

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ

ΤΙΤΛΟΣ

Η επίδραση της αναερόβιας και αερόβιας άσκησης σε δείκτες οξειδωτικού στρες

Του Νικητίδη Ιωάννη

Υπότροφος ΙΚΥ

Επιβλέπων καθηγητής Τζιαμούρτας Αθανάσιος

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: Τζιαμούρτας Αθανάσιος, Κουτεντάκης Ιωάννης, Φατούρος Ιωάννης

Τρίκαλα 2015

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους συνέβαλαν στην ολοκλήρωση της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής. Πρώτα απ' όλους θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κύριο επιβλέποντα, Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Τζιαμούρτα Αθανάσιο, για την συμπαράσταση, τη παρακολούθηση και τις εποικοδομητικές του υποδείξεις, σε όλες τις φάσεις της διατριβής.

Ευχαριστώ επίσης τον Καθηγητή κ. Κουτεντάκη Ιωάννη και τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Φατούρο Ιωάννη, που ως μέλη της τριμελούς επιτροπής αποδέχθηκαν την επίβλεψη και αξιολόγηση της μεταπτυχιακής μου διατριβής.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Υποψήφια Διδάκτορα Δελή Χαρίκλεια, η συμβολή της οποίας ήταν καθοριστική για την εκπαίδευση και καθοδήγησή μου στο εργαστηριακό κομμάτι της διατριβής.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους συμμετέχοντες, οι οποίοι έλαβαν μέρος στην έρευνα.

Η ολοκλήρωση της διπλωματικής εργασίας συγχρηματοδοτήθηκε μέσω του Έργου «Υποτροφίες ΙΚΥ» από πόρους του ΕΠ «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση», του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου (ΕΚΤ) του ΕΣΠΑ , 2007-2013.

Περίληψη

Η έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση (ΗΠΤ) αποτελεί ένα από τα δημοφιλή είδη άσκησης τα τελευταία χρόνια. Ωστόσο, η αύξηση του μεταβολισμού κατά τη διάρκεια της ΗΠΤ, μπορεί να προκαλέσει αυξημένη παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου και αζώτου (RONS), τα οποία ενδεχομένως να μην μπορούν να εξουδετερωθούν από το αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα και να προκαλούν οξειδωτικό στρες. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να αξιολογηθεί η επίδραση που έχει η έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση σε δείκτες όπως τα πρωτεϊνικά καρβονύλια (PC) και το ουρικό οξύ (UA) και να συγκριθεί με την επίδραση που έχει η αερόβια άσκηση στους συγκεκριμένους δείκτες. Η έρευνα διεξήχθη σε 12 υγιείς άνδρες, οι οποίοι συμμετείχαν σε δύο συνεδρίες που περιλάμβαναν δύο διαφορετικά πρωτόκολλα άσκησης. Η μία συνεδρία ήταν αερόβια διάρκειας 30 λεπτών και έντασης αντίστοιχης με το 70% της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου. Η δεύτερη συνεδρία άσκησης ήταν η έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση, κατά την οποία πραγματοποιήθηκαν 4 Wingate test. Η επιβάρυνση για κάθε test ήταν αντίστοιχη με το 7,5% του σωματικού βάρους του κάθε συμμετέχοντα και η διάρκεια 30 δευτερόλεπτα. Για τις δύο συνεδρίες άσκησης, πραγματοποιήθηκε αιμοληψία πριν, αμέσως μετά, 24, 48, και 72 ώρες μετά το τέλος της άσκησης. Από τις μετρήσεις προέκυψε πως υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των επιπέδων PC πριν και αμέσως μετά την ΗΠΤ, όπως και μεταξύ επιπέδων PC αμέσως μετά την ΗΠΤ και την αερόβια άσκηση. Επιπλέον υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των επιπέδων ουρικού οξέος πριν και αμέσως μετά την ΗΠΤ άσκηση, όπως και πριν και 24 ώρες μετά την ΗΠΤ άσκηση. Μεταξύ της ΗΠΤ και της αερόβιας άσκησης, παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στα επίπεδα ουρικού οξέος 24 ώρες μετά την άσκηση. Συνολικά βρέθηκε μεγαλύτερη μεταβολή της οξειδοαναγωγικής κατάστασης κατά την έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση.

Λέξεις κλειδιά: αερόβια, ΗΠΤ, οξειδωτικό στρες, ουρικό οξύ, πρωτεϊνικά καρβονύλια

Abstract

Nowadays, high intensity interval training (HIIT) is one of the most popular types of exercise. The increased metabolism caused by HIIT, might result in increased reactive oxygen and nitrogen species (RONS) production. The aim of the current study was to evaluate the effect of HIIT on markers of redox status such as protein carbonyls (PC) and uric acid (UA) and to compare it with the effects of aerobic exercise. The study conducted in 12 healthy men who participated in two sessions of two different exercise protocols. The first protocol consisted of a 30 minute aerobic exercise bout. The intensity of the exercise was equal to 70% of maximal oxygen uptake. The second protocol was HIIT, comprising of four 30 sec Wingate tests. The workload for every test was equal to 7,5% of the body weight of the participant. For each exercise session, venous blood was drawn before, immediately after, 24, 48 and 72 hours after the exercise. The results showed a significant increase in the PC levels immediately after the HIIT protocol compared to pre exercise levels. That increase was also significantly different compared to aerobic exercise. In addition, HIIT caused significant increases in uric acid immediately post and 24 hours post exercise compared to pre exercise levels. The increase in uric acid 24 hours post exercise after HIIT was significantly different compared to aerobic exercise. These results indicate that HIIT exercise results in greater disturbances in redox balance compared to aerobic exercise.

Key Words: aerobic, HIIT, oxidative stress, uric acid, protein carbonyls

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη	3
Abstract	4
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	5
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	7
Γενικά στοιχεία.....	7
Βιολογικές δράσεις των Ελευθέρων Ριζών	9
Αντιοξειδωτικός μηχανισμός	10
Ενζυμικά Αντιοξειδωτικά	11
Μη Ενζυμικά Αντιοξειδωτικά	13
Μέθοδοι Αξιολόγησης του Οξειδωτικού Στρες	17
Άμεσος προσδιορισμός των ελευθέρων ριζών	17
Έμμεσες Μέθοδοι: Μέτρηση της Οξειδωτικής Βλάβης των Λιπιδίων, Πρωτεϊνών και μορίων του DNA.....	18
Υπεροξείδωση των Λιπιδίων	18
Διαφοροποίηση των πρωτεϊνών.....	19
Διαφοροποίηση του DNA	20
Μετρήσεις Αντιοξειδωτικών	20
Ενζυμική αντιοξειδωτική δραστηριότητα	20
Αντιοξειδωτικές Βιταμίνες.....	21
Άλλα αντιοξειδωτικά	21
Συνολική Αντιοξειδωτική ικανότητα	21
Οξειδωτικό στρες και Άσκηση.....	22
Περίληψη της δημιουργίας ελευθέρων ριζών κατά τη σωματική άσκηση.....	23
Αερόβια άσκηση και οξειδωτικό στρες.....	24
Αναερόβια άσκηση και οξειδωτικό στρες.....	25
Έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση (High Intensity Interval Training-HIIT).....	26
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	28
ΣΚΟΠΟΣ.....	28
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	28
Αξιολόγηση Μέγιστης Πρόσληψης Οξυγόνου.....	29
Υπομέγιστη άσκηση.....	29
Μέτρηση πρωτεϊνικών καρβονυλίων (PC).....	31

Μέτρηση Ουρικού Οξέος (UA).....	32
Στατιστική ανάλυση.....	32
Αποτελέσματα	33
Συζήτηση.....	36
Συμπεράσματα-Μελλοντικές Μελέτες	39
Βιβλιογραφία.....	40

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Γενικά στοιχεία

Κατά τις τελευταίες τέσσερις δεκαετίες, η έρευνα γύρω από το οξειδωτικό στρες που προκαλείται από την άσκηση, παρουσιάζει αξιοσημείωτη ανάπτυξη. Ειδικότερα η έρευνα σε αυτό τον τομέα ξεκίνησε να ανθεί μετά την έρευνα του Dillard και των συνεργατών του το 1978, όπου φάνηκε η αύξηση της οξείδωσης των λιπιδίων μετά από 60 λεπτά άσκησης στο κυκλοεργόμετρο. (Dillard, Litov, Savin, Dumelin, & Tappel, 1978)

Οξειδωτικό στρες είναι η κατάσταση που προκύπτει όταν διαταράσσεται η ισορροπία, μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών επιπέδων στον οργανισμό, και οι οξειδωτικοί παράγοντες-ελεύθερες ρίζες, υπερισχύουν έναντι του αντιοξειδωτικού συστήματος άμυνας του οργανισμού. (Fisher-Wellman & Bloomer, 2009) Οι ελεύθερες ρίζες είναι μόρια με ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια στην εξωτερική στιβάδα. Οι ελεύθερες ρίζες είναι πολύ δραστικές και όταν αντιδρούν με άλλες ρίζες ή μόρια σχηματίζουν νέες ρίζες. Μεταξύ των ελευθέρων ριζών, οι σημαντικότερες είναι τα δραστικά είδη Οξυγόνου (Reactive Oxygen Species-ROS), ενώ υπάρχουν και τα λιγότερο σημαντικά δραστικά είδη Αζώτου (Reactive Nitrogen Species-RNS) και τα δραστικά είδη Θείου (Reactive Sulphur Species-RSS). (Finaud, Lac, & Filaire, 2006).

Πίνακας 1-Χαρακτηριστικά δραστικά είδη Οξυγόνου και Αζώτου (Bloomer, 2008; Finaud et al., 2006).

Δραστικά είδη οξυγόνου

Ελεύθερο Οξυγόνο	$^1\text{O}_2$
Υπεροξειδίο	O_2^-
Όζον	O_3

Υπεροξειδίο του Υδρογόνου	H_2O_2
Ρίζα υδροξυλίου	OH^\bullet
Ρίζα Αλκοξυδίου	RO^\bullet
Ρίζα υπεροξειδίου	ROO^\bullet
Υποχλωριώδες οξύ	$HOCL$
Δραστικά είδη αζώτου	
Νιτρικό οξειδίο	NO
Νιτρικό διοξειδίο	NO_2

Ο σχηματισμός των δραστικών ειδών οξυγόνου, μπορεί να γίνει τόσο προγραμματισμένος όσο και απρογραμματίστος. Προγραμματισμένα, ο σχηματισμός συμβαίνει κατά τη διάρκεια των διαδικασιών ανοσίας, συμμετέχοντας κατ' αυτό τον τρόπο στη διατήρηση της ομοιοστασίας.(Fehrenbach & Northoff, 2001; Hampton, Kettle, & Winterbourn, 1998) Ο απρογραμματίστος σχηματισμός δραστικών ειδών οξυγόνου μπορεί να προκύψει με ποικίλους τρόπους:

1)Σχηματισμός κατά τη διάρκεια του μεταβολισμού του οξυγόνου (Ο χώρος των μιτοχονδρίων όπου γίνεται ο μεταβολισμός του οξυγόνου, συνδέεται με το σχηματισμό των ROS)(Di Meo & Venditti, 2001)

2)Σχηματισμός κατά τη διάρκεια ισχαιμίας-επαναιμάτωσης (συμβαίνει μετά από χειρουργικές επεμβάσεις ή ακόμη και μετά από άσκηση, όταν πχ. σε όργανα όπου η αιμάτωση είχε μειωθεί και στη συνέχεια αποκαθίσταται η αιμάτωση τους, η μεγάλη ποσότητα οξυγόνου που δέχονται οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών)(Di Meo & Venditti, 2001)

3)Σχηματισμός κατά την οξειδωση αιμοσφαιρίνης και μυοσφαιρίνης (η αυτο-οξειδωση της αιμοσφαιρίνης και μυοσφαιρίνης, οδηγούν στη δημιουργία $O_2^{\cdot-}$ και H_2O_2 αντίστοιχα) (Wallace, Houtchens, Maxwell, & Caughey, 1982)

4)Άλλοι τρόποι σχηματισμού (αυξημένη κεντρική θερμοκρασία, κατεχολαμίνες και γαλακτικό οξύ, που μετατρέπουν το $O_2^{\cdot-}$ σε OH^{\cdot}).(Clarkson & Thompson, 2000)

Αρκετοί παράγοντες μπορούν να οδηγήσουν σε υπερπαραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου και αζώτου, ανάμεσά τους και η μόλυνση περιβαλλοντικών παραγόντων, η υπέρμετρη πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων και η σωματική άσκηση. (Fisher-Wellman & Bloomer, 2009)

Βιολογικές δράσεις των Ελευθέρων Ριζών

Θετικές δράσεις: Οι ελεύθερες ρίζες εμπλέκονται στις λειτουργίες ανοσίας του οργανισμού, λειτουργώντας ενάντια στα αντιγόνα κατά τη διάρκεια της φαγοκυττάρωσης. Ο ρόλος αυτός αυξάνεται κατά την φλεγμονή που μπορεί να προκληθεί από την άσκηση και συγκεκριμένα την έντονη άσκηση ή ασκήσεις που μπορούν να προκαλέσουν τραυματισμό όπως οι έκκεντρες ασκήσεις. Παρόλο που η πλειοψηφία των μελετών έχουν επικεντρωθεί στις αρνητικές επιδράσεις των ελευθέρων ριζών, τα δραστικά είδη οξυγόνου έχουν ένα σημαντικό ρόλο στην κυτταρική λειτουργία, καθώς μπορούν να λειτουργήσουν ως κυτταρικοί αγγειοφόροι ή να τροποποιήσουν την οξειδωτική κατάσταση του κυττάρου. Τα δραστικά είδη οξυγόνου εμπλέκονται επίσης στην ενεργοποίηση ενζύμων, στην αναπλήρωση του γλυκογόνου και στη μυϊκή συστολή.(Finaud et al., 2006)

Αρνητικές δράσεις: Οι ελεύθερες ρίζες, ενδέχεται να οδηγήσουν σε απόπτωση υγιών κυττάρων ή ακόμη και να προάγουν την φλεγμονή. Οι αρνητικές αυτές λειτουργίες των ελευθέρων ριζών οφείλονται στη δυνατότητά τους να μεταβάλουν το σχήμα και το μέγεθος

των στοιχείων με τα οποία αλληλεπιδρούν. Με αυτές τις δράσεις οι ελεύθερες ρίζες φαίνεται να έχουν ρόλο σε φυσιολογικές καταστάσεις όπως η κυτταρική γήρανση, αλλά και σε παθήσεις όπως τα καρδιαγγειακά, ο καρκίνος και νευροεκφυλιστικές παθήσεις όπως η νόσος Αλτςχάϊμερ και Πάρκινσον.(Finaud et al., 2006; Valko et al., 2007)

Αντιοξειδωτικός μηχανισμός

Μία από τις βασικές αρχές του ανθρώπινου οργανισμού είναι η ομοιόσταση, δηλαδή η διατήρηση μιας σταθερότητας και ομαλότητας των λειτουργιών του. Στην επίτευξη αυτού του σκοπού συμβάλουν σημαντικά τα αντιοξειδωτικά, που στην ουσία μετριάζουν την επίδραση του οξειδωτικού στρες, άλλοτε μειώνοντας τη δραστικότητα των ελευθέρων ριζών, και άλλοτε επιδιορθώνοντας τις βλάβες που έχουν προκληθεί.(Droge, 2002) Τα αντιοξειδωτικά χωρίζονται σε δύο κατηγορίες : ενζυμικά και μη ενζυμικά.

Πίνακας 2: Αντιοξειδωτικοί Μηχανισμοί Άμυνας (Bloomer, 2008)

Βασικά αντιοξειδωτικά ένζυμα	Μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά ένζυμα	Συνδεδεμένες με μέταλλα πρωτεΐνες
Υπεροξειδίου δισμουτάσης (SOD)	Βιταμίνη Α (ρετινόλη)	Αιμοσφαιρίνη
Cu_ZnSOD	Βιταμίνη C (ασκορβικό)	Μυοσφαιρίνη
MnSOD	Βιταμίνη E (τοκοφερόλη)	Σερουλοπλασμίνη
Εξωκυττάριο SOD	Καρνιτίνη	Φερριτίνη
Υπεροξειδάση της Γλουταθειόνης	Συνένζυμο Q10	Λακτοφερίνη
Καταλάση	Θειόλες	Μεταλλοθειονίνη
Ρεδουκτάση της	Ουρικό οξύ	Τρανσφερρίνη

Γλουταθειόνης

S-τρανσφεράση της

Μπιλιρουμπίνη

Γλουταθειόνης

Καροτενοειδή (β-

καροτένη, λυκοπένη κλπ.)

Φλαβονοειδή (κιερσετίνη,

κατεχίνη κλπ.)

Λιποϊκό οξύ

N-ακετυλο-κυστεΐνη

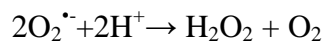
Ρεσβερατρόλη

Σελήνιο

Ενζυμικά Αντιοξειδωτικά

Υπεροξειδίο της Δισμουτάσης

Το υπεροξειδίο της δισμουτάσης είναι η πρώτη γραμμή άμυνας έναντι του οξειδωτικού στρες. Το υπεροξειδίο της δισμουτάσης αντιπροσωπεύει μια ομάδα ενζύμων που με τη δράση τους οδηγούν στο σχηματισμό του H_2O_2



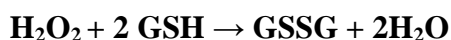
Στα κύτταρα, κατά τη διάρκεια της ανάπαυσής τους, το μεγαλύτερο ποσοστό του μιτοχονδριακά παραγόμενου $O_2^{\cdot-}$ μειώνεται από τη δράση του υπεροξειδίου της δισμουτάσης του μιτοχονδρίου, ενώ το υπόλοιπο ποσοστό διαχέεται στο κυτταρόπλασμα. (Das, Lewis-Molock, & White, 1997) Στα μυϊκά κύτταρα 65-85% της δράσης του υπεροξειδίου της

δισμουτάσης λαμβάνει χώρα μέσα στο κυτταρόπλασμα. (McArdle, Pattwell, Vasilaki, Griffiths, & Jackson, 2001)

Οι μορφές που παρατηρείται το υπεροξειδίο της δισμουτάσης είναι : σε σύνδεση με μαγγάνιο, που παρατηρείται στα μιτοχόνδρια και σε σύνδεση με χαλκό-ψευδάργυρο, που παρατηρείται στο κυτταρόπλασμα και στη μεμβράνη των μιτοχονδρίων. (Finaud et al., 2006)

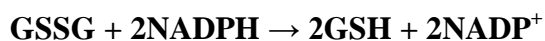
Υπεροξειδάση της Γλουταθειόνης (GPX)

Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης είναι ένα ένζυμο με δομή τεσσάρων υπομονάδων, που περιέχουν από ένα άτομο σεληνίου.(Halliwell & Gutteridge, 1985) Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης η οποία βρίσκεται τόσο στα μιτοχόνδρια όσο και στο κυτταρόπλασμα, έχει την ιδιότητα να μετατρέπει το H_2O_2 σε νερό μέσα από την ακόλουθη αντίδραση:

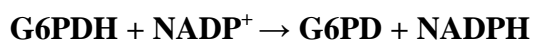


Σε αυτή την αντίδραση παρατηρείται επίσης η χρήση γλουταθειόνης και η μετατροπή της στην οξειδωμένη της μορφή.

Αξίζει να σημειωθεί σχετικά με το σχηματισμό της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης και το σχηματισμού της οξειδωμένης μορφής, πως το ένζυμο ρεδοκτάση της γλουταθειόνης καταλύει την αντίδραση ανασύνθεσης της γλουταθειόνης με τη χρήση NADPH ως δότη υδρογόνου:



Στην περίπτωση αυτή η παραγωγή του NADPH συνδέεται με το G6PDH μέσω της ακόλουθης αντίδρασης:

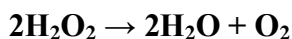


Το ένζυμο S-τρανσφεράση της γλουταθειόνης, λειτουργεί ως καταλύτης της αντίδρασης μεταξύ της -SH ομάδας της γλουταθειόνης και πιθανόν αλκυλιωτικών παραγόντων ,επιτρέποντας στη γλουταθειόνη να λειτουργήσει ως αποτοξίνωσης.(Bloomer, 2008)

Καταλάση (CAT)

Η καταλάση βρίσκεται στα υπεροξειδισώματα των κυττάρων , τα οποία χρησιμοποιούν το οξυγόνο για αποτοξίνωση του κυττάρου και παραγωγή H₂O₂ .(Antunes, Han, & Cadenas, 2002) Η καταλάση με τη δράση της μετατρέπει το H₂O₂ σε νερό και οξυγόνο:

CAT



Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης όπως και η καταλάση έχουν την ίδια δράση έναντι του H₂O₂, ωστόσο η πρώτη είναι πιο αποτελεσματική έναντι υψηλών συγκεντρώσεων των ενεργών ριζών οξυγόνου, ενώ η καταλάση έχει μεγαλύτερη επίδραση σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις H₂O₂.(Antunes et al., 2002; Jenkins & Goldfarb, 1993)

Μη Ενζυμικά Αντιοξειδωτικά

Βιταμίνη Α και β-καροτένιο

Η βιταμίνη Α είναι μια από τις 4 λιποδιαλυτές βιταμίνες. Το β-καροτένιο αποτελεί μια προβιταμίνη που μπορεί να μετατραπεί σε βιταμίνη Α ανάλογα με τις ανάγκες του οργανισμού. Το β-καροτένιο βρίσκεται σε βιολογικές μεμβράνες και υποστηρίζεται πως συμβάλλει στη μείωση της υπεροξειδωσης των λιπιδίων. (Ozhogina & Kasaikina, 1995; Powers & Lennon, 1999) Μίξη ή συνδυασμός των καροτενοειδών με άλλα αντιοξειδωτικά όπως για παράδειγμα η βιταμίνη Ε, μπορούν να αυξήσουν την δράση τους έναντι των ελευθέρων ριζών.(Paiva & Russell, 1999)

Βιταμίνη C (Ασκορβικό οξύ)

Η βιταμίνη C είναι μια υδατοδιαλυτή βιταμίνη η οποία δεν μπορεί συντεθεί στον ανθρώπινο οργανισμό για το λόγο αυτό είναι αναγκαία η πρόσληψή της μέσω της διατροφής.(Palmer et al., 2003) Είναι ιδιαίτερης σημασίας η αντιοξειδωτική της δράση τόσο στο εξωκυττάριο υγρό, όσο και στο κυτταρόπλασμα. Λειτουργεί κυρίως ως δότης ηλεκτρονίων και αλληλεπιδρά κυρίως με ελεύθερες ρίζες, όπως το O^{\bullet} , οι OH^{\bullet} , το $HOCl$ και άλλες δραστικές ρίζες οξυγόνου εντός και εκτός των κυττάρων. (Goldfarb, 1993; Goldfarb, Garten, Cho, Chee, & Chambers, 2011; Nikolaidis, Kerksick, Lamprecht, & McAnulty, 2012) Ενδοκυττάρια η βιταμίνη C ενισχύει τη δράση της βιταμίνης E και της γλουταθειόνης, με την ανασύσταση της ενεργής μορφής τους μετά την αντίδραση με τα δραστικά είδη οξυγόνου.(Evans, 2000; Ma, Stone, & LeClair, 1994; Palmer et al., 2003)Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες η χορήγηση βιταμίνης C και E σε αθλήτριες συντελεί στη μείωση των δεικτών μυϊκής βλάβης κατά την αερόβια άσκηση. (Taghiyar et al., 2013) Με βάση τα ως τώρα δεδομένα, σημαντική είναι η συμβολή της συμπληρωματικής χορήγησης βιταμίνης C στον περιορισμό του προκαλούμενου από την άσκηση βρογχόσπασμου και άσθματος όπως και στη μείωση της μυϊκής βλάβης.(Askari et al., 2012; Hemila, 2013)

Βιταμίνη E (α-τοκοφερόλη)

Η βιταμίνη E είναι μία ακόμη λιποδιαλυτή βιταμίνη, η οποία όπως και η Βιταμίνη A, συμβάλει στον περιορισμό της υπεροξειδωσίας των λιπιδίων. Παρότι υπάρχουν διάφορες ισομορφές της βιταμίνης, η πιο άφθονη είναι η α-τοκοφερόλη.(Fuchs et al., 2003) Η α-τοκοφερόλη μπορεί να αναδημιουργηθεί στον οργανισμό μέσω της GSH και της βιταμίνης C.(Nikolaidis, Kerksick, et al., 2012) Η έλλειψη βιταμίνης E μπορεί να αυξήσει το οξειδωτικό στρες και τον κάματο που σχετίζεται με μειωμένη οξειδωτική ικανότητα και αντοχή. (Coombes et al., 2002; Evans, 2000; Willcox, Catignani, & Roberts, 2003)Σύμφωνα με

έρευνα του 2010, η συμπληρωματική χορήγηση βιταμίνης E αποτελεί έναν σημαντικό παράγοντα άμυνας έναντι του οξειδωτικού στρες και της μυϊκής βλάβης. (Silva et al., 2010)

Φλαβονοειδή

Τα φλαβονοειδή σχηματίζονται στα φυτά μετά από συνένωση των τριών αμινοξέων φαινυλαλανίνη, τυροσίνη και μηλονικό. Παρά το πλήθος των *in vitro* μελετών που καταδεικνύουν την αντιοξειδωτική ικανότητα των φλαβονοειδών, δεν υπάρχει αντίστοιχη επάρκεια γνώσης αναφορικά με τις *in vivo* αντιοξειδωτικές τους ικανότητες. (Depeint, Gee, Williamson, & Johnson, 2002; Wedworth & Lynch, 1995)

Θειόλες

Οι θειόλες συντίθενται από *κυστεΐνη* ή *μεθειονίνη*. Έχουν διάφορες λειτουργίες όπως η σύνθεση πρωτεϊνών, η αποτοξίνωση, η ανοσία. Επιπρόσθετα κατέχουν σημαντικό ρόλο στο δίκτυο της αντιοξειδωτικής άμυνας. (Sen & Packer, 2000) Η γλουταθειόνη είναι η κύρια θειόλη που βρίσκεται σε έναν οργανισμό. Λειτουργεί ως υπόστρωμα της υπερξειδάσης της γλουταθειόνης κατά την αναστολή υπεροξειδωσίας των ελευθέρων ριζών. Μια επιπλέον λειτουργία της γλουταθειόνης είναι η άμεση αποτοξίνωση των ελευθέρων ριζών και η ενίσχυση της λειτουργικής αντιοξειδωτικής ικανότητας των βιταμινών C και E. (Groussard, Rannou-Bekono, et al., 2003; May, Qu, Whitesell, & Cobb, 1996) Κατά την παρουσία οξειδωτικού στρες είναι πιθανή μια μείωση στην αναλογία GSH/GSSG και της ολικής ποσότητας θειολών. Η κατάσταση αυτή παρατηρείται κατά τη γήρανση και μετά από σωματική άσκηση. (M. B. Svensson et al., 2002; Tessier, Margaritis, Richard, Moynot, & Marconnet, 1995)

Στην ομάδα των θειολών ανήκει και το λιποϊκό οξύ, το οποίο αναστέλλει την υπεροξειδωσία των λιπιδίων και βοηθά στη μείωση των οξειδωμένων μορφών των βιταμινών

A και E.(Coombes et al., 2001; Scott et al., 1994; Serbinova, Khwaja, Reznick, & Packer, 1992) Το λιποϊκό οξύ μπορεί επίσης να μειώσει την οξειδωμένη μορφή της κυστεΐνης, δηλαδή την κυστίνη, ώστε να προαχθεί η παραγωγή των θειολών. (Khanna et al., 1999; Schulz, Lindenau, Seyfried, & Dichgans, 2000; Sen & Packer, 2000)

Συνένζυμο Q10 (ουβικινόνη)

Το συνένζυμο Q10 , το οποίο βρίσκεται κυρίως στην μιτοχονδριακή μεμβράνη, αποτελεί βασικό στοιχείο για τη σύνθεση του ATP. (Linnane et al., 2002; Maulik et al., 2000) Πέρα από τη σύνθεση του ATP συμμετέχει και στη μεταφορά ηλεκτρονίων. (Kawamukai, 2002)Πέρα από την άμεσή του δράση ως αντιοξειδωτικό έναντι των ριζών υδροξυλίου, εμμέσως συντελεί στην αναδόμηση των βιταμινών C και E.(Crane, 2001; Witt, Reznick, Viguie, Starke-Reed, & Packer, 1992) Επιπλέον, το συνένζυμο Q10 λειτουργεί και ως μεσολαβητής στην γονιδιακή έκφραση και τη μυϊκή πρωτεϊνοσύνθεση.(Linnane et al., 2002)Οι έρευνες που σχετίζονται με την χορήγηση του Q10 σε αθλητές, σε σχέση με την μείωση του οξειδωτικού στρες, δεν κατέληξαν σε κάποια αξιοσημείωτη επίδραση.(Braun, Clarkson, Freedson, & Kohl, 1991; M. Svensson et al., 1999)

Ουρικό Οξύ

Το ουρικό οξύ αποτελεί το τελικό προϊόν του καταβολισμού των πουρινών. (M. Svensson et al., 1999) Σύμφωνα με μελέτη του 1988, η ένταση της άσκησης είναι ο παράγοντας που καθορίζει την αύξηση της συγκέντρωσης των επιπέδων του ουρικού οξέος στο αίμα. (Green & Fraser, 1988)Κατά την έντονη μυϊκή λειτουργία, το ουρικό οξύ κατευθύνεται προς τους μυς ώστε να λειτουργήσει προστατευτικά έναντι των ελευθέρων ριζών.(Hellsten, Sjodin, Richter, & Bangsbo, 1998) Μια επιπρόσθετη λειτουργία του ουρικού

οξέος είναι η προστασία βιταμινών όπως της βιταμίνης C και της βιταμίνης E από την οξειδωτική δράση των ελευθέρων ριζών. (Ma et al., 1994)

Μέθοδοι Αξιολόγησης του Οξειδωτικού Στρες

Η μέτρηση του οξειδωτικού στρες *in vivo* είναι δύσκολη εξαιτίας του εξαιρετικά πολύπλοκου δικτύου του αντιοξειδωτικού/ οξειδωτικού συστήματος και της μικρής ημίσειας ζωής των ελευθέρων ριζών. (Vassalle, Pingitore, De Giuseppe, Vigna, & Bamonti, 2015) Για τον προσδιορισμό του οξειδωτικού στρες υπάρχουν 3 διαφορετικές μέθοδοι μέτρησης i) των ελευθέρων ριζών, ii) των σχετιζόμενων με τις ελεύθερες ρίζες βλαβών των λιπιδίων, των πρωτεϊνών ή μορίων του DNA και iii) της αντιοξειδωτικής ενζυμικής δραστηριότητας ή συγκέντρωσης. (Clarkson & Thompson, 2000; Duthie, 1999; Jenkins, 2000)

Άμεσος προσδιορισμός των ελευθέρων ριζών

Η παραγωγή ελευθέρων ριζών μπορεί να μετρηθεί με άμεσες μεθόδους, όπως η φασματοσκοπία ηλεκτρονικού παραμαγνητικού συντονισμού. Η μέθοδος αυτή επιτρέπει την άμεση μέτρηση των δραστικών ειδών οξυγόνου στηριζόμενη στις παραμαγνητικές τους ιδιότητες. (Ashton et al., 1998; Ashton et al., 1999; Rimbach et al., 1999) Οι παραπάνω μετρήσεις μπορούν να γίνουν είτε *in vivo* είτε *ex vivo*. Ωστόσο οι πιο ακριβείς μετρήσεις, οι οποίες είναι οι *in vivo* δεν είναι εφαρμόσιμες στους ανθρώπους εξαιτίας των τοξικών προϊόντων που χρησιμοποιούνται σε αυτές. (Clarkson & Thompson, 2000; Rimbach et al., 1999) Η συλλογή των δειγμάτων αίματος γίνεται σε δοκιμαστικούς σωλήνες που περιέχουν διάλυμα με σταθεροποιητές των δραστικών ειδών οξυγόνου, αλλά η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων θα πρέπει να γίνεται με προσοχή εξαιτίας της ικανότητάς τους να αντιδρούν

και της χαμηλής τους συγκέντρωσης.(Ashton et al., 1999; Cooper, Vollaard, Choueiri, & Wilson, 2002; Jenkins, 2000). Αυτή η άμεση μέθοδος έχει το πλεονέκτημα ότι επιτρέπει καλύτερη κατανόηση των αντιδράσεων των ROS, καθώς και των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των ελευθέρων ριζών.(Rimbach et al., 1999)

Πέρα από τη χρήση μεθόδων άμεσης ανίχνευσης και προσδιορισμού των ελευθέρων ριζών, είναι συχνή και η χρήση άμεσων μεθόδων προσδιορισμού του οξειδωτικού στρες οι οποίες ανιχνεύουν τις μεταβολές της αντιοξειδωτικής κατάστασης.

Έμμεσες Μέθοδοι: Μέτρηση της Οξειδωτικής Βλάβης των Λιπιδίων, Πρωτεϊνών και μορίων του DNA.

Υπεροξείδωση των Λιπιδίων

Η μέτρηση του ρυθμού υπεροξείδωσης των λιπαρών οξέων ή λιπιδίων των μεμβρανών αποτελεί μία από τις έμμεσες μεθόδους προσδιορισμού του οξειδωτικού στρες. Η υπεροξείδωση των λιπιδίων έχει ως επακόλουθο την διάσπαση των λιπιδίων και το σχηματισμό μιας ευρείας σειράς βασικών προϊόντων οξείδωσης μεταξύ των οποίων συζευγμένα διένια και λιπιδικά υδροϋπεροξειδία. Εκτός αυτών όμως σχηματίζονται και δευτερεύοντα προϊόντα οξείδωσης όπως τα F2-ισοπροστάνια, η μαλονδιαλδεΐδη (MDA), το εθάνιο κ.α. Η μέτρηση των συζευγμένων διενίων εξαιτίας της ειδικότητάς της χρησιμοποιείται συχνά για την αξιολόγηση του οξειδωτικού στρες. (Aguoma, 1999; Clarkson & Thompson, 2000)

Όσον αφορά το MDA η παραγωγή του συμβαίνει κατά την αυτο-οξείδωση των λιπαρών οξέων. Η μέτρηση της μαλονδιαλδεΐδη συνήθως γίνεται κατά την αντίδρασή της με θειοβαρβιτουρικού οξύ, που οδηγεί στη δημιουργία δραστικών ουσιών του θειοβαρβιτουρικού οξέος(TBARS) Παρόλο που η ανάλυση των TBARS δεν είναι ειδική ως προς την MDA , αυτή η μέθοδος είναι αποδεκτή ως ενδεικός δείκτης της λιπιδικής

υπεροξειδωσης, ενώ υπάρχουν και μελέτες που δείχνουν πως η μέτρηση της μαλονδιαλδεϋδης δεν είναι η κατάλληλη για την μέτρηση του οξειδωτικού στρες μετά την άσκηση.(Clarkson & Thompson, 2000; Groussard, Rannou-Bekono, et al., 2003; Jenkins, 2000; Rimbach et al., 1999)

Μεταγενέστερη προσέγγιση στην έμμεση μέτρηση του οξειδωτικού στρες, αποτελεί η χρήση των F2-ισοπροστανίων, τα οποία παράγονται από την καταλυτική υπεροξειδωση των ελευθέρων ριζών από το αραχιδονικό οξύ.(Aguoma, 1999)Πέρα από τις μελέτες που αφορούν τα ισοπροστένια και τον προσδιορισμό της υπεροξειδωσης των λιπιδίων, ανάλογες μελέτες γίνονται και με τη χρήση δεικτών όπως η οξειδωμένη μορφή των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών ή αντισωμάτων έναντι αυτών. (Frank, Pompella, & Biesalski, 2000; Pincemail et al., 2000; Willcox et al., 2003)

Διαφοροποίηση των πρωτεϊνών

Η μετατροπή των πρωτεϊνών που προκύπτει από τη δράση των ελευθέρων ριζών, προκαλεί τον σχηματισμό καρβονυλομάδων στις πλευρικές αλυσίδες των αμινοξέων. Σε κάθε περίπτωση που συνδέεται με οξειδωτικό στρες, παρατηρείται αύξηση των καρβονυλίων, για το λόγο αυτό και η μέτρηση των σχηματιζόμενων καρβονυλίων είναι η πιο συχνή μέθοδος για τον προσδιορισμό της βλάβης των πρωτεϊνών από τις ελεύθερες ρίζες.(Levine, 2002) (Stadtman & Levine, 2000) Συνήθως γίνεται μέτρηση των συνολικών πρωτεϊνών ώστε να χρησιμοποιηθεί ο λόγος καρβονυλίων/ πρωτεϊνών που είναι πιο ακριβής δείκτης της πρωτεϊνικής οξειδωσης. (Chen, Chang, & Wei, 2001) Η υψηλή συγκέντρωση καρβονυλίων μπορεί να είναι ενδεικτική της επίδρασης του οξειδωτικού στρες.

Η ποσοτικοποίηση των οξειδωμένων αμινοξέων αποτελεί μια επιπλέον μέθοδο μέτρησης της οξειδωσης των πρωτεϊνών. (Leeuwenburgh, Hansen, Holloszy, & Heinecke, 1999) Η μέθοδος αυτή μπορεί να εφαρμοστεί και με τη χρήση δείγματος ούρων.

Διαφοροποίηση του DNA

Τα δραστικά είδη οξυγόνου συμβάλουν σε διαφόρων ειδών βλάβες του DNA μεταξύ των οποίων τροποποίηση των βάσεων, διάσπαση κλώνων κ.α.(Dizdaroglu, Jaruga, Birincioglu, & Rodriguez, 2002) Μεταξύ των 5 νουκλεοτιδικών βάσεων, η γουανίνη είναι αυτή που υφίσταται ευκολότερα οξείδωση και συγκεκριμένα στη θέση C8 της δεοξυγουανοσίνης, με αποτέλεσμα το σχηματισμό της 8-υδροξυ-2'-δεοξυγουανοσίνης, που χρησιμοποιείται ως δείκτης προσδιορισμού της βλάβης του DNA, εξαιτίας του οξειδωτικού στρες. (Wray et al., 2009) Θα πρέπει να σημειωθεί πως η ακρίβεια αυτής της μεθόδου είναι υπό αμφισβήτηση εξαιτίας της πιθανής τεχνητής παραγωγής της 8-υδροξυ-2'-δεοξυγουανοσίνης, ως προϊόν αυτό-οξείδωσης κατά την επεξεργασία των δειγμάτων.(Dizdaroglu et al., 2002; Hofer & Moller, 2002)

Μετρήσεις Αντιοξειδωτικών

Ενζυμική αντιοξειδωτική δραστηριότητα

Η ενζυμική αντιοξειδωτική δραστηριότητα, η οποία αναφέρεται στη SOD, CAT και GPX, είναι μία μέθοδος με την οποία μπορεί να αξιολογηθεί τόσο η αντιοξειδωτική προστασία κατά την ηρεμία, όσο και το οξειδωτικό στρες μετά από φυσική δραστηριότητα. Ειδικότερα μετά την άσκηση, η ανάπτυξη της ενζυμικής αντιοξειδωτικής δραστηριότητας αντιπροσωπεύει την προσαρμογή ως προς την παραγωγή ελευθέρων ριζών.(Marzatico, Pansarasa, Bertorelli, Somenzini, & Della Valle, 1997; Miyazaki et al., 2001)

Αντιοξειδωτικές Βιταμίνες

Μία επιπρόσθετη μέθοδος για τον προσδιορισμό της αντιοξειδωτικής προστασίας, είναι η μέτρηση της συγκέντρωσης των αντιοξειδωτικών βιταμινών A, C και E στο πλάσμα. Οι αντιοξειδωτικές βιταμίνες αποτελούν έμμεσους δείκτες οξειδωτικού στρες και μεταβάλλονται από αυτό. (Prior & Cao, 1999; Rimbach et al., 1999) Κατά την ερμηνεία των συγκεντρώσεων των αντιοξειδωτικών βιταμινών στο πλάσμα, θα πρέπει να δίνεται προσοχή, καθώς οι διακυμάνσεις κατά τη διάρκεια της άσκησης ενδεχομένως υποδεικνύουν ανακατανομή τους μεταξύ ιστών και πλάσματος.(Ji, 1995)

Άλλα αντιοξειδωτικά

Μεταξύ των μεθόδων προσδιορισμού της αντιοξειδωτικής ικανότητας και του οξειδωτικού στρες, είναι και η μέτρηση των θειολών, οι οποίες μειώνονται κατά την παρατεταμένη επίδραση οξειδωτικού στρες. Ιδιαίτερης σημασίας είναι ο προσδιορισμός της γλουταθειόνης-GSH και της οξειδωμένης μορφής της GSSG, καθώς και ο λόγος τους GSH/GSSG που αποτελεί δείκτη οξειδωτικού στρες.(M. B. Svensson et al., 2002; Tessier et al., 1995)Το ουρικό οξύ αποτελεί ένα επίσης σημαντικό αντιοξειδωτικό.(Valko et al., 2007; Vassalle et al., 2015)

Συνολική Αντιοξειδωτική ικανότητα

Για λόγους οικονομίας πόρων και χρόνου, έχει καθιερωθεί από διάφορες ερευνητικές ομάδες η μέτρηση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας ενός δείγματος (TAC- Total Antioxidant Capacity) .(Ashton et al., 1998) Μεταξύ των μεθόδων που χρησιμοποιούνται για την μέτρηση της TAC, μία από τις πιο δημοφιλείς είναι η χρήση ενός προ-οξειδωτικού ώστε να γίνει ποσοτικοποίηση της ικανότητας απορρόφησης του ενεργού οξυγόνου.(Cao & Prior,

2000). Ωστόσο και η μέθοδος αυτή έχει μειονεκτήματα, με κυριότερο την επίδραση της διατροφής. (Kohen, Vellaichamy, Hrbac, Gati, & Tirosh, 2000)

Η επιλογή συγκεκριμένων βιοδεικτών εξαρτάται από τη λειτουργία που επηρεάζεται από την άσκηση ή τις επιδράσεις των προσλαμβανόμενων τροφίμων ή συνδυασμό των δύο αυτών παραγόντων. Αντιστρόφως, η φύση των παραμέτρων που χρησιμοποιούνται (π.χ. ενζυματικά, μη ενζυματικά αντιοξειδωτικά κλπ.) μπορεί να έχουν μεγάλη επίδραση στο αποτέλεσμα. (Pingitore et al., 2015)

Οξειδωτικό στρες και Άσκηση

Παρά την ευεργετική αξία της άσκησης στην προαγωγή της υγείας και στην πρόληψη ασθενειών, μεγάλος αριθμός μελετών καταδεικνύει την επίδραση της άσκησης στην αύξηση της παραγωγής ελευθέρων ριζών. (Ashton et al., 1999; Bailey et al., 2007; Finkler, Lichtenberg, & Pinchuk, 2014; Fisher-Wellman & Bloomer, 2009; Groussard, Rannou-Bekono, et al., 2003) Ωστόσο για την εμφάνιση του οξειδωτικού στρες θα πρέπει να διαταραχθεί η ισορροπία μεταξύ προοξειδωτικών-αντιοξειδωτικών παραγόντων και ειδικότερα τα δραστικά είδη οξυγόνου να υπερτερούν έναντι της αντιοξειδωτικής ικανότητας άμυνας. Ο μηχανισμός παραγωγής της των ελευθέρων ριζών εξαρτάται από την διάρκεια, την ένταση και τον τύπο της μυϊκή συστολής. Η παραγωγή των ελευθέρων ριζών είναι ανάλογη της έντασης της άσκησης και από ένα σημείο έντασης και πέρα εμφανίζεται οξειδωτικό στρες. (Bloomer, Davis, Consitt, & Wideman, 2007; Fisher-Wellman & Bloomer, 2009; Goto et al., 2007; McAnulty et al., 2010; Nikolaidis, Kyparos, et al., 2012) Ωστόσο υπάρχουν και μελέτες που παρουσιάζουν πως η εντατική άσκηση μειώνει τις βλάβες που προκαλούνται από τις ελεύθερες ρίζες. (Radak, Taylor, Ohno, & Goto, 2001) Σύμφωνα με δεδομένα που αφορούν τόσο πειραματόζωα όσο και ανθρώπους, καλά προπονημένα άτομα, μπορεί να παρουσιάζουν

ανθεκτικότητα έναντι απότομων κυμάτων οξειδωτικών παραγόντων που προκύπτουν από έντονη και δυναμική άσκηση.(Oztasan et al., 2004; Radak, Chung, & Goto, 2008) Επιπρόσθετα , σε πρόσφατη μελέτη παρουσιάστηκε πως τα επίπεδα οξειδωτικού στρες είναι μειωμένα μετά από έναν αγώνα “Ironman”.(Vassalle et al., 2014)

Περίληψη της δημιουργίας ελευθέρων ριζών κατά τη σωματική άσκηση

Κατά τη σωματική άσκηση αυξάνεται η οξυγόνωση των εμπλεκόμενων μυών και αυτό οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών. (Peake & Suzuki, 2004) (16, 17). Η άσκηση αυξάνει την πρόσληψη οξυγόνου 10 με 20 φορές και προάγει τη δημιουργία δραστικών μορφών οξυγόνου και ελευθέρων ριζών, τα οποία επιδρούν στο DNA, τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, τα αμινοξέα και τις ενεργές πρωτεΐνες.(Lambertucci, Levada-Pires, Rossoni, Curi, & Pithon-Curi, 2007) Ο αυξημένος μεταβολισμός, η αυξημένη κατανάλωση οξυγόνου από τους μύες, η αυξημένη θερμοκρασία και το μειωμένο PH των μυϊκών κυττάρων αποτελούν παράγοντες που μπορούν να επιταχύνουν τη δημιουργία ελευθέρων ριζών. Παρόλο που δεν είναι απολύτως γνωστή η πηγή της παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου κατά την άσκηση, ο σκελετικός μυς θεωρείται η κύρια πηγή προέλευσής τους.(Powers & Jackson, 2008) Τα κύρια στοιχεία των ενεργών μυών που συμμετέχουν στην παραγωγή ROS κατά την άσκηση είναι τα μιτοχόνδρια, η οξειδάση της ξανθίνης, η οξειδάση, το νικοτινάμινο αδέινο δινουκλεοτίδιο-NADPH, διαδικασίες που εξαρτώνται από την A₂ φωσφολιπάση και μερικά κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος.(Kinnunen et al., 2005; Powers, Nelson, & Hudson, 2011)

Τα αυξημένα επίπεδα κατεχολαμινών όπως επίσης και η αυξημένη απελευθέρωση μεθμυοσφαιρίνης από τους μυς που έχουν υποστεί βλάβη, αλλά και η αλληλεπίδραση μεθμυοσφαιρίνης και μεθαιμοσφαιρίνης με υπεροξειδία κατά την άσκηση, φαίνεται πως

επίσης έχουν ρόλο στη δημιουργία των δραστικών ειδών οξυγόνου.(Cooper et al., 2002; Powers & Jackson, 2008)

Αερόβια άσκηση και οξειδωτικό στρες

Ενώ η συμμετοχή σε τακτική αερόβια άσκηση (πχ. Περπάτημα, τρέξιμο, ποδήλατο) έχει αποδειχθεί να είναι ευεργετική για τη μείωση της θνητότητας και θνησιμότητας, είναι επίσης γνωστό πως η αερόβια άσκηση αρκετής έντασης (π.χ., $>70\% \text{VO}_{2\text{max}}$) και διάρκειας (π.χ., > 30 λεπτών) μπορεί να οδηγήσει σε κατάσταση οξειδωτικού στρες. Η παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου κατά τη διάρκεια και μετά την αερόβια άσκηση μπορούν κυρίως να συσχετισθούν με την αύξηση στην πρόσληψη οξυγόνου. (Bloomer, 2008) Η αερόβια άσκηση αυξάνει τη μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου, η οποία με τη σειρά της μπορεί να αυξήσει την παραγωγή ελευθέρων ριζών. Γι' αυτό και πλήθος μελετών τόσο σε πειραματόζωα όσο και σε ανθρώπους προτείνουν πως η αερόβια άσκηση αυξάνει την παραγωγή των ελευθέρων ριζών.(Aguilo et al., 2005; Alessio, 1993; Child, Wilkinson, Fallowfield, & Donnelly, 1998; Liu et al., 1999; Mastaloudis, Leonard, & Traber, 2001; Palmer et al., 2003; Vasankari, Kujala, Vasankari, Vuorimaa, & Ahotupa, 1997; Vider et al., 2001)Πιο πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η άσκηση μέχρι εξάντλησης σε δαπεδοεργόμετρο, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της υπεροξειδωσης των λιπιδίων και της πρωτεϊνικής οξειδωσης και σε μείωση της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας.(Michailidis et al., 2007; Nikolaidis et al., 2006) Τα παραπάνω επιβεβαιώνονται και με την μελέτη από τον Φατούρο και συν. (2010) όπου αύξηση του οξειδωτικού στρες παρατηρήθηκε και σε αθλητές ποδοσφαίρου μετά από αγώνα.(Fatouros et al., 2010)

Σε περίπτωση χαμηλής έντασης αερόβιας άσκησης, δηλαδή $<50\% \text{VO}_{2\text{max}}$, η αντιοξειδωτική ικανότητα επαρκεί ώστε να μην εμφανισθεί βλάβη προκαλούμενη από τις

ελεύθερες ρίζες. Επιπλέον όσο μεγαλύτερη είναι η ένταση της άσκησης , τόσο μεγαλύτερη είναι και η παραγωγή των ελευθέρων ριζών και του επακόλουθου οξειδωτικού στρες.(Palmer et al., 2003)

Υπάρχουν όμως και μελέτες που δείχνουν πως δεν υπάρχει αύξηση του οξειδωτικού στρες μετά από υψηλής έντασης αερόβια άσκηση. (Chevion et al., 2003; Dawson et al., 2002; Vasankari et al., 1997) Ωστόσο αυτές οι μελέτες έγιναν σε προπονημένους αθλητές αντοχής οι οποίοι έχουν αποκτήσει προσαρμοστικότητα έναντι των επιδράσεων της άσκησης όπως η παραγωγή των ελευθέρων ριζών. Σύμφωνα με την διαδικασία της προσαρμογής, η τακτική άσκηση έχει την ικανότητα να επάγει διαδικασίες προσαρμογής ώστε το σώμα να ανταπεξέρχεται σε μελλοντικές στρεσογόνες επιδράσεις της άσκησης.(Radak et al., 2001)

Αναερόβια άσκηση και οξειδωτικό στρες

Οι μελέτες που έχουν γίνει αναφορικά με τη συσχέτιση της παραγωγής δραστικών ειδών οξυγόνου και αναερόβιας άσκησης (με πρωτόκολλα όπως πχ. διαλειμματικό τρέξιμο-σπριντς , ασκήσεις αντιστάσεων και τεστ Wingate σε κυκλοεργόμετρο) είναι πολύ λιγότερες σε σχέση με τις αντίστοιχες που αφορούν την αερόβια άσκηση. (Groussard, Rannou-Bekono, et al., 2003) Όπως και η αερόβια άσκηση έτσι και η αναερόβια φαίνεται πως αυξάνει την παραγωγή του οξειδωτικού στρες. (Bloomer & Goldfarb, 2004) Η αύξηση της παραγωγής ελευθέρων ριζών, που οφείλεται στην αναερόβια άσκηση πραγματοποιείται από διάφορες οδούς πέρα από τη διαρροή ηλεκτρονίων όπως συμβαίνει και στην αερόβια άσκηση. (Groussard, Rannou-Bekono, et al., 2003; McBride, Kraemer, Triplett-McBride, & Sebastianelli, 1998; Sahlin, Cizinsky, Warholm, & Hoberg, 1992) Η ισχαιμική επαναιμάτωση, η παραγωγή οξειδάσης της ξανθίνης και η φαγοκυτταρική αναπνευστική έκρηξη εμπλέκονται στην παραγωγή ελευθέρων ριζών κατά την εκτέλεση αναερόβιας άσκησης.(Sahlin et al., 1992) Επιπρόσθετα, άλλες διαδικασίες που συντελούν στην αύξηση της παραγωγής των

ελευθέρων ριζών είναι οι αυξήσεις του γαλακτικού οξέος, η οξειδωση, η μεταπροπονητική φλεγμονή κ.α.(Kayatekin, Gonenc, Acikgoz, Uysal, & Dayi, 2002; Sahlin et al., 1992)

Έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση (High Intensity Interval Training-HIIT)

Η έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση (HIIT) αποτελεί ένα από τα δημοφιλή είδη άσκησης τα τελευταία χρόνια, καθώς έρευνες προτείνουν πως αυτή η μέθοδος άσκησης οδηγεί σε οφέλη τόσο στη φυσιολογία όσο και στην υγεία, σε γυμνασμένους και αγύμναστους, σε λιγότερο χρόνο σε σχέση με την προπόνηση αντοχής.(Laursen & Jenkins, 2002) Όπως είναι γνωστό, η έλλειψη χρόνου αποτελεί ίσως τον σημαντικότερο ανασταλτικό παράγοντα για την τακτική συμμετοχή των ανθρώπων σε διάφορες μορφές άσκησης, οπότε η ύπαρξη ερευνών που υποστηρίζουν την βελτίωση της απόδοσης και κατάστασης των αθλουμένων με μικρής διάρκειας άσκηση, προσδίδουν ιδιαίτερη βαρύτητα στην HIIT ως εναλλακτική μορφή άσκησης.(Gibala & McGee, 2008) Η HIIT βασίζεται σε επαναλαμβανόμενες περιόδους σύντομων διακεκομμένων εκρηκτικών ενεργητικών ασκήσεων που πραγματοποιούνται σε υψηλές τιμές της VO₂max, στις οποίες παρεμβάλλονται περίοδοι ξεκούρασης ή χαμηλής έντασης δραστηριότητας.(Smith et al., 2009)

Η μεγάλη αύξηση του μεταβολισμού κατά της διάρκεια της HIIT, μπορεί να προκαλέσει αυξημένη παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου και αζώτου(RONS), τα οποία ενδεχομένως να μην μπορούν να εξουδετερωθούν από το αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα και να προκαλούν οξειδωτικό στρες. (Powers & Jackson, 2008; Powers, Nelson, et al., 2011; Powers, Talbert, & Adhietty, 2011) Οι πηγές παραγωγής των δραστικών μορφών οξυγόνου και αζώτου, μπορεί να είναι τόσο η υψηλή κατανάλωση οξυγόνου, όσο και ο υψηλός αναερόβιος μεταβολισμός που επιφέρει την αύξηση της παραγωγής των RONS από την ξανθίνη και την NADPH οξειδάση, τις συνθήκες ισχαιμικής επαναιμάτωσης, τη

διαφοροποιημένη ομοιόσταση του ασβεστίου και την προκαλούμενη μυϊκή βλάβη.(Bloomer & Goldfarb, 2004; Nikolaidis et al., 2008; Nikolaidis et al., 2007; Powers, Nelson, et al., 2011; Powers, Talbert, et al., 2011)

Ο αριθμός εργασιών που αφορά τη σχέση μεταξύ της ΗΠΤ και του οξειδωτικού στρες μετά από μια έντονη συνεδρία ή μικρού διαστήματος άσκησης, είναι μικρός. (Bloomer et al., 2006; Bogdanis et al., 2013; Fisher et al., 2011; Hellsten, Apple, & Sjodin, 1996) Σε μελέτη όπου διενεργήθηκαν 6 σπριντ των 10 δευτερολέπτων με 3 λεπτά ενδιάμεση ανάπαυση, σε αναερόβια προπονημένα άτομα, δεν παρατηρήθηκε αύξηση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων ή της MDA. (Bloomer et al., 2006) Μέχρι τώρα, η πλειοψηφία των μελετών σχετικά με τη ΗΠΤ έχουν χρησιμοποιήσει υψηλών απαιτήσεων πρωτόκολλα άσκησης περιλαμβάνοντας επαναληπτικές μέγιστες προσπάθειες σπριντ των 30 δευτερολέπτων.(Burgomaster, Hughes, Heigenhauser, Bradwell, & Gibala, 2005; Gibala et al., 2006) Σε μελέτη που έγινε σε γυμνασμένους ποδηλάτες που πραγματοποίησαν 9 γύρους των 30 δευτερολέπτων, βρέθηκε σημαντική αύξηση της MDA. (Shing et al., 2007) Σε μια από τις ελάχιστες μελέτες που μέτρησαν το οξειδωτικό στρες σε σχέση με την αντιοξειδωτική ενζυμική ικανότητα, βρέθηκε πως η δεύτερη αυξήθηκε αμέσως μετά από κάθε συνεδρία άσκησης, αλλά επέστρεψε στα επίπεδα ανάπαυσης 3-24 ώρες μετά την άσκηση. Ωστόσο μετά την πραγματοποίηση της 3^{ης} και τελευταίας συνεδρίας που έλαβε χώρα στην εβδομάδα των μετρήσεων της μελέτης, παρατηρήθηκε μείωση των TBARS(που χρησιμοποιήθηκαν ως έμμεσος τρόπος προσδιορισμού του οξειδωτικού στρες).(Fisher et al., 2011) Σύμφωνα με τους Μπογδάνη και συν. (2013), η βραχείας περιόδου ΗΠΤ μειώνει το οξειδωτικό στρες και αυξάνει την αντιοξειδωτική δραστηριότητα, μετά από μόνο 9 συνεδρίες έντονης άσκησης συνολικής διάρκειας 22 λεπτών.(Bogdanis et al., 2013)

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν 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.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν 12 ενήλικα άτομα ηλικίας 18-45 ετών, οι οποίοι ήταν μη καπνιστές. Η διεξαγωγή των μετρήσεων έγινε σε 3 συνολικά επισκέψεις, στο Κέντρο Έρευνας και Αξιολόγησης της Φυσικής Απόδοσης (ΚΕΑΦΑ) της Σχολής Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού (ΣΕΦΑΑ) του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (ΠΘ).

Η πρώτη επίσκεψη των συμμετεχόντων περιελάμβανε την μέτρηση των σωματομετρικών τους χαρακτηριστικών και ειδικότερα του ύψους, του βάρους και του ποσοστού λίπους, καθώς και την αξιολόγηση της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου. Για τη μέτρηση του βάρους χρησιμοποιήθηκε ζυγός ακριβείας (Beam Balance 710; Seca, Birmingham, United Kingdom). Το βάρος μετρήθηκε με τη μικρότερη δυνατή ένδυση και χωρίς υπόδηση. Χωρίς υπόδηση έγινε και η μέτρηση του ύψους, με τη χρήση αναστημόμετρου με ακρίβεια ενός εκατοστού (Stadiometer 208; Seca). Για την μέτρηση του λίπους χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της βιοαγωγιμότητας (Tanita BF 522 W, TANITA Corp US).

Αξιολόγηση Μέγιστης Πρόσληψης Οξυγόνου

Για την αξιολόγηση της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου χρησιμοποιήθηκε κυκλοεργόμετρο (Monark 834 E) και αναλυτής αερίων (Vmax, Sensormedics). Αρχικά ο δοκιμαζόμενος ποδηλατούσε στις 70 στροφές (rpm) χωρίς καμία αντίσταση. Στη συνέχεια, κάθε 2 λεπτά προσθέτονταν στο ποδήλατο αντίσταση (300g), ενώ ο δοκιμαζόμενος συνέχιζε να ποδηλατεί με τον ίδιο ρυθμό. Η διαδικασία αυτή συνεχιζόταν μέχρι να φτάσει ο δοκιμαζόμενος σε σημείο κόπωσης. Ως κριτήρια για τον προσδιορισμό της κόπωσης είχαν τεθεί τα εξής :

- 1) Αύξηση της έντασης χωρίς την ταυτόχρονη μεταβολή της πρόσληψης οξυγόνου (πλατώ),
- 2) Μέγιστη καρδιακή συχνότητα ± 10 χτύποι ανά λεπτό, αναπνευστικό πηλίκο ≥ 1.1 και εθελοντική διακοπή της δοκιμασίας εξαιτίας κόπωσης.

Εκτός των άλλων, στην πρώτη επίσκεψη των δοκιμαζόμενων, έγινε εξοικείωση με τον χώρο και ενημέρωση σχετικά με τις δοκιμασίες που θα ακολουθήσουν στις 2 επόμενες συνεδρίες.

Υπομέγιστη άσκηση

Έχοντας μεσολαβήσει τουλάχιστον μια εβδομάδα αποχής από την άσκηση, οι δοκιμαζόμενοι εμφανίστηκαν 2 φορές στο ΚΕΑΦΑ για να πραγματοποιήσουν τις δύο συνεδρίες άσκησης. Η σειρά των δύο συνεδριών άσκησης έγινε με τυχαιοποιημένο τρόπο. Πριν από κάθε συνεδρία άσκησης έγινε ζέσταμα στο ποδήλατο για 5 λεπτά με μηδενική αντίσταση και 5 λεπτά με διατάσεις.

Όσον αφορά τη μία συνεδρία άσκησης, αυτή ήταν αερόβια. Η έντασή της καθορίστηκε στο 70% της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου (η οποία είχε αξιολογηθεί κατά την πρώτη επίσκεψη) και η επιβάρυνση προσαρμοζόταν αναλόγως, ώστε η ένταση να αντιστοιχεί στο 70% της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου. Ο έλεγχος της έντασης γινόταν κάθε 10 λεπτά, με βάση τα δεδομένα του αναλυτή αερίων. Η διάρκεια της άσκησης ορίστηκε στα 30 λεπτά.

Όπως προαναφέρθηκε μεταξύ της πρώτης και δεύτερης συνεδρίας άσκησης μεσολάβησε τουλάχιστον μια εβδομάδα αποχής από την άσκηση. Από τους εξεταζόμενους ζητήθηκε να καταγράψουν τη διατροφή των ημερών που συμμετείχαν στην πρώτη δοκιμασία άσκησης και να επαναλάβουν την καταγραφή κατά την προσέλευσή τους για την πραγματοποίηση της δεύτερης μορφής άσκησης.

Πέρα από την αερόβια συνεδρία άσκησης, η άλλη συνεδρία στην οποία συμμετείχαν οι εξεταζόμενοι αφορούσε έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση, στην οποία κάθε εξεταζόμενος πραγματοποίησε 4 Wingate tests. Η επιβάρυνση για κάθε test ορίστηκε στο 7,5% του σωματικού βάρους του εξεταζόμενου ατόμου και η διάρκεια του κάθε test ήταν 30 δευτερόλεπτα. Το Wingate test διεξήχθη ως εξής: Ο δοκιμαζόμενος ανεβαίνει σε κυκλοεργόμετρο το οποίο είναι συνδεδεμένο με έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή στον οποίο έχει εγκατασταθεί το κατάλληλο λογισμικό και αρχίζει και ποδηλατεί με την μέγιστη ταχύτητα. Μόλις παρατηρηθεί πλατό στις μέγιστες στροφές του κυκλοεργόμετρου, βάρος ορισμένο στο 7,5% του σωματικού βάρους του δοκιμαζόμενου τοποθετείται ακαριαία στην υποδοχή του ποδηλάτου. Έπειτα ο δοκιμαζόμενος ποδηλατεί για 30 δευτερόλεπτα στη μέγιστη ένταση που μπορεί να πετύχει με συνεχή λεκτική ενθάρρυνση. Μεταξύ των test, μεσολαβεί διάλειμμα 4 λεπτών.

Αξίζει να σημειωθεί πως η αερόβια άσκηση πραγματοποιήθηκε μέσα στα προκαθορισμένα επίπεδα της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου ($70.0 \pm 2.0\% \text{ VO}_{2\text{max}}$). Στα 4 Wingate-test η μέση παραγωγή ισχύος ήταν ($412.5 \pm 77.3 \text{ watt}$). Η μέση θερμιδική κατανάλωση στη διάρκεια των 30 λεπτών αερόβιας άσκησης ήταν 525 ± 81 θερμίδες ενώ στη συνολική διάρκεια κατά την διεξαγωγή των τεσσάρων wingate-test ήταν 335 ± 129 θερμίδες.

Αιμοληψία

Μετά από τουλάχιστον 10ωρη νηστεία οι συμμετέχοντες προσήλθαν στο ΚΕΑΦΑ για την αιμοληψία και την πραγματοποίηση της άσκησης. Η διαδικασία των αιμοληψιών, του διαχωρισμού και της αποθήκευσης του αίματος έγινε στο Εργαστήριο Βιοχημείας του ΣΕΦΑΑ του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Για τις δύο συνεδρίες άσκησης, πραγματοποιήθηκε αιμοληψία πριν, αμέσως μετά, 24, 48, και 72 ώρες μετά το τέλος της άσκησης. Η ποσότητα αίματος που ελήφθη ήταν 15 ml, που τοποθετήθηκε σε σωληνάρια που περιείχαν αντιπηκτικό παράγοντα (EDTA), τα οποία στη συνέχεια φυγοκεντρήθηκαν σε φυγόκεντρο (Heraeus Biofuge Prime R) και το πλάσμα χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση του ουρικού οξέος και των πρωτεϊνικών καρβονυλίων.

Μέτρηση πρωτεϊνικών καρβονυλίων (PC)

Για τον προσδιορισμό των πρωτεϊνικών καρβονυλίων εφαρμόστηκε η μέθοδος των Πατσούκη και συν. (2004). (Patsoukis et al., 2004) Αρχικά σε eppendorf τοποθετήθηκαν 50 μL ορού και 50 μL TCA 20%. Στη συνέχεια έγινε ανάδευση στο vortex, επώαση στο πάγο για 15 λεπτά και ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 15000 στροφές διάρκειας 5 λεπτών σε θερμοκρασία 4°C. Το υπερκείμενο που προέκυψε, απομακρύνθηκε και στο ίζημα προστέθηκε 500 μL διαλύματος 2,4-δινιτροφενυλδραζίνης (DNPH) (σε 2,5 N HCL) στα δείγματα και 500 μL 2,5 N HCL στο “τυφλό”. Στη συνέχεια έγινε ανάδευση και παρέμειναν για επώαση μιας ώρας, σε θερμοκρασία δωματίου, σε σκοτάδι. Ανά 15 λεπτά πραγματοποιούνταν ανάδευση των eppendorf στο vortex και φυγοκέντρηση στις 15000 στροφές για 5 λεπτά στους 4°C. Το υπερκείμενο απομακρύνονταν και στο ίζημα προστίθεντο 1 mL TCA 10%. Ακολούθησε ανάδευση στο vortex και φυγοκέντρηση στις 15000 στροφές για 5 λεπτά στους 4°C. Στη συνέχεια το υπερκείμενο απομακρύνθηκε για μια ακόμη φορά και προστέθηκε 1 mL αιθανόλης-αιθυλικής ακετόνης (1:1, v:v), ενώ πραγματοποιήθηκε ανάδευση στο vortex και φυγοκέντρηση στις 15000 στροφές για 5 λεπτά στους 4°C. Η απομάκρυνση του

υπερκείμενου και η προσθήκη διαλύματος αιθανόλης-αιθυλικής ακετόνης έγινε ακόμη δύο φορές. Στο τελικό υπερκείμενο που προέκυψε από την παραπάνω διαδικασία προστέθηκε 1 mL ουρίας (5M, pH2,3), και αφού έγινε ανάδευση στο vortex, ακολούθησε επώαση στους 37°C για 15 λεπτά. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στις 15000 στροφές στους 4°C για 3 λεπτά και η απορρόφησή τους μετρήθηκε σε φασματοφωτόμετρο στα 375 nm. Η τελική συγκέντρωση των πρωτεϊνικών καρβονυλίων υπολογίστηκε με βάση την παρακάτω εξίσωση:

$$PC \text{ (nmol/mL)} = (\text{Absδείγμα} - \text{Abstυφλό}) / 0,022 \times 1000/50 \text{ (όπου Abs: απορρόφηση)}$$

Μέτρηση Ουρικού Οξέος (UA)

Το ουρικό οξύ μετρήθηκε σε κλινικό χημικό αναλυτή Z 1145 (Zafiropoulos Diagnostica,

Athens, Greece, Serial #: 52079) με εμπορικά διαθέσιμα kits (Zafiropoulos, Athens, Greece).

Κάθε μεταβλητή αναλύθηκε εις διπλούν την ίδια μέρα.

Στατιστική ανάλυση

Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας 2 X 5 Ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις στο χρόνο (repeated measures ANOVA). Χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο SPSS έκδοση 18.0, ενώ το όριο σημαντικότητας ορίστηκε στο $p < 0.05$.

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση.

Αποτελέσματα

Τα βασικά χαρακτηριστικά των ατόμων που συμμετείχαν στη μελέτη, συνοψίζονται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3: Προσωπικά χαρακτηριστικά δοκιμαζόμενων

Variable	Mean \pm SD
Ποσοστό Λίπους (%)	10.8 \pm 4.1
Βάρος (kg)	75.3 \pm 8.9
Ύψος (m)	1.80 \pm 0.1
Ηλικία (έτη)	22.4 \pm 0.5
VO _{2max} (ml/kg/min)	45.3 \pm 8.4
HR max (bpm)	185.2 \pm 7.1

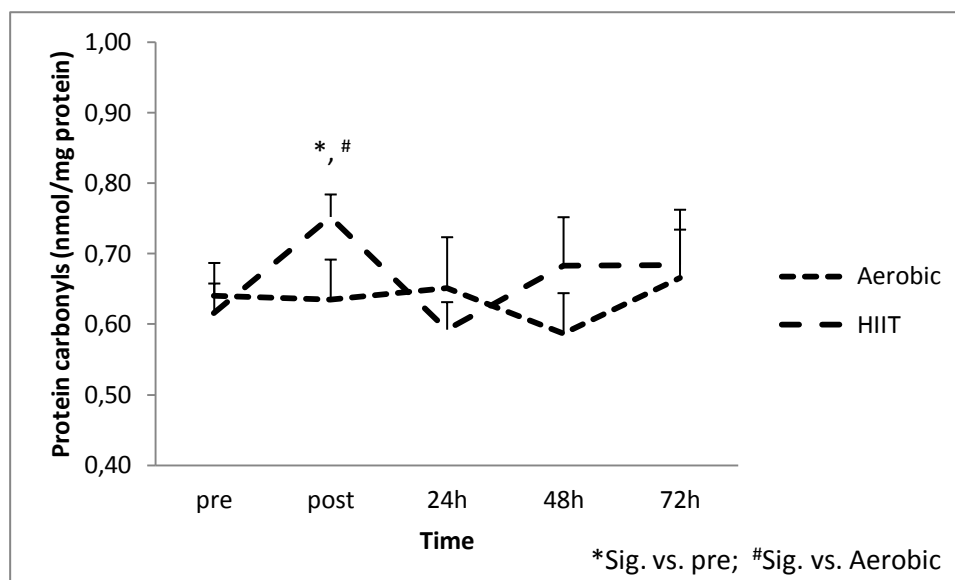
VO_{2max}: Μέγιστη Πρόσληψη Οξυγόνου; HR: Καρδιακή Συχνότητα

Οι τιμές πλάσματος των πρωτεϊνικών καρβονυλίων που αφορούν την αερόβια άσκηση και την άσκηση ΗΠΤ στις 5 χρονικές στιγμές που έγιναν οι αιμοληψίες παρουσιάζονται στον πίνακα 4. Τα επίπεδα των πρωτεϊνικών καρβονυλίων του πλάσματος απεικονίζονται και στο Γράφημα 1, όπου βλέπουμε πως υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των επιπέδων PC πριν και αμέσως μετά την ΗΠΤ. Επίσης στατιστικώς σημαντική διαφορά υπάρχει και μεταξύ επιπέδων PC αμέσως μετά την ΗΠΤ και αμέσως μετά την αερόβια άσκηση.

Πίνακας 4: Τιμές (Mean \pm SEM) πρωτεϊνικών καρβονυλίων (nmol/mg protein) πριν και μετά την αερόβια άσκηση και την άσκηση HIIT

	Pre	Post	24	48	72
Aerobic	0,64 \pm 0,05	0,63 \pm 0,06	0,65 \pm 0,07	0,59 \pm 0,06	0,67 \pm 0,07
HIIT	0,62 \pm 0,04	0,75 \pm 0,03 ^{*#}	0,59 \pm 0,04	0,68 \pm 0,07	0,68 \pm 0,08

*Sig. vs. pre; [#] Sig. vs. Aerobic



Γράφημα 1: Επίπεδα πρωτεϊνικών καρβονυλίων (PC) σε αερόβια άσκηση

και άσκηση HIIT (nmol/mg protein)

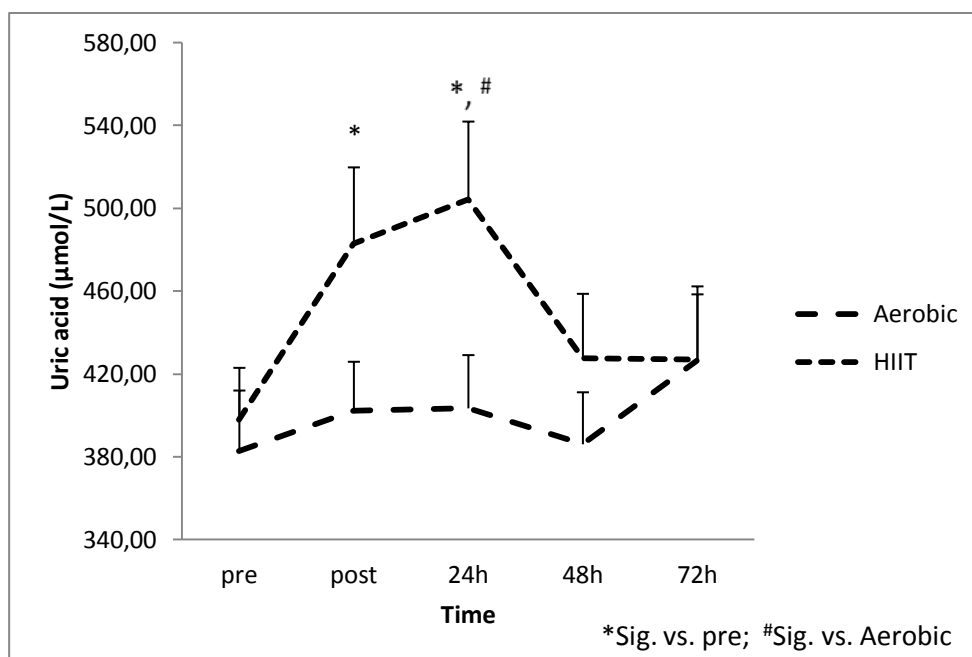
Οι τιμές πλάσματος του ουρικού οξέος που αφορούν την αερόβια άσκηση και την άσκηση HIIT στις 5 χρονικές στιγμές που έγιναν οι αιμοληψίες παρουσιάζονται στον πίνακα 5. Τα επίπεδα του ουρικού οξέος απεικονίζονται και στο Γράφημα 2, όπου βλέπουμε πως υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των επιπέδων ουρικού οξέος πριν και αμέσως μετά την HIIT άσκηση, όπως και πριν και 24 ώρες μετά την HIIT άσκηση. Στατιστικώς σημαντική

διαφορά υπάρχει στα επίπεδα ουρικού οξέος και 24 ώρες μετά την άσκηση, μεταξύ της HIIT και της αερόβιας άσκησης.

Πίνακας 5: Τιμές ουρικού οξέος (Mean \pm SEM) σε αερόβια άσκηση ($\mu\text{mol/L}$) πριν και μετά την αερόβια άσκηση και την άσκηση HIIT

	Pre	Post	24	48	72
Aerobic	382,7 \pm 29,4	402,2 \pm 23,7	403,5 \pm 25,7	386,1 \pm 25,1	426,5 \pm 32,0
HIIT	397,8 \pm 25,2	482,8 \pm 37,0*	504,1 \pm 37,8*#	427,5 \pm 31,2	427,0 \pm 35,3

*Sig. vs. pre; # Sig. vs. Aerobic



Γράφημα 2: Επίπεδα ουρικού οξέος (UA) σε αερόβια άσκηση και άσκηση HIIT ($\mu\text{mol/L}$)

Συζήτηση

Είναι ξεκάθαρο στις μέρες μας πως τόσο η αερόβια όσο και η αναερόβια άσκηση είναι δυνατόν να οδηγήσουν σε αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών, οι οποίες με τη σειρά τους ενδέχεται να οδηγήσουν σε οξειδωτικό στρες. (Fisher-Wellman & Bloomer, 2009). Οι πρωτεΐνες είναι ένας από τους βασικούς στόχους των δραστικών ειδών οξυγόνου. (Shi et al., 2007). Η αυξημένη πρωτεϊνική οξείδωση, μετρούμενη μέσω των πρωτεϊνικών καρβονυλίων, έχει φανεί πως παραμένει αυξημένη για αρκετές ώρες μετά την αερόβια άσκηση. (Cardoso et al., 2012). Στα αποτελέσματα της έρευνάς μας, επιβεβαιώθηκε η παραπάνω παραδοχή, καθώς οι τιμές των πρωτεϊνικών καρβονυλίων αναφορικά με την αερόβια άσκηση, παρουσίασαν την μέγιστη τιμή τους 72 ώρες μετά τη διεξαγωγή της άσκησης. Αντίθετα στην εκτέλεση της ΗΠΤ κατά την έρευνά μας, η μέγιστη τιμή στα πρωτεϊνικά καρβονύλια παρατηρήθηκε αμέσως μετά την άσκηση, και όπως και στην αερόβια άσκηση, τα επίπεδα 72 ώρες μετά δεν επανήλθαν στα προ της άσκησης επίπεδα. Οι Bogdanis και οι συν. (2013) σε παρόμοια έρευνα με έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση κατέληξαν πως οι υψηλότερες συγκεντρώσεις πρωτεϊνικών καρβονυλίων παρατηρήθηκαν 24 ώρες μετά την άσκηση (Bogdanis et al., 2013). Όπως επιβεβαιώνεται και από τη βιβλιογραφία, σημαντικές αυξήσεις στο οξειδωτικό στρες, προκαλούνται από εξαντλητικές ασκήσεις (Vina et al., 2000). Για το λόγο αυτό και υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ ΗΠΤ και αερόβιας, ακριβώς μετά την άσκηση στα επίπεδα των PC, καθώς στην ΗΠΤ παρατηρούνται τα υψηλότερα επίπεδα, φανερώνοντας το ρόλο που έχει η ένταση της άσκησης. Επίσης παρά την παρατεταμένη επίδραση της άσκησης στα επίπεδα των PC, 72 ώρες μετά την άσκηση η μέση τιμή αναφορικά με την αερόβια είναι πιο κοντά στα προ άσκησης επίπεδα σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή της ΗΠΤ, στοιχείο που επίσης φανερώνει την επίδραση της έντασης της άσκησης.

Σε συμφωνία με προηγούμενες δημοσιεύσεις, η παρούσα έρευνα, παρουσιάζει στατιστικώς σημαντική αύξηση των επιπέδων του ουρικού οξέος αμέσως μετά τη ΗΠΤ

(Antoncic-Svetina et al., 2010; Groussard, Machefer, et al., 2003; Hammouda et al., 2012). Η αύξηση αυτή κορυφώνεται 24 ώρες μετά την ΗΠΤ, όπου και παρατηρείται στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις αντίστοιχες τιμές της αερόβιας. Στις 72 ώρες μετά την άσκηση οι τιμές του ουρικού οξέος αερόβιας και ΗΠΤ προσεγγίζουν παρόμοιες τιμές, οι οποίες όμως εξακολουθούν να είναι υψηλότερες από τις τιμές πριν την άσκηση, αλλά όχι με στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σχέση με αυτές.

Μια πρόσφατη μελέτη στην οποία συγκρίθηκε η ΗΠΤ με ανάλογο φόρτου συνεχούς σταθερής άσκηση, έδειξε επίσης στατιστικώς σημαντικά αυξημένα επίπεδα ουρικού οξέος στη ΗΠΤ, σε σχέση με τα προ άσκησης επίπεδα. (Gerber, Borg, Hayes, & Stathis, 2014). Η αύξηση της συγκέντρωσης του ουρικού οξέος του πλάσματος μπορεί να αποσκοπεί στην προστασία του σώματος έναντι του οξειδωτικού στρες που προκαλείται από τη ΗΠΤ, συλλέγοντας δραστικά είδη οξυγόνου ή προστατεύοντας το σχηματισμό δραστικών ειδών οξυγόνου από συνδεδεμένα με μέταλλα ιόντα (Groussard, Machefer, et al., 2003). Αξίζει να αναφερθεί πως μία άσκηση όπως η ΗΠΤ της έρευνάς μας, διεγείρει σε μεγάλο βαθμό τον καταβολισμό των πουρινών, όπως αποδείχθηκε από τη μεγάλη αύξηση του ουρικού οξέος του πλάσματος (Starling et al., 1996). Οι μεταβολικές απαιτήσεις της έντονης άσκησης όπως τα sprint αυξάνουν τη ροή βάσεων πουρινών από τους μυς στην κυκλοφορία κατά την περίοδο της αποκατάστασης μετά την άσκηση. Η αδυναμία της ανασύνθεσης του ATP ώστε να ανταποκριθεί στο ρυθμό υδρόλυσής του, οδηγεί σε υποβάθμιση του ATP που περιέχεται μέσα στο μυ και σε αύξηση της μονοφωσφορικής ινοσίνης (IMP). Η συσσωρευμένη IMP μπορεί να υποστεί περαιτέρω υποβάθμιση και να παραχθεί ινοσίνη, η οποία μετατρέπεται σε υποξανθίνη. Η υποξανθίνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί για επανασύνθεση του IMP ή να καταλήξει στο πλάσμα απ' όπου στη συνέχεια μπορεί να μετατραπεί σε ξανθίνη και ουρικό οξύ στο ήπαρ ως αποτέλεσμα της δράσης της δεϋδρογονάσης/οξειδάσης της ξανθίνης. Το ουρικό οξύ είναι ο τελικός μεταβολίτης του μεταβολισμού των πουρινών και συσσωρεύεται

στο πλάσμα μετά από την έντονη άσκηση (Stathis, Carey, & Snow, 2005). Με αυτό τον μηχανισμό, τα ευρήματά μας επιβεβαιώνουν την αύξηση του οξειδωτικού στρες μέσω της ενεργοποίησης της οξειδάσης της ζανθίνης κατά τη διάρκεια μιας τόσο έντονης άσκησης (Bloomer & Goldfarb, 2004).

Συνοψίζοντας, με βάση την παρούσα έρευνα καταλήγουμε στο συμπέρασμα πως η ΗΠΤ προκαλεί μεγαλύτερη πρωτεϊνική οξείδωση σε σχέση με την αερόβια άσκηση. Η αύξηση των επιπέδων του ουρικού οξέος που προκύπτουν από την ΗΠΤ συμβάλλει στην βελτίωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του αθλούμενου, άρα και της υγείας του. Η χρήση της ΗΠΤ ως τύπος άσκησης σε άτομα με προβλήματα ουρικής αρθρίτιδας ή γενικότερα νόσων που σχετίζονται με υψηλές τιμές ουρικού οξέος, ενδεχομένως να προβληματίσει γυμναστές ή θεράποντες ιατρούς, λαμβάνοντας υπόψη πως κατά τις μετρήσεις της μελέτης μας βρέθηκαν αρκετά υψηλότερες τιμές σε σχέση με τα φυσιολογικά επίπεδα. Ωστόσο, είναι δύσκολο να δοθούν οδηγίες για αποφυγή της ΗΠΤ από την παραπάνω ομάδα ατόμων, ειδικότερα αν αναλογιστεί κανείς τα οφέλη της άσκησης και την επίδρασή της στη μείωση του σωματικού βάρους, που ενδεχομένως θα προκύψει και που αποτελεί έναν από τους βασικούς στόχους της υγιεινοδιαιτητικής παρέμβασης. Σίγουρα απαιτούνται περαιτέρω και πιο εξειδικευμένες μελέτες για να μπορούν να δοθούν οδηγίες σε συγκεκριμένες πληθυσμιακές ομάδες. Ωστόσο εξαιτίας της σύγχρονης τάσης του ανθρώπου για εύκολες λύσεις που θα βελτιώσουν την ποιότητα της ζωής του, η άσκηση ΗΠΤ, ίσως να αποτελεί μία χρήσιμη εναλλακτική μορφή άσκησης, για το γενικό πληθυσμό.

Συμπεράσματα-Μελλοντικές Μελέτες

Η συγκεκριμένη μελέτη αποτελεί μία από τις ελάχιστες που συγκρίνουν την έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση και την αερόβια άσκηση ως προς τα πρωτεϊνικά καρβονύλια και το ουρικό οξύ και μάλιστα μέχρι 72 ώρες μετά την άσκηση. Οι μετρήσεις της μελέτης καταδεικνύουν πως κατά την έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση παρατηρείται μεγαλύτερη και στατιστικώς σημαντική αύξηση των επιπέδων του ουρικού οξέος σε σχέση με την αερόβια άσκηση, ειδικότερα 24 ώρες μετά την άσκηση. Επιπλέον κατά την ΗΠΤ παρατηρείται αυξημένη πρωτεϊνική οξείδωση σε σχέση με την αερόβια άσκηση και η μέγιστη τιμή στα πρωτεϊνικά καρβονύλια παρατηρήθηκε αμέσως μετά την άσκηση. Η αδυναμία της μελέτης είναι πως παρόλο που υπάρχει καταγραφή της διατροφής στο διάστημα που μεσολαβεί μεταξύ των συνεδριών της άσκησης, δεν καταγράφεται η διατροφή των δοκιμαζομένων στο διάστημα των τριών ημερών που γίνεται η αιμοληψία και δεδομένης της επίδρασης της διατροφής στην οξειδοαναγωγική ισορροπία, ενδεχομένως να επηρεάζονται τα αποτελέσματα. Οποσδήποτε υπάρχει ανάγκη για μελέτες με περισσότερους συμμετέχοντες ώστε να αποσαφηνιστούν οι επιδράσεις της ΗΠΤ στο οξειδοαναγωγικό σύστημα και λαμβάνοντας υπόψη την παρατεταμένη επίδραση της ΗΠΤ σε δείκτες όπως το ουρικό οξύ και τα πρωτεϊνικά καρβονύλια, θα πρέπει οι μελλοντικές μελέτες να αφορούν και μετρήσεις με διάρκεια τουλάχιστον 3 μέρες μετά την άσκηση.

Βιβλιογραφία

- Aguilo, A., Tauler, P., Fuentespina, E., Tur, J. A., Cordova, A., & Pons, A. (2005). Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise. *Physiol Behav*, *84*(1), 1-7. doi: 10.1016/j.physbeh.2004.07.034
- Alessio, H. M. (1993). Exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc*, *25*(2), 218-224.
- Antoncic-Svetina, M., Sentija, D., Cipak, A., Milicic, D., Meinitzer, A., Tatzber, F., . . . Zarkovic, N. (2010). Ergometry induces systemic oxidative stress in healthy human subjects. *Tohoku J Exp Med*, *221*(1), 43-48.
- Antunes, F., Han, D., & Cadenas, E. (2002). Relative contributions of heart mitochondria glutathione peroxidase and catalase to H₂O₂ detoxification in in vivo conditions. *Free Radic Biol Med*, *33*(9), 1260-1267.
- Aruoma, O. I. (1999). Free radicals, antioxidants and international nutrition. *Asia Pac J Clin Nutr*, *8*(1), 53-63.
- 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-centred radicals in human serum following exhaustive exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, *77*(6), 498-502. doi: 10.1007/s004210050366
- Ashton, T., Young, I. S., Peters, J. R., Jones, E., Jackson, S. K., Davies, B., & Rowlands, C. C. (1999). Electron spin resonance spectroscopy, exercise, and oxidative stress: an ascorbic acid intervention study. *J Appl Physiol (1985)*, *87*(6), 2032-2036.
- Askari, G., Ghiasvand, R., Karimian, J., Feizi, A., Paknahad, Z., Sharifirad, G., & Hajishafiei, M. (2012). Does quercetin and vitamin C improve exercise performance, muscle damage, and body composition in male athletes? *J Res Med Sci*, *17*(4), 328-331.
- Bailey, D. M., Lawrenson, L., McEneny, J., Young, I. S., James, P. E., Jackson, S. K., . . . Richardson, R. S. (2007). Electron paramagnetic spectroscopic evidence of exercise-induced free radical accumulation in human skeletal muscle. *Free Radic Res*, *41*(2), 182-190. doi: 10.1080/10715760601028867
- Bloomer, R. J. (2008). Effect of exercise on oxidative stress biomarkers. *Adv Clin Chem*, *46*, 1-50.
- Bloomer, R. J., Davis, P. G., Consitt, L. A., & Wideman, L. (2007). Plasma protein carbonyl response to increasing exercise duration in aerobically trained men and women. *Int J Sports Med*, *28*(1), 21-25. doi: 10.1055/s-2006-924140
- Bloomer, R. J., Falvo, M. J., Fry, A. C., Schilling, B. K., Smith, W. A., & Moore, C. A. (2006). Oxidative stress response in trained men following repeated squats or sprints. *Med Sci Sports Exerc*, *38*(8), 1436-1442. doi: 10.1249/01.mss.0000227408.91474.77
- Bloomer, R. J., & Goldfarb, A. H. (2004). Anaerobic exercise and oxidative stress: a review. *Can J Appl Physiol*, *29*(3), 245-263.
- Bogdanis, G. C., Stavrinou, P., Fatouros, I. G., Philippou, A., Chatzinikolaou, A., Draganidis, D., . . . Maridaki, M. (2013). Short-term high-intensity interval exercise training attenuates oxidative stress responses and improves antioxidant status in healthy humans. *Food Chem Toxicol*, *61*, 171-177. doi: 10.1016/j.fct.2013.05.046
- Braun, B., Clarkson, P. M., Freedson, P. S., & Kohl, R. L. (1991). Effects of coenzyme Q10 supplementation on exercise performance, VO₂max, and lipid peroxidation in trained cyclists. *Int J Sport Nutr*, *1*(4), 353-365.
- Burgomaster, K. A., Hughes, S. C., Heigenhauser, G. J., Bradwell, S. N., & Gibala, M. J. (2005). Six sessions of sprint interval training increases muscle oxidative potential and cycle endurance capacity in humans. *J Appl Physiol (1985)*, *98*(6), 1985-1990. doi: 10.1152/jappphysiol.01095.2004
- Cao, G., & Prior, R. L. (2000). Postprandial increases in serum antioxidant capacity in older women. *J Appl Physiol (1985)*, *89*(3), 877-883.

- Cardoso, A. M., Bagatini, M. D., Roth, M. A., Martins, C. C., Rezer, J. F., Mello, F. F., . . . Schetinger, M. R. (2012). Acute effects of resistance exercise and intermittent intense aerobic exercise on blood cell count and oxidative stress in trained middle-aged women. *Braz J Med Biol Res*, *45*(12), 1172-1182.
- Chen, S. S., Chang, L. S., & Wei, Y. H. (2001). Oxidative damage to proteins and decrease of antioxidant capacity in patients with varicocele. *Free Radic Biol Med*, *30*(11), 1328-1334.
- Chevion, S., Moran, D. S., Heled, Y., Shani, Y., Regev, G., Abbou, B., . . . Epstein, Y. (2003). Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *100*(9), 5119-5123. doi: 10.1073/pnas.0831097100
- 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 simulated half-marathon run. *Med Sci Sports Exerc*, *30*(11), 1603-1607.
- Clarkson, P. M., & Thompson, H. S. (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr*, *72*(2 Suppl), 637S-646S.
- Coombes, J. S., Powers, S. K., Rowell, B., Hamilton, K. L., Dodd, S. L., Shanely, R. A., . . . Packer, L. (2001). Effects of vitamin E and alpha-lipoic acid on skeletal muscle contractile properties. *J Appl Physiol* (1985), *90*(4), 1424-1430.
- Coombes, J. S., Rowell, B., Dodd, S. L., Demirel, H. A., Naito, H., Shanely, R. A., & Powers, S. K. (2002). Effects of vitamin E deficiency on fatigue and muscle contractile properties. *Eur J Appl Physiol*, *87*(3), 272-277. doi: 10.1007/s00421-002-0631-3
- Cooper, C. E., Vollaard, N. B., Choueiri, T., & Wilson, M. T. (2002). Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem Soc Trans*, *30*(2), 280-285. doi: 10.1042/
- Crane, F. L. (2001). Biochemical functions of coenzyme Q10. *J Am Coll Nutr*, *20*(6), 591-598.
- Das, K. C., Lewis-Molock, Y., & White, C. W. (1997). Elevation of manganese superoxide dismutase gene expression by thioredoxin. *Am J Respir Cell Mol Biol*, *17*(6), 713-726. doi: 10.1165/ajrcmb.17.6.2809
- Dawson, B., Henry, G. J., Goodman, C., Gillam, I., Beilby, J. R., Ching, S., . . . Kakulus, B. A. (2002). Effect of Vitamin C and E supplementation on biochemical and ultrastructural indices of muscle damage after a 21 km run. *Int J Sports Med*, *23*(1), 10-15. doi: 10.1055/s-2002-19273
- Depeint, F., Gee, J. M., Williamson, G., & Johnson, I. T. (2002). Evidence for consistent patterns between flavonoid structures and cellular activities. *Proc Nutr Soc*, *61*(1), 97-103.
- Di Meo, S., & Venditti, P. (2001). Mitochondria in exercise-induced oxidative stress. *Biol Signals Recept*, *10*(1-2), 125-140. doi: 46880
- Dillard, C. J., Litov, R. E., Savin, W. M., Dumelin, E. E., & Tappel, A. L. (1978). Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*, *45*(6), 927-932.
- Dizdaroglu, M., Jaruga, P., Birincioglu, M., & Rodriguez, H. (2002). Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Radic Biol Med*, *32*(11), 1102-1115.
- Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*, *82*(1), 47-95. doi: 10.1152/physrev.00018.2001
- Duthie, G. G. (1999). Determination of activity of antioxidants in human subjects. *Proc Nutr Soc*, *58*(4), 1015-1024.
- Evans, W. J. (2000). Vitamin E, vitamin C, and exercise. *Am J Clin Nutr*, *72*(2 Suppl), 647S-652S.
- Fatouros, I. G., Chatzinikolaou, A., Douroudos, I., Nikolaidis, M. G., Kyparos, A., Margonis, K., . . . Jamurtas, A. Z. (2010). Time-course of changes in oxidative stress and antioxidant status responses following a soccer game. *J Strength Cond Res*, *24*(12), 3278-3286. doi: 10.1519/JSC.0b013e3181b60444
- Fehrenbach, E., & Northoff, H. (2001). Free radicals, exercise, apoptosis, and heat shock proteins. *Exerc Immunol Rev*, *7*, 66-89.
- Finaud, J., Lac, G., & Filaire, E. (2006). Oxidative stress : relationship with exercise and training. *Sports Med*, *36*(4), 327-358.

- Finkler, M., Lichtenberg, D., & Pinchuk, I. (2014). The relationship between oxidative stress and exercise. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 25(1), 1-11. doi: 10.1515/jbcpp-2013-0082
- Fisher-Wellman, K., & Bloomer, R. J. (2009). Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dyn Med*, 8, 1. doi: 10.1186/1476-5918-8-1
- Fisher, G., Schwartz, D. D., Quindry, J., Barberio, M. D., Foster, E. B., Jones, K. W., & Pascoe, D. D. (2011). Lymphocyte enzymatic antioxidant responses to oxidative stress following high-intensity interval exercise. *J Appl Physiol (1985)*, 110(3), 730-737. doi: 10.1152/jappphysiol.00575.2010
- Frank, J., Pompella, A., & Biesalski, H. K. (2000). Histochemical visualization of oxidant stress. *Free Radic Biol Med*, 29(11), 1096-1105.
- Fuchs, J., Weber, S., Podda, M., Groth, N., Herrling, T., Packer, L., & Kaufmann, R. (2003). HPLC analysis of vitamin E isoforms in human epidermis: correlation with minimal erythema dose and free radical scavenging activity. *Free Radic Biol Med*, 34(3), 330-336.
- Gerber, T., Borg, M. L., Hayes, A., & Stathis, C. G. (2014). High-intensity intermittent cycling increases purine loss compared with workload-matched continuous moderate intensity cycling. *Eur J Appl Physiol*, 114(7), 1513-1520. doi: 10.1007/s00421-014-2878-x
- Gibala, M. J., Little, J. P., van Essen, M., Wilkin, G. P., Burgomaster, K. A., Safdar, A., . . . Tarnopolsky, M. A. (2006). Short-term sprint interval versus traditional endurance training: similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. *J Physiol*, 575(Pt 3), 901-911. doi: 10.1113/jphysiol.2006.112094
- Gibala, M. J., & McGee, S. L. (2008). Metabolic adaptations to short-term high-intensity interval training: a little pain for a lot of gain? *Exerc Sport Sci Rev*, 36(2), 58-63. doi: 10.1097/JES.0b013e318168ec1f
- Goldfarb, A. H. (1993). Antioxidants: role of supplementation to prevent exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc*, 25(2), 232-236.
- Goldfarb, A. H., Garten, R. S., Cho, C., Chee, P. D., & Chambers, L. A. (2011). Effects of a fruit/berry/vegetable supplement on muscle function and oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc*, 43(3), 501-508. doi: 10.1249/MSS.0b013e3181f1ef48
- Goto, C., Nishioka, K., Umemura, T., Jitsuiki, D., Sakaguchi, A., Kawamura, M., . . . Higashi, Y. (2007). Acute moderate-intensity exercise induces vasodilation through an increase in nitric oxide bioavailability in humans. *Am J Hypertens*, 20(8), 825-830. doi: 10.1016/j.amjhyper.2007.02.014
- Green, H. J., & Fraser, I. G. (1988). Differential effects of exercise intensity on serum uric acid concentration. *Med Sci Sports Exerc*, 20(1), 55-59.
- Groussard, C., Machefer, G., Rannou, F., Faure, H., Zouhal, H., Sergent, O., . . . Gratas-Delamarche, A. (2003). Physical fitness and plasma non-enzymatic antioxidant status at rest and after a wingate test. *Can J Appl Physiol*, 28(1), 79-92.
- Groussard, C., Rannou-Bekono, F., Machefer, G., Chevanne, M., Vincent, S., Sergent, O., . . . Gratas-Delamarche, A. (2003). Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. *Eur J Appl Physiol*, 89(1), 14-20. doi: 10.1007/s00421-002-0767-1
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (1985). The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases. *Mol Aspects Med*, 8(2), 89-193.
- Hammouda, O., Chtourou, H., Chaouachi, A., Chahed, H., Ferchichi, S., Kallel, C., . . . Souissi, N. (2012). Effect of short-term maximal exercise on biochemical markers of muscle damage, total antioxidant status, and homocysteine levels in football players. *Asian J Sports Med*, 3(4), 239-246.
- Hampton, M. B., Kettle, A. J., & Winterbourn, C. C. (1998). Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing. *Blood*, 92(9), 3007-3017.
- Hellsten, Y., Apple, F. S., & Sjodin, B. (1996). Effect of sprint cycle training on activities of antioxidant enzymes in human skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985)*, 81(4), 1484-1487.

- Hellsten, Y., Sjodin, B., Richter, E. A., & Bangsbo, J. (1998). Urate uptake and lowered ATP levels in human muscle after high-intensity intermittent exercise. *Am J Physiol*, *274*(4 Pt 1), E600-606.
- Hemila, H. (2013). Vitamin C may alleviate exercise-induced bronchoconstriction: a meta-analysis. *BMJ Open*, *3*(6). doi: 10.1136/bmjopen-2012-002416
- Hofer, T., & Moller, L. (2002). Optimization of the workup procedure for the analysis of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine with electrochemical detection. *Chem Res Toxicol*, *15*(3), 426-432.
- Jenkins, R. R. (2000). Exercise and oxidative stress methodology: a critique. *Am J Clin Nutr*, *72*(2 Suppl), 670S-674S.
- Jenkins, R. R., & Goldfarb, A. (1993). Introduction: oxidant stress, aging, and exercise. *Med Sci Sports Exerc*, *25*(2), 210-212.
- Ji, L. L. (1995). Oxidative stress during exercise: implication of antioxidant nutrients. *Free Radic Biol Med*, *18*(6), 1079-1086.
- Kawamukai, M. (2002). Biosynthesis, bioproduction and novel roles of ubiquinone. *J Biosci Bioeng*, *94*(6), 511-517.
- Kayatekin, B. M., Gonenc, S., Acikgoz, O., Uysal, N., & Dayi, A. (2002). Effects of sprint exercise on oxidative stress in skeletal muscle and liver. *Eur J Appl Physiol*, *87*(2), 141-144. doi: 10.1007/s00421-002-0607-3
- Khanna, S., Atalay, M., Laaksonen, D. E., Gul, M., Roy, S., & Sen, C. K. (1999). Alpha-lipoic acid supplementation: tissue glutathione homeostasis at rest and after exercise. *J Appl Physiol* (1985), *86*(4), 1191-1196.
- Kinnunen, S., Atalay, M., Hyyppa, S., Lehmuskerö, A., Hanninen, O., & Oksala, N. (2005). Effects of prolonged exercise on oxidative stress and antioxidant defense in endurance horse. *J Sports Sci Med*, *4*(4), 415-421.
- Kohen, R., Vellaichamy, E., Hrbac, J., Gati, I., & Tirosh, O. (2000). Quantification of the overall reactive oxygen species scavenging capacity of biological fluids and tissues. *Free Radic Biol Med*, *28*(6), 871-879.
- Lambertucci, R. H., Levada-Pires, A. C., Rossoni, L. V., Curi, R., & Pithon-Curi, T. C. (2007). Effects of aerobic exercise training on antioxidant enzyme activities and mRNA levels in soleus muscle from young and aged rats. *Mech Ageing Dev*, *128*(3), 267-275. doi: 10.1016/j.mad.2006.12.006
- Laursen, P. B., & Jenkins, D. G. (2002). The scientific basis for high-intensity interval training: optimising training programmes and maximising performance in highly trained endurance athletes. *Sports Med*, *32*(1), 53-73.
- Leeuwenburgh, C., Hansen, P. A., Holloszy, J. O., & Heinecke, J. W. (1999). Hydroxyl radical generation during exercise increases mitochondrial protein oxidation and levels of urinary dityrosine. *Free Radic Biol Med*, *27*(1-2), 186-192.
- Levine, R. L. (2002). Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. *Free Radic Biol Med*, *32*(9), 790-796.
- Linnane, A. W., Zhang, C., Yarovaya, N., Kopsidas, G., Kovalenko, S., Papakostopoulos, P., . . . Richardson, M. (2002). Human aging and global function of coenzyme Q10. *Ann N Y Acad Sci*, *959*, 396-411; discussion 463-395.
- Liu, M. L., Bergholm, R., Makimattila, S., Lahdenpera, S., Valkonen, M., Hilden, H., . . . Taskinen, M. R. (1999). A marathon run increases the susceptibility of LDL to oxidation in vitro and modifies plasma antioxidants. *Am J Physiol*, *276*(6 Pt 1), E1083-1091.
- Ma, Y. S., Stone, W. L., & LeClair, I. O. (1994). The effects of vitamin C and urate on the oxidation kinetics of human low-density lipoprotein. *Proc Soc Exp Biol Med*, *206*(1), 53-59.
- 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. *J Sports Med Phys Fitness*, *37*(4), 235-239.

- Mastaloudis, A., Leonard, S. W., & Traber, M. G. (2001). Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Radic Biol Med*, *31*(7), 911-922.
- Maulik, N., Yoshida, T., Engelman, R. M., Bagchi, D., Otani, H., & Das, D. K. (2000). Dietary coenzyme Q(10) supplement renders swine hearts resistant to ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, *278*(4), H1084-1090.
- May, J. M., Qu, Z. C., Whitesell, R. R., & Cobb, C. E. (1996). Ascorbate recycling in human erythrocytes: role of GSH in reducing dehydroascorbate. *Free Radic Biol Med*, *20*(4), 543-551.
- McAnulty, S. R., Nieman, D. C., Fox-Rabinovich, M., Duran, V., McAnulty, L. S., Henson, D. A., . . . Landram, M. J. (2010). Effect of n-3 fatty acids and antioxidants on oxidative stress after exercise. *Med Sci Sports Exerc*, *42*(9), 1704-1711. doi: 10.1249/MSS.0b013e3181d85bd1
- McArdle, A., Pattwell, D., Vasilaki, A., Griffiths, R. D., & Jackson, M. J. (2001). Contractile activity-induced oxidative stress: cellular origin and adaptive responses. *Am J Physiol Cell Physiol*, *280*(3), C621-627.
- McBride, J. M., Kraemer, W. J., Triplett-McBride, T., & Sebastianelli, W. (1998). Effect of resistance exercise on free radical production. *Med Sci Sports Exerc*, *30*(1), 67-72.
- Michailidis, Y., Jamurtas, A. Z., Nikolaidis, M. G., Fatouros, I. G., Koutedakis, Y., Papassotiriou, I., & Kouretas, D. (2007). Sampling time is crucial for measurement of aerobic exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc*, *39*(7), 1107-1113. doi: 10.1249/01.mss.0b013e318053e7ba
- Miyazaki, H., Oh-ishi, S., Ookawara, T., Kizaki, T., Toshinai, K., Ha, S., . . . Ohno, H. (2001). Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. *Eur J Appl Physiol*, *84*(1-2), 1-6. doi: 10.1007/s004210000342
- Nikolaidis, M. G., Jamurtas, A. Z., Paschalis, V., Fatouros, I. G., Koutedakis, Y., & Kouretas, D. (2008). The effect of muscle-damaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress: magnitude and time-course considerations. *Sports Med*, *38*(7), 579-606.
- Nikolaidis, M. G., Jamurtas, A. Z., Paschalis, V., Kostaropoulos, I. A., Kladi-Skandali, A., Balamitsi, V., . . . Kouretas, D. (2006). Exercise-induced oxidative stress in G6PD-deficient individuals. *Med Sci Sports Exerc*, *38*(8), 1443-1450. doi: 10.1249/01.mss.0000228938.24658.5f
- Nikolaidis, M. G., Kerkisick, C. M., Lamprecht, M., & McAnulty, S. R. (2012). Does vitamin C and E supplementation impair the favorable adaptations of regular exercise? *Oxid Med Cell Longev*, *2012*, 707941. doi: 10.1155/2012/707941
- Nikolaidis, M. G., Kyparos, A., Dipla, K., Zafeiridis, A., Sambanis, M., Grivas, G. V., . . . Vrabas, I. S. (2012). Exercise as a model to study redox homeostasis in blood: the effect of protocol and sampling point. *Biomarkers*, *17*(1), 28-35. doi: 10.3109/1354750X.2011.635805
- Nikolaidis, M. G., Paschalis, V., Giakas, G., Fatouros, I. G., Koutedakis, Y., Kouretas, D., & Jamurtas, A. Z. (2007). Decreased blood oxidative stress after repeated muscle-damaging exercise. *Med Sci Sports Exerc*, *39*(7), 1080-1089. doi: 10.1249/mss.0b013e31804ca10c
- Ozhogina, O. A., & Kasaikina, O. T. (1995). Beta-carotene as an interceptor of free radicals. *Free Radic Biol Med*, *19*(5), 575-581.
- Oztasan, N., Taysi, S., Gumustekin, K., Altinkaynak, K., Aktas, O., Timur, H., . . . Gul, M. (2004). Endurance training attenuates exercise-induced oxidative stress in erythrocytes in rat. *Eur J Appl Physiol*, *91*(5-6), 622-627. doi: 10.1007/s00421-003-1029-6
- Paiva, S. A., & Russell, R. M. (1999). Beta-carotene and other carotenoids as antioxidants. *J Am Coll Nutr*, *18*(5), 426-433.
- Palmer, F. M., Nieman, D. C., Henson, D. A., McAnulty, S. R., McAnulty, L., Swick, N. S., . . . Morrow, J. D. (2003). Influence of vitamin C supplementation on oxidative and salivary IgA changes following an ultramarathon. *Eur J Appl Physiol*, *89*(1), 100-107. doi: 10.1007/s00421-002-0756-4
- Patsoukis, N., Zervoudakis, G., Panagopoulos, N. T., Georgiou, C. D., Angelatou, F., & Matsokis, N. A. (2004). Thiol redox state (TRS) and oxidative stress in the mouse hippocampus after

- pentylenetetrazol-induced epileptic seizure. *Neurosci Lett*, 357(2), 83-86. doi: 10.1016/j.neulet.2003.10.080
- Peake, J., & Suzuki, K. (2004). Neutrophil activation, antioxidant supplements and exercise-induced oxidative stress. *Exerc Immunol Rev*, 10, 129-141.
- Pincemail, J., Lecomte, J., Castiau, J., Collard, E., Vasankari, T., Cheramy-Bien, J., . . . Defraigne, J. (2000). Evaluation of autoantibodies against oxidized LDL and antioxidant status in top soccer and basketball players after 4 months of competition. *Free Radic Biol Med*, 28(4), 559-565.
- Pingitore, A., Lima, G. P., Mastorci, F., Quinones, A., Iervasi, G., & Vassalle, C. (2015). Exercise and oxidative stress: Potential effects of antioxidant dietary strategies in sports. *Nutrition*, 31(7-8), 916-922. doi: 10.1016/j.nut.2015.02.005
- Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev*, 88(4), 1243-1276. doi: 10.1152/physrev.00031.2007
- Powers, S. K., & Lennon, S. L. (1999). Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc*, 58(4), 1025-1033.
- Powers, S. K., Nelson, W. B., & Hudson, M. B. (2011). Exercise-induced oxidative stress in humans: cause and consequences. *Free Radic Biol Med*, 51(5), 942-950. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.009
- Powers, S. K., Talbert, E. E., & Adhihetty, P. J. (2011). Reactive oxygen and nitrogen species as intracellular signals in skeletal muscle. *J Physiol*, 589(Pt 9), 2129-2138. doi: 10.1113/jphysiol.2010.201327
- Prior, R. L., & Cao, G. (1999). In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radic Biol Med*, 27(11-12), 1173-1181.
- Radak, Z., Chung, H. Y., & Goto, S. (2008). Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radic Biol Med*, 44(2), 153-159. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.01.029
- Radak, Z., Taylor, A. W., Ohno, H., & Goto, S. (2001). Adaptation to exercise-induced oxidative stress: from muscle to brain. *Exerc Immunol Rev*, 7, 90-107.
- Rimbach, G., Hohler, D., Fischer, A., Roy, S., Virgili, F., Pallauf, J., & Packer, L. (1999). Methods to assess free radicals and oxidative stress in biological systems. *Arch Tierernahr*, 52(3), 203-222.
- Sahlin, K., Cizinsky, S., Warholm, M., & Hoberg, J. (1992). Repetitive static muscle contractions in humans--a trigger of metabolic and oxidative stress? *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 64(3), 228-236.
- Schulz, J. B., Lindenau, J., Seyfried, J., & Dichgans, J. (2000). Glutathione, oxidative stress and neurodegeneration. *Eur J Biochem*, 267(16), 4904-4911.
- Scott, B. C., Aruoma, O. I., Evans, P. J., O'Neill, C., Van der Vliet, A., Cross, C. E., . . . Halliwell, B. (1994). Lipoic and dihydrolipoic acids as antioxidants. A critical evaluation. *Free Radic Res*, 20(2), 119-133.
- Sen, C. K., & Packer, L. (2000). Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *Am J Clin Nutr*, 72(2 Suppl), 653S-669S.
- Serbinova, E., Khwaja, S., Reznick, A. Z., & Packer, L. (1992). Thiocetic acid protects against ischemia-reperfusion injury in the isolated perfused Langendorff heart. *Free Radic Res Commun*, 17(1), 49-58.
- Shi, M., Wang, X., Yamanaka, T., Ogita, F., Nakatani, K., & Takeuchi, T. (2007). Effects of anaerobic exercise and aerobic exercise on biomarkers of oxidative stress. *Environ Health Prev Med*, 12(5), 202-208. doi: 10.1265/ehpm.12.202
- Shing, C. M., Peake, J. M., Ahern, S. M., Strobel, N. A., Wilson, G., Jenkins, D. G., & Coombes, J. S. (2007). The effect of consecutive days of exercise on markers of oxidative stress. *Appl Physiol Nutr Metab*, 32(4), 677-685. doi: 10.1139/H07-051

- Silva, L. A., Pinho, C. A., Silveira, P. C., Tuon, T., De Souza, C. T., Dal-Pizzol, F., & Pinho, R. A. (2010). Vitamin E supplementation decreases muscular and oxidative damage but not inflammatory response induced by eccentric contraction. *J Physiol Sci*, *60*(1), 51-57. doi: 10.1007/s12576-009-0065-3
- Smith, A. E., Walter, A. A., Graef, J. L., Kendall, K. L., Moon, J. R., Lockwood, C. M., . . . Stout, J. R. (2009). Effects of beta-alanine supplementation and high-intensity interval training on endurance performance and body composition in men; a double-blind trial. *J Int Soc Sports Nutr*, *6*, 5. doi: 10.1186/1550-2783-6-5
- Stadtman, E. R., & Levine, R. L. (2000). Protein oxidation. *Ann N Y Acad Sci*, *899*, 191-208.
- Starling, R. D., Trappe, T. A., Short, K. R., Sheffield-Moore, M., Jozsi, A. C., Fink, W. J., & Costill, D. L. (1996). Effect of inosine supplementation on aerobic and anaerobic cycling performance. *Med Sci Sports Exerc*, *28*(9), 1193-1198.
- Stathis, C. G., Carey, M. F., & Snow, R. J. (2005). The influence of allopurinol on urinary purine loss after repeated sprint exercise in man. *Metabolism*, *54*(10), 1269-1275. doi: 10.1016/j.metabol.2005.02.004
- Svensson, M., Malm, C., Tonkonogi, M., Ekblom, B., Sjodin, B., & Sahlin, K. (1999). Effect of Q10 supplementation on tissue Q10 levels and adenine nucleotide catabolism during high-intensity exercise. *Int J Sport Nutr*, *9*(2), 166-180.
- Svensson, M. B., Ekblom, B., Cotgreave, I. A., Norman, B., Sjoberg, B., Ekblom, O., . . . Sjodin, A. (2002). Adaptive stress response of glutathione and uric acid metabolism in man following controlled exercise and diet. *Acta Physiol Scand*, *176*(1), 43-56. doi: 10.1046/j.1365-201X.2002.01008.x
- Taghiyar, M., Darvishi, L., Askari, G., Feizi, A., Hariri, M., Mashhadi, N. S., & Ghasvand, R. (2013). The effect of vitamin C and e supplementation on muscle damage and oxidative stress in female athletes: a clinical trial. *Int J Prev Med*, *4*(Suppl 1), S16-23.
- Tessier, F., Margaritis, I., Richard, M. J., Moynot, C., & Marconnet, P. (1995). Selenium and training effects on the glutathione system and aerobic performance. *Med Sci Sports Exerc*, *27*(3), 390-396.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, *39*(1), 44-84. doi: 10.1016/j.biocel.2006.07.001
- Vasankari, T. J., Kujala, U. M., Vasankari, T. M., Vuorimaa, T., & Ahotupa, M. (1997). Effects of acute prolonged exercise on-serum and LDL oxidation and antioxidant defences. *Free Radic Biol Med*, *22*(3), 509-513.
- Vassalle, C., Piaggi, P., Weltman, N., Prontera, C., Garbella, E., Menicucci, D., . . . Pingitore, A. (2014). Innovative approach to interpret the variability of biomarkers after ultra-endurance exercise: the multifactorial analysis. *Biomark Med*, *8*(6), 881-891. doi: 10.2217/bmm.13.152
- Vassalle, C., Pingitore, A., De Giuseppe, R., Vigna, L., & Bamonti, F. (2015). Biomarkers Part II: Biomarkers to Estimate Bioefficacy of Dietary/Supplemental Antioxidants in Sport. In M. Lamprecht (Ed.), *Antioxidants in Sport Nutrition*. Boca Raton (FL).
- Vider, J., Lehtmaa, J., Kullisaar, T., Vihalemm, T., Zilmer, K., Kairane, C., . . . Zilmer, M. (2001). Acute immune response in respect to exercise-induced oxidative stress. *Pathophysiology*, *7*(4), 263-270.
- Vina, J., Gomez-Cabrera, M. C., Lloret, A., Marquez, R., Minana, J. B., Pallardo, F. V., & Sastre, J. (2000). Free radicals in exhaustive physical exercise: mechanism of production, and protection by antioxidants. *IUBMB Life*, *50*(4-5), 271-277. doi: 10.1080/713803729
- Wallace, W. J., Houtchens, R. A., Maxwell, J. C., & Caughey, W. S. (1982). Mechanism of autooxidation for hemoglobins and myoglobins. Promotion of superoxide production by protons and anions. *J Biol Chem*, *257*(9), 4966-4977.
- Wedworth, S. M., & Lynch, S. (1995). Dietary flavonoids in atherosclerosis prevention. *Ann Pharmacother*, *29*(6), 627-628.

- Willcox, J. K., Catignani, G. L., & Roberts, L. J., 2nd. (2003). Dietary flavonoids fail to suppress F2-isoprostane formation in vivo. *Free Radic Biol Med*, 34(7), 795-799.
- Witt, E. H., Reznick, A. Z., Viguie, C. A., Starke-Reed, P., & Packer, L. (1992). Exercise, oxidative damage and effects of antioxidant manipulation. *J Nutr*, 122(3 Suppl), 766-773.
- Wray, D. W., Nishiyama, S. K., Monnet, A., Wary, C., Duteil, S. S., Carlier, P. G., & Richardson, R. S. (2009). Antioxidants and aging: NMR-based evidence of improved skeletal muscle perfusion and energetics. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 297(5), H1870-1875. doi: 10.1152/ajpheart.00709.2009