

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας  
Σχολή Επιστημών Υγείας  
Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας

Διπλωματική Εργασία του φοιτητή  
Βασίλη Σακελλαρίου

Θέμα:

**«Η επίδραση της αερόβιας και αναερόβιας άσκησης σε δείκτες της αντιοξειδωτικής κατάστασης ενήλικων ατόμων»**

Λάρισα 2015

Περιεχόμενα :	σελ.
1. Περίληψη	3
2. Εισαγωγή	6
Σκοπός της εργασίας	9
Στατιστικές υποθέσεις	10
Περιορισμοί της εργασίας	10
Σημασία της εργασίας	10
3. Ανασκόπηση βιβλιογραφίας	10
4. Μεθοδολογία	13
5. Συλλογή και χειρισμός αίματος	15
6. Αποτελέσματα	17
6. Συζήτηση	19
7. Συμπεράσματα – προτάσεις για μελλοντική έρευνα	20
9. Βιβλιογραφία	21

## Περίληψη

«Η επίδραση της αερόβιας και αναερόβιας άσκησης σε δείκτες της αντιοξειδωτικής κατάστασης ενήλικων ατόμων»

Στόχος της παρούσας εργασίας είναι να αξιολογηθεί η επίδραση που έχει η έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση σε δείκτες οξειδωτικού στρες και να συγκριθεί με την επίδραση που έχει η αερόβια άσκηση στους συγκεκριμένους δείκτες.

Δώδεκα νεαροί άνδρες ηλικίας 18-45 ετών πήραν μέρος εθελοντικά στην έρευνα που πραγματοποιήθηκε στο Κέντρο Έρευνας και Αξιολόγησης της Φυσικής Απόδοσης (ΚΕΑΦΑ) της ΣΕΦΑΑ του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Συμμετείχαν σε δύο συνεδρίες άσκησης: η μία αποτελούνταν από έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση και η άλλη από αερόβια άσκηση. Πριν από κάθε συνεδρία άσκησης, αμέσως μετά, καθώς και 24, 48 και 72 ώρες μετά την ολοκλήρωση της κάθε μίας πραγματοποιήθηκαν αιμοληψίες. Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης έρευνας δείχνουν πως τόσο η έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση όσο και η αερόβια άσκηση δεν μεταβάλλουν αισθητά την Καταλάση, σε αντίθεση με την TAC όπου τα επίπεδα αυξήθηκαν σημαντικά.

## **Abstract**

<< The effects of aerobic and anaerobic exercise in antioxidant markers of adults>>

The purpose of this study was to examine the effect of high intensity interval exercise (HIIE) in some markers of oxidative stress and to compare it with the effect of aerobic exercise in these markers.

Twelve young men between 18-45 age participated voluntarily in the study which held in KEAFA in SEFAA of University of Thessaly. They participated two sessions of exercise: the one session was the HIIE protocol and the other session the aerobic-protocol. Before of each exercise session protocol, immediately after the end of each protocol and 24, 48 and 72 hours from the completion the exercise, a blood sample was drawn of each participant. These results indicate that both sessions of exercise have changed significantly only the levels of TAC.

## **Ευχαριστίες**

Θα ήθελα να ευχαριστήσω των καθηγητή μου κ. Τζιαμούρτα Αθανάσιο για τις συμβουλές που μου έδινε, καθώς και για την βοήθεια και την καθοδήγηση, η οποία ήταν πολύ σημαντική για την επίλυση των δυσκολιών που προέκυπταν. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Κουρέτα Δ. και κ. Στάγκο Δ. για τη συμμετοχή τους στη τριμελή επιτροπή. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους εθελοντές που συμμετείχαν με τη συγκατάθεση τους στην έρευνα.

## Εισαγωγή

Σύμφωνα με τους Series et al το οξειδωτικό στρες είναι η κατάσταση κατά την οποία οι ελεύθερες ρίζες υπερισχύουν έναντι της σωματικής αντιοξειδωτικής άμυνας του οργανισμού (αντιοξειδωτική ικανότητα)(1). Συνεπώς, το οξειδωτικό στρες μπορεί να οφείλεται: α) στην αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου, β) στη μειωμένη απομάκρυνση τους και γ) σε συνδυασμό των παραπάνω. Διάφοροι παράγοντες, όπως ο τρόπος ζωής, η διατροφή, το περιβάλλον και η κληρονομικότητα μπορούν να προκαλέσουν διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ των προοξειδωτικών μηχανισμών από τη μια πλευρά και των αντιοξειδωτικών από την άλλη εις βάρος του δεύτερου μέρους. Σημαντική είναι η σημασία του οξειδωτικού στρες στη παθογένεση διαφόρων ασθενειών όπως του καρκίνου, του καταρράκτη, του διαβήτη, των καρδιαγγειακών και φλεγμονωδών ασθενειών και στη γήρανση γενικότερα. Το οξειδωτικό στρες που δημιουργείται από έντονη άσκηση έχει μελετηθεί πολύ την τελευταία δεκαετία. Ένας μεμονωμένος κύκλος άσκησης έχει αποδειχθεί ότι εντείνει την δημιουργία δραστικών μορφών οξυγόνου και αζώτου και το σχετιζόμενο με αυτά οξειδωτικό στρες. Από την άλλη μεριά, η συστηματική και εντατική προπόνηση έχει διαπιστωθεί πως αυξάνει την αντίσταση ενάντια στην υπεροξείδωση των λιπιδίων που προκαλείται από τις δραστικές μορφές οξυγόνου και μειώνει τη συσσώρευση των οξειδωμένων πρωτεϊνών καθώς και την καταστροφή του DNA. Παλαιότερες έρευνες έχουν δείξει ανύψωση στους δείκτες αίματος οι οποίοι σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες μετά από έντονη άσκηση, κάτι που δείχνει ότι το οξειδωτικό στρες δεν περιορίζεται μόνο στο κυτταρικό διαμέρισμα(1).

Επιπλέον, πολύ υψηλής έντασης άσκηση αυξάνει την αιματική απάντηση στο οξειδωτικό στρες. Υπάρχουν διάφορα μονοπάτια που συνδέονται με τη δημιουργία του οξειδωτικού στρες μετά την άσκηση, όπως τα παρακάτω:

1.) Η κατανάλωση οξυγόνου αυξάνει αρκετά κατά τη διάρκεια της άσκησης, ακόμη και μέχρι 20 φορές.

2.) Η αφυδρογονάση της ξανθίνης οξειδώνει την υποξανθίνη σε ξανθίνη και στη συνέχεια την ξανθίνη σε ουρικό οξύ χρησιμοποιώντας το NAD ως αποδέκτη ηλεκτρονίων σχηματίζοντας έτσι το NADH.

3.) Η καταστροφή των ιστών που προκαλείται από την άσκηση, μπορεί να επάγει την ενεργοποίηση των φλεγμονωδών κυττάρων όπως των ουδετερόφιλων με την επακόλουθη παραγωγή των ελευθέρων ριζών από την NADPH οξειδάση.

4.) Οι συγκεντρώσεις των κατεχολαμινών και τις επινεφρίνης είναι αυξημένες όταν ασκούμεστε και οι δραστικές μορφές οξυγόνου μπορεί να δημιουργηθούν ως αποτέλεσμα της αυτοοξειδωσής τους.

5.) Τα μιτοχόνδρια των μυών υφίστανται αυξημένη ασύζευκτη παραγωγή σουπεροξειδίων με αυξημένη θερμοκρασία. Ως συνέπεια, η υπερθερμία που δημιουργείται εξαιτίας της άσκησης δύναται να προκαλέσει οξειδωτικό στρες.

6.) Η αυτοοξειδωση της οξυαιμοσφαιρίνης σε μεθαιμοσφαιρίνη έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή σουπεροξειδίου και ο ρυθμός με τον οποίο παράγεται η μεθαιμοσφαιρίνη μπορεί να αυξηθεί με την άσκηση.

7.) Τα υπεροξεισώματα κάτω από φυσιολογικές συνθήκες παράγουν  $H_2O_2$ , άλλα όχι υπεροξείδιο. Η υπεροξυσωμική οξείδωση των λιπαρών οξέων είναι μια σημαντική πηγή  $H_2O_2$ . Αφού τα λιπαρά οξέα είναι μια πηγή ενέργειας για την καρδιά και τους σκελετικούς μύες κατά τη διάρκεια επίπονης άσκησης, είναι πιθανό ότι τα υπεροξεισώματα συνεισφέρουν στο οξειδωτικό στρες. Ορισμένες έρευνες έδειξαν ότι η δραστηριότητα της καταλάσης είναι αυξημένη στους μύες μετά από έντονη άσκηση και έτσι φαίνεται να υποστηρίζουν και να ενισχύουν την υπόθεση αυτή.

8.) Ο μεταβολισμός του αραχιδονικού οξέος συνοδεύεται από το σχηματισμό δραστικών μορφών οξυγόνου. Οι ρίζες αυτές έχουν τις ιδιότητες των υδροξυλικών ριζών.

9.) Η παραγωγή γαλακτικού οξέος, το οποίο μπορεί να μετατρέψει μια ασθενής (υπεροξείδιο) βλαπτική ελεύθερη ρίζα σε μια ισχυρά βλαπτική ελεύθερη ρίζα (υδροξύλιο) (1)

Σχετικά πρόσφατα έχει ανακαλυφθεί η ύπαρξη ελευθέρων ριζών σε βιολογικές διαδικασίες. Αν ένα άτομο ή μόριο περιέχει ένα ή περισσότερα αζευγάρωτα ηλεκτρόνια και έχει την ικανότητα για ανεξάρτητη επιβίωση, τότε ονομάζεται ελεύθερη ρίζα.(2,24) Οι βασικότερες ελεύθερες ρίζες στα κύτταρα είναι το

υπεροξειδίο ( $O_2 \cdot^-$ ) και το μονοξειδίο του αζώτου (NO). Το υπεροξειδίο παράγεται είτε μέσω της ατελούς αναγωγής του οξυγόνου στα συστήματα μεταφοράς ηλεκτρονίων είτε ως συγκεκριμένο προϊόν των ενζυμικών συστημάτων. Και οι δύο ελεύθερες ρίζες είναι αντιδραστικές και μπορούν να αντιδράσουν για να παράγουν διάφορα ROS (Reactive Oxygen Species) και RNS (Reactive Nitrogen Species).

Από διάφορες μελέτες γνωρίζουμε ότι τα μυοκύτταρα περιέχουν ένα δίκτυο από αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς, το οποίο μειώνει το ρίσκο της οξειδωτικής καταστροφής σε περιόδους αυξημένης παραγωγής ROS(2). Σύμφωνα με τους Powers και Jackson αντιοξειδωτικό είναι κάθε ουσία, η οποία καθυστερεί ή προλαμβάνει την οξείδωση ενός υποστρώματος.(2,24) Για την προστασία από το οξειδωτικό στρες, ένα καλά οργανωμένο σύστημα αποτελούμενο από αντιοξειδωτικά λειτουργεί συντονισμένα με στόχο να εξισορροπήσει τις οξειδοαναγωγικές διαταραχές στα κύτταρα.

Για την ανίχνευση του οξειδωτικού στρες γίνεται μελέτη των δεικτών του οξειδωτικού στρες. Οι δείκτες που μελετώνται είναι πολλοί και χωρίζονται στις παρακάτω κατηγορίες:

- α) Δείκτες της οξείδωσης των λιπιδίων
- β) Δείκτες της οξείδωσης του DNA.
- γ) Δείκτες της οξείδωσης των πρωτεϊνών.

Επίσης γίνεται μελέτη των αντιοξειδωτικών συστημάτων του οργανισμού. Τα αντιοξειδωτικά συστήματα χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες: τα αντιοξειδωτικά ενζυματικά συστήματα, τα αντιοξειδωτικά μέταλλα και ιχνοστοιχεία και τα μη-ενζυματικά αντιοξειδωτικά συστήματα.

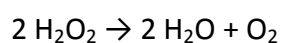
Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν δείκτες οξειδωτικού στρες της κατηγορίας γ) και της κατηγορίας των αντιοξειδωτικών ενζυματικών συστημάτων. Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκε η TAC (Total Antioxidant Capacity) ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού και η καταλάση.

Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC) μας δείχνει πως ο ορός εξουδετερώνει αντιδραστικά είδη και πως η εξουδετέρωση αυτή εξαρτάται από τις αλλαγές που υφίστανται στην συγκέντρωση τους το ουρικό οξύ και η χολερυθρίνη.(4,25) Αντιπροσωπεύεται από τα επίπεδα των αντιοξειδωτικών στο αίμα.(3) Συγκεκριμένα του ασκορβικού οξέος, της α-τοκοφερόλης, της γλουταθειόνης, του λιποϊκού οξέος,



του ουρικού οξέος και της ουρίας, του β-καροτενίου, της ουβικινόνης και της χολερυθρίνης.(3) Πολλές έρευνες έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα ότι τα χαμηλά επίπεδα των αντιοξειδωτικών έχουν σχέση με παθολογικές καταστάσεις, ωστόσο το κατά πόσο είναι υπεύθυνα για την εμφάνιση της νόσου ή είναι αποτέλεσμα αυτής δεν έχει εξακριβωθεί ακόμη.(3) Σύμφωνα με μελέτη παρατηρήθηκε αύξηση της TAC μετά από έντονη μη-μυοκαταστροφική άσκηση. Αυτό συμβαίνει επειδή αυξάνεται η αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού.(5)

Η καταλάση είναι ένα ένζυμο που εξυπηρετεί σημαντικές βιοχημικές λειτουργίες, αλλά ο σημαντικότερος σκοπός της είναι να καταλύει την παρακάτω αντίδραση:



Δηλαδή την διάσπαση του υπεροξειδίου του υδρογόνου σε νερό και οξυγόνο. Είναι ένα ομοτετραμερές με μοριακή μάζα 240kDa που είναι ευρέως διανεμημένο μέσα στο κύτταρο. Απαραίτητος συμπαραγόντας για τη λειτουργία της είναι ο σίδηρος, ο οποίος είναι προσδεμένος στην ενεργή πλευρά του ενζύμου.(2,26,27,28) Τα επίπεδα της καταλάσης είναι υψηλά σε μυϊκές ίνες με μεγάλη οξειδωτική ικανότητα και χαμηλά σε μυϊκές ίνες με μικρή οξειδωτική ικανότητα.(2,29,30,31,32) Ο προσδιορισμός της δραστηριότητας της καταλάσης έχει ως εξής: Γίνεται προσθήκη του υποστρώματός της, δηλαδή του  $\text{H}_2\text{O}_2$  και η αποικοδόμηση του παρακολουθείται φωτομετρικά. Συμπεραίνουμε λοιπόν ότι η δραστηριότητα της καταλάσης δεν εξαρτάται μόνο από την ποσότητα της αλλά και από τη συγκέντρωση του υποστρώματός της.(2,33)

### **Σκοπός της εργασίας:**

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να αξιολογηθεί η επίδραση που έχει η έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση σε δείκτες οξειδωτικού στρες και να συγκριθεί με την επίδραση που έχει η αερόβια άσκηση στους συγκεκριμένους δείκτες.

### **Στατιστικές υποθέσεις:**

Μηδενική υπόθεση ( $\chi_1=\chi_2$ ): Δεν θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων στους δείκτες οξειδωτικού στρες (πριν και μετά το πέρας της άσκησης).

Εναλλακτική υπόθεση ( $\chi_1\neq\chi_2$ ): Θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων στους δείκτες οξειδωτικού στρες (πριν και μετά το πέρας της άσκησης).

### **Περιορισμοί της έρευνας:**

Οι περιορισμοί της συγκεκριμένης έρευνας ίσως οφείλονται στο γεγονός ότι οι μετρήσεις των δεικτών του οξειδωτικού στρες έγιναν σε άτομα ενός συγκεκριμένου ηλικιακού εύρους.

### **Σημασία της εργασίας:**

Τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής μας δείχνουν την επίδραση που ασκεί μία συγκεκριμένη μορφή άσκησης, η έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση σε κάποιους δείκτες οξειδωτικού στρες και μας δίνεται η δυνατότητα να την συγκρίνουμε με την αντίστοιχη επίδραση μιας άλλης μορφής άσκησης, της αερόβιας. Επίσης μπορούμε να δούμε ποια χρονική στιγμή εμφανίζεται η επίδραση στις δυο μορφές άσκησης και πόσο χρονικό διάστημα διαρκεί

### **Ανασκόπηση Βιβλιογραφίας**

Υπάρχει πλήθος ερευνών στη Βιβλιογραφία οι οποίες μελετούν την επίδραση της άσκησης σε διάφορους δείκτες του οξειδωτικού στρες. Σύμφωνα με μία έρευνα (Whyte et al., 2010) μετά από πρωτόκολλο έντονης επαναλαμβανόμενης άσκησης υπήρξε αύξηση της αναερόβιας ικανότητας κατά 8% σε μη-προπονημένους άντρες, ενώ σύμφωνα με κάποια άλλη (Burgomaster et al., 2006) μετά από πρωτόκολλο

Wingate διάρκειας δύο εβδομάδων αυξήθηκε η αναερόβια ικανότητα κατά 5,4%. Αύξηση σε ρίζες λιπιδίων παρατηρείται στη διάρκεια των 40 λεπτών ξεκούρασης ύστερα από ένα Wingate test σε φοιτητές. (Croussard et al., 2003) Αντιθέτως, δεν υπήρξε αύξηση στα TBARS. Ο Hellsten et al.(1996) μελέτησε την επίδραση σε διάφορα αντιοξειδωτικά ένζυμα ( glutathione peroxidase, GPx, glutathione reductase, GR, superoxide dismutase, SOD) σε ανδρικούς μυς ύστερα από 7 εβδομάδες ποδηλάτισης (σπριντ). Συγκεκριμένα τις πρώτες 6 εβδομάδες οι συμμετέχοντες προπονούσαν 3 φορές την εβδομάδα, αλλά την έβδομη εβδομάδα 2 φορές την ημέρα και τις 7 μέρες. Τις πρώτες 6 εβδομάδες δεν υπήρξε διαφορά στην ενεργότητα των ενζύμων, αλλά μία αύξηση στα επίπεδα των GPx και GR υπήρξε 24 ώρες μετά το πέρας της έβδομης εβδομάδας, τα οποία επανήλθαν στα κανονικά επίπεδα 72 ώρες μετά το τέλος της προπόνησης. Στη μελέτη του parra et al. (Acta physiol. Scand, 2000) διαπιστώνουμε ότι μετά από 2 εβδομάδες καθημερινής διαλλειματικής άσκησης(SIT) αυξάνονται τα επίπεδα της citrate synthase (CS) στα μέγιστα επίπεδα, αλλά δεν υπάρχει διαφορά στην αναερόβια ικανότητα, μάλλον λόγω της χρόνιας κόπωσης που προκαλείται από την καθημερινή άσκηση. Ένας αυξανόμενος αριθμός από μελέτες σε ανθρώπους μας δείχνει ότι ένας επιλεγμένος αριθμός από αντιοξειδωτικά μπορεί να καθυστερήσει την κόπωση των μυών. Για παράδειγμα, το αντιοξειδωτικό N-acetylcysteine (NAC) καθυστερεί την κόπωση των μυών κατά τη διάρκεια υπομέγιστης άσκησης.(9-15) Η NAC δρα σαν ένας δότηςθειόλης με μειωμένη δραστηριότητα και έτσι υποστηρίζει την ανασύνθεση της γλουταθειόνης και ίσως επιδεικνύει και άλλες ιδιότητες των αντιοξειδωτικών.(16-17) Επίσης διαπιστώνουμε ότι η προπόνηση αυξάνει τη δραστηριότητα των ενζύμων υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, αναγωγή της γλουταθειόνης καθώς και την αντίσταση της LDL στην οξείδωση, ενώ παράλληλα μειώνει τη συγκέντρωση της οξειδωμένης LDL. ( Elosua et al., 2003) Συνεπώς αποδείχτηκε ότι η συστηματική φυσική δραστηριότητα εμποδίζει την οξείδωση και αυξάνει την ενδογενή αντιοξειδωτική δραστηριότητα του οργανισμού. Ένας σημαντικός αριθμός μελετών έδειξε ότι τα μυϊκά κύτταρα απελευθερώνουν υπεροξειδίο στον εξωκυττάριο χώρο, έτσι οι ελεύθερες ρίζες διαχέονται στο αίμα και δρουν και με άλλα κύτταρα.(18-20) Έτσι συμπεραίνουμε, ότι η παραγωγή ελευθέρων ριζών κατά τη διάρκεια της άσκησης συμβαίνει στον σκελετικό και

καρδιακό ιστό. Όμως, η δυσκολία στην λήψη βιοψιών σε ασκούμενους (κατά τη διάρκεια της άσκησης) περιορίζει τη μελέτη. Παρόλα αυτά, ορισμένες μελέτες έδειξαν ότι ύστερα από έντονη άσκηση παρατηρήθηκε ραγδαία αύξηση σε ορισμένους δείκτες οξειδωτικού στρες στο πλάσμα. Σύμφωνα με τον Fisher et al. η δραστηριότητα των ενζύμων SOD, CAT και GPX είναι αυξημένη ύστερα από προπόνηση με τη μορφή έντονης επαναλαμβανόμενης άσκησης.(23) Σε μία άλλη έρευνα (Schiffli et al., 1997) οι συμμετέχοντες έλαβαν μέρος σε δύο εξουθενωτικά σπρίντ. Αιμοληψίες πραγματοποιήθηκαν πριν την άσκηση, καθώς και 24 και 48 ώρες μετά το πέρας της άσκησης. Ως δείκτης για την καταστροφή του DNA χρησιμοποιήθηκε ο αριθμός των μικροπυρήνων σε 3000 διπύρινα λεμφοκύτταρα, ο οποίος βρέθηκε αυξημένος και 24 ώρες μετά την άσκηση, αλλά και 48 ώρες μετά την άσκηση. Μία ακόμη έρευνα (Bogdanow et al., 2003) έδειξε ότι μετά από διαλλειματική άσκηση υψηλής έντασης αυξήθηκαν οι δείκτες της αντιοξειδωτικής κατάστασης.(34) Μάλιστα, ο δείκτης Καταλάση είχε τη μέγιστη τιμή 30 λεπτά μετά το τέλος της άσκησης, μειώθηκε 24 ώρες μετά την άσκηση και 48 ώρες μετά την άσκηση επανήλθε στα αρχικά επίπεδα. Αυτή η μεταβολή ήταν πιο αισθητή σε προπονημένα άτομα από ότι σε μή-προπονημένα.(34) Από μία μελέτη(35) στην οποία έγινε σύγκριση των επιπέδων της Καταλάσης και της TAC (Total Antioxidant Capacity) μεταξύ δρομέων μικρών αποστάσεων και δρομέων μεγάλων αποστάσεων διαπιστώθηκε ότι οι δρομείς μικρών αποστάσεων έχουν πολύ χαμηλότερα επίπεδα Καταλάσης από ότι οι δρομείς μεγάλων αποστάσεων. Αντιθέτως, η TAC βρίσκεται στα ίδια επίπεδα και στις δύο κατηγορίες δρομέων.(35) Γνωρίζουμε ότι σε υψηλές συγκεντρώσεις τα ROS είναι ένας σημαντικός παράγοντας για την καταστροφή της κυτταρικής δομής, των λιπιδίων, των νουκλεϊκών οξέων και των πρωτεϊνών. (39,40) Καθώς οι οργανισμοί εκτείθονται σε ελεύθερες ρίζες προερχόμενες από διάφορες πηγές, δημιούργησαν ορισμένους αμυντικούς μηχανισμούς για να τις αντιμετωπίσει. (40,41) Υπάρχουν διάφορων ειδών τέτοιοι μηχανισμοί, όπως προληπτική, επιδιόρθωση, φυσικής άμυνας και αντιοξειδωτικής άμυνας. Οι τελευταίοι με τη σειρά τους, διαχωρίζονται στους ενζυματικούς και στους μη-ενζυματικούς. Στους ενζυματικούς ανήκουν οι SOD, GPx και η Καταλάση. Στους μη-ενζυματικούς ανήκουν η Βιταμίνη C, η Βιταμίνη E, η Γλουταθειόνη και άλλα αντιοξειδωτικά. Υπό κανονικές συνθήκες επικρατεί ισορροπία μεταξύ της

δραστηριότητας και των ενδοκυτταρικών επιπέδων αυτών των αντιοξειδωτικών. (40). Αυτή η ισορροπία είναι σημαντική για την ύπαρξη των οργανισμών και για την υγεία τους. Σε ακόμη μία έρευνα στην οποία συμμετείχαν παίκτες του βόλλευ και έφηβοι χωρίς ιδιαίτερη σχέση με τη γυμναστική διαπιστώθηκε, ύστερα από μία μέγιστη πρόσληψη Οξυγόνου στην οποία υποβλήθηκαν, ότι οι παίκτες είχαν μεγαλύτερη αεροβική δύναμη σε σχέση με τους εφήβους. (42) Επίσης, οι αθλητές (παίκτες) είχαν χαμηλότερα ποσοστά TBARS, υψηλότερη δραστηριότητα της SOD και υψηλότερα επίπεδα GSH σε σύγκριση με τους μή-αθλητές. (42) Ύστερα από ισοκινετική άσκηση διαπιστώθηκε σημαντική μεταβολή στη συγκέντρωση των δεικτών του οξειδωτικού στρες, που είχε ως αποτέλεσμα των εντοπισμό αυξημένου οξειδωτικού στρες στην κυκλοφορία του αίματος. (4) Τα επίπεδα της TAC και της Καταλάσης βρέθηκαν αυξημένα μετά την άσκηση.(4) Η κατανάλωση χυμού κερασιού συμβάλλει στην πιο γρήγορη ανάκαμψη ύστερα από ισοκινετική άσκηση. (48). Μεταξύ αθλητριών του βόλλευ και μη αθλητριών παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα TAC στην πρώτη κατηγορία. (49)

## **Μεθοδολογία**

Δώδεκα νεαροί άνδρες ηλικίας 18-45 ετών έλαβαν μέρος στην εργασία. Εμφανίστηκαν εθελοντικά στο Κέντρο Έρευνας και Αξιολόγησης της Φυσικής Απόδοσης (ΚΕΑΦΑ) του ΤΕΦΑΑ του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας τρεις φορές. Όλες οι πειραματικές διαδικασίες εκτελέσθηκαν σύμφωνα με τα πρότυπα της επιτροπής της Σχολής Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για τη σωστή μεταχείριση ανθρώπων-συμμετεχόντων σε ερευνητικές μελέτες.

Την πρώτη φορά έγινε αξιολόγηση των σωματομετρικών χαρακτηριστικών (ύψος, βάρος, ποσοστό λίπους). Το ύψος και το βάρος μετρήθηκαν με κλίμακα και ζυγαριά 'Seca'. Το ποσοστό λίπους μετρήθηκε βάσει γνωστών μεθόδων. Έπειτα υποβλήθηκαν σε μία αξιολόγηση μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου στο κυκλοεργόμετρο χρησιμοποιώντας έναν αναλυτή αερίων (carefusion, oxycan mobile, Jaeger). Τις επόμενες δύο φορές εμφανίστηκαν για να πραγματοποιήσουν τις δύο συνεδρίες άσκησης. Η σειρά έγινε με τυχαίοποιημένο τρόπο. Η μια συνεδρία άσκησης ήταν αερόβια. Η έντασή της καθορίστηκε στο 70% της μέγιστης

πρόσληψης οξυγόνου, που έχει οριστεί με την πρώτη επίσκεψη. Η διάρκεια της άσκησης ορίστηκε στα 30 λεπτά. Η δεύτερη συνεδρία άσκησης ήταν έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση. Σε αυτή τη συνεδρία οι συμμετέχοντες πραγματοποίησαν 4 wingate test (ποδήλατο monarck, Vansbro, Sweden). Η επιβάρυνση για το κάθε test ορίστηκε στο 7,5% του σωματικού βάρους του κάθε μετέχοντα και η διάρκεια του κάθε test ήταν 30 δευτερόλεπτα. Το διάλειμμα μεταξύ των test ήταν 4 λεπτά. Για τις δύο συνεδρίες άσκησης, πραγματοποιήθηκε αιμοληψία πριν, αμέσως μετά, 24, 48, και 72 ώρες μετά το τέλος της άσκησης. Το αίμα φυγοκεντρήθηκε και το πλάσμα και το ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα χρησιμοποιήθηκαν για τη μέτρηση της TAC και της Καταλάσης αντίστοιχα.

Αναλυτικότερα: Στην πρώτη επίσκεψη του δοκιμαζόμενου στο εργαστήριο μετρήθηκε το ύψος το βάρος και το ποσοστό λίπους. Έπειτα έγινε μέτρηση της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου με τη βοήθεια αναλυτή αερίων. Η δοκιμασία πραγματοποιήθηκε σε κυκλοεργόμετρο (monarck, Vansbro, Sweden). Ο δοκιμαζόμενος ξεκινούσε να ποδηλατίζει στις 70 στροφές (rpm) χωρίς καμία αντίσταση.

Κάθε 2 λεπτά προσθέτονταν στο ποδήλατο αντίσταση (300g), ενώ ο δοκιμαζόμενος συνέχιζε να ποδηλατίζει με τον ίδιο ρυθμό. Όταν έφτανε σε σημείο κόπωσης και με βάση τα αποτελέσματα του αναλυτή αερίων η διαδικασία σταματούσε. Στην επόμενη επίσκεψη ο δοκιμαζόμενος πραγματοποιούσε είτε την αερόβια είτε την αναερόβια άσκηση.

*Διαδικασία αερόβιας άσκησης:* Ο δοκιμαζόμενος ερχόταν έπειτα από νηστεία στη διαδικασία και στις αιμοληψίες. Αρχικά γινόταν αιμοληψία πριν την δοκιμασία. Έπειτα ο δοκιμαζόμενος έκανε στατικό ποδήλατο για τη διάρκεια των 30 λεπτών. Η αντίσταση που είχε ήταν σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια της άσκησης και το βάρος ανάλογο των αποτελεσμάτων της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου. Η ένταση ορίστηκε στο 70% της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου που πραγματοποιήθηκε κατά την πρώτη επίσκεψη του. Αμέσως μετά το τέλος της άσκησης πραγματοποιήθηκε και δεύτερη αιμοληψία. Αιμοληψίες έγιναν 24, 48 και 72 ώρες μετά το τέλος της άσκησης .

*Διαδικασία αναερόβιας άσκησης:* : Ο δοκιμαζόμενος ερχόταν έπειτα από νηστεία στη διαδικασία και στις αιμοληψίες. Αρχικά γινόταν αιμοληψία πριν την δοκιμασία. Στη συνέχεια συμμετείχε σε 4 Wingate test. Η διαδικασία του Wingate test περιλαμβάνει: Ο δοκιμαζόμενος ανεβαίνει σε κυκλοεργόμετρο το οποίο είναι συνδεδεμένο με έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή εφοδιασμένο με το κατάλληλο λογισμικό. Αρχίζει και ποδηλατίζει με την μέγιστη ταχύτητα του. Μόλις παρατηρηθεί πλατώ στις στροφές του κυκλοεργόμετρου, βάρος ορισμένο στο 7,5% του σωματικού βάρους του δοκιμαζόμενου εναποτίθεται ακαριαία στην υποδοχή του ποδηλάτου. Έπειτα ο δοκιμαζόμενος ποδηλατεί για 30 δευτερόλεπτα στη μέγιστη ένταση που μπορεί να πετύχει. Το διάλειμμα μεταξύ των επαναλήψεων έχει οριστεί στα 4 λεπτά. Έπειτα, έγινε αιμοληψία αμέσως. Αιμοληψίες ακολούθησαν 24, 48 και 72 ώρες μετά το τέλος της άσκησης.

### **Συλλογή και χειρισμός αίματος**

Πριν την άσκηση, αμέσως μετά, καθώς και 24, 48 και 72 ώρες μετά την ολοκλήρωση της πραγματοποιήθηκε αιμοληψία από τη φλέβα. Όλοι οι προβλεπόμενοι κανόνες ασηψίας και αντισηψίας τηρήθηκαν και τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν ήταν μιας χρήσης. Το αίμα από κάθε αιμοληψία το φυγοκεντρήσαμε (Thermo Electron corporation, Heraeus Biofuge Primo R centrifuge) και πήραμε τον ορό. Για να μετρήσουμε την TAC χρησιμοποιήσαμε δύο αντιδραστήρια: το phosphate buffer 10mM, PH 7,4 και το DPPH 0,1M. Πιο αναλυτικά: Σε erpendorfs προσθέσαμε 500 μλ DPPH, 480 μλ phosphate buffer και δείγμα από τον ορό 20 μλ. Στη συνέχεια τα αφήσαμε για μία ώρα στο σκοτάδι για επώαση. Μετά τα φυγοκεντρήσαμε για 7 λεπτά στα 16000g στους 25°C και τα φωτομετρήσαμε στα 520nm. Κάθε δείγμα το μετρήσαμε δύο φορές. Τις τιμές της απορρόφησης της βάλουμε στην εξίσωση  $\%Abs\ reduction = (Abs\ blank - Abs\ sample) / Abs\ blank * 100$  και υπολογίσαμε τις τιμές τις TAC. Για τη μέτρηση της καταλάσης κάναμε χρήση δύο αντιδραστηρίων: του

phosphate buffer 67mM, PH 7,4 και του 30% hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Αρχικά, από το ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα που πήραμε ύστερα από την φυγοκέντρηση (Thermo Electron corporation, Heraeus Biofuge Primo R centrifuge) και τον διαχωρισμό του αίματος, κάναμε την αραίωση 1/10, δηλαδή 20 μλ ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα σε 180 μλ νερό. Σε δοκιμαστικούς σωλήνες προσθέσαμε 2991 μλ του phosphate buffer και 4 μλ από το αραιωμένο σε νερό (1/10) ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα. Στη συνέχεια αναδεύσαμε (vortex) τους δοκιμαστικούς σωλήνες και τους τοποθετήσαμε για 10 λεπτά στους 37°C. Μετά βάλουμε το περιεχόμενο του δοκιμαστικού σωλήνα σε κυψελίδα και προσθέσαμε 5μλ από το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> . Καλύψαμε με παραφίλμ την κυψελίδα, την αναποδογυρίσαμε 3 φορές και φωτομετρήσαμε στα 240nm για 130 δευτερόλεπτα. Η διαφορά της αρχικής τιμής και της τιμής μετά το πέρας των 130 δευτερολέπτων μας δίνει την απορρόφηση που χρειαζόμαστε για να υπολογίσουμε την τιμή της καταλάσης. Κάθε δείγμα το μετρήσαμε δύο φορές. Στην εξίσωση που χρησιμοποιήσαμε για τον υπολογισμό της χρειαστήκαμε και τις τιμές της αιμοσφαιρίνης. Για το λόγο αυτό, μετρήσαμε και την αιμοσφαιρίνη σε κάθε δείγμα, πάλι δύο φορές το κάθε ένα. Για να μετρήσουμε την αιμοσφαιρίνη ακολουθήσαμε την κάτωθι διαδικασία: Βάλουμε σε δοκιμαστικούς σωλήνες 2,5 ml από το αντιδραστήριο και 10 μλ δείγμα, τους αναδεύσαμε (vortex) και φωτομετρήσαμε στα 546nm. Τις τιμές της απορρόφησης που πήραμε τις τοποθετήσαμε στην εξίσωση για τον υπολογισμό της αιμοσφαιρίνης, τις τιμές της οποίας χρησιμοποιήσαμε στην εξίσωση για τον υπολογισμό της καταλάσης. Η εξίσωση για τον υπολογισμό της καταλάσης είναι:

$$C_{act} (U/mg Hb) = (\Delta Abs \text{ sample mm} / 40)$$

\*  $/(750*1000*10*2) / \text{conc.Hb (mg/ml)}$ .



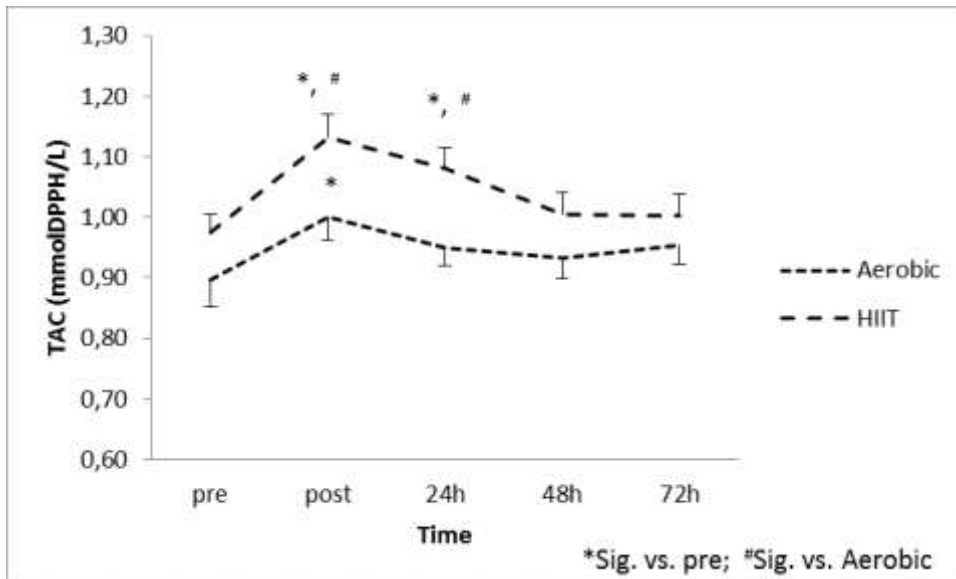
## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:

Η αερόβια άσκηση πραγματοποιήθηκε μέσα στα προκαθορισμένα επίπεδα της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου ( $70.0 \pm 2.0\%$ ). Στα wingate-test η μέση παραγωγή ισχύος ήταν ( $412.5 \pm 77.3$  watt). Η μέση θερμιδική κατανάλωση για έναν από τους συμμετέχοντες στη διάρκεια των 30 λεπτών αερόβιας άσκησης ήταν  $12600 \pm 1954.4$  θερμίδες ενώ στη συνολική διάρκεια κατά την διεξαγωγή των τεσσάρων wingate-test ήταν  $8032.2 \pm 3105.2$  θερμίδες.

**Πίνακας 1:** Μέσος όρος μέγιστων και μέσων τιμών ισχύος μετά από την πραγματοποίηση άσκησης HIIT

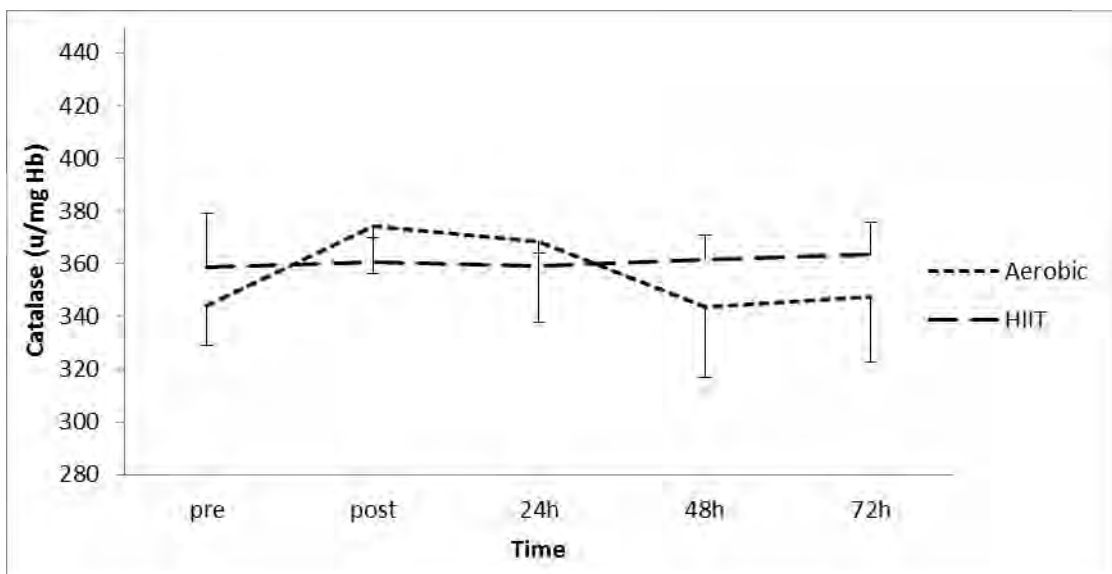
Variable	Mean $\pm$ SD
Peak power (W)	590,8 $\pm$ 86,8
Peak power/(W/kg)	8,0 $\pm$ 1,3
Minimum power (W)	290,1 $\pm$ 64,8
Minimum power(W/kg)	3,8 $\pm$ 0,7
Average power (W)	412,5 $\pm$ 77,3
Average power (W/kg)	5,5 $\pm$ 0,9
Power drop (W/s)	9,2 $\pm$ 3,1
Power drop (W/s/kg)	0,1 $\pm$ 0,05

Στο Γράφημα 1 απεικονίζεται η απόκριση της TAC μετά από τις δύο συνεδρίες άσκησης. Η TAC αυξήθηκε σημαντικά αμέσως μετά το τέλος και των δύο μορφών άσκησης και παρέμεινε σημαντικά αυξημένη 24 ώρες μετά το τέλος της άσκησης HIIT. Επιπρόσθετα, η αύξηση των τιμών της TAC ήταν σημαντικά υψηλότερη μετά την άσκηση HIIT σε σχέση με τις τιμές μετά την αερόβια άσκηση.



**Γράφημα 1:** Μεταβολές των επιπέδων TAC μετά από αερόβια άσκηση και άσκηση HIIT

Στο γράφημα 2 απεικονίζεται η απόκριση της καταλάσης μετά από τις δύο συνεδρίες άσκησης. Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική μεταβολή στα επίπεδα της καταλάσης μετά από καμία από τις δύο μορφές άσκησης.



**Γράφημα 2:** Μεταβολές των επιπέδων καταλάσης μετά από αερόβια άσκηση και άσκηση HIIT

## Συζήτηση:

Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής έδειξαν ότι και οι δύο συνεδρίες άσκησης (αερόβια άσκηση μέτριας έντασης και έντονη επαναλαμβανόμενη διαλλειματική άσκηση) δεν μετέβαλαν σημαντικά τα επίπεδα της Καταλάσης. Αντίθετα, τα επίπεδα της TAC αυξήθηκαν σημαντικά αμέσως μετά το τέλος και των δύο μορφών άσκησης και παρέμειναν σημαντικά αυξημένα 24 ώρες μετά το τέλος της έντονης επαναλαμβανόμενης διαλλειματικής άσκησης.

Στην έρευνα που πραγματοποίησαν ο Rokitzki και οι συνεργάτες σε αθλητές διαπίστωσαν άυξηση στα επίπεδα της Καταλάσης μετά από συμμετοχή σε αγώνα μαραθωνίου. (36) Επίσης, από μία άλλη μελέτη παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των επιπέδων της Καταλάσης ανάμεσα σε δρομείς μικρών αποστάσεων και σε δρομείς μεγάλων αποστάσεων (μαραθωνοδρόμων). Στους μαραθωνοδρόμους τα επίπεδα της Καταλάσης είχαν σημαντική αύξηση σε σχέση με τους δρομείς μικρών αποστάσεων.(35) Αντίθετα, το ποσοστό της TAC κυμαινόταν περίπου στα ίδια επίπεδα. (35) Σύμφωνα με την έρευνα του Bersosa και συνεργατών του, στην οποία συμμετείχαν νέοι μη-αθλητές, υπήρξε μικρή άυξηση στα επίπεδα της TAC ύστερα από το τέλος της κάθε μορφής άσκησης ( μέγιστη πρόσληψη Οξυγόνου, έντονη άσκηση μέχρι εξάντλησης και υπομέγιστη άσκηση).(43) Το ίδιο ισχύει και για τα επίπεδα της Καταλάσης, τα οποία όμως είχαν σημαντική αύξηση μετά την έντονη άσκηση μέχρι εξάντλησης. (43) Οι μετρήσεις έγιναν σε κυκλοεργόμετρο (43). Τα επίπεδα της TAC και της Καταλάσης βρέθηκαν αυξημένα ύστερα από άσκηση ισοκινετικής, σύμφωνα με μία άλλη έρευνα. (4) Σε μία ακόμη έρευνα με άσκηση ισοκινετικής, διαπιστώθηκε αυξημένη ενεργότητα της Καταλάσης, ωστόσο η περισσότερη ενεργότητα ήταν στις 48 και 72 ώρες μετά το πέρας της άσκησης. (44) Ωστόσο, τα επίπεδα της TAC αυξήθηκαν μόνο 48 ώρες μετά το τέλος της άσκησης. (44) Επίσης έχει παρατηρηθεί αύξηση της TAC μετά από έντονη μη-μυοκαταστροφική άσκηση, εξαιτίας αύξησης της αντιοξειδωτικής άμυνας του οργανισμού.(5) Οι ευεργετικές ιδιότητες της χρήσης θεραπείας με χαμηλής έντασης λέιζερ ενάντια στο οξειδωτικό στρες διαπιστώθηκε σε έρευνα που

πραγματοποιήθηκε σε ποντίκια, τα οποία είχαν υποβληθεί σε υψηλής έντασης άσκηση σε διάδρομο.(45) Το αποτέλεσμα ήταν μια εντυπωσιακή ανάκαμψη στα επίπεδα της κρεατινικής κινάσης, των πρωτεϊνικών καρβονυλίων και της SOD, καθώς επίσης και της λειτουργικής ικανότητας αμέσως μετά την άσκηση αλλά και 24 ώρες αργότερα, κατά τη διάρκεια της ανάκαμψης.(45) Περισσότερο αυξημένα επίπεδα της TAC βρέθηκαν σε αθλήτριες του βόλλευ σε σχέση με μή-αθλήτριες, σύμφωνα με μία μελέτη. (49)

Γενικά γνωρίζουμε ότι η υψηλής έντασης προπόνηση αντοχής μπορεί να αυξήσει την ενεργότητα των αντιοξειδωτικών ενζύμων, αλλά και να μειώσει τους δείκτες του σχετιζόμενου με την άσκηση οξειδωτικού στρες. (46,47)

### **Συμπεράσματα – Προτάσεις για μελλοντική έρευνα**

Μελλοντικές έρευνες θα μπορούσαν να χρησιμοποιήσουν μεγαλύτερο ηλικιακό εύρος συμμετεχόντων, αλλά και περισσότερους δείκτες οξειδωτικού στρες. Επίσης θα μπορούσαν να καταγράψουν τις διατροφικές συνήθειες των συμμετεχόντων, καθώς η διατροφή παίζει σημαντικό ρόλο, επειδή επηρεάζει το οξειδωτικό στρες. Τέλος, θα μπορούσαν να χρησιμοποιήσουν και λίστα διατροφής, η οποία θα μειώνει την επίδραση στο οξειδωτικό στρες.

## **Βιβλιογραφία:**

- (1) Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο, Τμήμα επιστήμης διαιτολογίας και διατροφής, “ο ρόλος της άσκησης και διατροφής στο οξειδωτικό στρες”, Πτυχιακή εργασία της φοιτήτριας Μαρίας Χριστίνας Αλεξοπούλου, Αθήνα 2008: 11-12
- (2) Scott K. Powers and Malcolm J. Jackson. Exercise-induced oxidative stress: Cellular mechanisms and Impact on Muscle force production, 2010. 2
- (3) Λυμπεράκη Ε. Ελευθερίου Φ. Μακρή Σ. Πέτρου Χ., Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων, Σχολή Επαγγελματιών Υγείας, Αλεξάνδρειο τεχνολογικό εκπαιδευτικό ίδρυμα Θεσσαλονίκης, Athens medical society, archives of Hellenic medicine: ISSN 11-05-1992
- (4) Nikolaidis, M.G., Paschalis, V., Giakas, G., Fatouros, I.G., Koutedakis, Y., Kouretas, D., Jamurtas, A.Z. Decreased blood oxidative stress after repeated muscle-damaging exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 39(7):1080-1089, 2007.
- (5) Nikolaidis, M.G., A. Jamurtas, V. Paschalis, et al. Exercise-induced oxidative stress in G6PD-deficient individuals. *Med. Sci. Sports Exerc.* 38:1443-1450, 2006.
- (6) Burgomaster KA, Hughes SC, Heigenhauser GJ, Bradwell SN, Gibala MJ. Six sessions of sprint interval training increases muscle oxidative potential and cycle endurance capacity in humans. *Appl Physiol.* 98(6):1985-90, 2005.
- (7) L. J. Whyte, J. M.R. Gill, and A. J. Cathcart, “Effect of 2 weeks of sprint interval training on health-related outcomes

in sedentary overweight/obese men,” *Metabolism Clinical and Experimental*, vol. 59, no. 10, pp. 1421–1428, 2010.

- (8) K. A. Burgomaster, G. J. F. Heigenhauser, and M. J. Gibala, “Effect of short-term sprint interval training on human skeletal muscle carbohydrate metabolism during exercise and time-trial performance,” *Journal of Applied Physiology*, vol. 100, no. 6, pp. 2041–2047, 2006
- (9) Medved, I.; Brown, M. J.; Bjorksten, A. R.; Murphy, K. T.; Petersen, A. C.; Sostaric, S.; Gong, X.; McKenna, M. J. N-acetylcysteine enhances muscle cysteine and glutathione availability and attenuates fatigue during prolonged exercise in endurance-trained individuals. *J. Appl. Physiol.* 97:1477–1485; 2004.
- (10) McKenna, M. J.; Medved, I.; Goodman, C. A.; Brown, M. J.; Bjorksten, A. R.; Murphy, K. T.; Petersen, A. C.; Sostaric, S.; Gong, X. N-acetylcysteine attenuates the decline in muscle Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-pump activity and delays fatigue during prolonged exercise in humans. *J. Physiol.* 576:279–288; 2006.
- (11) Medved, I.; Brown, M. J.; Bjorksten, A. R.; McKenna, M. J. Effects of intravenous N-acetylcysteine infusion on time to fatigue and potassium regulation during prolonged cycling exercise. *J. Appl. Physiol.* 96:211–217; 2004.
- (12) Matuszczak, Y.; Farid, M.; Jones, J.; Lansdowne, S.; Smith, M. A.; Taylor, A. A.; Reid, M. B. Effects of N-acetylcysteine on glutathione oxidation and fatigue during handgrip exercise. *Muscle Nerve* 32:633–638; 2005.
- (13) Reid, M. B.; Stokic, D. S.; Koch, S. M.; Khawli, F. A.; Leis, A. A. N-acetylcysteine inhibits muscle fatigue in humans. *J. Clin. Invest.* 94:2468–2474; 1994.

(14) Travaline, J. M.; Sudarshan, S.; Roy, B. G.; Cordova, F.; Leyenson, V.; Criner, G. J.

Effect of N-acetylcysteine on human diaphragm strength and fatigability. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 156:1567–1571; 1997.

(15) Kelly, M. K.; Wicker, R. J.; Barstow, T. J.; Harms, C. A. Effects of N-acetylcysteine

on respiratory muscle fatigue during heavy exercise. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 165:67–72; 2009.

(16) Dekhuijzen, P. N. Antioxidant properties of N-acetylcysteine: their relevance in

relation to chronic obstructive pulmonary disease. *Eur. Respir. J.* 23:629–636; 2004.

(17) Kelly, G. S. Clinical applications of N-acetylcysteine. *Altern. Med. Rev.* 3:114–127; 1998.

(18) F. McArdle, D. M. Patwell, A. Vasilaki, A. McArdle, and M. J. Jackson, “Intracellular generation of reactive oxygen species by contracting skeletal muscle cells,” *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 39, no. 5, pp. 651–657, 2005.

(19) D. M. Patwell, A. McArdle, J. E. Morgan, T. A. Patridge, and M. J. Jackson, “Release of reactive oxygen and nitrogen species from contracting skeletal muscle cells,” *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 37, no. 7, pp. 1064–1072, 2004.

(20) M. B. Reid, T. Shoji, M. R. Moody, and M. L. Entman, “Reactive oxygen in skeletal muscle. II. Extracellular release of free radicals,” *Journal of Applied Physiology*, vol. 73, no. 5, pp. 1805–1809, 1992.

(21) T. Ashton, C. C. Rowlands, E. Jones et al., "Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise," *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, vol. 77, no. 6, pp. 498–502, 1998.

(22) V. Pialoux, R. Mounier, E. Rock et al., "Effects of acute hypoxic exposure on prooxidant/antioxidant balance in elite endurance athletes," *International Journal of Sports Medicine*, vol. 30, no. 2, pp. 87–93, 2009.

(23) G. Fisher, D. D. Schwartz, J. C. Quindry et al., "Lymphocyte enzymatic antioxidant responses to oxidative stress following high-intensity interval exercise," *Journal of Applied Physiology*. In press.

(24) Halliwell, B.; Gutteridge, J. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford, UK: Oxford Univ. Press; 2007.

(25) FINAUD, J., G. LAC, and E. FILAIRE. Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med*. 36:327–358, 2006.

(26) Kirkman HN, Gaetani GF. Mammalian catalase: a venerable enzyme with new mysteries. *Trends Biochem Sci* 2007;32:44–50. [PubMed: 17158050]

(27) Chelikani P, Fita I, Loewen PC. Diversity of structures and properties among catalases. *Cell Mol Life Sci* 2004;61:192–208. [PubMed: 14745498]

(28) Zamocky M, Koller F. Understanding the structure and function of catalases: clues from molecular evolution and in vitro mutagenesis. *Prog Biophys Mol Biol* 1999;72:19–66. [PubMed:10446501]



(29) Laughlin MH, Simpson T, Sexton WL, Brown OR, Smith JK, Korthuis RJ. Skeletal muscle oxidative capacity, antioxidant enzymes, exercise training. *J Appl Physiol* 1990;68:2337–2343.  
[PubMed: 2384414]

(30) Leeuwenburgh C, Fiebig R, Chandwaney R, Ji LL. Aging and exercise training in skeletal muscle: responses of glutathione and antioxidant enzyme systems. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1994;267:R439–R445.

(31) Pereira B, Costa Rosa LF, Safi DA, Medeiros MH, Curi R, Bechara EJ. Superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase activities in muscle and lymphoid organs of sedentary and exercise-trained rats. *Physiol Behav* 1994;56:1095–1099. [PubMed: 7824577]

(32) Powers SK, Criswell D, Lawler J, Ji LL, Martin D, Herb RA, Dudley G. Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1994;266:R375–R380.

(33) Ji, L.; La, JH. Antioxidant defense: effects of aging and exercise. In: Radak, Z., editor. *Free Radicals in Exercise and Aging*. Champaign, IL: Human Kinetics; 2000. p. 35-72.

(34) Bogdanis, C.G., Stavrinou, P., Fatouros, G.I., Philippou, A., Chatzinikolaou, A., Draganidis, D., et al. (2013). Short-term high-intensity interval exercise training attenuates oxidative stress responses and improves antioxidant status in healthy humans. *Food and Chemical Toxicology*, 61, 171-7.

(35) Kostaropoulos, I.A., Nikolaidis, M.G., Jamurtas, A.Z., Ikonomidou, G.V., Makrygiannis, V., Papadopoulos, G., et al. (2006). Comparison of the Blood Redox

Status between Long Distance and Short-Distance Runners. *Physiological Research*, 55, 611-6.

(36) Rokitzki, 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, 149-58.

(37) Salminen, A., & Vihko, V. (1983). Endurance training reduces the susceptibility of mouse skeletal muscle to lipid peroxidation in vitro. *Acta Physiologica Scandinavica*, 117, 109-113.

(38) Theodorou A A., Nikolaidis G. M., Paschalis V., Koutsias S., Panayiotou G, Fatouros G. I., Koutedakis Y., Jamurtas A. Z. (2011). No effect of antioxidant supplementation on muscle performance and blood redox status adaptations to eccentric training. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 93, 1373–83.

(39) Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.*, 160, 1–40.

(40) Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin T.D.M., Mazur, M., & Telser, J., (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39, 44–84.

(41) Cadenas, E. (1997). Basic mechanisms of antioxidant activity. *Biofactors*, 6, 391–397.

(42) Djordjevic, Z.D., Cubrilo, G.D., Barudzic, S.N., Vuletic, S.M., Zivkovic, I.V., Nestic, M., et al. (2012). Comparison of blood pro/antioxidant levels before and after acute exercise in athletes and non-athletes. *General Physiology and Biophysics*, 31, 211–219.

(43) C. Berzosa et al. (2011). Acute Exercise Increases Plasma Total Antioxidant Status and Antioxidant Enzyme Activities in Untrained Men

(44) Vassilis Paschalis et al. (2007). Uniform and Prolonged Changes in Blood Oxidative Stress after Muscle-Damaging Exercise

(45) Andreia Aparecida de Oliveira Silva et al., (2015) Pre-exercise low-level laser therapy improves performance and levels of oxidative stress markers in mdx mice subjected to muscle fatigue by high-intensity exercise

(46) Miyazaki H, Oh-ishi S, Ookawara T, Kizaki T, Toshinai K, Ha S, Haga L, Ji L, Ohno H. Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhaustive exercise. *European Journal of Applied Physiology*. 2001;84:1–6.

(47) Elkington L.J et al.,(2015) Inflammation and Immune Function: Can Antioxidants Help the Endurance Athlete?. In: Lamprecht M, editor. *Source Antioxidants in Sport Nutrition*. Boca Raton (FL): CRC Press; 2015. Chapter 11.

(48) JOANNA L. BOWTELL, DAVID PAUL SUMNERS, AMY DYER, PATRICK FOX, and KATYA N. MILEVA (2010) Montmorency Cherry Juice Reduces Muscle Damage Caused by Intensive Strength Exercise, *MEDICINE & SCIENCE IN SPORTS & EXERCISE* Copyright 2011 by the American College of Sports Medicine

(49) Gholamreza Sharifi, Azam Bagheri Najafabadi , Fatemeh Esteki Ghashghaei (2012) , Oxidative stress and total antioxidant capacity in handball players



