά την άσκηση, μείωση την πρώτη ώρα της ανάνηψης, και συνεχή αύξηση μέχρι και 24 ώρες μετά την άσκηση, ενώ αντιθέτως κατά την αερόβια άσκηση την ελαφριά (αλλά στατιστικά μη σημαντική) αύξηση ακολούθησε συνεχή μείωση καθ' όλη τη διάρκεια της ανάνηψης. Στις 24 ώρες η διαφορά μεταξύ των δύο τύπων άσκησης ήταν σημαντική. Στα TBARS δεν βρέθηκε διαφορά σε καμία μέτρηση ούτε στην αερόβια, ούτε στην αναερόβια άσκηση. Σε αντίθεση με άλλες έρευνες, όπου καταγράφηκαν διαφορές πριν την άσκηση και αμέσως μετά (Alessio, Goldfarb, & Cao, 1997; Sacheck et al., 2003) στη συγκεκριμένη έρευνα μάλλον η ένταση της άσκησης (~73%  $VO_{2max}$ ) ήταν ανεπαρκής για να προκαλέσει λιπιδική υπεροξειδωση. Όσον αφορά την αναερόβια άσκηση, οι περισσότερες έρευνες (Boyer, Goldfarb & Jamurtas, 1996; Child et al., 1999; Hellsten, Frandsen, Orthenblad, Sjodin & Richtefer, 1997; Saxton et al., 1994)

συμφωνούν ότι αυτού του είδους η άσκηση δεν προκαλεί λιπιδική υπεροξειδωση, τουλάχιστον, όπως αυτή καταγράφεται από τους δείκτες της MDA και των TBARS. Η λιπιδική υπεροξειδωση έχει συνδεθεί περισσότερο με την αυξημένη παροχή και κατανάλωση του οξυγόνου, χαρακτηριστικό κυρίως της αερόβιας άσκησης. Φαίνεται ότι οι μηχανισμοί παραγωγής ελευθέρων ριζών που έχουν συνδεθεί με την αύξηση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων (μυϊκή βλάβη, οξειδάση της ξανθίνης, υπεροξειδωση πρωτεϊνών της αίμης) δεν βρίσκουν αντίστοιχη εφαρμογή και στη περίπτωση της MDA. Τέλος, η οξειδωμένη γλουταθειόνη ήταν αυξημένη αμέσως μετά την αερόβια άσκηση και αμετάβλητη στην αναερόβια άσκηση. Η ανηγμένη γλουταθειόνη ήταν μειωμένη και στις δύο μορφές άσκησης. Εδώ, πρέπει να εμπλέκεται ο ίδιος μηχανισμός της αυξημένης ροής οξυγόνου για την οξειδωση της γλουταθειόνης, όπως και στην λιπιδική υπεροξειδωση.

Σε μια άλλη έρευνα οι Bloomer και συνεργάτες (2006) μελέτησαν τις επιδράσεις της αναερόβιας άσκησης στους δείκτες του οξειδωτικού στρες εφαρμόζοντας δύο διαφορετικά πρωτόκολλα άσκησης, τα οποία χρησιμοποιούνταν και πιο συχνά από τους ερευνητές. Έτσι υπέβαλλαν τους ίδιους συμμετέχοντες στην έρευνα σε μια δοκιμασία που περιλάμβανε μέγιστα σπριντ σε ποδήλατο και ημικαθίσματα μέχρι μυϊκής κόπωσης. Το κυριότερο ερώτημα της έρευνας ήταν να διερευνηθεί ο ρόλος της μυϊκής βλάβης, που θεωρήθηκε ότι προκαλείται περισσότερο στην άσκηση με αντιστάσεις. Τα αποτελέσματα δεν βρήκαν καμία διαφορά ούτε στους δείκτες του οξειδωτικού στρες, ούτε στους δείκτες της μυϊκής βλάβης, γεγονός που αιτιολογήθηκε με την μέτρια έως καλή αναερόβια ικανότητα των συμμετεχόντων. Φαίνεται, ότι το ενδεχόμενο της οξειδωτικής βλάβης σε τέτοιου είδους επιβαρύνσεις, είναι κυρίως υπαρκτό σε άτομα με ελλιπή φυσική κατάσταση.

Καμία διαφορά στους δείκτες του οξειδωτικού στρες μεταξύ άσκησης σε κυκλοεργόμετρο και ισομετρικής άσκησης δεν βρέθηκε από τους Steinberg, Delliaux, & Jammes (2006). Και οι δύο μορφές άσκησης προκάλεσαν οξειδωτικό στρες (αύξηση στα

TBARS και μείωση στην GSH). Μόνη διαφορά στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα, η οποία αυξήθηκε στην αερόβια άσκηση, αλλά δεν μεταβλήθηκε στην ισομετρική άσκηση, οδηγώντας τους ερευνητές στο συμπέρασμα ότι η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα δεν είναι αξιόπιστος δείκτης εκτίμησης του οξειδωτικού στρες σε επιβαρύνσεις ισομετρικού τύπου.

Οι Vollaard, Cooper & Shearman (2006) εξέτασαν την επίδραση που μπορεί να έχει η περίοδος φορμαρίσματος στο οξειδωτικό στρες των αθλητών. Το φορμάρισμα πριν από αγώνες είναι γνωστή μέθοδος για βελτίωση των επιδόσεων των αθλητών και άρα εύλογα θεμελιώνεται η υπόθεση ότι η βελτίωση αυτή θα συνοδεύεται και από μειωμένη ανάπτυξη οξειδωτικού στρες. Κάτι τέτοιο δεν επιβεβαιώθηκε από τα αποτελέσματα, οι δείκτες οξειδωτικού στρες που μετρήθηκαν (οξειδωμένη αίμη και GSH/GSSG) δεν παρουσίασαν διαφορές πριν και μετά την παρέμβαση. Αυτό το αποτέλεσμα αποσυνδέει το οξειδωτικό στρες από την ικανότητα για επίδοση, που σημαίνει ότι το συσσωρευμένο οξειδωτικό στρες δεν επηρεάζει και απαραίτητα τις επιδόσεις των αθλητών. Βέβαια, στη συγκεκριμένη έρευνα οι συμμετέχοντες ήταν αθλητές με καλή αερόβια αντοχή (τριαθλητές) και σε συνδυασμό με την έλλειψη διαφορών μετά από περίοδο υψηλής φόρτισης δείχνει την ικανότητα του οργανισμού να αντισταθμίσει την συσσώρευση οξειδωτικού στρες σε σύντομο χρονικό διάστημα, χωρίς απαραίτητα την εφαρμογή περιόδου φορμαρίσματος.

Οι Kostaropoulos και συνεργάτες (2006) δεν βρήκαν καμία διαφορά στα TBARS και στην γλουταθειώνη μεταξύ δρομέων ταχύτητας και δρομέων αντοχής. Διαφορά προέκυψε μόνο στην καταλάση, η οποία βρέθηκε να έχει υψηλότερες τιμές στους δρομείς αντοχής. Το γεγονός αυτό αποδόθηκε στις προσαρμογές του οργανισμού στην μακροχρόνια έκθεση του σε αερόβια άσκηση.

#### **2.4. Μεσοπρόθεσμη και μακροχρόνια επίδραση της άσκησης**

Ενώ η οξεία άσκηση φαίνεται να προάγει την παραγωγή ελευθέρων ριζών η συστηματική και

μακροχρόνια ενασχόληση με την άσκηση μπορεί να αποτελέσει ασπίδα προστασίας για τους αθλούμενους αυξάνοντας την αντιοξειδωτική τους ικανότητα και μειώνοντας έτσι την έκθεσή τους στο οξειδωτικό στρες. Τα παραπάνω υποστηρίζονται από την έρευνα των Fatouros και συνεργατών (2004), όπου μετά από πρόγραμμα 16 εβδομάδων αερόβιας άσκησης σε ηλικιωμένους παρουσιάστηκαν στην ηρεμία μειωμένα επίπεδα λιπιδικής υπεροξειδωσης και μειωμένη αύξηση αυτής μετά από εξαντλητική άσκηση. Επίσης, φάνηκε πως μετά το τέλος του προγράμματος άσκησης η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) των ασκουμένων ήταν αυξημένη και στην ηρεμία και μετά την άσκηση. Σε παρόμοια συμπεράσματα οδηγήθηκαν και οι Di Massimo, Scarpelli, Penco & Tozzi-Ciancarelli (2004) και οι Miyazaki και συνεργάτες (2001) όσον αφορά την αυξημένη αντιοξειδωτική ικανότητα και τις μειωμένες τιμές των TBARS μετά από παρεμβατικό πρόγραμμα ήπιας άσκησης 20 και 12 εβδομάδων αντίστοιχα. Ενισχυμένη δραστηριότητα των αντιοξειδωτικών ουσιών βρήκαν και οι Elosua και συνεργάτες (2003) μετά από πρόγραμμα 16 εβδομάδων αερόβιας άσκησης σε κυκλοεργόμετρο. Η διαπίστωση αυτή διατυπώθηκε και μετά από συγκρίσεις προπονημένων ατόμων νεαρής και προχωρημένης ηλικίας με μη προπονημένους (Franzoni et al. 2004; Liu et al. 1999). Ωστόσο, η άμεση αυτή επίδραση της μακροχρόνιας άσκησης δεν επιβεβαιώθηκε από όλες τις σχετικές έρευνες. Οι Leeuwenburgh και συνεργάτες (1997) υποστηρίζουν ότι οι ευεργετικές προσαρμογές στην άσκηση είναι εξειδικευμένες ανάλογα με τον ιστό που εμπλέκεται και ακόμα περισσότερο ανάλογα με τον τύπο των μυϊκών ινών, ενώ οι Hack και συνεργάτες (1997) αναφέρουν, ότι η αυξημένη αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού είναι εμφανής μόνο μετά από πρόγραμμα αερόβιας άσκησης και όχι τόσο μετά από πρόγραμμα αναερόβιας άσκησης.

## **2.5. Το οξειδωτικό στρες στα ομαδικά αθλήματα**

Περιορισμένα φαίνεται να είναι τα δεδομένα σε αθλητές ομαδικών αθλημάτων, και μάλιστα

σε έρευνες που διεξάγονται σε συνθήκες αγώνων. Οι Schippinger και συνεργάτες (2002) μέτρησαν παίκτες Αμερικανικού ράγκμπυ και βρήκαν αύξηση σε δείκτες οξειδωτικού στρες στην ηρεμία τρεις μήνες μετά την περίοδο προετοιμασίας, όταν δηλαδή, λόγω των συχνών αγωνιστικών υποχρεώσεων οι επιβαρύνσεις που δέχονταν οι αθλητές ήταν επαναλαμβανόμενες. Αυξημένες τιμές σε δείκτες οξειδωτικού στρες σε ηρεμία μετρήθηκαν και σε επαγγελματίες καλαθοσφαιριστές (Schröder, Navarro, Tramullas, Mora & Galiano, 2000) την περίοδο που ο προπονητικός φόρτος ήταν ο μεγαλύτερος σ' όλη την αγωνιστική περίοδο, αποτέλεσμα που δείχνει το υψηλό προπονητικό στρες και την ανεπαρκή αποκατάσταση, στα οποία υποβάλλονται οι αθλητές. Στη συγκεκριμένη έρευνα η ενίσχυση της αντιοξειδωτικής άμυνας του οργανισμού με συμπληρώματα διατροφής είχε ευεργετικά αποτελέσματα μειώνοντας την συγκέντρωση των δεικτών οξειδωτικού στρες. Σε παίκτες ποδοσφαίρου (Brittes et al., 1999) και σε παίκτες του ράγκμπυ (Evelson et al., 2002) η συνεχή εφαρμογή αερόβιας φυσικής δραστηριότητας μέσω των πολλαπλών προπονήσεων οδήγησε στην αύξηση της αντιοξειδωτικής δράσης των αθλητών στην ηρεμία.. Οι Yilmaz και συνεργάτες (2007) μέτρησαν το οξειδωτικό στρες και την αντιοξειδωτική ικανότητα νεαρών καλαθοσφαιριστών σε πραγματικές συνθήκες προπόνησης και αγώνων και ενώ βρήκαν αυξημένη αντιοξειδωτική ικανότητα στους αθλητές σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, ο συνολικός δείκτης οξειδωτικού στρες δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές. Τα αποτελέσματα αυτά, σύμφωνα με τους συγγραφείς, εμπεριείχαν τις προσαρμογές του οργανισμού στη συστηματική φυσική δραστηριότητα, που σημαίνει ότι το οξειδωτικό στρες που προκαλούνταν από την άσκηση αντισταθμιζονταν από την αυξημένη αντιοξειδωτική ικανότητα των αθλητών δημιουργώντας μια καινούργια ισορροπία μεταξύ οξειδωτικής και αντιοξειδωτικής δράσης. Η αυξημένη αντιοξειδωτική δράση, σε διαφορετικό όμως βαθμό και ανάλογα και με το άθλημα, επιβεβαιώθηκε και απο τους Dékány και συνεργάτες (2006), σε αθλητές και αθλήτριες της καλαθοσφαίρισης, της χειροσφαίρισης, της υδατοσφαίρισης και



του χοκεϋ επί πάγου. Οι ερευνητές, στη συγκεκριμένη έρευνα, υποστήριξαν ότι η αυξημένη δραστηριότητα της δισμουτάσης του υπεροξειδίου ήταν πιο έντονη στις αθλήτριες με καλύτερη αεροβική ικανότητα. Αυτό μας επιτρέπει να συμπεράνουμε ότι τα επίπεδα της αντιοξειδωτικής δραστηριοποίησης στο πλάσμα μπορούν να αποτελέσουν χρήσιμο βοήθημα αξιολόγησης της φυσικής κατάστασης των αθλουμένων.

Από τις υπάρχουσες έρευνες συμπεραίνουμε, ότι η ανάπτυξη οξειδωτικού στρες συνολικά, συσχετίζεται περισσότερο με τον συνολικό όγκο επιβάρυνσης, όπως αυτός καθορίζεται από τις επιμέρους παραμέτρους της άσκησης (ένταση, διάρκεια, ανάπαυλα κτλ) και όχι τόσο από το είδος της άσκησης. Οποιοδήποτε είδος άσκησης μπορεί να προκαλέσει οξειδωτικό στρες αρκεί να υποβάλλει τους κατά περίπτωση συμμετέχοντες σε επιβαρύνσεις που να προσεγγίζουν ή ακόμα και να ξεπερνούν τα ατομικά τους όρια την συγκεκριμένη περίοδο των μετρήσεων. Λόγω των προσαρμογών που παρατηρούνται με τη συστηματική άσκηση είναι πιθανό κάποια πρωτόκολλα άσκησης να μην είναι ικανά να ανατρέψουν την οξειδοαναγωγική ισορροπία του οργανισμού.

### 3. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

#### 3.1. Συμμετέχοντες

Στην έρευνα έλαβαν μέρος δώδεκα αθλητές υδατοσφαίρισης ( $25,83 \pm 3,74$  ετών) προερχόμενοι από δύο διαφορετικά σωματεία, τα οποία συμμετείχαν στο Πανελλήνιο Πρωτάθλημα της Α<sub>2</sub> Εθνικής Κατηγορίας. Οι αθλητές είχαν συστηματική ενασχόληση σε αγωνιστικό επίπεδο με την υδατοσφαίριση για τουλάχιστον πέντε χρόνια και την τρέχουσα περίοδο, που έγιναν οι μετρήσεις, προπονούσαν τουλάχιστον 10 ώρες/εβδομάδα. Κανένας απ' τους αθλητές δεν ανέφερε, ότι πάσχει από οξύ ή χρόνιο νόσημα και δεν τους χορηγούνταν κάποια φαρμακευτική αγωγή. Τα σωματομετρικά και φυσιολογικά στοιχεία των υδατοσφαιριστών παρουσιάζονται στον πίνακα 1. Όλοι οι αθλητές συμμετείχαν εθελοντικά και αφού ενημερώθηκαν για τον σκοπό, το περιεχόμενο και τις διαδικασίες της έρευνας υπέγραψαν γραπτή δήλωση αποδοχής. Η έρευνα έλαβε έγκριση από την Επιτροπή Βιοηθικής του Τμήματος Φυσικής Αγωγής και Αθλητικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

#### 1.

Ανθρωπομετρικά και φυσιολογικά στοιχεία των υδατοσφαιριστών.

	N		
Ηλικία (έτη)	12	25,83	3,74
Ύψος (m)	12	1,85	0,04
Σωματικό Βάρος (kg)	12	89,676	7,77
ΔΜΣ (kg/m <sup>2</sup> )	12	26,04	1,75
Γαλακτικό μετά τον αγώνα (mmol/l)	12	9,16	3,91
Ενεργός χρόνος συμμετοχής (λεπτά)	12	42,81	9,39

ΔΜΣ = Δείκτης μάζας σώματος,

#### 3.2. Η άσκηση

Η άσκηση περιλάμβανε έναν επίσημο αγώνα υδατοσφαίρισης απ' το αγωνιστικό πρόγραμμα του Πανελληνίου Πρωταθλήματος. Οι μετρήσεις των αθλητών των δύο σωματείων έγιναν σε

δύο διαφορετικούς αγώνες, οι οποίοι χρονικά απείχαν μεταξύ τους ένα μήνα και διεξήχθησαν την περίοδο Απριλίου-Μαΐου της αγωνιστικής περιόδου 2008. Από άποψη ανταγωνιστικότητας και δυναμικότητας οι δύο ομάδες ανήκαν κατά προσέγγιση στις πρώτες μισές του συγκεκριμένου πρωταθλήματος και στην τελική κατάταξη κατέλαβαν τις τέταρτη και έβδομη θέσεις. Και οι δύο αγώνες υδατοσφαίρισης διεξήχθησαν βάσει των κανονισμών και της προκήρυξης αγώνων της Κολυμβητικής Ομοσπονδίας Ελλάδας (ΚΟΕ). Έτσι αποτελούνταν από τέσσερις περιόδους των οκτώ λεπτών καθαρού χρόνου η καθεμία. Μεταξύ των περιόδων υπήρχε ανάπαυλα διάρκειας 1,5 λεπτού. Ο μεικτός χρόνος ήταν διάρκειας 12-15 λεπτών/περίοδο, συνολικά οι αγώνες είχαν διάρκεια 53 και 56 λεπτά αντίστοιχα. Η θερμοκρασία του νερού και στις δύο πισίνες διατηρούταν στα φυσιολογικά επίπεδα των 25-27° C.

### **3.3. Αιμοληψία - Βιοχημικές αναλύσεις**

Περίπου μιάμιση ώρα πριν τον αγώνα πραγματοποιήθηκε λήψη φλεβικού αίματος 6 ml απ' τον βραχίονα σε καθιστή θέση και πλήρη ηρεμία. Η δεύτερη αιμοληψία έγινε στα 10 με 20 λεπτά μετά το τέλος του αγώνα από τη βραχιόνιο φλέβα του άλλου χεριού απ' ότι κατά την πρώτη αιμοληψία και χωρίς ενδιάμεση κατανάλωση στέρεας τροφής ή κάποιου ροφήματος. Τα δείγματα αίματος συγκεντρώθηκαν σε σωληνάρια που περιείχαν 200  $\mu$ L EDTA (αιθυλενοδιινιτριλοτετραοξικό οξύ) 7,5%. 1 ml αίματος χρησιμοποιήθηκε για τον καθορισμό αιματοκρίτη και αιμοσφαιρίνης, καθώς και του γαλακτικού οξέος. Τα υπόλοιπα του δείγματος φυγοκεντρήθηκε στις 4000 στροφές για 10 λεπτά. Μετά την φυγοκέντρηση έγινε διαχωρισμός του πλάσματος και των ερυθροκυττάρων και τα δείγματα καταψύχθηκαν στους -70° C μέχρι την ανάλυση τους. Ο αιματοκρίτης μετρήθηκε με τη μέθοδο της μικροφυγοκέντρησης, για 5 λεπτά στους 4°C (Hellenic Labware K-20). Η συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης στο αίμα μετρήθηκε με φωτομέτρηση σύμφωνα με τις οδηγίες της εταιρίας

Sprinreact (Santa Colonia, Spain).

Το πλάσμα χρησιμοποιήθηκε για την μέτρηση των τιμών στα πρωτεϊνικά καρβονύλια, TBARS, καταλάση και ολική αντιοξειδωτική ικανότητα. Τα ερυθροκύτταρα αραιώθηκαν με απιοντισμένο νερό όγκου ίσου με τον όγκο των ερυθροκυττάρων (αναλογία 1:1) και το διάλυμα που προέκυψε φυγοκεντρήθηκε στα 4000 g για 15 λεπτά στους 4°C (Hettich Zentrifugen Universal 16 R, Germany). Το υπερκείμενο που συλλέχθηκε αποτέλεσε το ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα. Για τον καθορισμό της ανηγμένης (GSH) και της οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSSG) το ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα υποβλήθηκε στον εξής καθαρισμό: σε 500 μL ερυθροκυτταρικού αιμόλυματος προστέθηκαν 500 μL διαλύματος TCA 5% (τριχλωροακετικό οξύ) και φυγοκεντρήθηκαν στα 15000 g για 5 λεπτά. Από το διάλυμα αφαιρέθηκαν 300 μL υπερκείμενου και προστέθηκαν άλλα 90 μL διαλύματος TCA 5% και ξαναέγινε φυγοκέντρηση στα 15000 g για 5 λεπτά. Το τελικό διάλυμα μεταφέρθηκε σε φιαλίδια erpendorf μέχρι την ανάλυση του. Όλα τα δείγματα μετρήθηκαν εις τριπλούν. Ο έλεγχος στις αλλαγές του όγκου αίματος πριν και μετά τον αγώνα έγινε βάσει της συγκέντρωσης αιμοσφαιρίνης και του αιματοκρίτη σύμφωνα με τον τύπο:

$$\text{όγκος πλάσματος πριν/όγκος πλάσματος μετά} = (\text{αιμοσφαιρίνη πριν/αιμοσφαιρίνη μετά}) \times (\text{αιματοκρίτης μετά/αιματοκρίτης πριν}),$$
 όπως αυτός περιγράφηκε από τους Dill & Costill (1974).

Για το προσδιορισμό της καταλάσης (CAT) χρησιμοποιήθηκε η ελεύθερη ρίζα 30% υπεροξειδίου του υδρογόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Το ποσοστό εξουδετέρωσης της ρίζας από την καταλάση καταδεικνύει και την ποσότητα της καταλάσης στο αίμα. Η προετοιμασία των δειγμάτων είχε ως εξής: σε πλαστικά σωληνάρια προστέθηκαν 4 μL κυτταρικού αιμόλυματος διαλυμένο με απιοντισμένο νερό σε αναλογία 1/10 (0,4 κυτταρικό αιμόλυμα, 3,6 απιοντισμένο νερό) και

2991  $\mu\text{L}$  ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού άλατος (Phosphate buffer 67 mM, pH 7,4). Μετά την ανάδευση τα δείγματα επώαστηκαν σε κλίβανο  $37^{\circ}\text{C}$  για 10 λεπτά (Binder). Έπειτα το περιεχόμενο μεταφέρθηκε σε γυάλινη UV κυψελίδα, όπου προστέθηκαν 5  $\mu\text{L}$  30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Αμέσως μετά μετρήθηκε η απορρόφηση του φωτός στα 240 νανόμετρα για 130 δευτερόλεπτα (Hitachi U-150). Η δραστηριότητα της καταλάσης εκφράζεται σε U/mg Hg και ο τύπος υπολογισμού είναι: (διαφορά απορρόφησης δείγματος ανά λεπτό/40)  $\times$  (750  $\times$  1000  $\times$  10  $\times$  2), όπου:

40 = συντελεστής μοριακής απόσβεσης του  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

750 = βαθμός διάλυσης που προκύπτει από την διαίρεση του τελικού όγκου (3000  $\mu\text{L}$ ) προς τον όγκο του κυτταρικού αιμολύματος (4  $\mu\text{L}$ ).

1000 = μετατροπή των mol/L σε  $\mu\text{mol/mL}$ .

10 = βαθμός διάλυσης του δείγματος (1/10).

2 = βαθμός διάλυσης των ερυθροκυττάρων με το νερό κατά το σχηματισμό αιμολύματος.

Για την προσδιορισμό της υπεροξειδωσής λιπιδίων χρησιμοποιήθηκε η μηλονική διαλδεύδη (MDA), η οποία αντιδράει με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBA) σχηματίζοντας τα TBARS (θειοβαρβιτουρικές οξεοαντιδραστικές ουσίες). Σε 100  $\mu\text{L}$  πλάσματος προστέθηκαν 500  $\mu\text{L}$  TCA 35% και 500  $\mu\text{L}$  τρις-υδροχλωρίου (Tris-HCl). Το διάλυμα που προέκυψε, μετά από ήπια ανάδευση, επώαστηκε για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Κατόπιν, προστέθηκε 1 mL θειϊκό νάτριο ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) και τα δείγματα έμειναν για επώαση σε υδρόλουτρο  $95^{\circ}\text{C}$  για 45 λεπτά. Μετά την επώαση 1 mL TCA 70 % αραιώθηκε στο διάλυμα. Συνολικά 1 mL διαλύματος μεταφέρθηκε σε φιαλίδια erpendorf και φυγοκεντρήθηκε στα 11200 g στους  $25^{\circ}\text{C}$  για 3 λεπτά. Τέλος, μετρήθηκε η απορρόφηση 900  $\mu\text{L}$  διαλύματος στα 530 νανόμετρα. Οι τιμές των TBARS εκφράζονται σε  $\mu\text{mol/L}$  και ο τύπος υπολογισμού είναι ο ακόλουθος:

TBARS = (απορρόφηση δείγματος – απορρόφηση τυφλού) / 0,156 × 31, όπου:

0,156 = ο συντελεστής μοριακής απόσβεσης της MDA

31 = βαθμός διάλυσης που προκύπτει διαιρώντας τον τελικό όγκο (3100  $\mu\text{L}$ ) προς τον όγκο του πλάσματος (100  $\mu\text{L}$ ).

### (TAC)

Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του πλάσματος υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας την ελεύθερη ρίζα DPPH (2,2-διφαινυλο-1-πικριλιδραζύλιο). Παρουσία δότη υδρογόνων που περιέχονται στο πλάσμα η παραπάνω ρίζα ανάγεται για να σχηματιστεί η πιο σταθερή ένωση υδραζίνη (2,2-διφαινυλο-1-πικριλιδραζίνιο). Για την προετοιμασία του δείγματος, σε 20  $\mu\text{L}$  πλάσματος προστέθηκαν 480  $\mu\text{L}$  ρυθμιστικού διαλύματος (10 mM, pH 7,4) και 500  $\mu\text{L}$  DPPH (0,1 mM). Στα διαλύματα θετικού ελέγχου αραιώθηκαν 495  $\mu\text{L}$  ρυθμιστικού διαλύματος (10 mM, pH 7,4), 500  $\mu\text{L}$  DPPH (0,1 mM) και 5  $\mu\text{L}$  ασκορβικού οξέος (10 mM), ενώ στο τυφλό διάλυμα αραιώθηκαν 500  $\mu\text{L}$  ρυθμιστικού διαλύματος (10 mM, pH 7,4) και 500  $\mu\text{L}$  DPPH (0,1 mM). Τα δείγματα επώαστηκαν στο σκοτάδι για 60 λεπτά και φυγοκεντρήθηκαν στα 20000 g στους 25° C για 3 λεπτά. Το υπερκείμενο μεταφέρθηκε σε πλαστική κυψελίδα, όπου μετρήθηκε η απορρόφηση στα 520 νανόμετρα. Σε φυσιολογικές συνθήκες η τιμή απορρόφησης του δείγματος βρίσκεται ανάμεσα στις τιμές του θετικού ελέγχου (χαμηλή τιμή λόγω της παρουσίας ασκορβικού οξέος) και του τυφλού (υψηλή τιμή λόγω της παρουσίας μόνο της ρίζας DPPH). Η τιμή της TAC εκφράζεται στην ποσοστιαία μείωση της απορρόφησης βάσει του τύπου:

% μείωση απορρόφησης = (απορρόφηση τυφλού – απορρόφηση δείγματος) / απορρόφηση τυφλού × 100

Η εκτίμηση της οξειδωσης των πρωτεϊνών έγινε με μέτρηση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην αντίδραση των υπεροξειδωμένων πρωτεϊνών με την 2,4-δινιτρο-φαιλυδραζίνη (DNPH) και τη μετατροπή της σε 2,4-δινιτρο-φαιλυδραζόνη (DNPH-υδραζόνη). Σε φιαλίδια erpendorf αραιώθηκαν 50  $\mu\text{L}$  πλάσματος με 50  $\mu\text{L}$  TCA 20%, έπειτα επώαστηκαν σε πάγο για 15 λεπτά και φυγοκεντρήθηκαν στα 15000 g στους 4° C για 5 λεπτά. Στο υπερκείμενο υγρό προστέθηκαν 0,5 mL DNPH 14mM (παρασκευασμένο φρέσκο σε 2,5 N HCl), ενώ στα τυφλά 0,5 mL 2,5 N HCl (υδροχλώριο). Τα διαλύματα ανακατεύτηκαν με το χέρι χρησιμοποιώντας πιπέτα και έπειτα σε αναδευτήρα και επώαστηκαν στο σκοτάδι για μια ώρα με ενδιάμεση ανάδευση κάθε 15 λεπτά. Κατόπιν φυγοκεντρήθηκαν στα 15000 g στους 4° C για 5 λεπτά. Στη συνέχεια οι πρωτεΐνες των δειγμάτων κατακρημνίστηκαν με 1 mL TCA 20% και φυγοκεντρήθηκαν στα 15000 g στους 4° C για 5 λεπτά. Αφού αφαιρέθηκε το υπερκείμενο τα μείγματα πλύθηκαν με 0,5 mL μεθανόλης και 0,5 mL αιθυλικού εστέρα (αιθανόλη/αιθυλικός εστέρας σε αναλογία 1:1) αναδεύτηκαν και φυγοκεντρήθηκαν στα 15000 g στους 4° C για 5 λεπτά. Το πλύσιμο των δειγμάτων με τη μεθανόλη και τον αιθυλικό εστέρα επαναλήφθηκε συνολικά τρεις φορές. Τα τελικά μείγματα διαλύθηκαν με 1 mL ουρία (5M, pH 2,3), αναδεύτηκαν και επώαστηκαν στους 37° C για 15 λεπτά και φυγοκεντρήθηκαν στα 15000 g στους 4° C για 3 λεπτά. 900  $\mu\text{L}$  μεταφέρθηκαν σε πλαστική κυψελίδα και μετρήθηκε η απορρόφηση στα 375 νανόμετρα. Οι τιμές των πρωτεϊνικών καρβονυλίων δίνονται σε nmol/mL και ο τύπος υπολογισμού είναι ο παρακάτω: πρωτεϊνικά καρβονύλια = απορρόφηση δείγματος – απορρόφηση τυφλού / 0,022  $\times$  1000/50, όπου

0,022 = προκύπτει από τον συντελεστή μοριακής απόσβεσης του DNPH

1000/50 = ο βαθμός διάλυσης.

**(GSH)**

Η μέτρηση της γλουταθειόνης έγινε στο κυτταρικό αιμόλυμα βάσει της αντίδρασής της με την DTNB (5,5-διθειο-δισ-2-νιτροβενζοϊκό οξύ) παράγοντας την οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG) και 2-νιτρο-5-θειοβενζοϊκό οξύ. 20  $\mu\text{L}$  δείγματος αραιώθηκαν με 660  $\mu\text{L}$  ρυθμιστικού διαλύματος (67 mM, pH 7,95) και 330  $\mu\text{L}$  DTNB (1 mM). Στα τυφλά προστέθηκαν 660  $\mu\text{L}$  ρυθμιστικού διαλύματος (67 mM, pH 7,95), 330  $\mu\text{L}$  DTNB (1 mM) και 20  $\mu\text{L}$  απιοντισμένο νερό. Τα διαλύματα αναδεύτηκαν και επώαστηκαν στο σκοτάδι για 45 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Έπειτα, το περιεχόμενο των φιαλιδίων μεταφέρθηκε σε πλαστικές κυψελίδες και μετρήθηκε η απορρόφηση στα 412 νανόμετρα. Η συγκέντρωση της GSH δίνεται σε mmol/L και ο τύπος υπολογισμού είναι:

$$\text{GSH} = (\text{απορρόφηση δείγματος} - \text{διαφορά απορρόφησης από το τυφλό} / 13,6) \times 262,6$$

όπου 262,6 = ο βαθμός διάλυσης που προκύπτει διαιρώντας τον τελικό όγκο του διαλύματος (1010  $\mu\text{L}$ ) προς τον όγκο του πλάσματος (20  $\mu\text{L}$ ) και πολλαπλασιάζοντας με το δύο λόγω της πρώτης αραιώσης με απιοντισμένο νερό (αναλογία 1:1) και τέλος πολλαπλασιάζοντας με το  $2 \times 1,3$  λόγω της δεύτερης και τρίτης αραιώσης με TCA 5%.

13,6 = ο συντελεστής μοριακής απόσβεσης του DTNB.

**(GSSG)**

Για την μέτρηση της GSSG ρυθμίστηκε το pH του κυτταρικού αιμόλυματος στα 7,0 – 7,5 ως εξής: σε 50  $\mu\text{L}$  αιμόλυματος προστέθηκαν 4  $\mu\text{L}$  υδροξειδίου του Νατρίου (NaOH), αναδεύτηκαν και ελέγχθηκε το pH με τη βοήθεια πεχαμετρικού χαρτιού. Η προσθήκη του NaOH συνεχίστηκε μέχρι το pH να φτάσει την επιθυμητή τιμή του 7,0 – 7,5. Κατόπιν προστέθηκε 1  $\mu\text{L}$  2-βυνιλιπριδίνιο και το διάλυμα επώαστηκε σε θερμοκρασία δωματίου για 2 ώρες με ενδιάμεσες αναδεύσεις κάθε 30 λεπτά. Για τον προσδιορισμό της GSSG σε 5  $\mu\text{L}$  αιμόλυματος προστέθηκαν 600  $\mu\text{L}$  ρυθμιστικού διαλύματος (143 mM Na-P 6,3 EDTA pH



7,5), 100  $\mu\text{L}$  NADPH 3mM, 100  $\mu\text{L}$  DTNB 10 mM (παρασκευασμένο φρέσκο και αραιωμένο σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού άλατος) και 194  $\mu\text{L}$  απιοντισμένο νερό. Στα σταθερά (0,75 nmol/mL) αραιώθηκαν 600  $\mu\text{L}$  ρυθμιστικού διαλύματος (143 mM Na-P 6,3 EDTA pH 7,5) 100  $\mu\text{L}$  NADPH 3mM, 100  $\mu\text{L}$  DTNB 10 mM (παρασκευασμένο φρέσκο και αραιωμένο σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού άλατος), 124  $\mu\text{L}$  απιοντισμένο νερό και τέλος 75  $\mu\text{L}$  οξειδωμένη GSSG (παρασκευασμένο φρέσκο σε αναλογία 10  $\mu\text{mol/L}$ ). Στα τυφλά αραιώθηκαν 600  $\mu\text{L}$  ρυθμιστικού διαλύματος (143 mM Na-P 6,3 EDTA pH 7,5) 100  $\mu\text{L}$  NADPH 3mM, 100  $\mu\text{L}$  DTNB 10 mM (παρασκευασμένο φρέσκο και αραιωμένο σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού άλατος) και 199  $\mu\text{L}$  απιοντισμένο νερό. Τα διαλύματα που προέκυψαν αναδεύτηκαν και επώαστηκαν για 5-10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Τα διαλύματα μεταφέρθηκαν σε πλαστική κυψελίδα, προστέθηκε 1  $\mu\text{L}$  αναγωγή της γλουταθειόνης και μετρήθηκε η απορρόφηση τους στα 412 νανόμετρα για 70 δευτερόλεπτα. Η συγκέντρωση της GSSG δίνεται σε mmol/L και ο τύπος υπολογισμού είναι:

$$\text{GSSG} = [(\text{απορρόφηση δείγματος} - \text{διαφορά απορρόφησης από το τυφλό} \times 0,75) / \text{διαφορά σταθερού από τυφλού}] \times 936 ] / 2 / 1000 \text{ όπου,}$$

936 = ο βαθμός διάλυσης που προκύπτει διαιρώντας τον τελικό όγκο του διαλύματος (1000  $\mu\text{L}$ ) προς τον όγκο του αιμολύματος (5  $\mu\text{L}$ ) και πολλαπλασιάζοντας με το δύο λόγω της πρώτης αραιώσης με απιοντισμένο νερό (αναλογία 1:1) και τέλος πολλαπλασιάζοντας με το  $2 \times 1,3$  λόγω της δεύτερης και τρίτης αραιώσης με TCA 5% και πολλαπλασιάζοντας με το 0,9 λόγω της πρώτης αραιώσης με περίπου 5  $\mu\text{L}$  NaOH. Μετά διαιρούμε με το δύο λόγω της αντίδρασης  $2 \text{ GSH} \rightarrow 1 \text{ GSSG}$ .

0,75 = η συγκέντρωση του σταθερού.

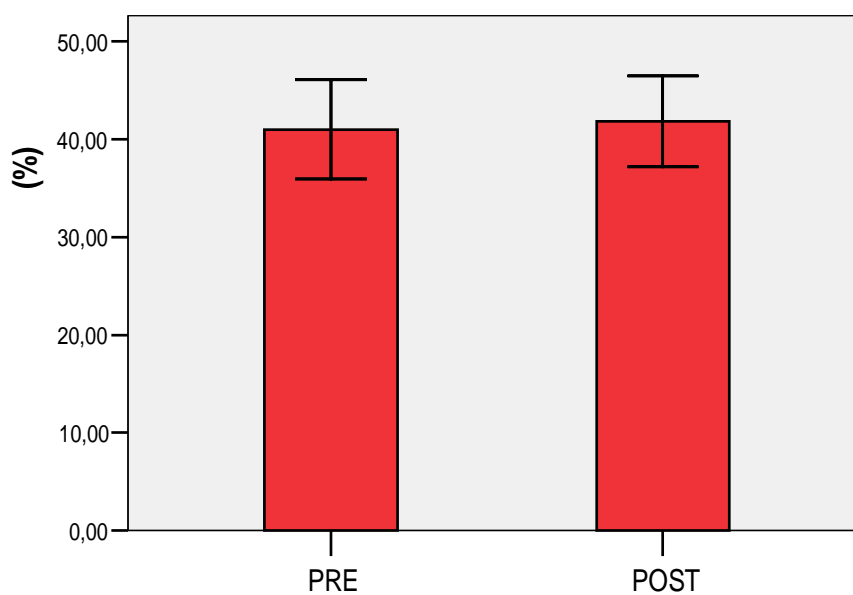
### **3.4. Στατιστική ανάλυση**

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέσοι  $\pm$  τυπικό λάθος (sem). Οι συγκρίσεις των δεικτών

οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικών πριν και μετά τον αγώνα έγιναν με t-test για ζευγαρωτά δείγματα. Συγκρίσεις μεταξύ των υδατοσφαιριστών των δύο ομάδων έγιναν με t-test για ανεξάρτητα δείγματα. Για τον έλεγχο της κατανομής των εξαρτημένων μεταβλητών χρησιμοποιήθηκε το τεστ των Kolmogorov-Smirnov. Ο ενδιάμεσος συντελεστής μεταβλητότητας για τις τρεις μετρήσεις του κάθε δείγματος (inter-assay coefficient of variation) υπολογίστηκε βάσει του τύπου: (τυπική απόκλιση / μέσος όρος)  $\times$  100. Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε στο  $p < 0,05$ . Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος SPSS 13.0 (SPSS Inc., USA).

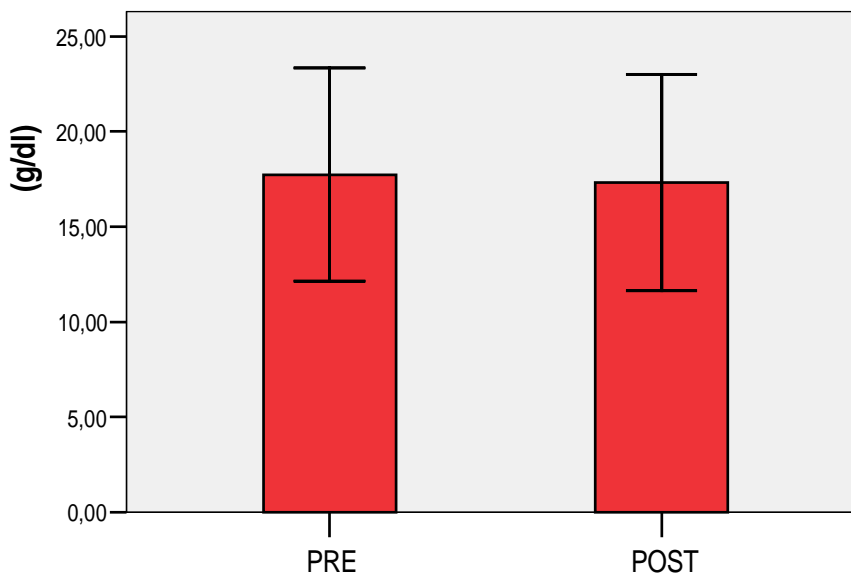
## 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ούτε ο αιματοκρίτης, ούτε η αιμοσφαιρίνη ολικού αίματος δεν παρουσίασαν σημαντική μεταβολή μετά τον αγώνα σε σχέση με τα επίπεδα ηρεμίας πριν τον αγώνα. Οι μέσες τιμές  $\pm$  sem του αιματοκρίτη πριν και μετά τον αγώνα ήταν  $41,00 \pm 2,59$  % και  $41,83 \pm 2,36$  % αντίστοιχα. Οι μέσες τιμές της αιμοσφαιρίνης πριν και μετά τον αγώνα ήταν  $17,73 \pm 2,85$  g/dl και  $17,30 \pm 2,90$  g/dl. Ο υπολογισμός της μεταβολής του όγκου του αίματος έγινε βάσει του τύπου, όπως αυτός διατυπώθηκε από τους Dill & Costill (1974). Έτσι, η μέση μεταβολή του όγκου αίματος μετά την άσκηση σε σχέση με τις τιμές πριν την άσκηση ήταν  $1,05 \pm 0,08$  ( $p > 0,05$ ). Οι τιμές του αιματοκρίτη, της αιμοσφαιρίνης και της μεταβολής του όγκου αίματος όλων των αθλητών αναλυτικά φαίνονται στο παράρτημα, πίνακας 4, ενώ οι μέσες τιμές παρουσιάζονται στα γραφήματα 1 και 2 αντίστοιχα.



### 1.

Οι μέσες τιμές του αιματοκρίτη πριν και μετά τον αγώνα (μέσος όρος  $\pm$  sem). Pre= πριν τον αγώνα, post = μετά τον αγώνα

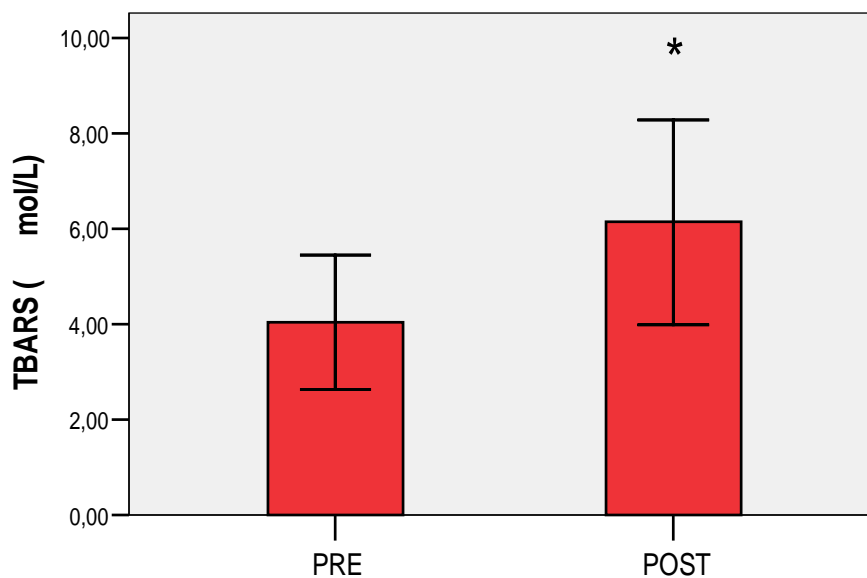


## 2.

Οι μέσες τιμές της αιμοσφαιρίνης πριν και μετά τον αγώνα (μέσος όρος  $\pm$  sem). Pre= πριν τον αγώνα, post = μετά τον αγώνα.

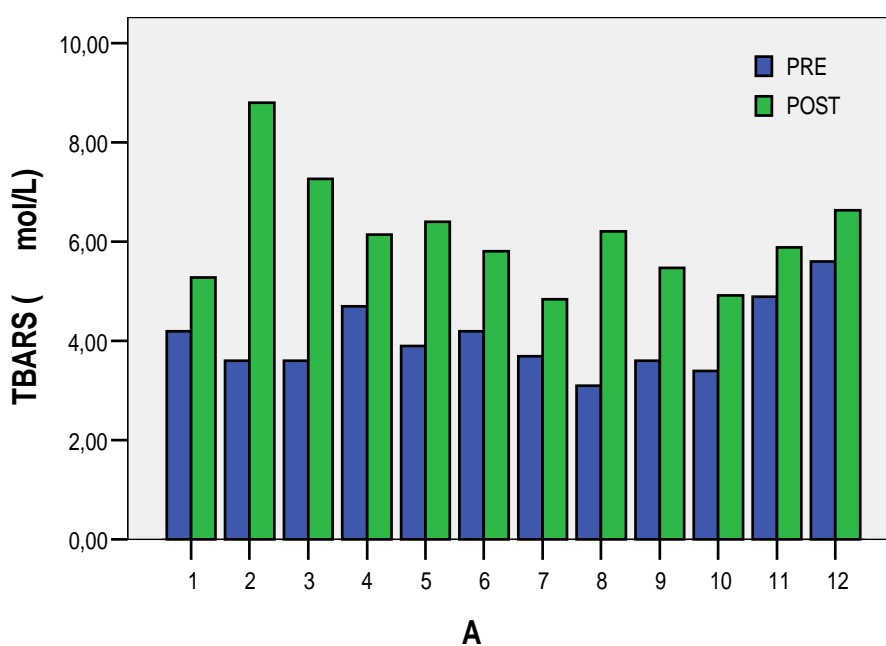
### TBARS

Ο ενδιάμεσος συντελεστής μεταβλητότητας για τις μετρήσεις των TBARS (intra-assay coefficient of variation) ήταν 2,49%. Η κατανομή των τιμών πριν και μετά τον αγώνα βρέθηκε να μην διαφέρει από την κανονική κατανομή ( $Z = 0,63$  και  $Z = 0,54$ ,  $p > 0,05$ ). Οι τιμές των TBARS μετά τον αγώνα παρουσίασαν σημαντική αύξηση σε σχέση με τις τιμές πριν τον αγώνα ( $6,13 \pm 1,09$   $\mu\text{mol/L}$  και  $4,04 \pm 0,71$   $\mu\text{mol/L}$  αντίστοιχα,  $t = -5,58$ ,  $p < 0,05$ ). Είναι χαρακτηριστικό ότι τα TBARS αυξήθηκαν σε όλους ανεξαιρέτως τους αθλητές, με ελάχιστη διαφορά 18,60% και μέγιστη διαφορά 144,37%. Η μέση διαφορά του δειγμάτων πριν και μετά τον αγώνα ήταν 51,73%. Οι μέσες τιμές του δείγματος πριν και μετά τον αγώνα παρουσιάζονται στο γράφημα 3, ενώ οι μεταβολές των τιμών για κάθε αθλητή ξεχωριστά στο γράφημα 4. Οι ατομικές τιμές του κάθε αθλητή παρουσιάζονται στο παράρτημα, πίνακας 5.



## 3.

Οι μέσες τιμές των TBARS πριν και μετά τον αγώνα (μέσος όρος  $\pm$  sem). Pre= πριν τον αγώνα, post = μετά τον αγώνα, \* =  $p < 0,01$  σε σχέση με τις τιμές πριν τον αγώνα.

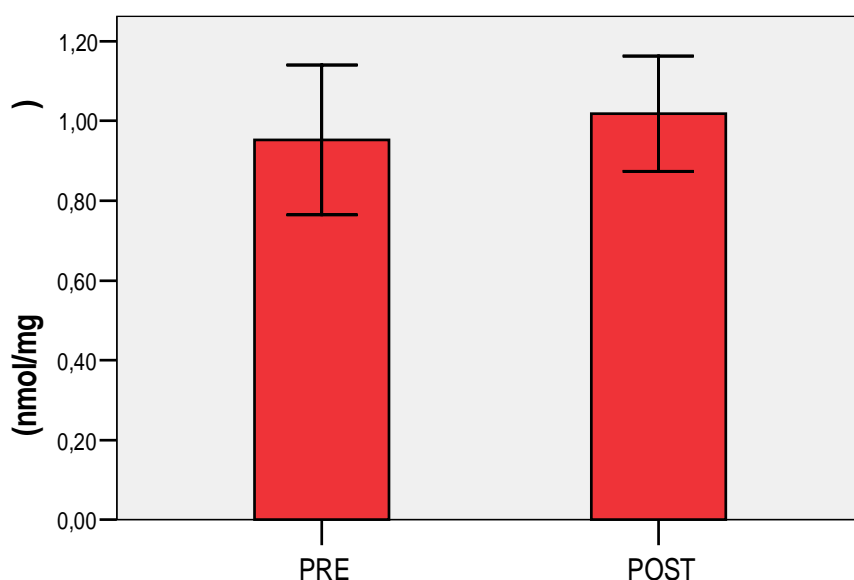


## 4.

Αναλυτικές τιμές στα TBARS του κάθε αθλητή πριν και μετά τον αγώνα. Pre= πριν τον αγώνα, post = μετά τον αγώνα.

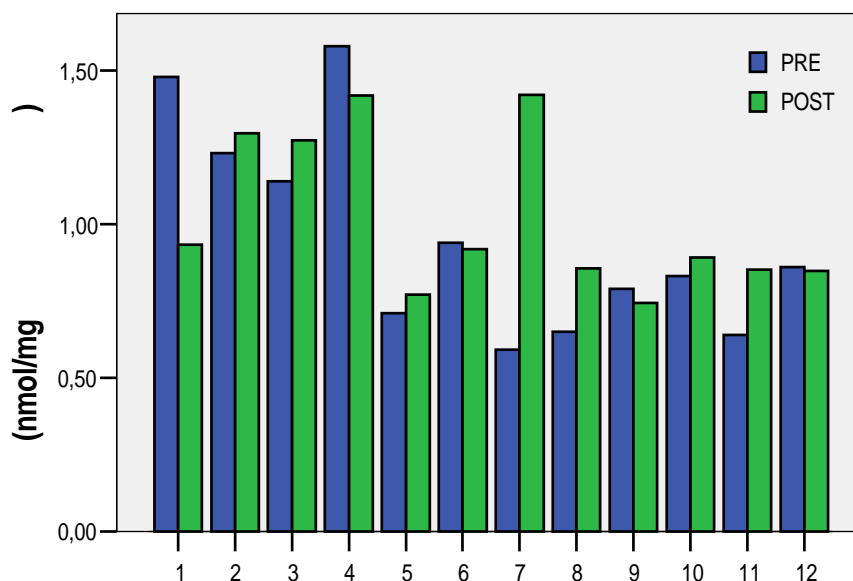
Ο ενδιάμεσος συντελεστής μεταβλητότητας για τα πρωτεϊνικά καρβονύλια (intra-assay coefficient of variation) ήταν 5,74%. Η κατανομή των τιμών πριν και μετά τον αγώνα βρέθη-

κε να μη διαφέρει από την κανονική κατανομή ( $Z = 0,65$  και  $Z = 0,96$ ,  $p > 0,05$ ). Η συγκέντρωση των καρβονυλίων στο πλάσμα μετά τον αγώνα δεν φάνηκε να διαφέρει συγκρινόμενη με τα επίπεδα πριν τον αγώνα ( $0,95 \pm 0,33$  και  $1,01 \pm 0,25$  nmol/mg πρωτεΐνης αντίστοιχα,  $t = -0,71$ ,  $p > 0,05$ ). Τα καρβονύλια δεν είχαν σταθερές μεταβολές σ' όλους τους αθλητές. Από τους δώδεκα συνολικά αθλητές, σε πέντε απ' αυτούς μειώθηκε η συγκέντρωσή τους, ενώ στους υπόλοιπους επτά αυξήθηκε. Ακραίες μεταβολές φάνηκαν σε δύο περιπτώσεις. Στη μία περίπτωση (αύξ.αρ. 1) είχαμε σημαντική μείωση, ενώ στην άλλη (αύξ. αρ. 7) σημαντική αύξηση. Εκτός απ' τις δύο ακραίες περιπτώσεις οι υπόλοιπες μεταβολές (αύξηση ή μείωση) ήταν μικρής έκτασης. Οι μέσες τιμές του δείγματος πριν και μετά τον αγώνα παρουσιάζονται στο γράφημα 5, οι μεταβολές των τιμών για κάθε αθλητή ξεχωριστά στο γράφημα 6 και οι ατομικές τιμές του κάθε αθλητή στο παράρτημα, πίνακας 6.



##### 5.

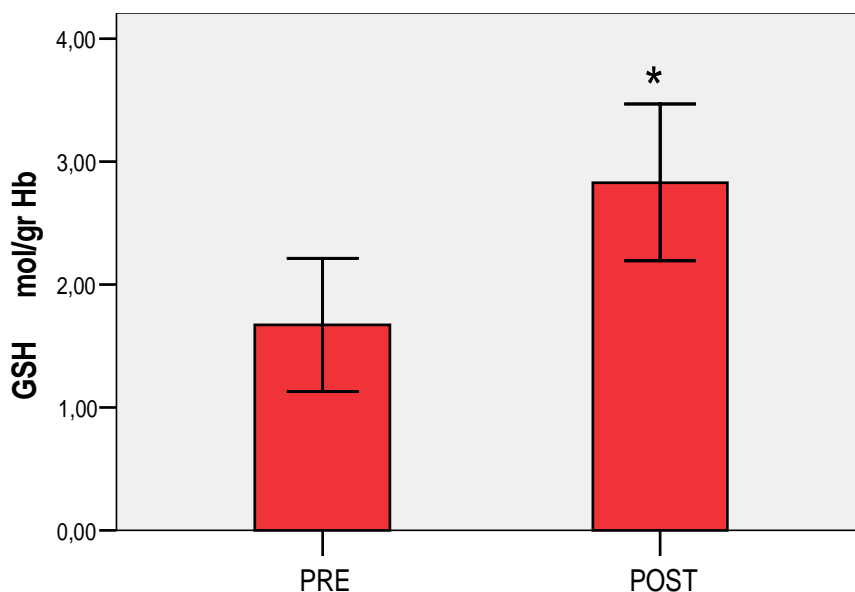
Οι μέσες τιμές των πρωτεϊνικών καρβονυλίων πριν και μετά τον αγώνα (μέσος όρος  $\pm$  sem). Pre= πριν τον αγώνα, post = μετά τον αγώνα.



## 6.

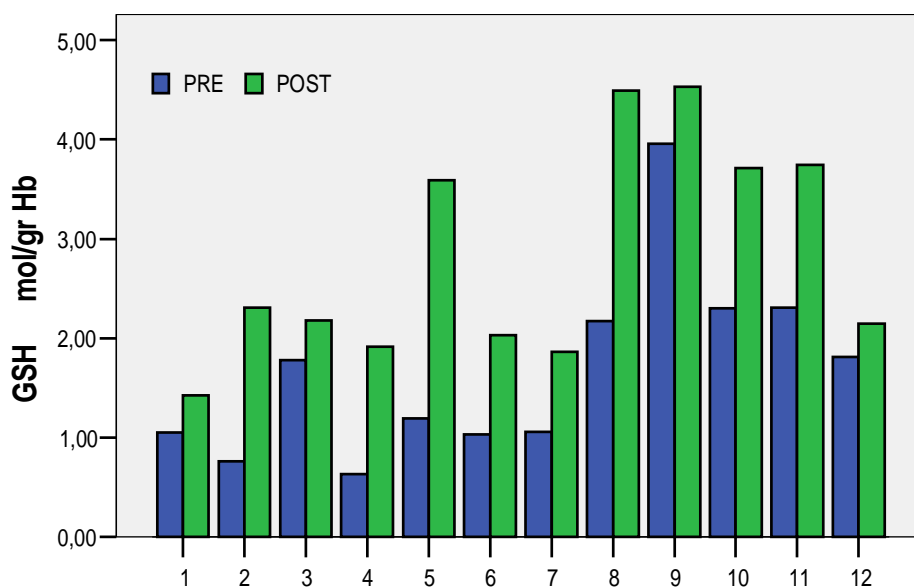
Αναλυτικές τιμές των πρωτεϊνικών καρβονυλίων του κάθε αθλητή πριν και μετά τον αγώνα. Pre= πριν τον αγώνα, post = μετά τον αγώνα.

Ο ενδιάμεσος συντελεστής μεταβλητότητας (intra-assay coefficient of variation) για την ανηγμένη γλουταθειόνη (GSH) ήταν 2,66%. Η κατανομή των τιμών πριν και μετά τον αγώνα βρέθηκε να μην διαφέρει από την φυσιολογική κατανομή ( $Z = 0,68$  και  $Z = 1,02$  αντίστοιχα,  $p > 0,05$ ). Σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε στις τιμές της GSH, όπου οι τιμές μετά τον αγώνα ήταν σημαντικά μεγαλύτερες απ' αυτές πριν τον αγώνα ( $1,67 \pm 0,93$  και  $2,82 \pm 1,10$   $\mu\text{mol/gr Hb}$ ;  $t = -5,63$ ,  $p < 0,000$ ). Εκτός από μία περίπτωση αθλητή (αύξων αριθμός αθλητή 1), όπου η GSH σχεδόν έμεινε αμετάβλητη, σ' όλους τους άλλους αθλητές παρουσίασε αύξηση με το μέγεθος αυτής να έχει μεγάλες αποκλίσεις από αθλητή σε αθλητή. Έτσι το εύρος της αύξησης ήταν από 9,40% μέχρι 235% (συνολικά σε τρεις αθλητές η μεταβολή είχε τριψήφιο αριθμό). Η μέση αύξηση μετά τον αγώνα κυμάνθηκε στο 67,92%. Οι μέσες τιμές του δείγματος πριν και μετά τον αγώνα παρουσιάζονται στο γράφημα 7, ενώ οι αναλυτικές τιμές για τον κάθε αθλητή ξεχωριστά στο γράφημα 8. Οι ατομικές τιμές του κάθε αθλητή παρουσιάζονται στο παράρτημα, πίνακας 7.



## 7.

Οι μέσες τιμές της ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH) πριν και μετά τον αγώνα (μέσος όρος  $\pm$  sem). Pre= πριν τον αγώνα, post = μετά τον αγώνα, \* =  $p < 0,01$  σε σχέση με τις τιμές πριν τον αγώνα.



## 8.

Αναλυτικές τιμές της ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH) του κάθε αθλητή πριν και μετά τον αγώνα. Pre= πριν τον αγώνα, post = μετά τον αγώνα.

Αξίζει επίσης, να σημειωθεί ότι εάν μετρήσουμε ξεχωριστά τους αθλητές των δύο ομάδων που συμμετείχαν στην έρευνα και συγκρίνουμε τις μέσες τιμές θα βρούμε σημαντική διαφορά στις τιμές της ανηγμένης γλουταθειόνης πριν και μετά τον αγώνα. Η σύγκριση αυτή



φαίνεται στον πίνακα 2.

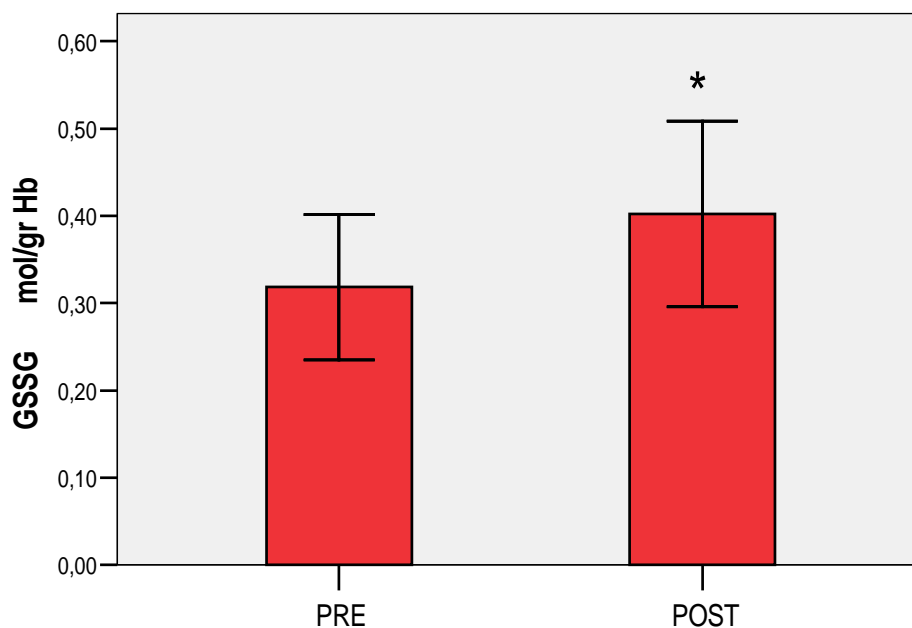
## 2.

Μέσες τιμές (s.d.) της ανηγμένης γλουταθειόνης για τις δύο ομάδες ξεχωριστά.

n	GSH_pre (mmol/L)	GSH_post (mmol/L)
7	0,3 (0,07)*	0,65 (0,23)*
5	0,85 (0,27)	1,23 (0,33)

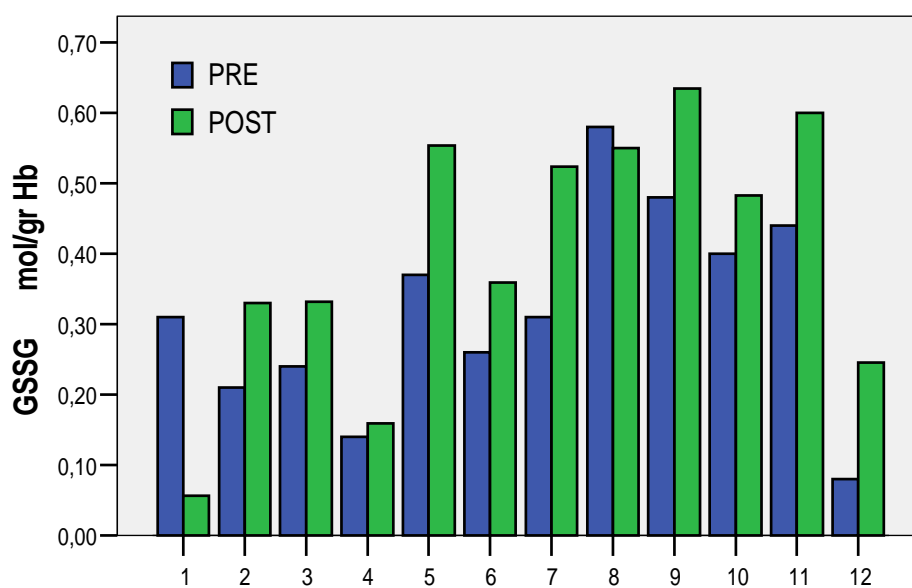
GSH\_pre = συγκέντρωση ανηγμένης γλουταθειόνης πριν τον αγώνα, GSH\_post = συγκέντρωση ανηγμένης γλουταθειόνης μετά τον αγώνα, \*= p<0,05 σε σχέση με τις τιμές της ομάδας B.

Ο ενδιάμεσος συντελεστής μεταβλητότητας (intra-assay coefficient of variation) για την οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG) ήταν 6,86%. Η κατανομή των τιμών πριν και μετά τον αγώνα βρέθηκε να μην διαφέρει από την φυσιολογική κατανομή ( $Z = 0,36$  και  $Z = 0,63$  αντίστοιχα,  $p > 0,05$ ). Η οξειδωμένη γλουταθειόνη βρέθηκε σημαντικά αυξημένη μετά τον αγώνα σε σχέση πριν τον αγώνα ( $0,31 \pm 0,14$  και  $0,40 \pm 1,18$   $\mu\text{mol/gr Hb}$  αντίστοιχα;  $t = -2,29$ ,  $p < 0,05$ ). Μόνο σε δύο περιπτώσεις αθλητών είχαμε μείωση στη συγκέντρωση της οξειδωμένης γλουταθειόνης, απ' τις οποίες στη μία η μείωση ήταν δραστική (-86,67%, αύξων αριθμός αθλητή 1). Η μικρότερη αύξηση που παρατηρήθηκε ήταν 10,46% και η μεγαλύτερη 165,67%. Η μέση αύξηση με υπολογισμό όλων των τιμών ήταν 20%, ενώ χωρίς την ακραία τιμή της παραπάνω περίπτωσης ήταν 30%. Οι μέσες τιμές του δείγματος πριν και μετά τον αγώνα παρουσιάζονται στο γράφημα 9, ενώ οι αναλυτικές τιμές για τον κάθε αθλητή ξεχωριστά στο γράφημα 10. Οι ατομικές τιμές του κάθε αθλητή παρουσιάζονται στο παράρτημα, πίνακας 8.



## 9.

Οι μέσες τιμές της οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSSG) πριν και μετά τον αγώνα (μέσος όρος  $\pm$  sem). Pre= πριν τον αγώνα, post = μετά τον αγώνα. , \* =  $p < 0,05$  σε σχέση με τις τιμές πριν τον αγώνα.

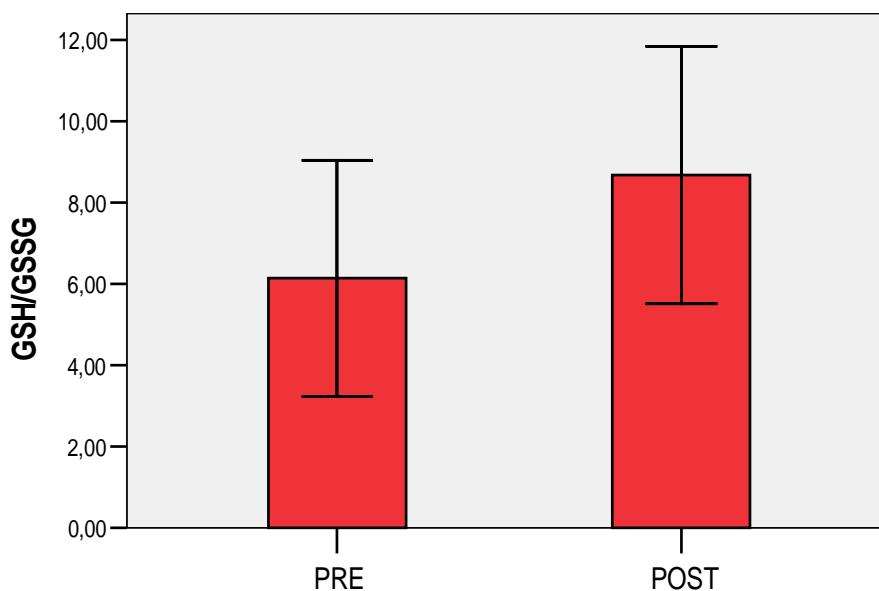


## 10.

Αναλυτικές τιμές της οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSSG) του κάθε αθλητή πριν και μετά τον αγώνα. Pre= πριν τον αγώνα, post = μετά τον αγώνα.

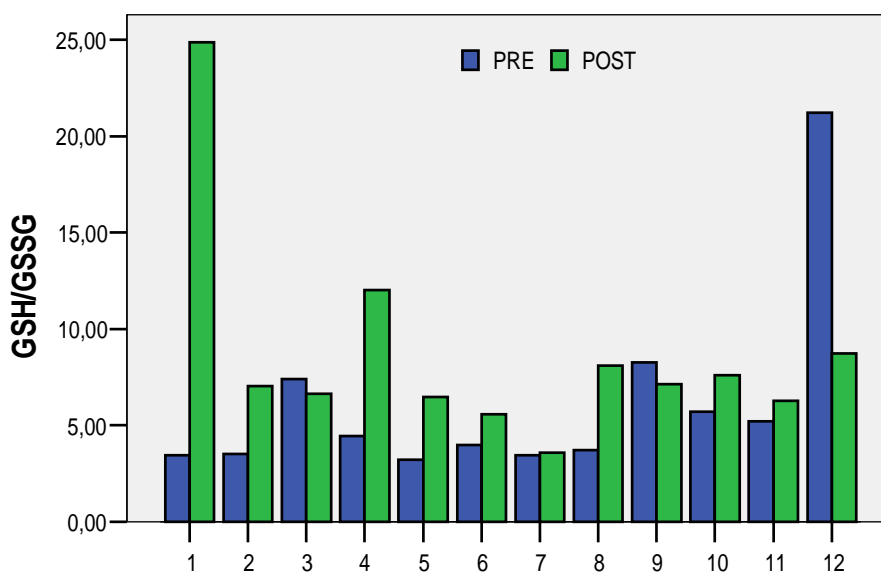
Συνοπτικά φάνηκε ότι και η ανηγμένη και η οξειδωμένη γλουταθειόνη αύξησαν τις συγκεντρώσεις τους στο ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα μετά τον αγώνα. Η αύξηση της

ανηγμένης γλουταθειόνης ήταν πιο έντονη, κάτι που όμως οφειλόταν σε μεγάλο βαθμό στην ακραία μεταβολή της οξειδωμένης γλουταθειόνης σε έναν από τους αθλητές. Βάσει αυτών των μεταβολών δεν είναι περίεργο, ότι ο λόγος της ανηγμένης προς οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSH/GSSG) σε όλο το φάσμα των τιμών, αν και φανερώνει αύξηση στις τιμές μετά τον αγώνα, δεν καταγράφεται στατιστικά σημαντική ( $6,13 \pm 5,03$  και  $8,67 \pm 5,47$  αντίστοιχα,  $t = -1,14$ ,  $p > 0,05$ ). Οι μέσες τιμές του δείγματος πριν και μετά τον αγώνα παρουσιάζονται στο γράφημα 11, ενώ οι αναλυτικές τιμές για τον κάθε αθλητή ξεχωριστά στο γράφημα 12. Οι ατομικές τιμές του κάθε αθλητή παρουσιάζονται στο παράρτημα, πίνακας 9.



### 11.

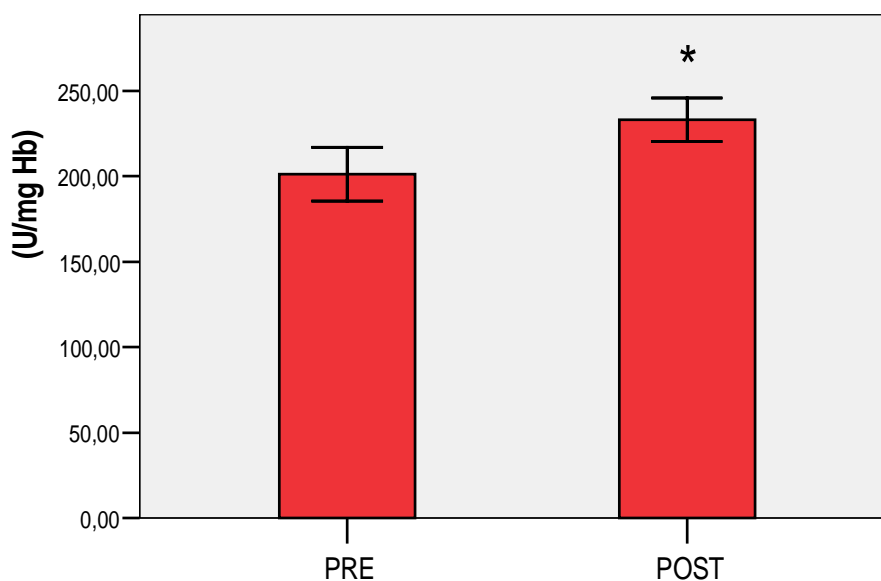
Οι μέσες τιμές της αναλογίας ανηγμένης προς οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSH/GSSG) πριν και μετά τον αγώνα (μέσος όρος  $\pm$  sem). Pre= πριν τον αγώνα, post = μετά τον αγώνα.



## 12.

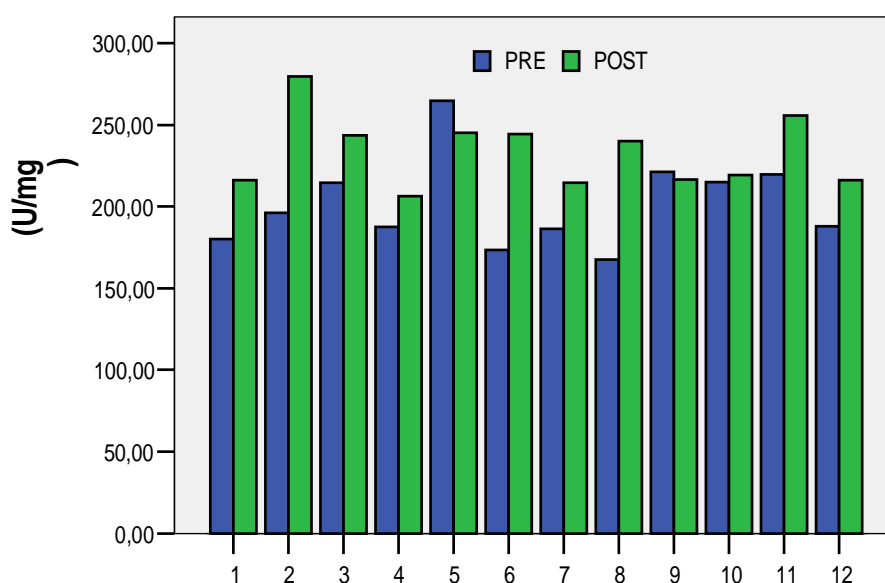
Αναλυτικές τιμές της αναλογίας ανηγμένης προς οξειδωμένης γλουταθειόνης (GSH/GSSG) του κάθε αθλητή πριν και μετά τον αγώνα. Pre= πριν τον αγώνα, post = μετά τον αγώνα.

Ο ενδιάμεσος συντελεστής μεταβλητότητας (intra-assay coefficient of variation) για την καταλάση (GSSG) ήταν 10,29%. Η κατανομή των τιμών πριν και μετά τον αγώνα βρέθηκε να μην διαφέρει από την κανονική κατανομή ( $Z = 0,64$  και  $Z = 0,83$  αντίστοιχα,  $p > 0,05$ ). Μεταξύ των μέσων τιμών της καταλάσης πριν και μετά τον αγώνα παρουσιάστηκε σημαντική αύξηση ( $201,13 \pm 27,14$  U/mg αιμοσφαιρίνης και  $233,08 \pm 21,73$  U/mg αιμοσφαιρίνης αντίστοιχα,  $t = -3,53$ ,  $p < 0,05$ ). Γενικά οι μεταβολές στην καταλάση παρουσίασαν σχετική ομοιομορφία χωρίς ακραίες τιμές. Σε δύο περιπτώσεις καταγράφηκε μείωση στην καταλάση μετά τον αγώνα, μικρού, όμως μεγέθους (-7,44% και -2,03%). Η μικρότερη αύξηση ήταν 2,01%, ενώ η μεγαλύτερη αύξηση 43,37%. Κατά μέσο όρο η καταλάση αυξήθηκε κατά 17,52%. Οι μέσες τιμές του δείγματος πριν και μετά τον αγώνα παρουσιάζονται στο γράφημα 13, ενώ οι αναλυτικές τιμές για τον κάθε αθλητή ξεχωριστά στο γράφημα 14. Οι ατομικές τιμές του κάθε αθλητή παρουσιάζονται στο παράρτημα, πίνακας 10.



### 13.

Οι μέσες τιμές της καταλάσης πριν και μετά τον αγώνα (μέσος όρος  $\pm$  sem). Pre= πριν τον αγώνα, post = μετά τον αγώνα.\* =  $p < 0,05$  σημαντική διαφορά σε σχέση με τις τιμές πριν τον αγώνα.



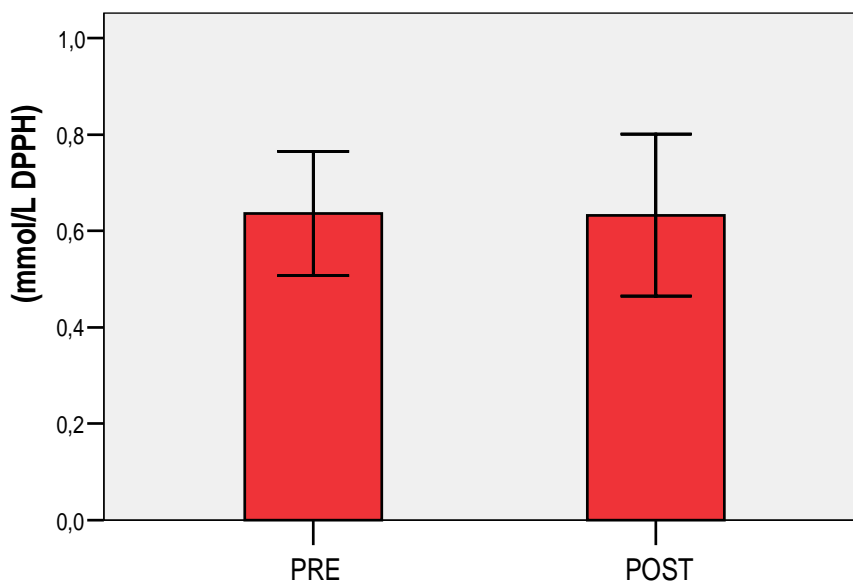
### 14.

Αναλυτικές τιμές της καταλάσης για κάθε αθλητή πριν και μετά τον αγώνα. Pre= πριν τον αγώνα, post = μετά τον αγώνα.

*(Total Antioxidant Capacity ó TAC)*

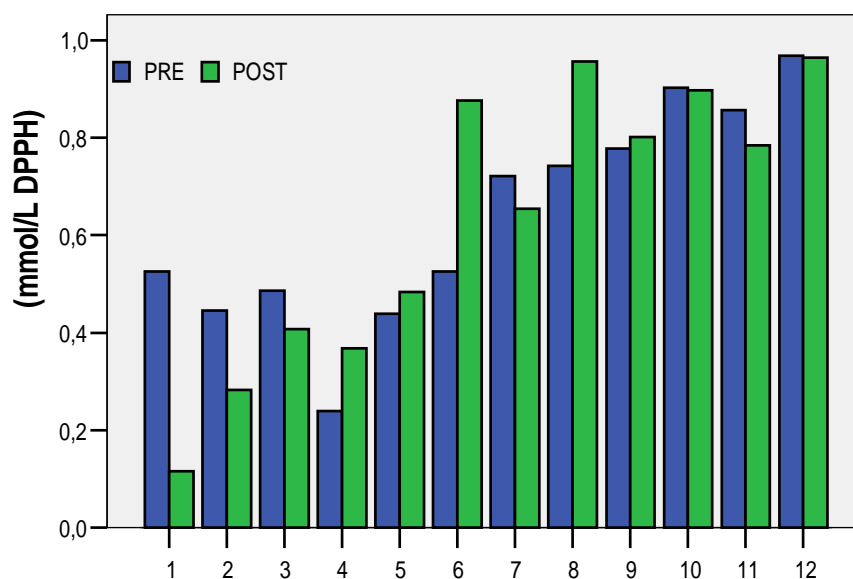
Ο ενδιάμεσος συντελεστής μεταβλητότητας (intra-assay coefficient of variation) για την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) ήταν 3,44%. Η κατανομή των τιμών πριν και μετά

τον αγώνα βρέθηκε να μην διαφέρει από την κανονική κατανομή ( $Z = 0,65$  και  $Z = 0,69$  αντίστοιχα,  $p > 0,05$ ). Οι τιμές της TAC πριν και μετά τον αγώνα παρέμειναν κατά προσέγγιση αμετάβλητες, οι μέσες τιμές διέφεραν ελάχιστα η μία απ' την άλλη ( $0,63 \pm 0,22$  mmol/L DPPH και  $0,63 \pm 0,29$  mmol/L DPPH αντίστοιχα,  $t = 0,05$ ,  $p > 0,05$ ). Οι αμετάβλητες μέσες τιμές της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας προκύπτουν από την ισορροπία στις μεταβολές των ατομικών τιμών. Σε πέντε αθλητές καταγράφηκε μείωση τιμών μετά τον αγώνα, ενώ στους υπόλοιπους επτά αύξηση. Και στην πρώτη υποομάδα (μείωση τιμών) και στη δεύτερη (αύξηση τιμών) υπήρξε από μία περίπτωση αθλητή με δραστική μεταβολή τιμών (αύξων αριθμός αθλητή 1 και 6 αντίστοιχα). Το εύρος των μεταβολών κυμάνθηκε από -77,95% μέχρι 66,45%, ενώ η μέση μεταβολή ήταν 1,08%. Οι μέσες τιμές του δείγματος πριν και μετά τον αγώνα παρουσιάζονται στο γράφημα 15, ενώ οι αναλυτικές τιμές για τον κάθε αθλητή ξεχωριστά στο γράφημα 16. Οι ατομικές τιμές του κάθε αθλητή παρουσιάζονται στο παράρτημα, πίνακας 11.



### 15.

Οι μέσες τιμές της ολική αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) πριν και μετά τον αγώνα (μέσος όρος  $\pm$  sem). Pre= πριν τον αγώνα, post = μετά τον αγώνα.



### 16.

Αναλυτικές τιμές της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας του κάθε αθλητή πριν και μετά τον αγώνα. Pre= πριν τον αγώνα, post = μετά τον αγώνα.

### 3.

Μέσες τιμές (s.d.) της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας για τις δύο ομάδες ξεχωριστά.

n	TAC_pre (mmol/L DPPH)	TAC_post (mmol/L DPPH)
7	0,48 (0,14)*	0,45 (0,24)*
5	0,84 (0,09)	0,88 (0,08)

TAC\_pre = συγκέντρωση ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας πριν τον αγώνα, TAC\_post = συγκέντρωση ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας μετά τον αγώνα, \*= p<0,05 σε σχέση με τις τιμές της ομάδας B.

## 5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο μέσος χρόνος συμμετοχής των υδατοσφαιριστών στους δύο αγώνες ήταν  $42,81 \pm 9,39$  λεπτά, χρόνος που αντιστοιχεί στο  $78 \pm 17,14$  % του συνολικού χρόνου των αγώνων. Οι τιμές του γαλακτικού οξέος μετά τον αγώνα προδίδουν υψηλή ένταση ( $9,16 \pm 3,9$  mmol/L), αρκετά υψηλότερη από τα γενικά αποδεκτά όρια του αναερόβιου κατωφλιού ( $>4$  mmol/L), με μεγάλες αποκλίσεις ωστόσο, στις ακραίες τιμές του ( $4,92 \rightarrow 16,04$  mmol/L). Οι υψηλές τιμές του γαλακτικού οξέος και η ικανότητα στην ανοχή αυτών αποτελούν ενδείξεις καλής αναερόβιας ικανότητας. Παρόμοιες τιμές γαλακτικού οξέος σε υδατοσφαιριστές κατέγραψαν οι Rodriguez και συνεργάτες (1994) σε Ισπανούς υδατοσφαιριστές ( $7-9$  mmol/L), ενώ οι Platanou & Geladas (2006)  $3,90 \pm 1,89$  mmol/L. Στην τελευταία έρευνα οι μετρήσεις έγιναν σε παίκτες με διεθνείς συμμετοχές σε αγώνες προσομοίωσης για τις ανάγκες των μετρήσεων και όχι σε επίσημο αγώνα. Αυτό, ίσως να είχε ανασταλτική επίδραση στην προσπάθεια των παικτών, αλλά επίσης πιθανά να παραπέμπει και στην καλή αερόβια ικανότητα των παικτών. Ο όγκος αίματος δεν μεταβλήθηκε μετά τον αγώνα, κάτι που ίσως να οφείλεται στο υδάτινο περιβάλλον. Στο νερό ο ρυθμός εφίδρωσης είναι μειωμένος σε σχέση με την ξηρή άσκηση (Cox, Broad, Rixley, & Burke, 2002) λόγω της γρήγορης απώλειας της θερμότητας. Οι συχνές διακοπές στην ροή του αγώνα αφήνουν επαρκή διαστήματα για την μείωση στη θερμοκρασία του σώματος και έτσι τη μείωση του ρυθμού εφίδρωσης.

### 5.1. Λιπιδική υπεροξειδωση

Η λιπιδική υπεροξειδωση μπορεί να βλάψει τις φυσιολογικές λειτουργίες του κυττάρου, ενώ αποτελεί και σημαντικό παράγοντα στην αθηρογένεση και αρτηριοσκλήρυνση οξειδώνοντας τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Η εκτίμηση της λιπιδικής υπεροξειδωσης γίνεται μετρώντας τα τελικά προϊόντα της, όπως είναι τα υδροϋπεροξειδία, τα συζευγμένα διένια, η μηλονική διαλδεΐδη, τα πεντάνιο, το εθάνιο και τα εξάνιο. Η μέθοδος με την πιο ευρύ αποδοχή και



εφαρμογή, κυρίως λόγω της απλότητας και ευχρηστίας της, είναι η μέτρηση της μηλονικής διαλδεΰδης (MDA) η οποία καταλήγει να σχηματίζει τα TBARS. Ωστόσο, η έλλειψη άμεσης και αποκλειστικής συσχέτισης της MDA με τα TBARS έχει δώσει δικαιώματα για αρκετή κριτική. Οι κυριότεροι λόγοι είναι ότι η λιπιδική υπεροξειδωση δεν οδηγεί πάντα στον σχηματισμό της MDA και άρα απουσία της τελευταίας δεν σημαίνει και απαραίτητα ότι δεν υπήρξε λιπιδική υπεροξειδωση και αντιθέτως, MDA μπορεί να παραχθεί και από άλλες διαδικασίες εκτός της λιπιδικής υπεροξειδωσης, οπότε παρουσία της MDA δεν προϋποθέτει απαραίτητα λιπιδική υπεροξειδωση (Jenkins, 2000). Παρά την κριτική που έχει δεχθεί, η μέθοδος των TBARS έχει εφαρμοστεί σε πολλές έρευνες, κάτι που επιτρέπει συγκρίσεις μεταξύ των τιμών με τις απαραίτητες πάντα επιφυλάξεις. Στην παρούσα έρευνα η παρουσία του οξειδωτικού στρες καταγράφηκε με τον πιο διακριτό τρόπο από την αύξηση των TBARS μετά την άσκηση. Η αύξηση κατά μέσο ήταν 51,73%, ενώ είναι χαρακτηριστικό, ότι σε όλους ανεξαιρέτως τους αθλητές είχαμε υψηλότερες τιμές μετά τον αγώνα σε σχέση με την ηρεμία, αποτέλεσμα που δείχνει την σαφή επίδραση της άσκησης στους αθλητές. Σύμφωνα με τους Leaf και συνεργάτες (1997) η ένταση της άσκησης είναι καθοριστικός παράγοντας για τη συγκέντρωση των TBARS και όπως δείχνουν και άλλες έρευνες μάλλον απαιτείται ένταση >80% του  $\text{VO}_2\text{max}$  για να παρατηρήσουμε αύξηση στα TBARS (Bloomer et al., 2005). Εδώ, τα αποτελέσματα στα TBARS και σε συνδυασμό με τις τιμές του γαλακτικού οξέος δείχνουν ότι οι παίκτες έφτασαν σε υψηλά επίπεδα έντασης. Σε μια εργασία επισκόπησης από τους Vollaard και συνεργάτες (2005) οι τιμές ηρεμίας για τα TBARS που αναφέρονται από διάφορες εργασίες κυμαίνονται κατά μέσο όρο γύρω στο 2,78  $\mu\text{mol/L}$ . Οι υδατοσφαιριστές σ' αυτή την έρευνα είχαν τιμές ηρεμίας  $4,04 \pm 0,71 \mu\text{mol/L}$ , δηλαδή αρκετά υψηλότερες. Αυτό πιθανά να οφείλεται στην συσσωρευμένη επιβάρυνση που δέχονται οι αθλητές. Οι μετρήσεις διεξήχθησαν στα μέσα του δεύτερου γύρου, όταν και κρίνεται σε μεγάλο βαθμό η τελική κατάταξη των ομάδων, οπότε είναι πιθανό ο φόρτος προπονήσεων

και αγώνων να ήταν αυξημένος. Επιπλέον, οι αθλητές είχαν ήδη ολοκληρώσει 3-3,5 μήνες συνεχών αγωνιστικών υποχρεώσεων, χωρίς επαρκή ενδιάμεση αποκατάσταση. Η παρατήρηση αυτή ενισχύεται και από τους Schirpinger και συνεργάτες (2002) και Finaud και συνεργάτες (2006), στις έρευνες των οποίων με επαγγελματίες αθλητές του ράγκμπυ καταγράφονται αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες στην ηρεμία, κυρίως τις περιόδους υψηλής επιβάρυνσης. Αυξημένες τιμές ηρεμίας της MDA σε σχέση με την ομάδα ελέγχου αναφέρουν και οι Marzatico και συνεργάτες (1997) και στους αθλητές ταχύτητας και στους μαραθωνοδρόμους. Είναι χαρακτηριστικό, ότι στις έρευνες όπου αναφέρονται υψηλότερες τιμές ηρεμίας (Margaritis, Palazetti, Rousseau, Richard, Favier, 2003; Hessel, Haberland, Müller, Lerche, & Schimke, 2000) οι συμμετέχοντες ήταν αθλητές τριάθλου και μαραθωνίου αντίστοιχα, αθλήματα γνωστά για τον υψηλό όγκο προπόνησης που απαιτείται. Μάλιστα, στην πρώτη έρευνα η άσκηση δεν επέφερε σημαντική μεταβολή στα TBARS. Η ανταπόκριση των TBARS στην άσκηση είναι άμεση (Bloomer et al., 2005), η συγκέντρωση της κορυφώνεται αμέσως μετά την άσκηση, ενώ από τα πρώτα λεπτά της αποκατάστασης αρχίζει να μειώνεται (Steinberg et al., 2006), κάτι που είναι πιο εμφανές ιδίως σε προπονημένα άτομα (Vollaard, 2006). Το εύρος της αύξησης μετά την άσκηση περιέχει κάποιες ακραίες τιμές (144%), ωστόσο στις περισσότερες περιπτώσεις βρίσκεται εντός των φυσιολογικών ορίων. Οι μεταβολές αυτές είναι παρόμοιες με αυτές των Kanter και συνεργάτες (1988) (59%), Sen και συνεργάτες (1994)(60%), Marzatico και συνεργάτες, (1997) (60%). Στην τελευταία έρευνα έχουν καταγραφεί και πιο ακραίες μεταβολές (220%), σε αναερόβιες όμως, αρκετά επίπονες, προσπάθειες και με τιμές ηρεμίας χαμηλότερες απ' ότι στην παρούσα έρευνα ( $2,85 \pm 0,3$  και  $4,04 \pm 0,71$   $\mu\text{mol/L}$  αντίστοιχα). Εδώ, ο αγώνας υδατοσφαίρισης, έτσι όπως εκφράστηκε από την μεταβολή στα TBARS είχε ισχυρή επίδραση στους αθλητές, ενώ και οι τιμές ηρεμίας προδίδουν την ύπαρξη βασικής συσσωρευμένης επιβάρυνσης.

## **5.2. Πρωτεϊνικά καρβονύλια**

Τα πρωτεϊνικά καρβονύλια είναι παράγωγα της υπεροξειδωσής των αμινοξέων και χρησιμοποιούνται ως δείκτες εκτίμησης της οξειδωσής των πρωτεϊνών. Η ανταπόκριση τους στην άσκηση έχει συνδεθεί περισσότερο με αναερόβιες προσπάθειες και κυρίως όπου υπήρξε και μυϊκή καταστροφή (Childs, Jacobs, Kaminski, Halliwell, & Leeuwenburgh, 2001; Radak, Pucso, Mecseki, Csont & Ferdinandy, 1999), ενώ σημαντικός παράγοντας είναι και η χρονική στιγμή της μέτρησης μετά την άσκηση. Σύμφωνα με τους Chevion και συνεργάτες (2003) η ανταπόκριση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων σε οξεία άσκηση παρατηρείται μετά από μερικές ώρες ως και μέρες, σε αντίθεση με την άμεση ανταπόκριση των TBARS. Αυτή η διαπίστωση υποστηρίζεται και από τους Lee και συνεργάτες (2002), όπου μεταβολές παρατηρήθηκαν μόνο μετά από 24 και 48ώρες και όχι αμέσως μετά το τέλος της άσκησης. Βέβαια, στη συγκεκριμένη έρευνα η άσκηση περιλάμβανε έκκεντρες συστολές. Το είδος αυτής της άσκησης μπορεί να προκαλέσει οξειδωτικό στρες μέσω της μυϊκής βλάβης και της φλεγμονής που αναπτύσσεται. Η ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων που ακολουθεί την φλεγμονή ωστόσο ξεκινάει μερικές ώρες μετά την άσκηση (Bloomer et al., 2005). Όπως φάνηκε και από την τελευταία έρευνα τα πρωτεϊνικά καρβονύλια αυξήθηκαν κυρίως μετά από άσκηση αντιστάσεων (ημικαθίσματα) φτάνοντας σε σημαντικές διαφορές από τις τιμές ηρεμίας στις 6 και 24 ώρες μετά την άσκηση, ενώ μετά την αερόβια άσκηση (κυκλοεργόμετρο) την αρχική, αλλά μη σημαντική αύξηση, ακολούθησε συνεχή μείωση. Στην παρούσα έρευνα η μέτρηση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων μόνο μια φορά στα πρώτα λεπτά της αποκατάστασης δεν μας βοηθάει να έχουμε πλήρη εικόνα της οξειδωσής των πρωτεϊνών, και αποτελεί περιοριστικό παράγοντα για την εξαγωγή συμπερασμάτων. Οι μεταβολές που παρατηρήθηκαν ήταν ανομοιόμορφες, σε κάποιους αθλητές αύξηση, σε κάποιους μείωση και άρα οι όποιες γενικεύσεις είναι άστοχες. Σε μια από τις λίγες έρευνες

που βρήκαμε αύξηση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων στα πρώτα λεπτά της αποκατάστασης (Alessio et al., 2000) η άσκηση περιλάμβανε τρέξιμο σε δαπεδοεργόμετρο μέχρι την εξάντληση. Εκτός απ' την εξαντλητική φύση της άσκησης το τρέξιμο μπορεί να προκάλεσε και μυϊκή βλάβη. Αν συνυπολογίσουμε και το γεγονός ότι οι συμμετέχοντες ήταν μη αθλητές, δεν φαίνεται περίεργο ότι το συγκεκριμένο πρωτόκολλο είχε τέτοια επίδραση. Στην υδατοσφαίριση η παρουσία του νερού αποτρέπει τους ισχυρούς κραδασμούς και έτσι μειώνεται σημαντικά η πιθανότητα μυϊκής βλάβης, ενώ και ο αγώνας, παρ' όλη την υψηλή ένταση που είχε, δεν χαρακτηρίζεται ως άσκηση μέχρι την εξάντληση. Στη μόνη έρευνα που βρέθηκαν αυξημένα πρωτεϊνικά καρβονύλια στην κολύμβηση (Nikolaidis et al., 2007) οι συμμετέχοντες ήταν νέοι αθλητές και δεν μπορούν να συγκριθούν με τους ενήλικες αθλητές της παρούσας έρευνας.

Στην έρευνα των Goldfarb και συνεργατών (2005) βρέθηκε αύξηση μετά από άσκηση 30 λεπτών στο 75-80% του  $\text{VO}_2\text{max}$  με μικρότερες ωστόσο τιμές μετά την άσκηση απ' ότι στην παρούσα έρευνα (0,89 και  $1,01 \pm 0,25$  nmol/mg πρωτεΐνης αντίστοιχα). Η σημαντική διαφορά κρίνεται από το μέγεθος της μεταβολής πριν και μετά την άσκηση. Όταν η αρχική τιμή είναι σχετικά μεγάλη, οι δυνατότητες σημαντικής μεταβολής περιορίζονται. Όπως και στα TBARS, έτσι και στα καρβονύλια, οι υδατοσφαιριστές παρουσίασαν υψηλές τιμές ηρεμίας ( $0,95 \pm 0,33$  nmol/mg πρωτεΐνης), σε αντίθεση με τα  $0,24$  nmol/mg πρωτεΐνης της προηγούμενης έρευνας. Στην τελευταία πάντως, οι συμμετέχοντες δεν ασκούνταν συστηματικά και δεν ήταν προπονημένοι, παράγοντας που σε ένα βαθμό δικαιολογεί και τη δραστική μεταβολή μετά την άσκηση, καθότι η φυσική κατάσταση των συμμετεχόντων επηρεάζει τη συγκέντρωση των καρβονυλίων (Bloomer et al., 2005). Ίσως μια μέτρηση των υδατοσφαιριστών κατά τη μεταβατική περίοδο ή κατά τις πρώτες μέρες της βασικής προετοιμασίας τους να μας έδινε περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τις τιμές ηρεμίας των καρβονυλίων. Παρόμοιες τιμές ηρεμίας βρέθηκαν και απ' τους Cheignon και συνεργάτες

(2003) ( $0,7 \text{ nmol/mg}$  πρωτεΐνης και  $0,95 \pm 0,33 \text{ nmol/mg}$  πρωτεΐνης αντίστοιχα), με μείωση, όμως μετά από πολύωρες πορείες. Η μείωση, σύμφωνα με τους ερευνητές αποδόθηκε σε κάποιο μηχανισμό απομάκρυνσης των καρβονυλίων από το αίμα, ο οποίος μηχανισμός φαίνεται να εξασθενεί μετά από μια δεύτερη ακόμα πιο επίπονη πορεία. Ίσως, εδώ η κόπωση της πρώτης πορείας να επηρεάζει την αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού ενάντια στην πρωτεϊνική οξείδωση. Συνολικά, βλέπουμε ότι η καλή φυσική κατάσταση των παικτών σε συνδυασμό με τις ήπιες αντιστάσεις που προσφέρει το νερό (απουσία μυϊκής βλάβης) μάλλον έδρασαν προστατευτικά ενάντια στην οξείδωση των πρωτεϊνών, ωστόσο η μία μόνο μέτρηση μετά την άσκηση και η χρονική περίοδος υψηλού φόρτου όταν έγινε η αιμοληψία, δεν μας επιτρέπουν την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων.

### **5.3. Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC)**

Οι μέσες τιμές της TAC πριν και μετά τον αγώνα έμειναν σχεδόν αμετάβλητες (1,08%). Αυτό το αποτέλεσμα προκύπτει από την ανομοιομορφία στις ατομικές μεταβολές του κάθε υδατοσφαιριστή (αυξομειώσεις), και όχι τόσο από μεταβολές ομοιόμορφες, αλλά μικρές σε μέγεθος. Η ανταπόκριση της TAC στους υδατοσφαιριστές που μετρήθηκαν χαρακτηρίστηκε από ποικιλία και η συνολική εικόνα δεν βοηθάει για εξαγωγή συμπερασμάτων. Ο δείκτης TAC, αποτελεί έναν συνολικό δείκτη εκτίμησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας του οργανισμού και έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως από τους ερευνητές. Περιλαμβάνει τη δραστηριότητα πολλών αντιοξειδωτικών ουσιών (βιταμίνες E και C, πρωτεΐνες πλάσματος, γλουταθειόνη, υπεροξείδιο της δισμουτάσης, ουρικό οξύ κ.α.), ενώ πιθανά να υπάρχουν και άλλες ουσίες με αντιοξειδωτική δράση, οι οποίες συνεισφέρουν στην TAC. Από τις γνωστές ουσίες το 50% της συνεισφοράς στον συνολικό δείκτη θεωρείται ότι παρέχεται από το ουρικό οξύ. Η δυσκολία να αναγνωριστεί η προσφορά της κάθε αντιοξειδωτικής ουσίας στην συνολική αντιοξειδωτική δράση του οργανισμού, αποτελεί το κυριότερο επιχείρημα για τους

επικριτές του δείκτη αυτού. Οι έρευνες μέχρι τώρα παρουσιάζουν ανοδική τάση στην TAC στο αίμα μετά από οξεία άσκηση. Αυτό οφείλεται μάλλον: α) στην κινητοποίηση των αντιοξειδωτικών ουσιών από τους ιστούς αποθήκευσης τους, προφανώς για να αντιμετωπιστεί η αυξημένη συσσώρευση των ελευθέρων ριζών και β) στην ρυθμιστική ικανότητα των ενδογενών αντιοξειδωτικών να μεταβάλουν τη συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών ανάλογα με τις ανάγκες (Watson et al., 2005). Απουσία μεταβολής της TAC σε κάθε χρονικό σημείο της αποκατάστασης, παρ' όλη τη μεταβολή στα TBARS ή στην GSH διαπίστωσαν και οι Steinberg και συνεργάτες (2006), μετά από ισομετρική άσκηση. Αντιθέτως, μείωση στα πρώτα πέντε λεπτά με σημαντική αύξηση στα 20 λεπτά της αποκατάστασης παρατηρήθηκε μετά από αερόβια άσκηση (κυκλοεργόμετρο). Αύξηση της TAC καταγράφηκε από τους Liu και συνεργάτες (1999) μετά από αγώνα μαραθωνίου, ενώ οι υψηλότερες τιμές ηρεμίας της ίδιας έρευνας απ' την ομάδα ελέγχου, δείχνουν την ανάγκη αυξημένης προστασίας από τις συνεχείς επιβαρύνσεις του προπονητικού όγκου. Σύμφωνα με πολλούς ερευνητές, με την συστηματική άσκηση η TAC αυξάνεται και στην ηρεμία προσφέροντας ισχυρότερη προστασία και άρα αποτελεί τμήμα των ευεργετικών προσαρμογών στην άσκηση. Αυτή η ευεργετική προσαρμογή της αντιοξειδωτικής άμυνας του οργανισμού φαίνεται και από την μελέτη των Fatouros και συνεργατών (2004), στην οποία αερόβιο πρόγραμμα 16 εβδομάδων αύξησε τις τιμές της TAC και στην ηρεμία και μετά από οξεία άσκηση. Παρόμοια αύξηση στην TAC στην ηρεμία διαπίστωσαν και οι Brites και συνεργάτες (1999) σε ποδοσφαιριστές. Η καλή φυσική κατάσταση έχει συσχετιστεί θετικά με την TAC (Franzoni et al., 2004), και λαμβάνοντας υπόψη, ότι η TAC παραμένει αυξημένη και μέχρι τέσσερις ημέρες μετά από οξεία άσκηση (Liu et al., 1999) δεν είναι απίθανο οι υδατοσφαιριστές να έχουν αυξημένες τιμές ηρεμίας (επίδραση των καθημερινών προπονήσεων και των συνεχόμενων αγώνων κάθε εβδομάδα). Κατά κάποιο τρόπο η μόνιμη αυτή προσαρμογή της TAC, σε συνδυασμό με το επαναλαμβανόμενο ερέθισμα ενός αγώνα

υδατοσφαίρισης, να μην απαιτήσει περαιτέρω μεταβολές στην TAC, όπως μετά από άλλες περιπτώσεις οξείας άσκησης (Vasankari, Kujala, Vasankari, Vuorimaa, Markku, 1997; Liu et al., 1999). Σ' αυτές τις έρευνες η άσκηση αποτέλεσε πιο μεμονωμένο ερέθισμα επιβάρυνσης (μαραθώνιος).

Η μελέτη των Watson και συνεργατών (2005) έδειξε ότι διαίτα φτωχή ή πλούσια σε αντιοξειδωτικές ουσίες δεν φάνηκε να επηρεάζει τις τιμές της TAC στην ηρεμία (ίσως και λόγω της συνεργιστικής δράσης των συστατικών της), αλλά αντιθέτως επηρέασε την λιπιδική υπεροξειδωση μετά την άσκηση. Ελλείπει δεδομένων για την διαίτα που ακολούθησαν οι συμμετέχοντες στην παρούσα έρευνα μάς κάνει να είμαστε επιφυλακτικοί με όποια άμεση συσχέτιση της TAC με την επίδραση του αγώνα. Αξιοσημείωτη είναι η διαφορά ανάμεσα στους υδατοσφαιριστές των δύο ομάδων χωρίς να μπορεί να δοθεί κάποια εξήγηση σ' αυτό. Οι παίκτες της μιας ομάδας (περιπτώσεις 8-12) έχουν υψηλές τιμές και στην ηρεμία και στην άσκηση, ενώ και οι μεταβολές μετά την άσκηση είναι μικρής κλίμακας, σε αντίθεση με τις ασταθείς μεταβολές και τις χαμηλές τιμές των παικτών της άλλης ομάδας (περιπτώσεις 1,2,4,6). Η μεγάλη διακύμανση των ατομικών μεταβολών με κάποιες δραστικές, αλλά αντίθετες μεταβολές σε μεμονωμένες περιπτώσεις δεν μας επιτρέπουν να έχουμε σαφή εικόνα για την επίδραση του αγώνα στην TAC, ενώ μας βάζουν στο πειρασμό να υποθέσουμε, ότι η TAC πιθανό να μην είναι αξιόπιστος δείκτης για την εκτίμηση της αντιοξειδωτικής δράσης των υδατοσφαιριστών.

#### **5.4. Καταλάση**

Η καταλάση αυξήθηκε μετά την άσκηση κατά 17,52%, ενώ και οι ομοιόμορφες μεταβολές στην πλειονότητα των υδατοσφαιριστών εμφανίζουν σαφή εικόνα της επίδρασης που είχε ο αγώνας στην συγκέντρωση της καταλάσης στο αίμα. Αύξηση στην συγκέντρωση της καταλάσης παραπέμπει έμμεσα στην ανάπτυξη οξειδωτικού στρες, η καταλάση

ενεργοποιείται παρουσία υπεροξειδικού ανιόντος με παράλληλη μείωση της SOD (Tauler et al., 2005). Η δραστηριότητα της καταλάσης έχει συνδεθεί με αύξηση του φόρτου που δημιουργείται από την άσκηση. Η καταλάση επιστρατεύεται κυρίως όταν λόγω της αυξημένης επιβάρυνσης η παραγωγή  $H_2O_2$  υπερέχει της αντιοξειδωτικής δράσης της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (Urso & Clarkson, 2003). Παρόμοια αποτελέσματα με αυτά της παρούσας έρευνας μετά από οξεία άσκηση έχουν καταγραφεί και από τους Tauler, Gimeno, Aquiló, Guix & Pons (1999) μετά από αγώνα διάθλου (14,2%), από τους ίδιους ερευνητές μετά από αγώνα ποδηλασίας (29%) (Tauler et al., 2005), από τους Pan και συνεργάτες (2001) μετά από αερόβια και αναερόβια δοκιμασία στην κολύμβηση. Η αύξηση στην καταλάση μετά από οξεία άσκηση δεν επιβεβαιώθηκε σε άλλες έρευνες (Duthie et al., 1990; Marzatico et al. 1997; Rozitski et al., 1994; Ji, 1999; Miyazaki et al., 2001). Οι Tauler και συνεργάτες (1999) βρήκαν μείωση της καταλάσης μετά από υπομέγιστη προσπάθεια σε κυκλοεργόμετρο, αύξηση αυτής μετά τον αγώνα ποδηλασίας και καμία μεταβολή μετά από μέγιστη άσκηση. Η μέγιστη άσκηση είχε περιορισμένη διάρκεια και έτσι ο χρόνος για όποιες πρωτεϊνικές μετατροπές ήταν ανεπαρκής. Σ' αυτό το είδος άσκησης φαίνεται, ότι η αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού αρκεί να καλύψει τις ανάγκες αντιοξειδωτικής προστασίας (Tauler et al., 1999). Στην υπομέγιστη άσκηση με τη μεγάλη διάρκεια (>90 λεπτά), η σχέση προοξειδωτικών – αντιοξειδωτικών έγειρε υπέρ των πρώτων. Όπως έχει διατυπωθεί (Tauler et al., 1999) η μεγάλη συσσώρευση  $H_2O_2$  φαίνεται να παρεμποδίζει τη δράση της καταλάσης. Ενδιαφέρον ωστόσο παρουσιάζει στην ίδια έρευνα η αύξηση της καταλάσης στον αγώνα ποδηλασίας, ο οποίος συνδυάζει και υψηλή ένταση και μεγάλη διάρκεια, και άρα αποτελεί αρκετά απαιτητικό πρωτόκολλο άσκησης. Πρέπει να επισημανθεί, ότι στην μέγιστη και υπομέγιστη δοκιμασία οι συμμετέχοντες είχαν χαρακτηριστεί ερασιτέχνες αθλητές, ενώ στον αγώνα ποδηλασίας ήταν επαγγελματίες ποδηλάτες. Άρα, η σύγκριση των διαφορετικών πρωτόκολλων άσκησης σε διαφορετικά



άτομα περιέχει αρκετούς αστάθμητους παράγοντες. Οι χαμηλές τιμές ηρεμίας των επαγγελματιών αθλητών, πιθανά να οδήγησαν σε πιο εύκολη αύξηση μετά την άσκηση. Πάντως, η καταλάση, ως μηχανισμός ευεργετικών μηχανισμών σε συστηματική άσκηση, πιθανά να παρουσιάζει καλύτερη ανταπόκριση σε προπονημένους απ' ό τι σε απροπόνητους. Όπως, έχει παρουσιαστεί και από διάφορους ερευνητές (Parise, Phillips, Kaczor, Tarnopolsky, 2005), η συστηματική άσκηση οδηγεί σε αύξηση της καταλάσης στην ηρεμία. Μάλιστα οι ευεργετικές αυτές προσαρμογές είναι περισσότερο εμφανείς ως αποτέλεσμα της αερόβιας άσκησης (Marzatico et al., 1997; Kostaropoulos et al., 2006). Στην πρώτη έρευνα οι αθλητές αντοχής είχαν σχεδόν διπλάσια συγκέντρωση καταλάσης στο αίμα από τους αθλητές ταχύτητας ( $42,5 \pm 4,7$  και  $22,8 \pm 3,8$  K/g Hb αντίστοιχα). Η καταλάση στο αίμα των τελευταίων ήταν χαμηλότερη ακόμα και από την ομάδα ελέγχου. Εξάλλου, οι μεταβολές της καταλάσης στην ηρεμία έχουν συσχετιστεί θετικά με τον προπονητικό όγκο (Urso & Clarkson, 2003) και με την μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου (Marzatico et al., 1997). Οπότε μάλλον είναι πιθανό η αύξηση της καταλάσης να προδίδει αύξηση ελευθέρων ριζών λόγω του αγώνα, όχι όμως σε βαθμό που να παρεμποδίζεται η δράση της, η οποία παρουσιάζεται ενισχυμένη (αύξηση μετά τον αγώνα) χάρη στις προσαρμογές από την μακροχρόνια προπόνηση και κατά συνέπεια την βελτιωμένη αερόβια ικανότητα.

### **5.5. Η οξειδοαναγωγική κατάσταση της γλουταθειόνης**

Η οξείδωση της ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH) σε οξειδωμένη (GSSG), η αναλογία αυτών πριν και μετά από οξεία άσκηση αποτελεί έναν από τους πιο ευαίσθητους δείκτες του οξειδωτικού στρες (Sen, 1999). Ο ρόλος της γλουταθειόνης είναι πολύ σημαντικός στην αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού, όχι μόνο λόγω της άμεσης αντίδρασης της στις ελεύθερες ρίζες και στα ROS, αλλά και λόγω του ενισχυτικού ρόλου που έχει στην δράση εξωγενών αντιοξειδωτικών (βιταμίνη C και E) (Sen & Parker, 2000). Οι έρευνες με τη

γλουταθειόνη δείχνουν ότι η οξεία άσκηση προκαλεί μείωση της GSH ή/και αύξηση της GSSG (Goldfarb et al., 2005; Ilan et al., 2001; Gohil et al., 1988; Nikolaidis et al., 2006; Vollaard et al., 2006; Steinberg et al., 2006; Sen et al., 1994). Αυτή η ανταπόκριση στην άσκηση δεν υποστηρίζεται από όλους τους ερευνητές. Οι Ilhan και συνεργάτες (2004) και οι Lee και συνεργάτες (2002) δεν βρήκαν καμία μεταβολή για την GSH μετά από οξεία άσκηση. Οι Sastre και συνεργάτες (1992) υποστηρίζουν ότι μόνο η εξαντλητική άσκηση προκαλεί οξειδωση της γλουταθειόνης, ενώ σύμφωνα με τους Leeuwenburgh και συνεργάτες (1997) σημαντικός είναι και ο ρόλος της διατροφής. Στην παρούσα έρευνα, σε αντίθεση με την επικρατούσα τάση των περισσότερων ερευνών, η ανηγμένη γλουταθειόνη αυξήθηκε κατά 76,92% μετά τον αγώνα. Παρ' όλη την αύξηση της GSH και την αντιοξειδωτική δράση που αυτή προσφέρει, δεν απειράπη η αύξηση της οξειδωμένης γλουταθειόνης μετά τον αγώνα, αποτέλεσμα που μαρτυρά το ισχυρό ερέθισμα του αγώνα υδατοσφαίρισης και την ύπαρξη συνθηκών οξειδωτικού στρες. Η μέση αύξηση του 20%, που καταγράφηκε στην GSSG, είναι σε συμφωνία με τις έρευνες των Vollaard και συνεργατών (2006) (13,9%), υπολείπονται όμως σημαντικά από την αύξηση 100% από τις μετρήσεις των Gohil και συνεργατών (1988). Συνολικά, μπορεί να διατυπωθεί, ότι και η ανηγμένη και η οξειδωμένη γλουταθειόνη αυξήθηκαν. Λόγω της ισχυρότερης αύξησης της GSH απ' αυτή της GSSG η αναλογία GSH/GSSG αυξήθηκε, στατιστικά μη σημαντικά όμως. Αύξηση της ανηγμένης γλουταθειόνης έχει καταγραφεί σε ανθρώπους (Ji, Katz, Fu, Griffiths, & Spencer, 1993; Sahlin et al., 1991, Machefer et al., 2004; Gohil et al., 1988), και σε επίμυες από τους Lew, Pyke & Quintanilha (1985). Ο μεταβολισμός της γλουταθειόνης περιλαμβάνει αρκετά ένζυμα, ελλείπει στοιχείων σχετικά με τη δράση των ενζύμων αυτών, δεν είμαστε σε θέση για σαφή ερμηνεία στην αύξηση της ανηγμένης γλουταθειόνης. Η μακροχρόνια άσκηση και κατά συνέπεια η βελτιωμένη αερόβια ικανότητα φαίνεται να αποτελεί ερέθισμα ευεργετικών προσαρμογών, αυξάνοντας τα επίπεδα της GSH στην ηρεμία ως αντίδραση στην χρόνια

έκθεση στο οξειδωτικό στρες (Tessier, Hida, Favier, & Marconnet, 1995; Hack et al., 1997, Sen & Parker, 2000). Οι Machefer και συνεργάτες (2004) και οι Gohil και συνεργάτες (1988) θεωρούν ότι οι συνθήκες οξειδωτικού στρες λειτουργούν ως μεταγωγικοί μηνυμάτων για την ενδυνάμωση της αντιοξειδωτικής προστασίας, η οποία εκδηλώνεται με αυξημένα επίπεδα στην GSH. Σύμφωνα με τους Noveli, Bracciotti, & Falsini (1990) εξωγενής παροχή της GSH βελτίωσε την αντοχή στην κολύμβηση σε επίμυες, κάτι που δείχνει την σχέση μεταξύ GSH και αερόβιας αντοχής, ενώ μας κάνει να υποθέσουμε ότι πιθανά ισχύει και μία αντίστροφη σχέση. Μέσω των ευεργετικών προσαρμογών σε προπονημένα άτομα, πιθανά να συνθέτεται περισσότερη GSH στο συκώτι και να διοχετεύεται στο αίμα για να μεταφερθεί στους ιστούς που έχουν μεγαλύτερη ανάγκη (Balakrishnan & Anuradha, 1998; Ji et al., 1993). Σύμφωνα με τους τελευταίους το κυριότερο ερέθισμα για την σύνθεση και απελευθέρωση στο αίμα της GSH είναι το γλυκαγόνο. Το γλυκαγόνο εκκρίνεται σε μεγάλες ποσότητες με την άσκηση. Όταν, όμως, οι ερευνητές παρεμπόδισαν την αύξηση στη συγκέντρωση του γλυκαγόνου με δίαιτα πλούσια σε υδατάνθρακες, η GSH δεν αυξήθηκε. Ακόμα, με την άσκηση επιβραδύνεται η απομάκρυνση της GSH από το αίμα, λόγω της μειωμένης αιματικής ροής στα νεφρά. Τα νεφρά ευθύνονται για το 67% της απομάκρυνσης της GSH απ' το αίμα και η μειωμένη λειτουργία των νεφρών μειώνει την απορρόφηση της GSH, διατηρώντας αυξημένα τα επίπεδα της στο αίμα (Ji et al., 1993). Η κινητική της GSH απεικονίζεται στην έρευνα των Jammes και συνεργατών (2004), όπου όσο το ερέθισμα της άσκησης ήταν ανεχτό (μέχρι το κατώφλι) η GSH αυξήθηκε, όταν η επιβάρυνση της άσκησης όμως αυξήθηκε (πριν την εξάντληση) η αντιοξειδωτική άμυνα δε μπόρεσε να ανταποκριθεί στην συσσώρευση ελευθέρων ριζών και η GSH μειώθηκε σημαντικά.

Κατά την συσσώρευση ελευθέρων ριζών η GSH χρησιμοποιείται από το ένζυμο υπεροξειδάση της γλουταθειόνης για την εξουδετέρωση των ελευθέρων ριζών, προϊόν αυτής της διαδικασίας είναι η οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG). Ωστόσο, σε καλά προπονημένα

άτομα ή όταν η παραγωγή των ελευθέρων ριζών δεν είναι έντονη η GSSG μπορεί να μην αυξηθεί χάρη στη δραστηριότητα της αναγωγάσης της γλουταθειόνης, η οποία μετατρέπει την GSSG σε GSH (Ji et al. 1993). Αυτή η ισορροπία είναι αρκετά εύθραυστη και οι μεταβολές συνεχώς αναστρέψιμες. Η οξειδωση και η αναγωγή της γλουταθειόνης βρίσκονται σε μία συνεχή δυναμική κατάσταση (Lee et al., 2002). Σε προπονημένους από τα πρώτα λεπτά της αποκατάστασης ενεργοποιείται η αναγωγάση της γλουταθειόνης. Λαμβάνοντας υπόψη ότι στην παρούσα έρευνα η αιμοληψία έγινε 10-20 λεπτά μετά τον αγώνα και ότι οι υδατοσφαιριστές είχαν συστηματική και μακροχρόνια ενασχόληση με το άθλημα, είναι πιθανό αυτό το χρονικό διάστημα να ήταν αρκετό για τη μερική μετατροπή της GSSG σε GSH (Lee et al., 2002).

Ενδιαφέρον επίσης παρουσιάζει και η διαφορά στην GSH στην ηρεμία και μετά την άσκηση μεταξύ των υδατοσφαιριστών των δύο ομάδων. Όπως και στην περίπτωση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (TAC) οι υδατοσφαιριστές με τις υψηλότερες τιμές στην τελευταία είχαν και υψηλότερες τιμές στην GSH, χωρίς να μπορεί να δοθεί τεκμηριωμένη ερμηνεία γι' αυτό. Η γλουταθειόνη είναι ένας παράγοντας της TAC, και άρα όποια αύξηση της πρώτης μπορεί να επηρεάζει και τη δεύτερη. Ωστόσο, δεν θα πρέπει να αποκλειστεί και η εκδοχή της καλύτερης αντιοξειδωτικής άμυνας στους συγκεκριμένους υδατοσφαιριστές. Συνολικά για την γλουταθειόνη συμπεραίνουμε ότι η διαλλειματική φύση του αγώνα (ενδιάμεσες διακοπές και αυξομειώσεις της έντασης) και τα 10-20 λεπτά της αιμοληψίας μετά τον αγώνα, σε συνδυασμό με την καλή φυσική κατάσταση των υδατοσφαιριστών πιθανά να οφείλονται για την αύξηση στην GSH. Για την GSSG φαίνεται, ότι βρίσκεται στο όριο της λεπτής ισορροπίας προοξειδωτικών και αντιοξειδωτικών με αυξητικές τάσεις λόγω ισχυρής επιβάρυνσης, αλλά και ισχυρής αντιοξειδωτικής δράσης (λόγω καλής φυσικής κατάστασης).

## 6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα έρευνα εξετάστηκε η επίδραση ενός αγώνα υδατοσφαίρισης στους δείκτες οξειδωτικού στρες και αντιοξειδωτικών ουσιών αίματος σε υδατοσφαιριστές. Απ' όσο μπορούμε να γνωρίζουμε παρόμοια έρευνα μέχρι τώρα δεν έχει ξαναγίνει, σε ότι αφορά τους υδατοσφαιριστές, και κυρίως σ' ότι αφορά την επίδραση ενός επίσημου αγώνα υδατοσφαίρισης. Η δημιουργία οξειδωτικού στρες φάνηκε με τον πιο σαφή τρόπο απ' την αύξηση μετά τον αγώνα στα TBARS, ενώ ενισχύεται και απ' την αύξηση της καταλάσης και της οξειδωμένης γλουταθειόνης. Η υδατοσφαίριση είναι αρκετά απαιτητικό άθλημα, με συνδυασμό των ενεργειακών απαιτήσεων σ' έναν αγώνα (αερόβιο, αναερόβιο γαλακτικό και αγαλακτικό), και συνδυασμό μυϊκής λειτουργίας (ισοτονικής ομόκεντρης και έκκεντρης, ισομετρικής). Λαμβάνοντας υπόψη την υψηλή ένταση της άσκησης, όπως αυτή καταγράφηκε από τις τιμές του γαλακτικού οξέος μετά τον αγώνα, η δημιουργία οξειδωτικού στρες θεωρείται φυσιολογικό επακόλουθο. Σε αντιστάθμιση του ασκησιογενούς οξειδωτικού στρες η αντιοξειδωτική άμυνα των υδατοσφαιριστών φαίνεται ενισχυμένη. Αυτό φάνηκε από την αύξηση στις τιμές της καταλάσης και της ανηγμένης γλουταθειόνης. Είναι αξιοσημείωτο, ότι παρά την αυξημένη αντιοξειδωτική δράση των παικτών το οξειδωτικό στρες δεν μπόρεσε να αποτραπεί. Η ισορροπία προξειδωτικών – αντιοξειδωτικών είναι αρκετά λεπτή και η εξέλιξη της επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες (φυσική κατάσταση συμμετεχόντων, ένταση και διάρκεια της άσκησης, διατροφή κ.α.). Σε μια συνεχόμενη και ελεγχόμενη άσκηση η έκβαση της εσωτερικής αυτής «μάχης» φαίνεται πιο απλή, σε αντίθεση με τα ομαδικά αθλήματα, όπου οι συνεχείς εναλλαγές της έντασης, τα νεκρά διαστήματα και τα διαστήματα ανάπαυλας μεταβάλουν διαρκώς και δυσκολεύουν την τελική κατεύθυνση της σχέσης προξειδωτικών – αντιοξειδωτικών.

Τα στοιχεία που συλλέχθηκαν στην έρευνα δεν μας επιτρέπουν να έχουμε πλήρη εικόνα της επίδρασης του αγώνα, για κάτι τέτοιο απαιτούνται περαιτέρω έρευνες. Ελλείπει

δεδομένων για τη διατροφή των υδατοσφαιριστών δεν μπορούμε να ξέρουμε τυχόν επιδράσεις και παρεμβολές της τελευταίας, γνωρίζοντας ότι αποτελεί σημαντικό παράγοντα στην ανταπόκριση του οργανισμού στην οξεία, αλλά και μακροχρόνια άσκηση. Επίσης, η χρονική περίοδος που έγινε η αιμοληψία, μας δίνει μόνο μια χρονική στιγμή στην οξειδοαναγωγική κατάσταση των παικτών, χωρίς να γνωρίζουμε την δυναμική των δεικτών που μετρήθηκαν σε βάθος χρόνου. Μάλιστα, πρέπει να λάβουμε υπόψη, ότι η κορύφωση πολλών δεικτών οξειδωτικού στρες μετά από άσκηση, διενεργείται από μια έως λίγες ώρες κατά την αποκατάσταση (Michailidis et al., 2007) και όχι απαραίτητα αμέσως μετά. Ακόμα, η περίοδος που έγινε η αιμοληψία (στα  $\frac{3}{4}$  της αγωνιστικής περιόδου) μάς αναγκάζει να συνυπολογίσουμε την συσσωρευμένη κόπωση από τις συνεχείς αγωνιστικές υποχρεώσεις και τις προπονήσεις, χωρίς να γνωρίζουμε τυχόν διαφοροποιήσεις στους δείκτες αυτούς. Τέλος, η έλλειψη ομάδας ελέγχου, δεν επιτρέπει σύγκριση των τιμών ηρεμίας, για να μπορεί να εκτιμηθεί καλύτερα η αρχική κατάσταση των υδατοσφαιριστών.

Συνολικά, και σύμφωνα με τις ερευνητικές και στατιστικές υποθέσεις που τέθηκαν σ' αυτή την έρευνα, μπορούν να διατυπωθούν τα εξής:

1. Ο επίσημος αγώνας υδατοσφαίρισης αποτελεί ισχυρό ερέθισμα για την συσσώρευση ελευθέρων ριζών και ROS και εν τέλει για τη δημιουργία συνθηκών οξειδωτικού στρες. Ισχύει η ερευνητική υπόθεση και απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση.
2. Στατιστικά σημαντικές διαφορές υπήρχαν σε μερικούς απ' τους δείκτες που μετρήθηκαν. Έτσι, στατιστικά σημαντική διαφορά βρέθηκε στα TBARS, GSH, GSSG και καταλάση, ενώ δεν βρέθηκε στα πρωτεϊνικά καρβονύλια, στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα και στην αναλογία GSH/GSSG. Ισχύει μερικώς η ερευνητική υπόθεση και απορρίπτεται μερικώς η μηδενική υπόθεση.
3. Η πολύχρονη ενασχόληση με την υδατοσφαίριση, οι συνεχείς αγωνιστικές υποχρεώσεις, δείχνουν σημάδια ευεργετικών προσαρμογών ενισχύοντας την

αντιοξειδωτική προστασία των υδατοσφαιριστών. Ισχύει η ερευνητική υπόθεση και απορρίπτεται η μηδενική υπόθεση.

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Πριν απ' όλα θα ήθελα να ευχαριστήσω τους παίκτες των δύο ομάδων που εθελοντικά προθυμοποιήθηκαν να συμμετάσχουν στις μετρήσεις και τους προπονητές τους για τη συγκαταβατική τους στάση. Γνωρίζοντας πόσο δύσκολο είναι να διεξάγει κανείς μετρήσεις σε αθλητές αγωνιστικού επιπέδου σε επίσημους αγώνες, οφείλουμε να παραδεχτούμε ότι η συνεισφορά των συμμετεχόντων ήταν ανεκτίμητη.

Επίσης, οφείλω να ευχαριστήσω τους καθηγητές Δρ. Κουρέτα Δημήτρη και Δρ. Τζιαμούρτα Αθανάσιο κατ' αρχήν για τις καίριες συμβουλές και υποδείξεις τους και την άρτια επιστημονικά επίβλεψη της διατριβής, και δεύτερον για τη δυνατότητα που μου παρείχαν να χρησιμοποιήσω τα εργαστήρια για τις βιοχημικές αναλύσεις των δειγμάτων.

Ακομα, ευχαριστώ τον Βεσκούκη Άρη και Κύπαρο Αντώνη για τη βοήθεια που μου παρείχαν και τις χρήσιμες συμβουλές τους στις βιοχημακές αναλύσεις των δειγμάτων.

Ευχαριστώ, τους Ευτύχιο Ευτυχιάδη και Γεωργία Μαμμή για τη βοήθεια στις αιματοληψίες των αθλητών.

Και τέλος ευχαριστώ, την οικογένεια μου, τη σύντροφο μου και τα παιδιά μου, για τη συμπαράσταση και την υπομονή τους και για όλο το χρόνο που με στερήθηκαν κατά την εκπόνηση της μεταπτυχιακής διατριβής.



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Alessio, H.M., Goldfarb, A.H., & Cao, G. (1997). Exercise-induced oxidative stress before and after vitamin C supplementation. *International Journal of Sport Nutrition*, 7, 1-9.
2. Alessio, H.M., Hagerman, A.E., Fulkerson, B.K., Ambrose, J., Rice, R.E., & Wiley, R.L. (2000). Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 32, 1576-1581.
3. Aquiló A., Tauler, P., Guix., M.P., Villa G., Córdova, A., Tur, J.A., & Pons, A. (2003). *Journal of Nutritional Biochemistry*, 14, 319-325.
4. Aquilo, A., Tauler, P., Fuentespina, E., Tur., J.A., Córdova, A., & Pons, A. (2005). Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise. *Physiology & Behavior*, 84, 1-7.
5. Ashton, T., Rowlands, C.C., Jones, E., Young, I.S., Jackson, S.K., Davies, B., & Peters, J.R. (1998). Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centered radicals in human serum following exhaustive exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 77, 498-502.
6. Avlonitou, E. (1991). Energy requirements and training considerations in competitive water polo games. *Proceedings of the FINA First World Water Polo Coaches Seminar May 27-June 3: Athens* (pp. 193-150). Lausanne: FINA.
7. Balakrishnan, S.D., & Anuradha, C.V. (1998). Exercise, depletion of antioxidants and antioxidant manipulation. *Cell Biochemistry and Function*, 16, 269-275.
8. Bloomer, R.J., Falvo, M.J., Fry, A.C., Schilling, B.K., Smith, W.A., & Moore, C.A. (2006). Oxidative stress response trained men following repeated squats or sprints. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 38, 1436-1442.

9. Bloomer, R.J., Goldfarb, A.H., Wideman, L., McKenzie, M.J., & Consitt, L.A. (2005). Effects of acute aerobic and anaerobic exercise on blood markers of oxidative stress. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 19, 276-285.
10. Boyer, B.T., Goldfarb, A.H., & Jamurtas, A.Z. (1996). Relationship of prostaglandin E3, leukotriene B4, creatine kinase, lactic acid and DOMS. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 28, 154.
11. Brites, F.D., Evelson, P., Garcia Christiansen, M., Nicol, F., Basilico, M.J., Wilinski, R., & Llesuy, S. (1999). Soccer players under regular training show oxidative stress but an improved plasma antioxidants status. *Clinical Science*, 96, 381-385.
12. Cazorla, G., & Montpetit, R.R. (1988). Metabolic and cardiac responses of swimmers, modern pentathletes, and water polo players during free style swimming to a maximum. In: Ungerechts, B., Wilke, K., Reische, K. (eds). *Swimming science V.* (pp. 251-257). Champaign, Illinois: Human Kinetics.
13. Chevion, S., Moran D.S., Heled, Y., Shani, Y., Regev, G., Abbou, B., Berenshtein, E., Stadtman, E.R., & Epstein, Y. (2003). Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise. 100, 5119-5123. From [www.pnas.org/cgi/dol/10.1073](http://www.pnas.org/cgi/dol/10.1073).
14. Child, R. B., Wilkinson, D. M., & Fallowfield, J. L. (2000). Effects of a Training Taper on Tissue Damage Indices, Serum Antioxidant Capacity and Half-Marathon Running Performance. *International Journal of Sports Medicine*, 21, 325-331.
15. Child, R. B., Wilkinson, D. M., Fallowfield, J. L. & Donnelly, A.E. (1998). Elevated serum antioxidant capacity and plasma malondialdehyde concentration in response to a stimulated half-marathon run. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 21, 325-331.
16. Childs, A., Jacobs, C., Kaminski, T., Halliwell, B., & Leeuwenburgh (2001). Supplementation with vitamin C and N-acetyl-cysteine increases oxidative stress in

- humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. *Free Radical Biology & Medicine*, 31, 745-753.
17. Chung, S.C., Goldfarb, A.H., Jamurtas, A.Z., Hegde, S.S., & Lee, J. (1999). Effect of exercise during the follicular and luteal phases of indices of oxidative stress in healthy women. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 31, 409-413.
  18. Clarys, J.P., Cabri, J., & Teirlinck, P. (1992). An electromyographic and impact force study of the overhand water polo throw. In: MacLaren, D., Reilly, T., Lees, A. (eds). *Swimming Science VI: Biomechanics and Medicine in Swimming* (pp 111-116). London: E & FN Spon.
  19. Cohen, F., & Heikkila, R. (1974). The generation of hydrogen peroxide, superoxide and hydroxyl radical by 6-hydroxydopamine dialuric acid and related cytotoxic agents. *The Journal of Biological Chemistry*, 249, 2447-2450.
  20. Cooper, C.E., Vollaard, N.B.J., Choueiri, T., & Wilson, M.T. (2002). Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 30, 280-285.
  21. Cox, G.R., Broa, E.M., Rixley, M.D., & Burke, L.M. (2003). Body mass changes and voluntary fluid intakes of elite level water polo players and swimmers. *Journal of Science and Medicine in Sport*, 5, 183-193.
  22. Davis, P.G., Bloomer, R.J., Wideman, L., Consitt, L.A., Goldfarb, A.H., You, T., & Weaver, R.A. (2003). Effect of exercise duration on plasma protein carbonyls in male cyclists. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 35, 344-349.
  23. Dékány, M., Nemeskéri, V., Györe, I., Harbula, I., Malomsoki, J., & Pucsok, J. (2006). Antioxidant status of interval-trained athletes in various sports. *International Journal of Sport Medicine*, 27, 112-116.
  24. Deneke, S.M., & Fanburg, B. (1989). Regulation of Cellular glutathione. *The American Journal of Physiology*, 257, 163-173.

25. Di Massimo, C., Scarpelli, P., Penco, M., & Tozzi-Ciancarelli, M.G. (2004). Possible involvement of plasma antioxidant defences in training-associated decrease of platelet responsiveness in human. *European Journal of Applied Physiology*, 91, 406-412.
26. Dill, D.B., & Costill, D.L. (1974). Calculation of percentage changes in volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration. *Journal of Applied Physiology*, 37, 247-248.
27. Duthie, G.G., Roberstson, J.D., Maughan R.J., & Morrice, P.C. (1990). Blood antioxidant status and erythrocyte lipid peroxidation following distance running. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 28, 78-83.
28. Elosua, R., Molina, L., Fito, M., Arquer, A., Sanchez-Quesada, J.L., Covas, M.I., Llanos-Ordonez, J., & Marrugat, J. (2003). Response of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program, and to acute physical activity, in healthy young men and women. *Atherosclerosis*, 167, 327-334.
29. Evelson, P., Gambino, G., Travacio, M., Jaita, G., Conte, I., Maroncelli, C., Llesuy, S., Wilkinski, R., & Brites, F.D. (2002). Higher antioxidant defenses in whole plasma and isolated low density lipoproteins from rugby players. *European Journal of Clinical Investigation*, 32, 818-825.
30. Fatouros, I.G., Jamurtas, A.Z., Villiotou, V., Pouliopoulou, S., Fotinakis, P., Taxildaris, K., & Deliconstantinos, G. (2004). Oxidative stress responses in older men during endurance training and detraining. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 36, 2065-2072.
31. Fehrenbach, E. Niess, A.M., Scholtz, E., Pasesh, F., Dickhuth, H.N., & Northoff, H. (2000). Transcriptional and translational regulation of heat shock proteins in leukocytes of endurance runners. *Journal of Applied Physiology*, 89, 704-710.

32. Finaud, J., Scislowski, V., Lac, G., Durand, D., Vidalin, H., Robert, A., & Filaire, E. (2006). Antioxidant status and oxidative stress in professional rugby players: evolution throughout a season. *International Journal of Sports Medicine*, 27, 87-93.
33. Franzoni, F., Plantinga, Y., Femia, F.R., Bartolomucci, F., Gaudio, C., Regoli, F., Carpi, A., Santoro, G., & Galetta, F. (2004). Plasma antioxidant activity and cutaneous microvascular endothelial function in athletes and sedentary controls. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 58, 432-436.
34. Gohil, K., Vigui, C., Stanley, W.C., Brooks, G.A., & Packer, L. (1988). Blood glutathione oxidation during human exercise. *Journal of Applied Physiology*, 64, 115-119.
35. Goldfarb, A.H., Patrick, S.W., Bryer, S., & You, T. (2005). Vitamin C supplementation affects oxidative stress blood markers in response to a 30-minute run at 75%  $\text{VO}_{2\text{max}}$ . *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 15, 279-290.
36. Goldfarb, A.H., You, T., Bloomer, R.J., Landes, S., & Murphy, C. (2002). Blood oxidative stress markers in response to aerobic exercise: effect of gender. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 34, S249.
37. Groussard, C., Rannou-Bekono, F., Machefer, G., Chevanne, M., Vincent, S., Sergent, O., Cillard, J., & Gratas-Delamarche, A. (2003). Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 8, 14-20.
38. Hack, V., Weiss C., Friedmann, B., Suttner, S., Schykowski, M., Erbe, N., Benner, A., Bartsch, P., & Dröge, W. (1997). Decreased plasma glutathione level and  $\text{CD4}^+$  T cell number in response to 8 wk of anaerobic training. *American Journal of Physiology*, 272, 788-795.

39. Halliwell, B. (2001). Free radicals and other reactive species in Disease. *Encyclopedia of life sciences*. Nature Publishing Group)/www.els.net
40. Halliwell, B., & Gutteridge, M.C. (1999). *Free radicals in biology and medicine*. New York: Oxford University Press.
41. Halliwell, B., & Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British Journal of Pharmacology*, 142, 231-255.
42. Hellsten, Y., Frandsen, U., Orthenblad, N., Sjodin, B., & Richtefer, E.A. (1997). Xanthine oxidase in human skeletal muscle following eccentric exercise. A role of inflammation. *Journal of Physiology*, 33, 564-567.
43. Hessel, E., Haberland, A., Müller, M., Lerche, D., & Schimke, I. (2000). Oxygen radical generation of neutrophils: a reason for oxidative stress during marathon running? *Clinica Chimica Acta*, 298, 145-156.
44. Hohmann A, & Frase R. (1992). Analysis of swimming speed and energy metabolism in competition water polo games. In: D.MacLaren, T. Reilly, & A. Lees (Eds). *Swimming Science VI: Biomechanics and Medicine in Swimming*, 313-319.
45. Ihlan, N., Kamanli, A., Ozmerdivenli, R., & Ihlan, N. (2004). Effects of exercise intensity on reduced glutathione, thiobarbituric acid reactive substance levels, and glucose concentration. *Archives of Medical Research*, 35, 294-300.
46. Ilan, M., Akyüz, F., Turgut, A., & Getsfrid, W.M. (2001). Effect of aerobic and anerobic metabolism on free radical generation swimmers. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 33, 564-567.
47. Ilhan, N., Kamanli, A., Ozmerdivenli, R., & Ilhan, N. (2004). Variable effects of exercise intensity on reduced glutathione, thiobarbituric acid reactive substance levels, and glucose concentration. *Archives of Medical Research*, 35, 294-300.

48. Jackson, M.J. & O'Farell, S. (1993). Free radicals and muscle damage. *British Medical Bulletin*, 49, 630-641.
49. Jammes, Y., Steinberg, J.G., Brégeon, F., & Delliaux, S. (2004). Oxidative stress in response to routine incremental cycling exercise in healthy sedentary subjects. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 144, 81-90.
50. Jenkins, R.R. (1988). Free radical chemistry: relationship to exercise. *Sports Medicine*, 5, 156-170.
51. Jenkins, R.R. (2000). Exercise and oxidative stress methodology: a critique. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72, 670-674.
52. Ji, L.L. (1999). Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 222, 283-292.
53. Ji, L.L., Fu, R., & Mitchell, E.W. (1992). Glutathione and antioxidant enzymes in skeletal muscle: effects of fiber type and exercise intensity. *Journal of Applied Physiology*, 73, 1854-1859.
54. Ji, L.L., Katz, A., Fu, R., Griffiths, M., & Spencer, M. (1993). Blood glutathione status during exercise: effect of carbohydrate supplementation. *Journal of Applied Physiology*, 74, 788-792.
55. Kaikkonen, J., Porkalla-Sarataho, E., Tuomainen, T.P., Nyysönen, K., Kosonen, L., Ristonmaa, U., Lakka, H.M., Salonen, R., Korpela, H., & Salonen, J.T. (2002). Exhaustive exercises plasma\serum total oxidation resistance in moderately trained men and women, whereas their VLDL+LDL lipoprotein fraction is more susceptible to oxidation. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*, 62, 599-608.
56. Kanter, M.M. (1994). Free Radicals, exercise, and antioxidant supplementation. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*, 4, 793-795.

57. Kanter, M.M., Lesmes, G.R., Kaminsky, L.A., La Ham-Saeger, J., & Nequin, N.D. (1988). Serum creatine and lactate dehydrogenase changes following an eighty kilometre race. Relationship to lipid peroxidation. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 75, 60-63.
58. Kostaropoulos, I.A., Nikolaidis, M.G., Jamurtas, A.Z., Ikonou, G.V., Makrygiannis, V., Papadopoulos, G., & Kouretas, D. (2006). Comparison of the blood redox status between long-distance and short-distance runners. *Physiological Research*, 55, 611-616.
59. Leaf, D.A., Kleinman, M.T., Hamilton, M., & Barstow, T.J. (1997). The effects of exercise intensity on lipid peroxidation. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 29, 1036-1039.
60. Lee, J., & Clarkson, P.M. (2003). Plasma creatine kinase activity and glutathione after eccentric exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 35, 930-936.
61. Lee, J., Goldfarb, A.H., Rescino, M.H., Hedge, S., Patrick, S., & Apperson, K. (2002). Eccentric exercise effect on blood oxidative stress markers and delayed onset of muscle soreness. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 34, 443-448.
62. Leeuwenburgh, C., & Heinecke, J.W. (2001). Oxidative stress and antioxidants in exercise. *Current Medicinal Chemistry*, 8, 829-838.
63. Leeuwenburgh, C., Hollander J., Leichtweis, S., Griffiths, M., Gore, M., & Ji, L.L. (1997). Adaptations of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue and muscle fiber specific. *American Journal of Physiology*, 272, 363-369.
64. Lew, H., Pyke, S., & Quintanilha, A. (1985). Change in the glutathione status of plasma, liver and muscle following exhaustive exercise in rats. *FEBS letters*, 185, 262-266.



65. Liu, M.L., Bergholm, R., Makimattila, S., Lahdenpera, S., Valkonen, M., Hilden, H., Yki-Jarvinen H., & Taskinen M.R. (1999). A marathon run increases the susceptibility of LDL to oxidation in vitro and modifies plasma antioxidants. *The American Journal of Physiology*, 276, 1083-1091.
66. Machefer, G., Groussard C., Rannou-Bekono, F., Zouhal, H., Faure, H., Vincent, S., Cillard, J., & Gratas-Delamarche, A. (2004). Extreme running competition decreases blood antioxidant defense capacity. *Journal of the American College of Nutrition*, 23, 358-364.
67. Margaritis, I., Palazetti, S., Rousseau, A.S., Richard, M.J., & Favier, A. (1997). Antioxidant supplementation and tapering exercise improve exercise-induced antioxidant response. *Journal of the American College of Nutrition*, 22, 147-156.
68. Marzatico, F., Pansarasa, O., Bertorelli, L., Somenzini, L., & Della Valle, G. (1997). Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 37, 235-239.
69. Mastaloudis, A., Leonard S.W., & Traber, M.G. (2001). Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Radical Biology & Medicine*, 31, 911-922.
70. McAnulty, S.R., McAnulty, L., Pascoe, D.D., Gropper, S.S., Keith, R.E., Morrow, J.D., & Gladden, L.B. (2005). Hyperthermia increases exercise-induced oxidative stress. *International Journal of Sports Medicine*, 26, 188-192.
71. McBride, J.M., Kraemer, W.J., Triplett-McBrite, T., & Sebastianelli W. (1998). Effect of resistance exercise on free radical production. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 30, 67-72.
72. McCord, J.M. (1985). Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *New England Journal of Medicine*, 17, 159-163.

73. Michailidis, Y., Jamurtas, A.Z., Nikolaidis, M.G., Fatouros, J.G., Koutedakis, Y., Papassotiriou I., & Kouretas, D. (2007). Sampling time is crucial for measurement of aerobic exercise-induced oxidative stress. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 39, 1107-1113.
74. Mizayaki, H., Oh-ishi, S., Ookawara, T., Kizaki, T., Toshinai, K., Shukoh Haga, S.H., Ji, L.L., & Ohno, H. (2001). Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhaustive exercise. *European Journal Physiology*. 84, 1-6.
75. Nielsen, H.G., Hagberg, I.A., & Lyberg, T. (2004). Marathon running leads to partial exhaustion of ROS-generated capacity in leukocytes. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 36, 68-73.
76. Nieman, D.C., Henson, D. A., McAnulty, S.R., McAnulty, L., Swick, N.S., Utter, A.C., Vinci, D.M., Opiela, S.J., & Morrow, J.D. (2002). Influence of vitamin C supplementation on oxidative and immune changes after an ultramarathon. *Journal of Applied Physiology*, 92, 1970-1977.
77. Nikolaidis, M.G., Kyparos, A., Hadjioannou, M., Panou, N., Samaras, L., Jamurtas, A.Z., & Kouretas, D. (2007). Acute exercise markedly increase blood oxidative stress in boys and girls. *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism*, 32, 197-205.
78. Novelli, G.P., Bracciotti, G., & Falsini, S. (1990). Spin trappers and vitamin E prolong endurance to muscle fatigue in mice. *Free Radical in Biology & Medicine*, 8, 8-13.
79. Ortenblad, N., Madsen, K., & Djurhuus, M.S. (1997). Antioxidant status and lipid peroxidation after short-term maximal exercise in trained and untrained humans. *American Journal of Physiology*, 272, 1258-1263.
80. Parise, G., Phillips, S.M., Kaczor, J.J., & Tarnopolsky, M.A. (2005). Antioxidant enzyme activity is up-regulated after unilateral resistance exercise training in older adults. *Free Radical Biology & Medicine*, 39, 289-295.

81. Pinnington, H., Dawson, B., & Blanksby, B. (1986). The energy requirements for water polo. Nedlands (WA): Australian Sports Commission.
82. Pinnington, H., Dawson, B., & Blanksby, B. (1988). Heart-rate responses and the estimated energy-requirements of playing water polo. *Journal of Human Movement Studies*, 15, 101-118.
83. Platanou, T., & Geladas, N. (2006). The influence of game duration and playing position on intensity of exercise during match-play in elite water polo players. *Journal of Sports Science*, 24, 1173-1181.
84. Quindry, J.C., Stone, W.L., King, J., & Broeder, C.E. (2003). *The effects of Acute exercise on neutrophils and plasma oxidative stress*. 35, 1139-1145.
85. Radák, Z., Pucso, J., Mecseki, S., Csont, T., & Ferdinandy, P. (1999). Muscle soreness-induced reduction in force generation is accompanied by increased nitric oxide content and DNA damage in human skeletal muscle. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1059-1063.
86. Radak, Z., Taylor, A.W., Ohno, H., & Goto, S. (2001). Adaptation to exercise-induced stress: from muscle to brain. *Exercise Immunology Review*, 7, 90-107.
87. Ramel, A., Wagner, K.H., & Elmadfa, I. (2004). Plasma antioxidants and lipid oxidation after submaximal resistance exercise in men. *European Journal of Nutrition*, 43, 2-6.
88. Rodriguez, F.A. (1994) Physiological testing of swimmers and water polo players in Spain. In Miyashita, M., Mutoh, Y., & Richardson, A.B. (eds). *Medicine and Science in aquatics sports*. Basel Karger. 39, 172-177.
89. Rozitski, L., Logemann, E., Sagredos, A.N., Murphy, M., Wetzel-Roth, W., & Keul, J. (1994). Lipid peroxidation and antioxidative vitamins under extreme endurance stress. *Acta Physiologica Scandinavica*, 151, 149-158.

90. Sacheck, J.M., Milbury, P.E., Cannon, J.G., Roubenoff, R., & Blumberg, J.B. (2003). Effect of vitamin E and eccentric exercise on selected biomarkers of oxidative stress in young and elderly men. *Free Radical Biology & Medicine*, 34, 1575-1588.
91. Sanchez-Quesada, J.L., Homs-Serradesanferm, R., Serrat-Serrat, J, Serra-Grima, J.R., Gonzales-Sastre, F., & Ordonez-Lianos, J. (1995). Increase of LDL susceptibility to oxidation occurring after intense, long duration aerobic exercise. *Atherosclerosis*, 118, 297-305.
92. Sastre, J., Asensi, M., Gasco, E., Pallardo, F.V., Ferrero, J.A, Furukawa, T., & Vina, J. (1992). Exhaustive physical exercise causes oxidation of glutathione status in blood: prevention by antioxidant administration. *American Journal of Physiology*, 263, 992-995.
93. Saxton, J.M., Donnelly, A.E., & Roper, H.P. (1994), Indices of free radical-mediated damage following maximum voluntary eccentric and concentric muscular work. *European Journal of Applied Physiology*, 68, 189-193.
94. Schippinger, G., Wonisch, W., Abuja, P.M., Fankhauser, F., Winklhofer-Roob, B.M., Halwachs, G. (2002). Lipid peroxidation and antioxidant status in professional American football players during competition. *European Journal of Clinival Investigation*, 32, 686–692.
95. Schröder, H., Navarro, E., Tramullas, A., Mora J., & Galiano, D. (2000). Nutrition antioxidant status and oxidative stress in professional basketball players: effects of a three compound antioxidative supplement. *International Journal of Sports Medicine*, 21, 146-150.
96. Sen, C.K. (1995). Oxidants and antioxidants in exercise. *Journal of Applied Physiology*, 79, 675-686.

97. Sen, C.K. (1999). Glutathione homeostasis in response to exercise training and nutritional supplements. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 196, 31-42.
98. Sen, C.K., & Parker, L. (2000). Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72, 653-669.
99. Sen, C.K., Rankinen, T., Väisänen, S., & Rauramaa, R. (1994). Oxidative stress after human exercise: effect of N-acetylcysteine supplementation. *Journal of Applied Physiology*, 76, 2570-2577.
100. Sentürk, U.K., Gündüy, F., Kuru, O., Kocer, G., Özkaya, Y.G., Yesilkaza, A., Bor-Küçükataç, M., Üyüklü, M., Yalcin, Ö., & Baskurt, O.K. (2005). Exercise-induced oxidative stress leads hemolysis in sedentary but not trained humans. *Journal of Applied Physiology*, 99, 1434-1441.
101. Siesjö., B.K, Bendek, G., Koide, T., Westerberg, E., & Wieloch, T., (1985). Influence of acidosis on lipid peroxidation in brain tissues in vitro. *Journal of Cerebral Blood flow and Metabolism*, 5, 253-258.
102. Simpson, R.J., Wilson, M.R., Black, J.R., Ross, J.A., Whyte, G.P., Guy, K., & Florida-James, G.D. (2005). Immune alterations lipid peroxidation, and muscle damage following a hill race. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 30, 196-211.
103. Skenderi, K.P., Tsironi, M., Lazaropoulou, C., Anastasiou, C.A., Matalas, A.L., Kanavaki, I., Thalmann, M., Goussetis, E., Papatirio, I., & Chrousos, G.P. (2008). Changes in free radical generation and antioxidant capacity during ultramarathon foot race. *European Journal Clinical Investigation*, 38, 159-165.
104. Smith, H.K. (1991). Physiological fitness and energy demands of water polo; time-motion analysis of field players and goalkeepers. *Proceedings of the FINA First World Water Polo Coaches Seminar May 27-June 3: Athens* (pp. 183-207). Lausanne: FINA.
105. Smith, H.K. (1998). Applied physiology of water polo. *Sports Medicine*, 5, 317-334.

106. Steinberg, J.G., Delliaux, S., & Jammes, Y. (2006). Reliability of different blood indices to explore the oxidative stress in response to maximal cycling and static exercises. *Clinical physiology and functional imaging*, 26, 1-7.
107. Tauler, P., Aquiló, A., Guix., P., Jiménez, F., Villa, G., Tur, J.A., Córdova, A., & Pons, A. (2005). Pre-exercise antioxidant enzyme activities determine the antioxidant enzyme erythrocyte response to exercise. *Journal of Sports Sciences*, 23, 5-13.
108. Tauler, P., Gimeno, I., Aquiló, A., Guix., M.P., & Pons, A. (1999). Regulation of erythrocyte antioxidant enzyme activities in athletes during competition and short-term recovery. *Pflügers Archive-European Journal of Physiology*, 438, 782-787.
109. Tessier, F., Hida, H., Favier, A., & Marconnet, P. (1995). Muscle GSH-Px activity after prolonged exercise, training and selenium supplementation. *Biological Trace Element Research*, 47, 279-285.
110. Urso, M.L., & Clarkson, P.M. (2003). Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*, 189, 41-54.
111. Vasankari, T.J., Kujala, U.M., Vasankari, T.M., Vuorimaa, T., & Markku, A. (1997). Effects on acute prolonged exercise on serum and LDL oxidation and antioxidant defenses. *Free Radical in Biology and Medicine*, 22, 509-513.
112. Vollaard, N.B.J, Cooper, C.E., Shearman, J.P. (2006). Exercise-induced oxidative stress in overload training and tapering. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 38, 1335-1341.
113. Vollaard, N.B.J., Shearman, J.P., & Cooper C.E. (2005). Exercise-induced oxidative stress. Myths, realities and physiological relevance. *Sports Medicine*, 35, 1045-1062.
114. Waring, W.S., Convery, A., Mishra, V., Shenkin, A., Webb, D.J., & Maxwell, S.R. (2003). Uric acid reduces exercise-induced oxidative stress in healthy adults. *Clinical Science*, 105, 425-430.

115. Watson, T.A., Callister, R., Taylor, R.D., Sibbritt, D.W., MacDonald-Wicks, L.K., & Garg, M.L. (2005). Antioxidant and oxidative stress in short duration exhaustive exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 37, 63-71.
116. Witzum, J.L. (1994). The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet*, 344, 793-795.
117. Yilmaz, N., Erel, O., Hazer, M., Bagci, C., Namiduru, E., & Gül, E. (2007). Biochemical assessments of retinol, alpha-tocopherol, pyridoxal—5-phosphate oxidative stress index and total antioxidant status in adolescent professional basketball players and sedentary controls. *International Journal of Adolescent Medicine and Health*, 19, 177-186.

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

### 4.

Οι τιμές αιματοκρίτη, αιμοσφαιρίνης πριν και μετά την άσκηση και της μεταβολής του όγκου αίματος μετά την άσκηση σε σχέση με τις τιμές πριν την άσκηση για κάθε αθλητή ξεχωριστά.

	Hc_pre (%)	Hc_post (%)	Hb_pre (g/dl)	Hb_post (g/dl)	M
1	40,00	38,00	14,63	14,74	0,94
2	35,00	40,00	15,92	14,89	1,22
3	41,00	42,00	15,92	15,26	1,07
4	40,00	43,00	14,78	15,00	1,06
5	44,00	42,00	16,51	14,52	1,09
6	43,00	43,00	15,92	15,08	1,06
7	45,00	46,00	15,48	16,03	0,99
8	40,00	45,00	21,64	20,79	1,17
9	41,00	39,00	19,80	19,29	0,98
10	42,00	41,00	20,94	22,03	0,93
11	39,00	40,00	22,69	21,33	1,09
12	42,00	43,00	18,62	18,66	1,02

Hc\_pre = αιματοκρίτης πριν τον αγώνα, Hc\_post = αιματοκρίτης μετά τον αγώνα, Hb\_pre = η συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης στο αίμα πριν τον αγώνα, Hb\_post = η συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης στο αίμα μετά τον αγώνα.

### 5.

Οι τιμές των TBARS πριν και μετά την άσκηση για κάθε αθλητή ξεχωριστά.

	TBARS_pre (mol/L)	TBARS_post (mol/L)	M (%)
1	4,20	5,28	25,72
2	3,60	8,80	144,37
3	3,60	7,27	101,89
4	4,70	6,14	30,71
5	3,90	6,40	64,15
6	4,20	5,81	38,30
7	3,70	4,84	30,72
8	3,10	6,21	100,16
9	3,60	5,47	51,92
10	3,40	4,92	44,68
11	4,90	5,89	20,24
12	5,60	6,64	18,60



## 6.

Οι ατομικές τιμές των πρωτεϊνικών καρβονυλίων πριν και μετά την άσκηση.

	<b>_pre</b> (nmol/mg)	<b>_post</b> (nmol/mg)	<b>M</b> (%)
<b>1</b>	1,48	0,93	-36,93
<b>2</b>	1,23	1,30	5,30
<b>3</b>	1,14	1,27	11,57
<b>4</b>	1,58	1,42	-10,17
<b>5</b>	0,71	0,77	8,50
<b>6</b>	0,94	0,92	-2,25
<b>7</b>	0,59	1,42	140,91
<b>8</b>	0,65	0,85	31,48
<b>9</b>	0,79	0,74	-6,05
<b>10</b>	0,83	0,89	7,35
<b>11</b>	0,64	0,85	32,97
<b>12</b>	0,86	0,85	-1,39

## 7.

Οι ατομικές τιμές της ανηγμένης γλουταθειόνης πριν και μετά την άσκηση.

	<b>GSH_pre</b> ( mol/gr Hb)	<b>GSH_post</b> ( mol/gr Hb)	<b>M</b> (%)
<b>1</b>	1,05	1,42	35,60
<b>2</b>	0,76	2,31	203,86
<b>3</b>	1,78	2,18	22,49
<b>4</b>	0,63	1,92	204,31
<b>5</b>	1,19	3,59	201,81
<b>6</b>	1,03	2,03	96,86
<b>7</b>	1,06	1,87	75,99
<b>8</b>	2,17	4,50	107,18
<b>9</b>	3,96	4,53	14,43
<b>10</b>	2,30	3,71	61,41
<b>11</b>	2,31	3,74	62,01
<b>12</b>	1,81	2,15	18,55

**8.**

Οι ατομικές τιμές της οξειδωμένης γλουταθειόνης πριν και μετά την άσκηση.

	<b>GSSG_pre</b> ( mol/gr Hb)	<b>GSSG_post</b> ( mol/gr Hb)	<b>M</b> (%)
<b>1</b>	0,31	0,06	-81,75
<b>2</b>	0,21	0,33	57,10
<b>3</b>	0,24	0,33	38,06
<b>4</b>	0,14	0,16	13,48
<b>5</b>	0,37	0,55	49,56
<b>6</b>	0,26	0,36	38,11
<b>7</b>	0,31	0,52	68,75
<b>8</b>	0,58	0,55	-5,13
<b>9</b>	0,48	0,63	32,25
<b>10</b>	0,40	0,48	20,65
<b>11</b>	0,44	0,60	36,38
<b>12</b>	0,08	0,25	206,54

**9.**

Οι ατομικές τιμές της αναλογίας ανηγμένης/οξειδωμένης γλουταθειόνης πριν και μετά την άσκηση.

	<b>GSH/GSSG_pre</b>	<b>GSH/GSSG_post</b>	<b>M</b> (%)
<b>1</b>	3,44	24,86	622,67
<b>2</b>	3,52	7,03	99,72
<b>3</b>	7,42	6,64	-10,51
<b>4</b>	4,46	12,02	169,51
<b>5</b>	3,22	6,48	101,24
<b>6</b>	3,98	5,57	39,95
<b>7</b>	3,44	3,59	4,36
<b>8</b>	3,72	8,11	118,01
<b>9</b>	8,27	7,13	-13,78
<b>10</b>	5,71	7,62	33,45
<b>11</b>	5,21	6,29	20,73
<b>12</b>	21,23	8,74	-58,83

**10.**

Οι ατομικές τιμές της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας πριν και μετά την άσκηση.

	<b>TAC_pre</b> (mmol/L DPPH)	<b>TAC_post</b> (mmol/L DPPH)	<b>M</b> (%)
<b>1</b>	0,52	0,12	-77,19
<b>2</b>	0,44	0,28	-37,22
<b>3</b>	0,48	0,41	-15,64
<b>4</b>	0,23	0,37	54,81
<b>5</b>	0,43	0,48	9,34
<b>6</b>	0,52	0,88	67,30
<b>7</b>	0,72	0,65	-9,85
<b>8</b>	0,74	0,96	29,38
<b>9</b>	0,77	0,80	2,96
<b>10</b>	0,90	0,90	-0,33
<b>11</b>	0,85	0,78	-8,88
<b>12</b>	0,96	0,96	-0,83

**11.**

Οι ατομικές τιμές της καταλάσης πριν και μετά την άσκηση.

	<b>_pre</b> (U/mg )	<b>_post</b> (U/mg )	<b>M</b> (%)
<b>1</b>	180,10	215,92	19,89
<b>2</b>	196,30	279,56	42,42
<b>3</b>	214,40	243,37	13,51
<b>4</b>	187,40	206,44	10,16
<b>5</b>	264,70	245,00	-7,44
<b>6</b>	173,50	244,49	40,91
<b>7</b>	186,20	214,39	15,14
<b>8</b>	167,40	240,00	43,37
<b>9</b>	221,20	216,71	-2,03
<b>10</b>	214,80	219,13	2,01
<b>11</b>	219,70	255,75	16,41
<b>12</b>	187,90	216,31	15,12

**12.**

Συγκεντρωτικός πίνακας των μεταβολών για κάθε δείκτη που μετρήθηκε και για κάθε αθλητή ξεχωριστά. Ως μεταβολή θεωρήθηκε κάθε μεταβολή >10%.

	<b>TBARS</b>	<b>PrC</b>	<b>GSH</b>	<b>GSSG</b>	<b>GSH/ GSSG</b>	<b>TAC</b>	<b>CAT</b>
<b>1</b>	↑	↓	-	↓	↑	↓	↑
<b>2</b>	↑	-	↑	↑	↑	↓	↑
<b>3</b>	↑	↑	↑	↑	↓	↓	↑
<b>4</b>	↑	↓	↑	↑	↑	↑	↑
<b>5</b>	↑	-	↑	↑	↑	-	-
<b>6</b>	↑	-	↑	↑	↑	↑	↑
<b>7</b>	↑	↑	↑	↑	-	-	↑
<b>8</b>	↑	↑	↑	-	↑	↑	↑
<b>9</b>	↑	-	↑	↑	↓	-	-
<b>10</b>	↑	-	↑	↑	↑	-	-
<b>11</b>	↑	↑	↑	↑	↑	-	↑
<b>12</b>	↑	-	-	↑	↓	-	↑