

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ**

**Πτυχιακή εργασία του φοιτητή
ΦΡΑΓΚΟΥ ΑΠΟΣΤΟΛΟΥ (Α.Μ. 0713206)**

**«ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΗ ΛΗΨΗ Α-ΛΙΠΟΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΚΑΙ
ΑΣΚΗΣΗ ΣΕ ΔΕΙΚΤΕΣ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΣΕ ΑΤΟΜΑ ΜΕ
ΕΛΛΕΙΨΗ ΕΝΖΥΜΟΥ G6PD»**

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ Ζ. ΤΖΙΑΜΟΥΡΤΑΣ

ΤΡΙΚΑΛΑ 2017

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή κ. Αθανάσιο Τζιαμούρτα κυρίως για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπο μου και την υποστήριξη κατά τη διάρκεια της υλοποίησης της παρούσης πτυχιακής εργασίας μου. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την Δρ Καλλιόπη Γεωργακούλη για την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε, για την άψογη συνεργασία και για την καθοδήγηση του τρόπου επίλυσης διάφορων θεμάτων. Ακόμη θα ήθελα να ευχαριστήσω τον προπτυχιακό φοιτητή Θεοφάνη Τζατζάκη για την βοήθεια που προσέφερε.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Φράγκος Απόστολος: Συμπληρωματική λήψη α-λιποϊκού οξέος και άσκηση σε δείκτες απόδοσης σε άτομα με έλλειψη ενζύμου G6PD

(Με την επίβλεψη του κ. Αθανασίου Ζ. Τζιαμούρτα, Καθηγητή)

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να εξετάσει αν η συμπληρωματική χορήγηση α-λιποϊκού οξέος μπορεί να μεταβάλλει την απόδοση κατά την άσκηση σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου αφυδρογονάση της 6-φωσφορικής γλυκόζης (G6PD). Στην έρευνα συμμετείχαν 8 άνδρες με έλλειψη του G6PD. Σε όλους τους συμμετέχοντες έγινε χορήγηση σκευάσματος α-λιποϊκού οξέος (600mg/ημέρα) για διάρκεια 4 εβδομάδων και χορήγηση εικονικού σκευάσματος για άλλες 4 εβδομάδες. Μεταξύ των καταστάσεων υπήρξε περίοδος έκπλυσης 4 εβδομάδων. Οι συμμετέχοντες εκτέλεσαν μια δοκιμασία σε δαπεδοεργόμετρο μέχρι εξάντλησης για αξιολόγηση της απόδοσης πριν και μετά από κάθε κατάσταση. Επιλέον, έγινε ισοκινητική αξιολόγηση της μέγιστης ισοκινητικής ροπής των εκτεινόντων και των καμπτήρων του γονάτου στις 30 και 90°/s. Τέλος, σε κάθε κατάσταση αξιολογήθηκε η σύσταση του σώματος των συμμετεχόντων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν υπήρξε σημαντική αλλαγή στον χρόνο μέχρι την εξάντληση στη δοκιμασία στο δαπεδοεργόμετρο, αλλά ούτε και αλλαγή στη μέγιστη ισοκινητική ροπή των εξεταζόμενων μυών. Τέλος, δεν παρατηρήθηκε καμία αλλαγή στη σύσταση του σώματος μετά από κάθε κατάσταση. Συμπερασματικά, η συμπληρωματική χορήγηση α-λιποϊκού οξέος για 4 εβδομάδες δεν επηρεάζει την απόδοση κατά την οξεία άσκηση σε άτομα ευάλωτα σε οξειδωτικό στρες, όπως είναι αυτά με έλλειψη του ενζύμου G6PD.

Λέξεις κλειδιά: *αντιοξειδωτικό, επίδοση, οξειδωτικό στρες, προπόνηση, συμπλήρωμα διατροφής.*

ABSTRACT

Fragkos Apostolos: Alpha-lipoic acid supplementation and exercise on performance indices in individuals with G6PD deficiency (Under the supervision of Professor

Athanasios Jamurtas)

The purpose of the present study was to examine whether α -lipoic acid supplementation can influence acute exercise performance in people with glucose 6 phosphate dehydrogenase deficiency (G6PD). Eight men with G6PD deficiency participated in the study. All participants were administrated with α -lipoic acid (600mg/day) supplementation for 4 weeks and placebo for another 4 weeks. There was a 4-week wash out period between conditions. Participants performed a treadmill trial until exhaustion for evaluation of performance before and after each condition. Moreover, an isokinetic evaluation of the maximum isokinetic torque of the extensions and flexors of knees was performed at 30 and 90°/s. Finally, body composition of the participants was assessed in each condition. The results showed that there was no significant change in time to exhaustion in the treadmill trial nor changes in the maximum isokinetic torque of the tested. Finally, no change in body composition in each condition was observed. In conclusion, α -lipoic acid supplementation for 4 weeks does not affect acute exercise performance in individuals that are susceptible to oxidative stress such as those with G6PD enzyme deficiency.

Key words: Antioxidant, performance, oxidative stress, training, dietary supplement.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	2
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	3
ABSTRACT	5
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	6
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ - ΣΧΗΜΑΤΩΝ	8
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	9
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	10
1.1. Τι είναι το G6PD.....	10
1.2. Η έλλειψη του G6PD	11
1.3. Σημασία της έρευνας	12
1.4. Ερευνητικές υποθέσεις	13
1.5. Στατιστικές υποθέσεις.....	13
1.6. Περιορισμοί της έρευνας	14
2. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ.....	15
2.1. Το ένζυμο G6PD.....	15
2.1.1. G6PD και γλουταθειόνη.....	17
2.1.2. Η έλλειψη του G6PD και επιδημιολογικά στοιχεία	19
2.1.3. G6PD και άσκησης	22
2.2. Οξειδοαναγωγικό σύστημα.....	25
2.2.1. Οξειδωτικό στρες και αντιδραστικά είδη οξυγόνου	25
2.2.2. Οξειδωτικό στρες και αντιοξειδωτικά συμπληρώματα.....	29
2.3. Λιποϊκό οξύ.....	33
2.3.1. Λιποϊκό οξύ και πιθανές ωφέλειες	35
2.4. Απόδοση κατά την άσκηση σε άτομα με έλλειψη G6PD.....	38
3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	44
3.1. Συμμετέχοντες	44
3.2. Πειραματικό πρωτόκολλο.....	45
3.3. Μετρήσεις	45

3.4. Στατιστική ανάλυση.....	49
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	50
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	52
6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ.....	55
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	57
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι.....	72
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ.....	73
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ	76
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙV	78
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ V	79
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ VI.....	80
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ VII.....	81
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ VIII	83

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ - ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Πίνακας 1. Κατηγοριοποίηση της έλειψης του ενζύμου G6PD	20
Πίνακας 2. Δραστικά είδη οξυγόνου	28
Πίνακας 3. Σωματική σύσταση των συμμετεχόντων πριν και μετά από τη χορήγηση συμπληρώματος α-λιποϊκού οξέος και εικονικού σκευάσματος.....	50
Πίνακας 4. Φυσιολογικές παράμετροι και απόδοση κατά την άσκηση των συμμετεχόντων πριν και μετά από τη χορήγηση συμπληρώματος α-λιποϊκού οξέος και εικονικού σκευάσματος	51

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1. G6PD και μονοπάτι των φωσφορικών πεντοζών.....	17
Εικόνα 2. Βιοσύνθεση της γλουταθειόνης.....	18
Εικόνα 3. Πιθανός μηχανισμός πρόκλησης αιμόλυσης σε άτομα με μειωμένη δραστικότητα του ενζύμου G6PD	22
Εικόνα 4. Προκαλούμενο από την άσκηση οξειδωτικό στρες σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD	25
Εικόνα 5. Η αναπνευστική αλυσίδα και τα κύρια σημεία διαρροής ηλεκτρονίων.....	26

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Τι είναι το G6PD

Η οργανική ένωση αφυδρογονάση της 6-φωσφορικής γλυκόζης (G6PD) είναι ένα κυτοσολικό μεταβολικό ένζυμο το οποίο φυσιολογικά απαντάται σε διάφορους οργανισμούς. Στον άνθρωπο το γονίδιο G6PD απαντάται σε δύο μοναδικές ισομορφές (Au et al., 2000). Μέχρι σήμερα έχουν τεκμηριωθεί 150 μεταλλάξεις του ενζύμου G6PD στον άνθρωπο.

Το G6PD είναι ένα σημαντικό αντιοξειδωτικό ένζυμο των εμπύρηνων κύτταρων (Leopold et al., 2001) και ιδιαίτερα των ερυθροκυττάρων, όπου και αποτελεί τη μοναδική πηγή νικοτιναμιδο-αδενινο-φωσφοδινουκλεοτιδίου (NADPH) (Schuurman et al., 2009). Αποτελεί απαραίτητο ένζυμο για τον μεταβολισμό της γλυκόζης από τα ερυθρά αιμοσφαίρια καθώς, εμπλέκεται ως μέρος του βιοχημικού μονοπατιού της οδού των φωσφορικών πεντοζών, με αποτέλεσμα να διατηρείται αναχθείσα η γλουταθειόνη (τριπεπτίδιο με αντιοξειδοτική δράση), να επιτυγχάνεται ένα ισχυρό αναγωγικό περιβάλλον του συνενζύμου NADP⁺, όπως επίσης και να γίνεται προμήθεια 5-φωσφορικής ριβόζης η οποία είναι απαραίτητη για την σύνθεση νουκλεοτιδίων. Η σχέση του G6PD με τα επίπεδα γλουταθειόνης είναι θετική και τα φυσιολογικά επίπεδα του ενζύμου έχουν ως αποτέλεσμα τα αυξημένα επίπεδα γλουταθειόνης και κατά συνέπεια την προστασία των ερυθρών αιμοσφαιρίων από βλάβες που προκαλούνται από οξειδωτικούς παράγοντες όπως είναι το υπεροξείδιο του υδρογόνου.

1.2. Η έλλειψη του G6PD

Η έλλειψη G6PD αποτελεί μία φυλοσύνδετη κληρονομική ενζυμική διαταραχή. Είναι η πιο κοινή ενζυμοπάθεια στον άνθρωπο και υπολογίζεται ότι περισσότερα από 400 εκατομμύρια άτομα παγκοσμίως πάσχουν από έλλειψη του G6PD (Mehta et al., 2000; Turan, 2006). Στην Ελλάδα υπάρχει διάδοση της έλλειψης σε ποσοστό περίπου 3.2% του πληθυσμού. Ειδικότερα στην Θεσσαλία έχει υπολογιστεί ότι το ποσοστό φτάνει το 10% περίπου (Missiou-Tsagaraki, 1991).

Η έλλειψη G6PD οδηγεί σε υπερχολερυθριναιμία, ίκτερο και αιμόλυση των ερυθρών αιμοσφαιρίων δημιουργώντας αναιμία μετά από έκθεση σε ορισμένες ουσίες, ασθένειες ή λήψη ορισμένων φαρμάκων. Πιο συγκεκριμένα, το ασκησιογενές στρες, η διαβητική οξέωση, οι ιογενείς λοιμώξεις, οι βακτηριακές λοιμώξεις και η σηψαιμία είναι καταστάσεις που μπορούν να οδηγήσουν σε αιμόλυση σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου (Kwok et al., 2002; Lim et al., 2005). Φάρμακα και άλλες ουσίες που δύναται να προκαλέσουν αιμολυτικά επεισόδια σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD περιλαμβάνουν την εισπνοή και κατανάλωση του φυτού *Vicia faba*, την προβενεσίδη, αντιτυρίνη, ακετανιλίδη, ακετυλοφαινυλδραζίνη, ασκορβικό οξύ, πεντακίνη, κινίνη, ακετυλοσαλικυλικό οξύ, ναλιδιξικό οξύ, παμακίνη, χλωραμφαινικόλη, ναφθαλίνη, νιτροφουραντοΐνη, νιτροφουράνιο, φαινακετίνη, φαινυλοϋδραζίνη, κινιδίνη, πριμακουΐνη, κινακρίνη, ναλιδιξικό οξύ, νιτροφουραντοΐνη, ισονιαζίδη, δαψόνη, φουραζολιδόνη, σουλφοναμίδες.

Επιπλέον, σε ερυθροκύτταρα που υπάρχει μειωμένη δραστηριότητα G6PD, προκύπτει μειωμένη παραγωγή NADPH και επομένως το οξειδωτικό στρες είναι αυξημένο (Chan et al., 1999). Η αποκλειθείσα διαταραχή της ομοιόστασης της οξειδοαναγωγικής

ικανότητας λόγω της έλλειψης G6PD μπορεί να οδηγήσει σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις (Ho et al., 2007).

1.3. Σημασία της έρευνας

Οξειδοαναγωγική ανισορροπία προκαλείται στα εκατομμύρια των ατόμων με έλλειψη του G6PD παγκοσμίως (Ho et al., 2007) και ως συνέπεια αυτού μπορούν να επέλθουν διάφορες παθολογικές καταστάσεις. Η απόκριση στην άσκηση των ατόμων που παρουσιάζουν έλλειψη του ενζύμου G6PD αποτελεί ένα σημαντικό ζήτημα για την υγεία και την απόδοση στον πληθυσμό αυτό, καθώς η ίδια η άσκηση αποτελεί στρεσογόνο παράγοντα που επηρεάζει την οξειδοαναγωγική ισορροπία.

Ο ανθρώπινος οργανισμός είναι εφοδιασμένος με ένα πολλαπλό αντιοξειδωτικό σύστημα, το οποίο βοηθά στην καταπολέμηση της οξειδοαναγωγικής ανισορροπίας και στην επίτευξη της ομοιόστασης. Υπάρχουν δύο κατηγορίες του αντιοξειδωτικού συστήματος. Αυτές είναι το ενζυμικό και το μη ενζυμικό αντιοξειδωτικό σύστημα. Αν και υπάρχει διαθεσιμότητα των αντιοξειδωτικών ουσιών για την αντιμετώπιση της παραγωγής των ελευθέρων ριζών, υπάρχουν βιβλιογραφικές αναφορές που υποδεικνύουν πως αυτό το σύστημα μπορεί να μην είναι επαρκές για την αντιμετώπιση των ελευθέρων ριζών κατά τη διάρκεια της άσκησης (Goldfarb, 1993). Ως τρόπος καταπολέμησης του οξειδωτικού στρες, έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες αντιοξειδωτικές ουσίες με τη μορφή συμπληρωμάτων διατροφής. Τέτοιες ουσίες περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων την βιταμίνη C, την βιταμίνη E, την β-καροτίνη και το α-λιποϊκό οξύ (α-ΛΟ). Στην παρούσα εργασία γίνεται μια προσπάθεια να διαπιστωθεί εάν η συμπληρωματική χορήγηση α-ΛΟ μπορεί να βελτιώσει την απόδοση κατά την άσκηση σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD. Το

παραπάνω θα μπορούσε να αναδείξει τις πιθανές ευεργετικές επιδράσεις του α-ΛΟ στην απόκριση στην άσκηση σε άτομα που παρουσιάζουν έλλειψη του ενζύμου G6PD.

1.4. Ερευνητικές υποθέσεις

1. Η χορήγηση α-ΛΟ θα βελτιώσει δείκτες απόδοσης κατά την άσκηση
2. Η χορήγηση α-ΛΟ θα βελτιώσει τα σωματομετρικά χαρακτηριστικά

1.5. Στατιστικές υποθέσεις

Μηδενικές υποθέσεις

1. Μηδενική υπόθεση ($\mu_1 = \mu_2$): Δεν θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά την χορήγηση α-ΛΟ και εικονικού σκευάσματος) στην απόδοση κατά την άσκηση ατόμων με έλλειψη του G6PD.
2. Μηδενική υπόθεση ($\mu_1 = \mu_2$): Δεν θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά την χορήγηση α-ΛΟ και εικονικού σκευάσματος) στα σωματομετρικά χαρακτηριστικά ατόμων με έλλειψη του G6PD.

Εναλλακτικές υποθέσεις

1. Εναλλακτική υπόθεση ($\mu_1 \neq \mu_2$): Θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά την χορήγηση α-ΛΟ και εικονικού σκευάσματος) στην απόδοση κατά την άσκηση ατόμων με έλλειψη του G6PD.

2. Εναλλακτική υπόθεση ($\mu_1 \neq \mu_2$): Θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά την χορήγηση α -ΛΟ και εικονικού σκευάσματος) στα σωματομετρικά χαρακτηριστικά ατόμων με έλλειψη του G6PD.

1.6. Περιορισμοί της έρευνας

Το χρονικό διάστημα της χορήγησης του συμπληρώματος ίσως να μην ήταν ικανό να προκαλέσει τις επιδράσεις που θα περιμέναμε. Επιπλέον, το μικρό δείγμα, καθώς και η επιλογή συγκεκριμένου πρωτοκόλλου άσκησης, μπορεί να συνέβαλλαν επίσης στην απουσία σημαντικών διαφορών στην απόδοση μετά τη χορήγηση του συμπληρώματος.

2. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

2.1. Το ένζυμο G6PD

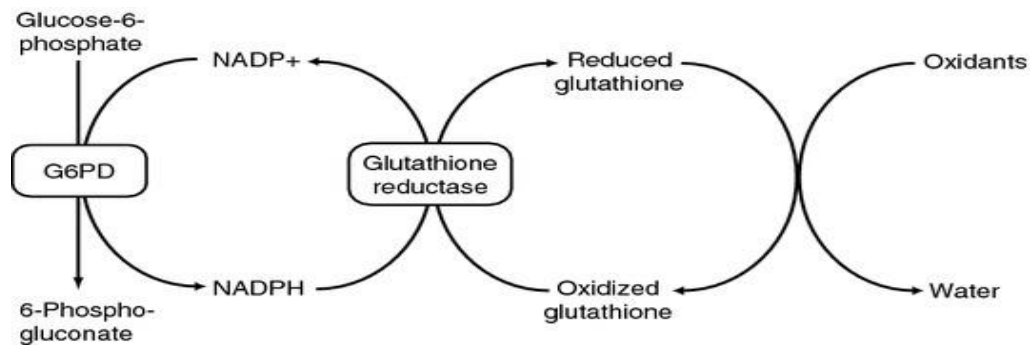
Το G6PD είναι ένα πολυπεπτιδίο το οποίο είναι δομημένο από αυτόνομες υπομονάδες. Η μορφή του εξαρτάται από το pH του περιβάλλοντος στο οποίο βρίσκεται. Γενικά εντοπίζεται ως διμερές δύο αναξάρτητων μονομερών. Κάθε μονομερές αποτελείται από 514 αμινοξέα για τον άνθρωπο. Το μοριακό βάρος για κάθε μονομερές είναι 59,625. Το ένζυμο περιέχει 11 σουλφυδρικές ομάδες - SH ανά υπομονάδα (Senozan NM, Thielman CA, 1991). Το γονίδιο για το G6PD βρίσκεται στην Xq28 περιοχή στο άκρο του μακρού σκέλους του X-χρωμοσώματος (Τρακατέλλης Α, 1992). Σε ότι αφορά την κρυσταλλική δομή του G6PD, παρουσιάζεται ένα εκτεταμένο δίκτυο ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων και δεσμών υδρογόνου, που εμπλέκουν G6P (6-φωσφορική γλυκόζη), 3 μόρια νερού, 3 λυσίνες, 1 αργινίνη, 2 ιστιδίνες, 2 γλουταμινικά οξέα και άλλα πολικά αμινοξέα.

Η λειτουργία του G6PD αφορά τον μεταβολισμό της γλυκόζης. Η γλυκόζη σε ποσοστό 10% περίπου στο ερυθροκύτταρο, αντί να ακολουθήσει το εργογόνο μεταβολικό μονοπάτι της μετατροπής της γλυκόζης σε γαλακτικό οξύ για την παραγωγή ενέργειας για τις λειτουργίες του ερυθροκυττάρου, μετατρέπεται σε φωσφορικές πεντόζες (σάκχαρα με 5 άτομα άνθρακα) (Ronquist & Theodorsson, 2007). Το G6PD είναι το πρώτο και περιοριστικό ένζυμο στο μονοπάτι των φωσφορικών πεντοζών και καταλύει την αντίδραση: $6\text{-φωσφορική γλυκόζη} + 2\text{NADP} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{G6PD}} 5\text{-φωσφορική ριβόζη} + 2\text{NADPH} + 2\text{H} + \text{CO}_2$ (Mehta et al., 2000).

Ο ρυθμός αυτού του μεταβολικού μονοπατιού, και επομένως η παραγωγή του NADPH, ελέγχεται από την απόδοση του G6PD (ή αλλιώς της αφυδρογονάσης της 6-

φωσφορικής γλυκόζης). Η δραστηριότητα του ενζύμου αυτού ρυθμίζεται από τη συγκέντρωση του συνενζύμου NADP^+ . Όταν το κύτταρο καταναλίσκει NADPH , η συγκέντρωση του NADP^+ μεγαλώνει, αυξάνοντας και την ταχύτητα της αντίδρασης του G6PD . Το NADPH χρησιμοποιείται ως ένα ενδοκυτταρικό αναγωγικό ισοδύναμο για προστασία από οξειδωτική βλάβη, καθώς συμβάλλει στη διατήρηση της γλουταθειόνης στην ανηγμένη της μορφή (GSH), από την οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG), όταν τα κύτταρα υφίστανται οξειδωτικό στρες (Gaetani et al., 1996). Οπότε η κύρια λειτουργία που επιτελεί το G6PD είναι η αναγέννηση αναγωγικών ισοδυνάμων με την μορφή NADPH στο κυτταρόπλασμα. Το NADPH χρησιμεύει επίσης και ως δότης ηλεκτρονίων στη βιοσύνθεση της χοληστερόλης, των λιπαρών οξέων, καθώς και στη σύνθεση του μονοξειδίου του αζώτου (NO) (Tsai et al., 1998). Στα περισσότερα κύτταρα το NADPH μπορεί να παραχθεί από το μηλικό ένζυμο στα μιτοχόνδρια. Δεδομένου του γεγονότος ότι τα ερυθροκύτταρα στερούνται μιτοχονδρίων, το μονοπάτι των φωσφορικών πεντοζών αποτελεί τη μόνη πηγή παραγωγής NADPH για αυτά. Σημαντική λειτουργία του G6PD επίσης είναι η παραγωγή πεντοζών όπως η 5-φωσφορική ριβόζη η οποία είναι απαραίτητη για την σύνθεση νουκλεοτιδίων.

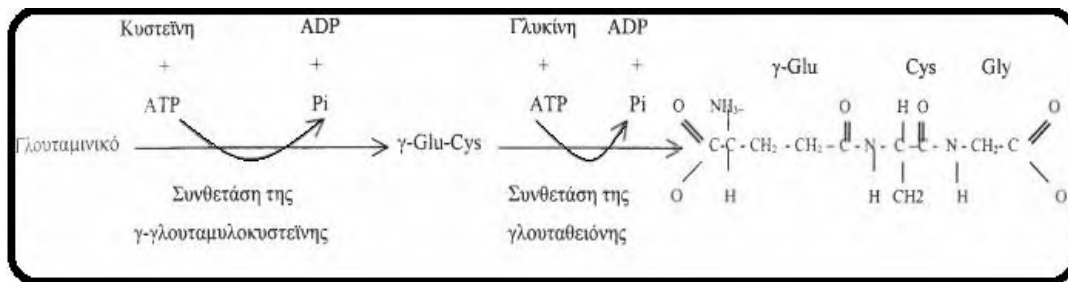
Το G6PD είναι ένζυμο απαραίτητο για την επιβίωση του κύτταρου, η βιολογική γήρανση του οποίου εξαρτάται από τη μείωση του ποσού του (Παπαδημητρίου Μ., 1998). Το G6PD ως αντιοξειδωτικό ένζυμο συμβάλλει στην άμυνα κατά του οξειδωτικού στρες γενικά στα εμπύρηννα κύτταρα (Leopold et al., 2001), ενώ έχει ιδιαίτερη σημασία για τα ερυθροκύτταρα, αφού όπως προαναφέρθηκε αποτελεί τη μοναδική πηγή NADPH για αυτά. Όταν υπάρχει μικρή ποσότητα του ενζύμου G6PD στα ερυθροκύτταρα, παρουσιάζεται αιμόλυση ωφειλώμενη στην έλλειψη αυτή, και στο συνδυασμό της με διάφορους στρεσογόννους παράγοντες.



Εικόνα 1. G6PD και μονοπάτι των φωσφορικών πεντοζών. Η αντιοξειδωτική άμυνα των ερυθροκυττάρων είναι εξαρτώμενη από το G6PD, το οποίο καταλύει την πρώτη αντίδραση στο μονοπάτι των φωσφορικών πεντοζών. Η γλουταθειόνη παίρνει ηλεκτρόνια από το NADPH και μετατρέπεται στην ανηγμένη της μορφή. Η γλουταθειόνη είναι απαραίτητη για την αναγωγή των ROS, προστατεύοντας με αυτό τον τρόπο την αιμοσφαιρίνη και άλλες ερυθροκυτταρικές πρωτεΐνες από οξείδωση (Schuurman et al., 2009).

2.1.1. G6PD και γλουταθειόνη

Η γλουταθειόνη είναι μία οργανική χημική ένωση με σημαντική αντιοξειδωτική δράση για τους ζώντες οργανισμούς. Είναι ένα τριπεπτίδιο και συντίθεται στο κυτταρόπλασμα. Αποτελείται από κυστεΐνη, γλουταμινικό οξύ και γλυκίνη. Η σύνθεσή της γίνεται σε δύο βήματα (Lehninger, 1975). Η γλουταθειόνη είναι υδατοδιαλυτό μόριο και απαντάται κυρίως στο κυτταρόπλασμα, αν και ένα ποσοστό περίπου 10% αυτής βρίσκεται στο εσωτερικό των μιτοχονδρίων (Reed, 1990). Μέσα στο ανθρώπινο κύτταρο υπάρχει σε δύο μορφές. Η μία μορφή είναι η ανηγμένη (GSH) και η άλλη μορφή είναι η οξειδωμένη (GSSG). Το γεγονός αυτό την κάνει να αποτελεί έναν από τους κύριους παράγοντες σταθερότητας του δυναμικού οξειδοαναγωγής των κυττάρων. Η μεταβολή του ποσοστού GSH/GSSG, αποτελεί ένδειξη οξειδωτικού στρες (Halprin & Kenneth, 1967).



Εικόνα 2. Βιοσύνθεση της γλουταθειόνης.

Η υδροθειομάδα της κυστεΐνης αποτελεί το σημαντικότερο, καθοριστικό και ρυθμιστικό αμινοξύ της GSH. Η κυστεΐνη είναι υπεύθυνη για την βιολογική δράση της GSH. Για να παραχθεί GSH από τα κύτταρα, απαιτείται η κατανάλωση ενέργειας υπό την μορφή της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) (2 μόρια ATP για κάθε μόριο GSH). Αυτό την κάνει ευαίσθητη σε περιπτώσεις που διαταράσσεται η ενεργειακή παραγωγή του κυττάρου.

Η GSH ως αντιοξειδωτική ουσία αντιδρά με τα αντιδραστικά είδη οξυγόνου (Reactive Oxygen Species – ROS) παρουσία της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης δίνοντας ένα ηλεκτρόνιο, και με τον τρόπο αυτό καθίσταται δραστική η ίδια. Αμέσως όμως μετά την αντίδραση αυτή, η δραστική γλουταθειόνη αντιδρά με μία άλλη δραστική γλουταθειόνη και με τον τρόπο αυτό σχηματίζει την διθειούχο γλουταθειόνη (GSSG). Η GSSG ανάγεται με μεγάλη ταχύτητα και πάλι σε GSH από την αναγωγή της γλουταθειόνης. Με τον τρόπο αυτό δημιουργείται ο κύκλος της γλουταθειόνης ο οποίος είναι απαραίτητος για την διάσπαση του H₂O₂.

Εκτός της απευθείας εξουδετέρωσης των ενεργών μορφών του οξυγόνου, η GSH διατηρεί ανηγμένες τις βιταμίνες E και C. Επίσης ρυθμίζει τον κύκλο του νιτρικού οξειδίου (NO) (Clementi et al., 1999). Διατηρεί επίσης ανηγμένες τις θειολικές ομάδες πολλών πρωτεϊνών, γεγονός απαραίτητο για την λειτουργία τους (Di Monte et al., 1992).

Επιδρά ακόμη σε διάφορες μεταβολικές και βιοχημικές αντιδράσεις όπως η σύνθεση και επισκευή του DNA και η σύνθεση προσταγλανδίνης. Τέλος, ενεργοποιεί ένζυμα, επιδρά στον μεταβολισμό του σιδήρου και έχει σημαντικό ρόλο στο ανοσοποιητικό και στο νευρικό σύστημα.

2.1.2. Η έλλειψη του G6PD και επιδημιολογικά στοιχεία

Η έλλειψη του G6PD είναι μία κληρονομική φυλοσύνδετη γενετική διαταραχή (Laosombat et al., 2006; Usanga & Ameen, 2000). Υπολογίζεται ότι περισσότερα από 400 εκατομμύρια άτομα παγκοσμίως πάσχουν από έλλειψη του G6PD (Mehta et al., 2000; Turan, 2006). Στην Ελλάδα υπάρχει διάδοση της έλλειψης σε ποσοστό περίπου 3.2% του πληθυσμού. Η διάδοση σχετίζεται θετικά με την γεωγραφική κατανομή της ελονοσίας. Στην Θεσσαλία υπολογίστηκε ότι το ποσοστό φτάνει το 10% περίπου (Missiou-Tsagaraki, 1991). Παγκοσμίως έχουν παρατηρηθεί πάνω από 150 μεταλλάξεις του γονιδίου στον άνθρωπο, οι οποίες αφορούν σημειακές κυρίως αντικαταστάσεις αμινοξέων στο γονίδιο G6PD. Έχει αποδειχθεί ότι οι περισσότερες μεταλλάξεις του G6PD που προκαλούν ασθένειες λαμβάνουν χώρα κοντά στη δομική θέση του NADP⁺ (Wang et al., 2008).

Υπάρχουν κατηγορίες ανάλογα με το βαθμό έλλειψης και εκδήλωσης της ασθένειας (Frank, 2005). Το φυσιολογικό ένζυμο που απαντάται σε όλους τους πληθυσμούς περιγράφεται ως G6PD-B⁺. Ο χαρακτηριστικός μεσογειακός τύπος είναι ο G6PD-B⁻ με εξαιρετικά χαμηλή ενζυμική δραστηριότητα (<10% του φυσιολογικού), η οποία δύναται να προκαλέσει χρόνια αιμολυτική αναιμία. Στους Αφρικάνικους πληθυσμούς συναντάται μια άλλη παραλλαγή, το G6PD-A⁺, το οποίο έχει φυσιολογική λειτουργία. Στο 10-15% των μαύρων Αμερικάνων υπάρχει η παραλλαγή G6PD-A⁻, στην οποία υπάρχει μόνο το 15% της κανονικής ενζυμικής δραστηριότητας και συνήθως δεν εμφανίζει κλινικές

εκδηλώσεις παρά σπάνια ήπια αιμόλυση. Στους ανατολικούς λαούς εμφανίζεται κυρίως η μορφή G6PD Canton με ενζυμική δραστηριότητα 15%. Αν και μεταλλάξεις παρατηρήθηκαν σε όλους τους πληθυσμούς, η μεγαλύτερη διάδοση παρατηρείται στη Μέση Ανατολή (Turan, 2006; Lim et al., 2005) και στα περισσότερα τροπικά και υποτροπικά μέρη εξαιτίας της φυσικής επιλογής απέναντι στην ελονοσία (WHO Working Group, 1989).

Classes of G6PD Enzyme Variants			
CLASS	LEVEL OF DEFICIENCY	ENZYME ACTIVITY	PREVALENCE
I	Severe	Chronic nonspherocytic hemolytic anemia in the presence of normal erythrocyte function	Uncommon; occurs across populations
II	Severe	Less than 10 percent of normal	Varies; more common in Asian and Mediterranean populations
III	Moderate	10 to 60 percent of normal	10 percent of black males in the United States
IV	Mild to none	60 to 150 percent of normal	Rare
V	None	Greater than 150 percent of normal	Rare

Πίνακας 1. Κατηγοριοποίηση της έλειψης του ενζύμου G6PD (Frank JE, 2005).

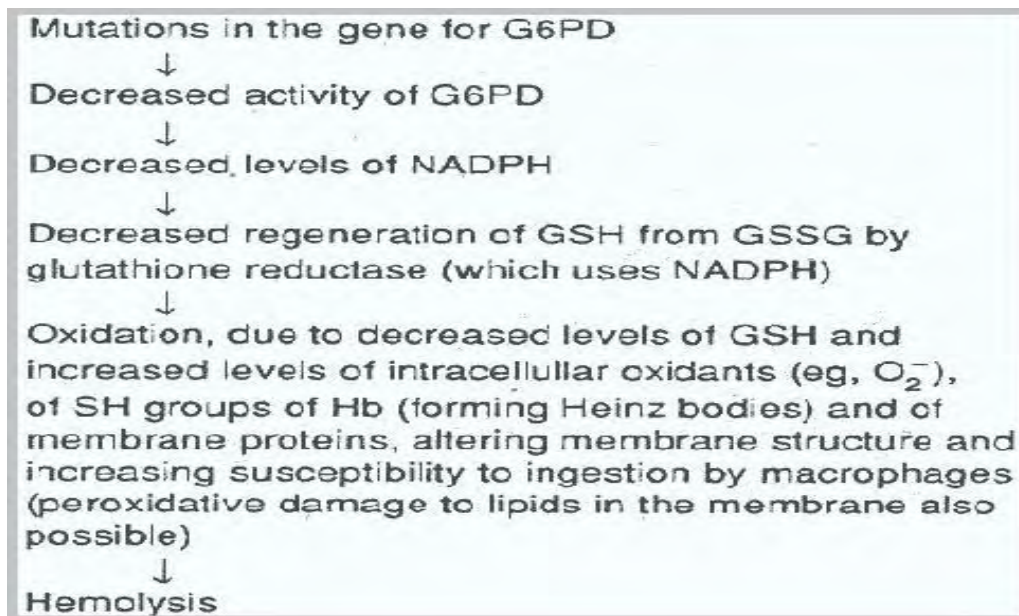
Σε φυσιολογικά άτομα, η δραστηριότητα του ενζύμου στα ερυθροκύτταρα, όταν δεν υπάρχει οξειδωτικό στρες, ανέρχεται στο 2% περίπου της ολικής ικανότητας (Ruwende, 1998). Σε παρουσία οξειδωτικού παράγοντα σε φυσιολογικά άτομα, διεγείρεται η οδός των φωσφορικών πεντοζών, με αποτέλεσμα να παραμένουν σταθερά τα επίπεδα NADPH και GSH.

Η έλλειψη του G6PD προκαλεί διαταραχή στην οξειδοαναγωγική ομοιόσταση σε άτομα που την παρουσιάζουν. Στα άτομα αυτά δεν αυξάνεται η ροή της γλυκόζης στα ερυθροκύτταρα και μειώνονται τα επίπεδα NADPH και GSH όταν εκτίθενται σε στρεσογόνους παράγοντες. Αυτό έχει ως επακόλουθο την αιμόλυση λόγω οξειδωσης από ROS. Σε καταστάσεις στις οποίες ένα άτομο με έλλειψη δεν εκτίθεται σε κάποιου είδους στρες για τον οργανισμό του, συνήθως δεν υπάρχουν κλινικά συμπτώματα, εκτός των περιπτώσεων με σημαντικά χαμηλή έλλειψη του ενζύμου. Ολική έλλειψη του G6PD είναι ασύμβατη με τη ζωή (Beutler, 1994).

Το χαμηλό επίπεδο δραστηριότητας του G6PD παρουσιάζεται κυρίως στα ερυθροκύτταρα, αν και γενικά αυτή παρατηρείται και σε άλλους ιστούς σε κάποιο βαθμό (Luzzatto & Battistuzzi, 1985). Τα άτομα με σημαντική έλλειψη του ενζύμου, όταν οι απαιτήσεις για NADPH είναι οι ελάχιστες φυσιολογικές, μπορούν να οξειδώσουν την γλυκόζη με φυσιολογικό ρυθμό, εάν όμως οι απαιτήσεις για NADPH αυξηθούν σημαντικά μπορεί να παρουσιαστεί οξεία αιμολυτική αναιμία. Το τελευταίο συμβαίνει λόγω αδυναμίας διατήρησης της GSH σε ένα λόγο μεγαλύτερο του 500:1 σε σχέση με την GSSG. Αυτό μπορεί να συμβεί σε λήψη τοξικών ουσιών, σε παρουσία μεταβολικών διαταραχών, σε κατανάλωση κουκιών, σε φυσική άσκηση, σε έκθεση σε ακτινοβολία και γενικά σε συνθήκες έντονου οξειδοτικού στρες. Ως συνέπεια του στρες και της έλλειψης της δραστηριότητας του ενζύμου, μειώνεται η παραγωγή NADPH, μειώνεται η δράση της γλουταθειόνης, αναστέλεται η αδρανοποίηση H_2O_2 , επέρχεται κυτταρική βλάβη και απελευθερώνεται αιμοσφαιρίνη στο αίμα, λόγω της διάρρηξης της μεμβράνης των ερυθροκυττάρων. Ακόμη μπορεί να παρουσιαστεί ίκτερος και νεφρική ανεπάρκεια.

Τα υπεροξείδια του υδρογόνου, εκτός από την GSH, μπορούν να αναχθούν και από την καταλάση, η οποία εξαρτάται επίσης από τη διαθεσιμότητα του NADPH. Ο ακριβής

μηχανισμός μέσω του οποίου τα μειωμένα επίπεδα αναγωγικών μέσων κατά τη διάρκεια οξειδωτικού στρες οδηγούν σε αιμόλυση δεν έχει αναγνωριστεί ακόμη. Ο Murray R.K. έχει προτείνει ένα πιθανό μηχανισμό που απεικονίζεται στην Εικόνα 3.



Εικόνα 3. Πιθανός μηχανισμός πρόκλησης αιμόλυσης σε άτομα με μειωμένη δραστηριότητα του ενζύμου G6PD (Murray, 1993).

2.1.3. G6PD και άσκηση

Με το όρο άσκηση εννοούμε κάθε συστηματική κίνηση του σώματος ή συμμετοχή του ατόμου σε φυσικές δραστηριότητες, η οποία έχει κάποια χρονική διάρκεια (συνήθως δέκα λεπτά και άνω), χαμηλότερα επίπεδα ανταγωνισμού (σε σχέση με τον πρωταθλητισμό), και στην οποία εμπλέκονται κυρίως, μεγάλες μυϊκές ομάδες του σώματος (Berger, Pargman, & Weinberg, 2007). Η άσκηση αποτελεί μία σειρά από προγραμματισμένες και δομημένες συστηματικές κινήσεις του ανθρώπινου σώματος που κινητοποιεί μεγάλες μυϊκές ομάδες οπότε και αποτελεί στρεσογόνο παράγοντα για τον

οργανισμό, καθώς λόγω των αυξημένων ενεργειακών απαιτήσεων προκύπτει διαταραχή της ομοιόστασης αυτού.

Ποικίλες χημικές, φυσιολογικές, βιολογικές μεταβολές επισυμβαίνουν κατά τη διάρκεια της άσκησης αλλά και μετά από αυτή. Η άσκηση είναι δυνατό να διαταράξει την ισορροπία μεταξύ των ROS και των αντιοξειδωτικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Σε ό,τι αφορά τα άτομα που παρουσιάζουν μειωμένη δραστηριότητα του ενζύμου G6PD, αυτά παρουσιάζουν μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό και ως εκ τούτου μπορεί να προκύψουν αρνητικές συνέπειες εξαιτίας του ασκησιογενούς στρες. Θεωρητικά, οι αθλητές που πάσχουν από μειωμένη δραστηριότητα του ενζύμου G6PD είναι πιθανό κατά τη διάρκεια πολύ έντονης άσκησης να υποστούν κυτταρικές βλάβες ωφειλόμενες στο οξειδωτικό στρες. Τέτοιες περιπτώσεις έχουν αναφερθεί στη διεθνή βιβλιογραφία (Kimmick et al., 1996; Bresolin et al., 1989).

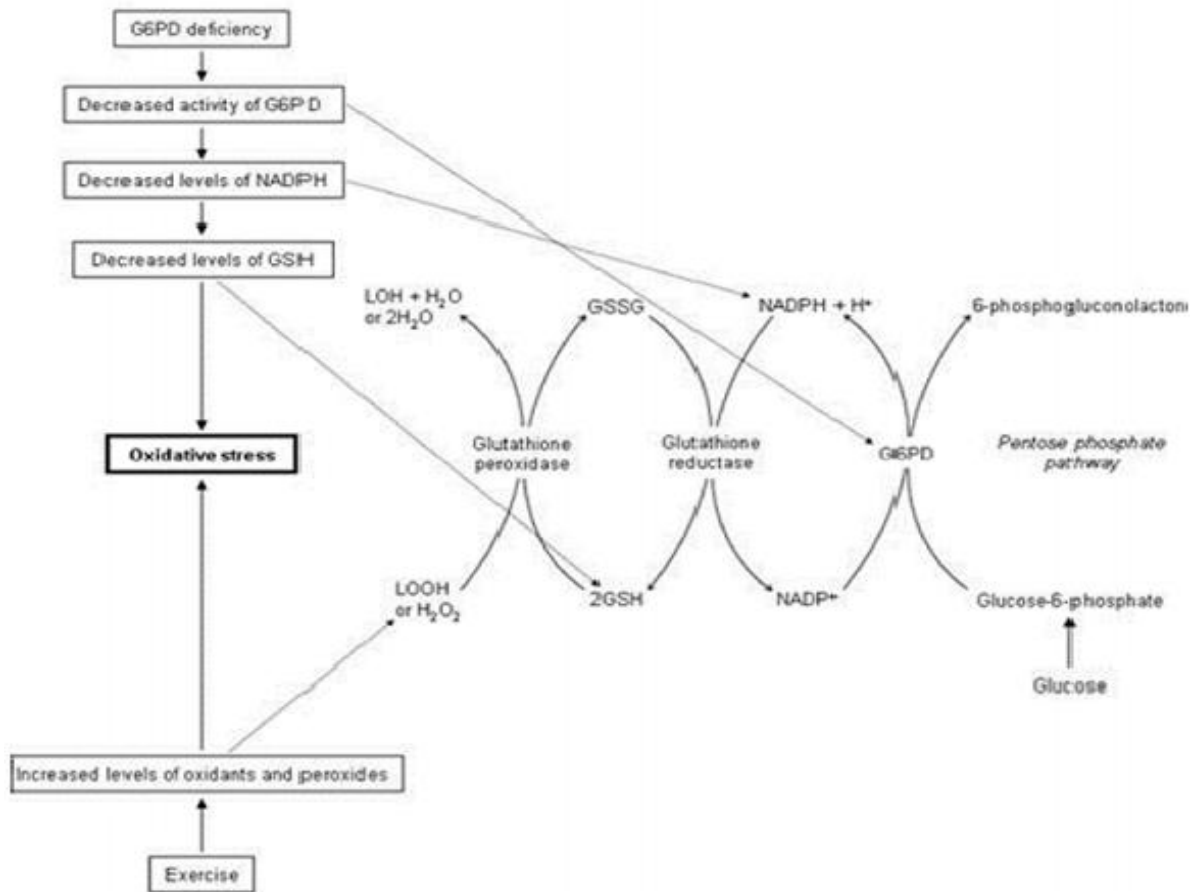
Είναι μικρός ο αριθμός των μελετών οι οποίες έχουν διεξαχθεί για να γίνουν γνωστές οι επιδράσεις της άσκησης σε άτομα με μειωμένη δραστηριότητα του ενζύμου G6PD. Η μειωμένη δραστηριότητα του G6PD υπάρχει σε διάφορους ιστούς όπως στα ερυθροκύτταρα και στους μύες. Η δραστηριότητα του G6PD των δύο προαναφερόμενων ιστών παρουσιάζουν θετική συσχέτιση (Ninfali et al., 1995). Κατά την άσκηση η μεγάλη ενεργοποίηση του μυϊκού ιστού έχει ως αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή ROS. Σε έντονη άσκηση είναι πιθανό η παραγωγή αυτή, να ξεπεράσει τα όρια της αντιοξειδωτικής ικανότητας ενός ατόμου με έλλειψη, και ως συνέπεια αυτού να προκληθεί οξειδωτικό στρες, κυτταρικές βλάβες και οξεία αιμολυτική αναιμία. Επειδή όμως γενικά οι επιδράσεις της άσκησης είναι ευεργετικές για έναν οργανισμό, θα πρέπει να γίνουν εκτεταμένες μελέτες για να διαπιστωθεί το είδος και η ένταση της άσκησης, που πιθανώς θα ωφελούσε

την υγεία και θα μειώνει τις πιθανότητες ανάπτυξης χρόνιων ασθενειών των ατόμων με έλλειψη του G6PD.

Στη βιβλιογραφία υπάρχουν λίγες πληροφορίες σχετικά με τα αποτελέσματα της άσκησης σε αυτή την πληθυσμιακή ομάδα. Από έρευνα έχει φανεί, ότι η αερόβια άσκηση μέτριας έντασης, δεν αυξάνει τα επίπεδα μικροσωματιδίων (MPs) τα οποία προέρχονται από αιμοπετάλια και ερυθροκύτταρα σε σχέση με τα άτομα με φυσιολογική δραστηριότητα του ενζύμου (Chanda et al., 2015). Σε άλλη έρευνα (Nikolaidis et al., 2006) φάνηκε ότι η διάρκεια της άσκησης είναι ένας σημαντικός καθοριστικός παράγοντας για το μέγεθος των μεταβολών που προκαλούνται από την άσκηση για την GSH, την GSSG και τον λόγο GSH/GSSG. Άλλη μελέτη που ερευνούσε την επίδραση της έκκεντρης άσκησης σε άτομα με μειωμένη δραστηριότητα G6PD, έδειξε ότι τα άτομα αυτά μπορούν να συμμετέχουν σε δραστηριότητες υψηλής έντασης που προκαλούν βλάβη των μυών, χωρίς αρνητική επίδραση στη μυϊκή λειτουργία, στην κατάσταση οξειδοαναγωγής του αίματος και στην αιμόλυση (Theodorou et al., 2010). Επιπλέον, αερόβια άσκηση έντασης 75% της Μέγιστης Καρδιακής Συχνότητας (ΜΚΣ) διάρκειας 45 λεπτών, δεν επηρέασε αρνητικά τους δείκτες οξειδοτικού στρες σε άτομα με μειωμένη δραστηριότητα του ενζύμου G6PD, σε σχέση με άτομα που παρουσιάζαν κανονική δραστηριότητα του ενζύμου (Jamurtas et al., 2006). Τέλος, υπάρχουν καταγεγραμμένες περιπτώσεις στη διεθνή βιβλιογραφία στις οποίες αθλητές υπέστησαν οξεία αιμολυτική αναιμία λόγω της ανεπάρκειας του ενζύμου σε συνδυασμό με άσκηση, ενώ σε μία άλλη περίπτωση αναφέρθηκε μέτρια δυσανεξία στην άσκηση, υποτροπιάζοντα επεισόδια μυαλγίας και μυϊκής κόπωσης (Kimmick et al., 1996).

Συμπερασματικά, δεν έχει προκύψει λόγος αποφυγής για την πλειοψηφία των ατόμων με έλλειψη, της αερόβιας χαμηλής έως μέτριας έντασης άσκησης όπως είναι το περπάτημα. Γενικά η άσκηση συστήνεται στα άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD, αλλά

το επίπεδο της έντασης και η διάρκεια πρέπει να είναι ελεγχόμενα και ανάλογα με τον βαθμό της δραστηκότητας του ενζύμου.

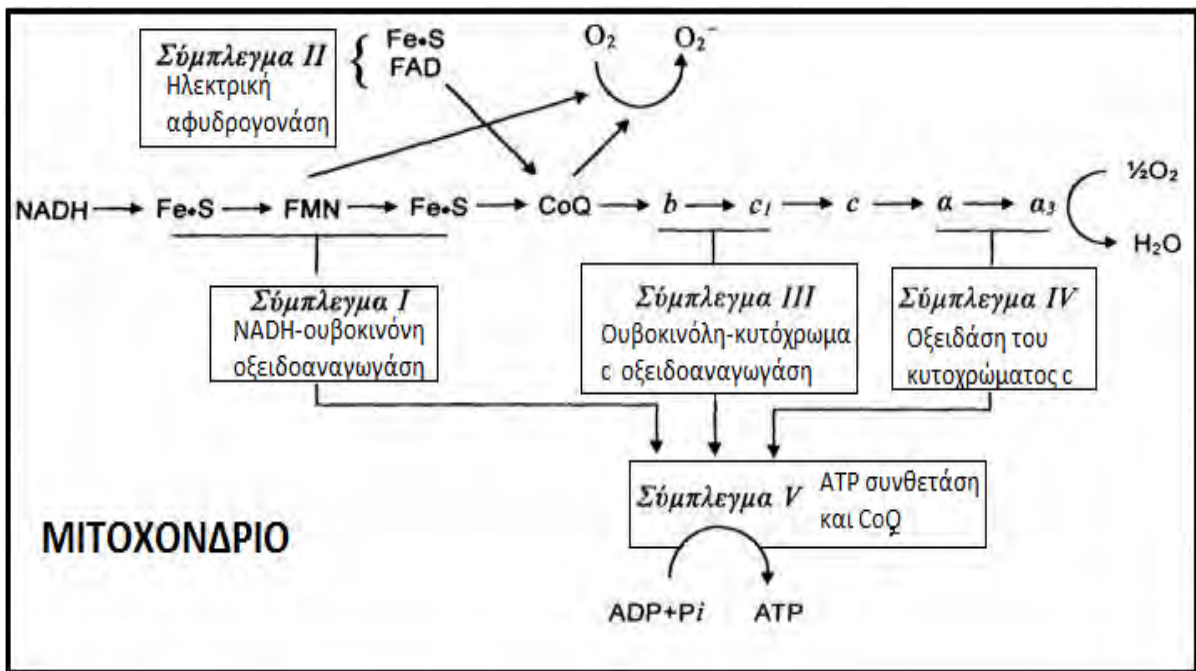


Εικόνα 4. Προκαλούμενο από την άσκηση οξειδωτικό στρες σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD (Nikolaidis et al., 2006).

2.2. Οξειδοαναγωγικό σύστημα

2.2.1. Οξειδωτικό στρες και αντιδραστικά είδη οξυγόνου

Το ατμοσφαιρικό οξυγόνο βρίσκεται στον αέρα υπό τη μορφή διατομικού μορίου (O_2). Οι ποσότητες του οξυγόνου συσσωρεύτηκαν σταδιακά στον ατμοσφαιρικό αέρα της Γης. Οι αναερόβιοι οργανισμοί αποτραβήχτηκαν και έδωσαν τη θέση τους σε οργανισμούς που προσαρμόστηκαν και ανέπτυξαν ειδικές προστατευτικές ικανότητες έναντι της τοξικότητας του οξυγόνου. Οι νέοι αυτοί οργανισμοί όχι μόνο προσαρμόστηκαν έναντι της τοξικής δράσης, αλλά και κατάφεραν να δημιουργήσουν ένα σύστημα παραγωγής ενέργειας πολύ αποδοτικότερο από τον αναερόβιο μεταβολισμό, χρησιμοποιώντας το O_2 ως τελικό αποδέκτη των ηλεκτρονίων που προέρχονται από τις οξειδωτικές διαδικασίες του καταβολισμού τους.



Εικόνα 5. Η αναπνευστική αλυσίδα και τα κύρια σημεία διαρροής ηλεκτρονίων.

Σήμερα το O_2 είναι απαραίτητο για την διαβίωση των περισσότερων έμβιων οργανισμών. Το O_2 όμως εκτός από τις θετικές επιδράσεις που έχει για τα κύτταρα των

βιολογικών οργανισμών, αποτελεί μια από τις σημαντικότερες απειλές για τη ζωή των κυττάρων, αφού παρουσιάζει δύο ασύζευκτα μόρια (είναι δηλαδή μία διπλή ελεύθερη ρίζα). Ο μόνος λόγος που αυτά δεν αντιδρούν και δεν αναφλεγόμαστε σύμφωνα με την αρχή του Pauli (Δέρβος και συν., 2009), είναι το γεγονός ότι τα δύο αυτά ασύζευκτα μόρια έχουν παράλληλη στροφορμή.

Κατά τις διάφορες χημικές διεργασίες σε έναν αερόβιο οργανισμό, το μεγαλύτερο ποσοστό του O₂ μετατρέπεται σε νερό. Μέρος όμως του O₂ μετατρέπεται σε ενδιάμεσες μορφές αναγωγής οξυγόνου (1-5% ή και παραπάνω, ανάλογα με την συγκέντρωση O₂), και λόγω του γεγονότος αυτού προκαλείται οξειδωτικό στρες. Το οξειδωτικό στρες ορίζεται ως μια διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ της παραγωγής ROS και της ικανότητας ενός βιολογικού συστήματος να αδρανοποιήσει τα τοξικά αυτά μόρια, γεγονός το οποίο μπορεί να οδηγήσει σε καταστροφή βιομορίων (Halliwell & Whiteman, 2004).

Τα ROS ταξινομούνται στις παρακάτω τέσσερις κατηγορίες: (α) ελεύθερες ρίζες, όπως η ρίζα υδροξυλίου ($\cdot\text{OH}$), (β) ιόντα, όπως το υποχλωριώδες ανιόν (ClO^-) που προκύπτει από τη διάσπαση του υποχλωριώδους οξέως (HClO), (γ) μόρια, όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) και (δ) συνδυασμούς ελευθέρων ριζών και ιόντων, όπως το ανιόν σουπεροξειδίου ($\cdot\text{O}_2^-$).

Οι ελεύθερες ρίζες παρουσιάζουν ένα τουλάχιστον ασύζευκτο ηλεκτρόνιο στην εξωτερική τους στιβάδα και αντιδρούν άμεσα με παρακείμενα μόρια, παίρνοντας από αυτά ένα ηλεκτρόνιο για να ζευγαρώσουν το δικό τους. Τα παρακείμενα μόρια μετατρέπονται έτσι τα ίδια σε ελεύθερες ρίζες και με αυτόν τον τρόπο ξεκινάει μία αλυσιδωτή αντίδραση που έχει ως αποτέλεσμα την κυτταρική βλάβη (Salway, 2006). Η πιο γνωστή αντίδραση είναι η Haber-Weiss, κατά την οποία η $\cdot\text{OH}$ παράγεται από ανηγμένο σίδηρο και H_2O_2 :

$$\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \cdot\text{OH}.$$

Τα ROS έχουν επιτελικό ρόλο σε λειτουργίες διαφόρων τύπων κυττάρων. Η ρίζα O_2^- για παράδειγμα διαδραματίζει ένα πολύ σημαντικό ρόλο για διάφορες φυσιολογικές λειτουργίες. Τα φαγοκύτταρα παράγουν κάποιες ποσότητες από την ρίζα αυτή, προκειμένου να καταστρέψουν το φαγοκυτταρωμένο υλικό (Halliwell., 1989; Roit et al., 1996). Τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων και οι ινοβλάστες απελευθερώνουν κάποιες ποσότητες O_2^- στο περιβάλλοντα χώρο και απενεργοποιούν το NO, αναστέλοντας με αυτόν τον τρόπο την υποτασική του δράση (Mc Namara & Fridowish., 1993).

Ένωση	Όνομα
	Ελεύθερες ρίζες
O_2^-	ανιόν σουπεροξειδίου
HO_2^-	υδροϋπεροξειδική ρίζα
$\cdot OH$	ρίζα υδροξυλίου
$RO\cdot$	ρίζα αλκοξειδίου
$ROO\cdot$	ρίζα υπεροξειδίου
NO_2^- και $NO\cdot$	διοξειδίο και μονοξειδίο του αζώτου
	Μη-ελεύθερες ρίζες
H_2O_2	υπεροξειδίο του υδρογόνου
$ROOH$	οργανικά υδροπεροξειδία
1O_2	μονήρες οξυγόνο
O_3	όζον
$HOCl$	υποχλωριώδες οξύ
$ONOO^-$	περοξυνιτρικό

Πίνακας 2. Δραστικά είδη οξυγόνου.

Η πλειονότητα των ελευθέρων ριζών που παράγονται σε όλα τα ζωντανά κύτταρα, είναι οξειδωτικές ουσίες που μπορούν να οξειδώσουν διάφορα είδη βιολογικών μορίων, όπως είναι οι πρωτεΐνες, τα λιπαρά οξέα, οι υδατάνθρακες και τα νουκλεοτίδια. Τα λιπίδια παθαίνουν υπεροξειδωση, οι πρωτεΐνες αποδιατάσσονται και κατακερματίζονται, το DNA

υφίσταται μεταλλάξεις και σχάσεις, ενώ οι υδατάνθρακες τροποποιούνται και κατακερματίζονται.

Τα περισσότερες ROS παράγονται σε χαμηλά επίπεδα (0,2%-2%) από τον αερόβιο μεταβολισμό και οι βλάβες που προκαλούν επιδιορθώνονται συνεχώς από αντιοξειδωτικές ουσίες. Οπότε, προκειμένου να διατηρηθεί η κυτταρική ομοιόσταση, είναι αναγκαίο να υπάρχει μια ισορροπία μεταξύ δημιουργίας και αδρανοποίησης των ROS. Υπάρχουν ενζυμικές και μη ενζυμικές αντιοξειδωτικές ουσίες. Τα αντιοξειδωτικά ένζυμα περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων το υπεροξειδίο της δισμουτάσης, την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και την καταλάση. Οι μη ενζυματικές αντιοξειδωτικές ουσίες είναι κυρίως η βιταμίνη C, η βιταμίνη E και η βιταμίνη A.

Η αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού είναι συνήθως επαρκής. Έτσι αποτρέπεται η καταστροφή ιστών σε σημαντικό βαθμό. Ωστόσο, πολύ μεγάλη παραγωγή ελευθέρων ριζών ή/και η μείωση του επιπέδου της αντιοξειδωτικής ικανότητας ενός οργανισμού, μπορεί να οδηγήσει στον κυτταρικό θάνατο, είτε με την διαδικασία της κυτταρικής νέκρωσης είτε με την διαδικασία της απόπτωσης, ανάλογα με την ένταση του οξειδωτικού στρες.

2.2.2. Οξειδωτικό στρες και αντιοξειδωτικά συμπληρώματα

Συμπληρώματα διατροφής ονομάζονται τα σκευάσματα τα οποία λαμβάνονται από το στόμα και που περιέχουν ουσίες που είτε λείπουν από τη διατροφή, είτε περιέχονται σε θεωρητικά ανεπαρκείς ποσότητες. Αντιοξειδωτικά συμπληρώματα είναι αυτά που περιέχουν ουσίες με αντιοξειδωτική δράση.

Επιδημιολογικά στοιχεία δείχνουν πως η πρόσληψη ορισμένων συστατικών των τροφίμων, όπως βιταμινών και μετάλλων, είναι δυνατό να συμβάλλουν στην προστασία

του οργανισμού από τη γήρανση, από καρδιακές νόσους και από τον καρκίνο. Ακόμη φαίνεται ότι τα αντιοξειδωτικά λειτουργούν προστατευτικά στην πρόληψη των νόσων αυτών (Wu et al., 2005; Marcason, 2007).

Κατά την διάρκεια της άσκησης αυξάνονται οι δείκτες οξειδωτικού στρες λόγω της αυξημένης δραστηριότητας του οργανισμού για την παραγωγή ενέργειας και της επακόλουθης αυξημένης κατανάλωσης O₂. Οξειδωτικό στρες μικρής χρονικής διάρκειας εκτιμάται ότι επιβραδύνει τη διαδικασία της γήρανσης, μέσω ενός μηχανισμού που ονομάζεται Όρμηση (Gems & Partridge, 2008). Κάποιοι αθλητές λαμβάνουν διάφορα διαιτητικά συμπληρώματα αντιοξειδωτικών, προκειμένου να ανταπεξέλθουν στο αυξημένο οξειδωτικό φορτίο και να περιορίσουν την ιστική βλάβη. Λόγω της Όρμησης γεννάται ένα ερώτημα που σχετίζεται με την άσκηση και το οξειδωτικό στρες και αφορά το ζήτημα της λήψης αντιοξειδωτικών ουσιών από αθλητές ή την μη λήψη αυτών. Θα πρέπει ωστόσο να μην παραβλέπεται το γεγονός ότι το αυξημένο οξειδωτικό στρες είναι ένας κύριος παράγοντας πρόκλησης κυτταρικών βλαβών, με συνέπεια η παρατεταμένη έκθεση σε αυτό να συμβάλλει ιδιαίτερα στη διαδικασία της γήρανσης και την ανάπτυξη εκφυλιστικών ασθενειών (Gutteridge & Halliwell, 1994).

Η χρήση αντιοξειδωτικών για τον περιορισμό και την επιδιόρθωση των βλαβών είναι ευρέως αμφιλεγόμενη (Meyers et al., 1996). Δεν έχει αποδειχθεί κατά πόσο η έντονη άσκηση δημιουργεί επιπρόσθετη ανάγκη για λήψη αντιοξειδωτικών. Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι με τη λήψη κάποιων συμπληρωματικών ουσιών αυξάνεται η αντιοξειδωτική ικανότητα αθλητών (Tsakiris et al., 2010; Schulpis et al., 2006).

Εκτός της αύξησης της αντιοξειδωτικής ικανότητας, κάποιες έρευνες έχουν δείξει και αύξηση της απόδοσης των ασκούμενων (Kalafati et al., 2010). Άλλες έρευνες όμως δεν δείχνουν τέτοιου είδους αύξηση. Το είδος του συμπληρώματος παίζει σημαντικό ρόλο

στην αύξηση ή μη της απόδοσης των αθλητών. Κατά τους Goldfarb et al., (1994) η βιταμίνη E (τοκοφερόλη) πιθανώς αποτελεί τον πιο αποτελεσματικό αντιοξειδωτικό παράγοντα. Η βιταμίνη E όμως παρά την αντιοξειδωτική της δράση δεν βοηθάει στην καλύτερη απόδοση κατά την άσκηση (Kanter et al., 1995; Clarkson & Thompson, 2000).

Η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ) είναι άλλη μία αντιοξειδωτική ουσία που έχει ερευνηθεί πολύ. Η βιταμίνη C διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στο μεταβολισμό της γλουταθειόνης, αφού εμπλέκεται στο ενζυμικό σύστημα της γλουταθειόνης, το οποίο ανακυκλώνει το L-ασκορβικό οξύ όταν οξειδώνεται προς L-διυδροασκορβικό (Meister, 1994). Η βιταμίνη C αν και δεν βοηθάει στην απόδοση κατά την άσκηση, βελτιώνει την αποκατάσταση μετά από αερόβια άσκηση (Thompson et al., 2001), μειώνει τα επίπεδα καθυστερημένου μυϊκού πόνου (Clarkson & Thompson, 2000) και προλαμβάνει την παραγωγή ελευθέρων ριζών (Ashton et al., 1999).

Σε έρευνα με αθλητές καλαθοσφαίρισης, οι οποίοι έλαβαν συμπλήρωμα με βιταμίνη C και E, φάνηκε πως παρουσίασαν βελτίωση στο αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα και πως επήλθε μείωση των ROS (Naziroglu et al., 2010). Σε έρευνα που μελετήθηκε η επίδραση των βιταμινών E και C στην αερόβια απόδοση σε ερασιτέχνες αθλητές, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι αυξήθηκε ο χρόνος της δοκιμασίας κατά την αξιολόγηση συγκριτικά με την ομάδα έλεγχου (Aguilo et al., 2007). Σε άλλη έρευνα φάνηκε ότι η χορήγηση συνδυασμού των βιταμινών E και C, επέφερε βελτίωση στην αντιοξειδωτική κατάσταση ασθενών με έλλειψη του G6PD και μείωσε τα συμπτώματα της αιμολυτικής κρίσης (El-Zoghby et al., 2007).

Άλλο ένα συμπλήρωμα που ερευνήθηκε είναι η L-κυστεΐνη (θειούχο αμινοξύ), η οποία είναι το περιοριστικό αμινοξύ για την σύνθεση GSH. Όταν η χορήγηση ολικής πρωτεΐνης υποκαταστάθηκε από την κυστεΐνη, αυτή αναπλήρωσε το ίδιο αποτελεσματικά

τα επίπεδα GSH (Tateishi et al., 1981). Σε πολλές έρευνες όμως όπου χορηγήθηκε L-κυστεΐνη, παρατηρήθηκε νευροτοξικότητα (Olney & Ho, 1970) και υπερχοληστερολαιμία (Rukaj & Se'rougne, 1983; Aoyama et al., 1999).

Η N-ακετύλ-κυστεΐνη (NAC) αποτέλεσε μία παραλλαγή της L-κυστεΐνης η οποία τροποποιήθηκε με τέτοιο τρόπο, ώστε να απορροφάται καλύτερα από το έντερο, να μετατρέπεται σε κυστεΐνη και να εισέρχεται στην αιματική κυκλοφορία. Η NAC έχει φανεί ότι μπορεί να αυξήσει το επίπεδο της GSH εάν το αρχικό επίπεδό της είναι κάτω από τα φυσιολογικά όρια, όμως δεν αυξάνεται στην περίπτωση που τα επίπεδα είναι ήδη φυσιολογικά. Η NAC χρησιμοποιείται σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις (Thorn, 2000). Σε κάποιες έρευνες όμως έχουν προκύψει παρενέργειες από την λήψη NAC, ειδικά σε ποσότητες άνω των 1200 mg (van Zandwijk, 1995).

Ακόμη μία ουσία που ερευνήθηκε είναι η γλουταμίνη. Αυτή αποτελεί καύσιμο για τα ταχέως διαιρούμενα κύτταρα κι έχει θεωρηθεί ότι είναι πιθανώς απαραίτητη σε περιόδους μεταβολικού στρες (Krissansen, 2007). Η χρήση της όμως αφορά κλινικές καταστάσεις όπως ισχαιμία, χημειοθεραπεία, φλεγονή, μεταμόσχευση μυελού των οστών και τοξικότητα από ακεταμινοφαΐνη (Oehler & Roth, 2003).

Η μελατονίνη (N-ακετυλ-5-μεθοξυτριπταμίνη) είναι μια ορμόνη γνωστή για την αντιοξειδωτική της δράση και για την ικανότητά της να εξουδετερώνει ενδιάμεσες μορφές οξυγόνου και αζώτου, συμβάλλοντας έτσι αποτελεσματικά στην αναστολή του οξειδωτικού στρες (Reiter, 1996; Reiter et al., 2002a; Reiter et al., 2002b; Reiter et al., 2003; Lopez-Burillo et al., 2003; Sudnikovich et al., 2007). Επιπλέον η μελατονίνη προάγει τη δραστηριότητα της συνθέσεως της γ-γλουταμυλκυστεΐνης, επιφέροντας με τον τρόπο αυτό αύξηση της παραγωγής της ενδοκυττάριας GSH (Winiarska et al., 2006).

Ο ορός γάλακτος είναι άλλο ένα διατροφικό συμπλήρωμα το οποίο έχει αντιοξειδωτικές ιδιότητες (Counous, 2000). Επίσης έχει μελετηθεί σε πολύ μεγάλο αριθμό ερευνών σε ότι αφορά τις ευεργετικές επιπτώσεις που έχει σε αθλητές. Ωστόσο δεν έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες στις οποίες να εξετάζεται η επίδρασή του στα άτομα που παρουσιάζουν έλλειψη του ενζύμου G6PD.

Συμπερασματικά, αν και η συμπληρωματική λήψη αντιοξειδωτικών ουσιών μπορεί να μειώσει την δημιουργία ROS μετά από άσκηση που προκαλεί μυικές βλάβες, δεν έχει αποδειχθεί ότι αυτό αποτελεί ενδεδειγμένη πρακτική, εξαιτίας των προσαρμογών που μπορεί να επέλθουν από την παρουσία του οξειδωτικού στρες. Ακόμη, η βιβλιογραφία στην οποία παρουσιάζονται δεδομένα από πειραματικές μελέτες στις οποίες χορηγήθηκαν αντιοξειδωτικές ουσίες σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD, είναι ιδιαίτερα περιορισμένη.

2.3. Λιποϊκό οξύ

Το λιποϊκό οξύ είναι μια ένωση ($C_8H_{14}O_2S_2$) με δύο άτομα θείου (στο C6 και στο C8) που συνδέονται με δισουλφιδικό δεσμό και η οποία συντίθεται ενζυμικά στο μιτοχόνδριο από οκτανοϊκό οξύ. Η μοριακή του μάζα είναι $206.32 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$. Το άτομο του άνθρακα στην θέση C6 είναι χειρόμορφο και έτσι το μόριο υπάρχει σε δύο εναντιομερή, το (R)-(+)-λιποϊκό οξύ (RLA) και το (S)-(-)-λιποϊκό οξύ (SLA) και στο ρακεμικό μείγμα (R/S)-λιποϊκό οξύ (R/S-LA). Το SLA δεν υπήρχε πριν από την χημική του σύνθεση το 1952 (Hornberger et al., 1952 ; Hornberger et al., 1953). Οι διάφορες μορφές του λιποϊκού οξέος δεν είναι ισοδύναμες (Kleeman et al., 1991). Το λιποϊκό οξύ είναι συμπαράγοντας για τουλάχιστον πέντε συστήματα ενζύμων σε διάφορους οργανισμούς. Δύο από αυτά εντοπίζονται στον κύκλο του κιτρικού οξέος. Στον άνθρωπο το λιποϊκό οξύ αποτελεί

απαραίτητο συμπράγοντα για τις μιτοχονδριακές α-κετοξυ αφυδρογονάσες, καθιστώντας το απαραίτητο για τον μεταβολισμό της ενέργειας στο μιτοχόνδριο.

Το λιποϊκό οξύ εκτός από την ενζυματική σύνθεσή του στο μιτοχόνδριο, μπορεί να ληφθεί και από διαιτητικές πηγές καθώς απορροφάται ανέπαφο και συσσωρεύεται παροδικά σε διάφορους ιστούς του σώματος. Ερευνητές πιθανολογούν ότι το λιποϊκό οξύ που λαμβάνεται από το στόμα, μπορεί να μη χρησιμοποιηθεί για να επάγει μία σειρά από βιοχημικές δράσεις οι οποίες λειτουργούν φαρμακοθεραπευτικά ενάντια σε διάφορες παθοφυσιολογικές καταστάσεις.

Το λιποϊκό οξύ θεωρείται ότι είναι ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό και ότι δρα επίσης ως διαβητικό φάρμακο. Το λιποϊκό οξύ μεταβολίζεται με ποικίλους τρόπους όταν χορηγείται ως συμπλήρωμα διατροφής σε θηλαστικά (Schurke et al., 2001). Η αποικοδόμηση του λιποϊκού οξέος στους ανθρώπους είναι παρόμοια με αυτή των θηλαστικών που έχουν μελετηθεί, ωστόσο δεν είναι σαφές εάν τα άτομα θείου οξειδώνονται σημαντικά (Teichert et al., 2003). Στους ανθρώπους έχει χρησιμοποιηθεί για τη βελτίωση προβλημάτων που σχετίζονται με τη γήρανση και ως διαμορφωτής διάφορων σηματοδοτικών μονοπατιών φλεγμονής (Smith et al., 2004; Scott et al., 1994; Devasagayam et al., 1993; Suh et al., 2004; Lodge et al., 1998; Anuradha & Varalakshmi, 1999; Han et al., 1997). Το λιποϊκό οξύ έχει κεντρίσει το ενδιαφέρον των επιστημόνων καθώς παρουσιάζει μεγάλη ποικιλία κυτταρικών και μοριακών λειτουργιών (Petersen Shay et al., 2009).

Οι καλύτερες διατροφικές πηγές λιποϊκού οξέος είναι τα κρεατικά, η καρδιά, τα νεφρά και το συκώτι, ενώ σε μικρότερο βαθμό είναι τα φρούτα και τα λαχανικά (Packer et al., 2001). Παρότι το λιποϊκό οξύ είναι εύκολα διαθέσιμο για πρόσληψη από αυτές τις διατροφικές πηγές, συνήθως δεν καταναλώνονται σημαντικές ποσότητες λιποϊκού οξέος στην τυπική δυτική διατροφή. Αντιθέτως, κύριες πηγές λιποϊκού οξέος αποτελούν τα

συμπληρώματα διατροφής που το περιέχουν σε ποσότητες 50-600 mg ανάλογα με το σκεύασμα. Οι περισσότερες βιβλιογραφικές αναφορές σχετικά με τη βιοδιαθεσιμότητα του λιποϊκού οξέος προέρχονται από μελέτες όπου γίνεται χρήση συμπληρωμάτων (Petersen Shay et al., 2009).

Δεν έχει καθοριστεί ανώτατο όριο της ποσότητας πρόσληψης λιποϊκού οξέος από τον άνθρωπο. Φαίνεται ότι απαιτείται περισσότερη έρευνα σχετικά με την ασφάλεια και τη βέλτιστη δόση λιποϊκού οξέος, καθώς σε υψηλές δόσεις ενδέχεται να προκύψουν παρενέργειες, όπως το να συμβάλει σε οξειδωτική προσβολή (Petersen Shay et al., 2009).

2.3.1. Λιποϊκό οξύ και πιθανες ωφελειες

Το λιποϊκό οξύ μπορεί να εμφανίζεται είτε στην ανηγμένη του μορφή, είτε στην οξειδωμένη μορφή. Η οξειδωμένη (α -λιποϊκό οξύ – α -ΛΟ) και η ανηγμένη (διδρο-λιποϊκό οξύ - ΔΥΛΟ) μορφή του λιποϊκού οξέος δημιουργούν ένα ισχυρό οξειδοαναγωγικό ζεύγος, το οποίο έχει πρότυπο δυναμικό αναγωγής -0,32 V. Έτσι το ΔΥΛΟ καθίσταται ως ένα από τα πιο ισχυρά φυσικά αντιοξειδωτικά. Από διάφορα στοιχεία φαίνεται ότι το ΔΥΛΟ και το α -ΛΟ, εξουδετερώνουν διάφορα ROS, όπως $\cdot\text{OH}$ και HClO . Δεν έχει φανεί όμως να επιδρά ενάντια στο H_2O_2 κανένα από τα δύο. Το α -ΛΟ εξουδετερώνει το μονήρες οξυγόνο, ενώ υπάρχουν στοιχεία που δείχνουν ότι το ΔΥΛΟ αναγεννά άλλα ενδογενή αντιοξειδωτικά και εξουδετερώνει ελεύθερες ρίζες χωρίς να γίνεται το ίδιο ελεύθερη ρίζα (Bast & Haenen, 2003; Biewenga et al., 1997; Kaiser et al., 1989; Devasagayam et al., 1993; Devasagayam et al., 1991; Scott et al., 1994; Suzuki et al., 1991; Yan et al., 1996). Το α -ΛΟ και ιδιαίτερα το ΔΥΛΟ, έχει την ικανότητα να αποτρέπει το σχηματισμό πρωτεϊνικών καρβονυλίων. Οι μελέτες που μας δίνουν τα στοιχεία για το α -ΛΟ και το ΔΥΛΟ και τις αναφέρουν ως αντιοξειδωτικές ουσίες, είναι *in vitro* μελέτες. Ανακύπτει

λοιπόν το ερώτημα εάν το α-ΛΟ και το ΔΥΛΟ είναι το ίδιο αποτελεσματικά εναντίον των ελευθέρων ριζών και *in vivo*. Στοιχεία δείχνουν ότι το α-ΛΟ ίσως βελτιώνει τα επίπεδα του ενδογενούς ασκορβικού οξέος έμμεσα, μέσω μίας διαδικασίας παρακινούμενης πρόσληψης από το πλάσμα του αίματος (Petersen Shay et al., 2009), ενώ αυξάνει την ενδοκυτταρική GSH σε διάφορους ιστούς (Bast & Haenen, 1988; Busse et al., 1992).

Ο μηχανισμός και η δράση του λιποϊκού οξέος όταν παρέχεται εξωτερικά σε κάποιον οργανισμό είναι αμφιλεγόμενη. Πολλοί μηχανισμοί δράσης του λιποϊκού οξέος *in vivo* δεν έχουν ακόμα αποκαλυφθεί. Οι πιθανές ευεργετικές επιδράσεις του λιποϊκού οξέος επιτυγχάνονται με χαμηλά μικρομοριακά επίπεδα. Κάποιες κλινικές δοκιμές σε ανθρώπους με συμπληρώματα λιποϊκού οξέος, έχουν δείξει ότι υπάρχουν αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία των συμμετεχόντων. Σε άλλες μελέτες φάνηκε ότι λήψη συμπληρωμάτων λιποϊκού οξέος σε ποσότητες έως 2400 mg/ημέρα δεν προκάλεσε αρνητικές επιδράσεις σε σύγκριση με τη λήψη εικονικού φαρμάκου. Σε μελέτη όπου χορηγήθηκε ΛΟ από το στόμα σε δόσεις των 1800 mg/ημέρα για έξι μήνες δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές αρνητικές επιδράσεις σε σύγκριση με τη λήψη εικονικού φαρμάκου (Ziegler et al., 1999). Σε άλλη έρευνα (Ziegler et al., 1995), φάνηκε ότι η ενδοφλέβια χορήγηση 600 mg/ημέρα λιποϊκού οξέος για τρεις εβδομάδες δεν προκάλεσε σοβαρές παρενέργειες. Σε μελέτη όπου άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD και μία ομάδα ελέγχου έλαβαν λιποϊκό οξύ ως διατροφικό συμπλήρωμα σε ποσότητα 600 mg/ημέρα, φάνηκε ότι βελτιώθηκε η αντιοξειδωτική ικανότητα και των δύο ομάδων, ενώ προέκυψε αύξηση του ουρικού οξέος μόνο για την ομάδα των ατόμων που παρουσίαζαν έλλειψη του ενζύμου (Georgakouli et al., 2013). Το λιποϊκό οξύ φάνηκε ότι βελτιώνει τη διαχείριση της γλυκόζης και του ασκορβικού οξέος, και ότι ακόμη αυξάνει τη δραστηριότητα της ενδοθηλιακής συνθετάσης του νιτρικού οξειδίου (eNOS).

Το λιποϊκό οξύ χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της διαβητικής πολυνευροπάθειας, για την πρόληψη της υπέρτασης, της αγγειακής νόσου, και της φλεγμονής (Petersen Shay et al., 2009). Επίσης διερευνάται το κατά πόσο μπορεί να διατηρεί σταθερές ή να βελτιώνει νευρολογικές διαταραχές, να περιορίζει την εξέλιξη της καρδιαγγειακής νόσου, καθώς και να βελτιώνει ή να διατηρεί την αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού με το πέρας της ηλικίας.

Η χορήγηση ΛΟ μπορεί να είναι επωφελής σε διάφορα μοντέλα οξειδωτικού στρες όπως σε διαβήτη, καταρράκτη, νευροεκφυλισμό, βλάβη από ακτινοβολία και γήρανση (Cui et al., 2006; Demir et al., 2005; Jariwalla et al., 2008; Kojima et al., 2007; Hagen et al., 1999). Έχει φανεί επίσης ότι η χορήγηση ΛΟ ενισχύει την αντιοξειδωτική άμυνα, καθιστώντας τα κύτταρα πιο ανθεκτικά σε τυχόν έκθεσή τους σε περιβαλλοντικούς παράγοντες, διαφυλάσσοντας με αυτόν τον τρόπο τη λειτουργία του ανοσοποιητικού (Palaniyappan & Alphonse, 2011). Ιδιαίτερα για τα ηλικιωμένα άτομα αυτή η δράση του λιποϊκού οξέος έχει πολύ μεγάλη σημασία, καθώς μελέτες δείχνουν ότι ηλικιωμένα άτομα που διατηρούν τις λειτουργίες του ανοσοποιητικού τους σε ένα υψηλό επίπεδο τείνουν να έχουν μεγάλη διάρκεια ζωής και πιθανώς γίνονται αιωνόβια (Wayne et al., 1990; Pawelek et al., 1999).

Έρευνες δείχνουν ότι η συμπληρωματική χορήγηση ΛΟ αποτρέπει τη σχετιζόμενη με τη γήρανση οξειδωτική βλάβη και αντιστρέφει τη λειτουργική έκπτωση του ήπατος και της καρδιάς (Lykkesfeldt et al., 1998; Suh et al., 2001). Σύμφωνα με την Αμερικάνικη Εταιρία Καρκίνου (American Cancer Society) δεν υπάρχουν αξιόπιστα επιστημονικά δεδομένα που να αποδυναμώνουν ότι το λιποϊκό οξύ εμποδίζει την ανάπτυξη του καρκίνου. Επίσης δεν υπάρχουν αποδείξεις ότι το λιποϊκό οξύ βοηθάει άτομα με μιτοχονδριακές διαταραχές (Pfeffer et al., 2012). Κλινική δοκιμή έδειξε σημαντική επιβράδυνση της

ατροφίας του εγκεφαλικού ιστού σε ασθενείς με σκλήρυνση κατά πλάκας (Spain et al., 2017). Περαιτέρω έρευνα θα μπορούσε να αναδείξει τις πιθανές ευεργετικές δράσεις της συμπληρωματικής λήψης λιποϊκό οξύ σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις.

2.4. Απόδοση κατά την άσκηση σε άτομα με έλλειψη G6PD

Τα άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD είναι ευαίσθητα στο οξειδωτικό στρες είτε αυτό προκαλείται γενικά από διάφορες αιτίες που προαναφέρθηκαν, είτε προκαλείται ειδικά από την άσκηση. Έχει αποδειχθεί ότι το οξειδωτικό στρες σε υψηλά επίπεδα επιφέρει σταδιακά την παθολογική κατάσταση που ονομάζεται οξειδωτική καταπόνηση. Μια από τις δυσλειτουργίες της παθολογικής αυτής καταστάσεως είναι η αναστολή της λειτουργίας ορισμένων ενζύμων. Η αναπνευστική αλυσίδα βασίζεται μεταξύ άλλων στην δράση συγκεκριμένων ενζύμων. Η πιθανή αναστολή (ανάλογα με το επίπεδο καταπόνησης) της ενζυματικής δραστηριότητας ορισμένων εκ των ενζύμων που επηρεάζουν τον κύκλο του κιτρικού οξέος και της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων, θα μπορούσε να επιφέρει μειωμένη ικανότητα παραγωγής έργου σε αυτόν τον πλυθησμό.

Ακόμη τα ROS αποτελούν δυνητικές αιτίες πρόκλησης διάφορων άλλων παθολογικών καταστάσεων, λόγω των επιπτώσεων στη μυοσφαιρίνη, στην αιμοσφαιρίνη και σε πολλούς ακόμη ιστούς. Επιπλέον, η οξεία έκθεση σε οξειδωτική καταπόνηση οδηγεί τους νευρίτες σε διακοπή της νευρομεταβίβασης. Η οξειδωτική ρίζα O_2^- μπορεί να αδρανοποιήσει σημαντικά ένζυμα όπως η κρεατινική κινάση (Halliwell, 1989), αλλά και μία σειρά από άλλα ένζυμα που φέρουν σιδηρο-θειϊκές ομάδες από τις οποίες χάνει εύκολα ο Fe^{2+} (Liochev & Fridovich, 1993).

Η μιτοχονδριακή βλάβη, με επακόλουθο το έλλειμμα ενέργειας, είναι ένα σημαντικότερο αποτέλεσμα του οξειδωτικού στρες (Beal, 1995). Πολλοί ενδιάμεσοι

μεταβολίτες του O_2 μπορούν να αναστείλουν την αναπνευστική αλυσίδα και κυρίως το σύμπλεγμα NADH-ουβικινόνη οξειδοαναγωγή, με αποτέλεσμα τη μείωση της παραγωγής ATP, την επιπλέον διαφυγή ηλεκτρονίων και την περαιτέρω αύξηση παραγωγής O_2^- . Ακόμη, η συνθετάση της πολύ-ADP ριβόζης, αυξάνει την δραστηριότητά της σε συνθήκες καταπόνησης (Cadet & Brannock, 1998) και επιφέρει πολυμερισμό υπολειμάτων ADP ριβόζης, με τελικό αποτέλεσμα τη δραστική μείωση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης του NAD και ως εκ τούτου την επιπλέον μείωση παραγωγής ενέργειας. Η μείωση της παραγωγής ενέργειας με τη συνέχιση της έκθεσης στην ασκησιογενή (και όχι μόνο) καταπόνηση, επιφέρει τη μειωμένη λειτουργία των αντλιών ασβεστίου και τη μείωση της γλουταθειόνης, με αποτέλεσμα την δημιουργία φαύλου κύκλου. Μία σημαντική δράση της GSH που σχετίζεται με την παραγωγή ενέργειας (άρα και με την άσκηση), αφορά την επίδρασή της στον υπεροξυνιτρίτη ($ONOO^-$), στον οποίο επιφέρει μείωση. Υψηλές τιμές $ONOO^-$ είναι δυνατό να προκαλέσουν βλάβη της μιτοχονδριακής αλυσίδας και κυτταρικό θάνατο (Barker et al., 1996).

Συνεπώς, με βάση όλες αυτές τις βιοχημικές πληροφορίες, θα μπορούσε να υποτεθεί ότι η απόδοση κατά την άσκηση σε αυτό τον πλυθησμό είναι μικρότερη, και ακόμη ότι οι πιθανότητες να προκύψουν παρενέργειες από άσκηση υψηλής έντασης είναι αυξημένες. Πιθανώς βέβαια να επηρεάζεται η απόδοση κατά την άσκηση και από το πόσο μειωμένη είναι η δραστικότητα του ενζύμου G6PD σε ένα άτομο.

Ελάχιστες είναι οι μελέτες που έχουν ασχοληθεί με τα επίπεδα απόδοσης των ατόμων αυτών, αφού λόγω της ευαισθησίας τους στο οξειδωτικό στρες θεωρείται ότι γενικά θα πρέπει να αποφεύγουν τη βαριά σωματική άσκηση, κάτι που θα τους προστατέψει από τη μεγάλη παραγωγή των ROS, και με τον τρόπο αυτό θα αποφύγουν

αιμολυτικές καταστάσεις, βλάβες στους μυϊκούς ιστούς, δυσλειτουργίες σε διάφορα άλλα βιολογικά κύτταρα και ότι επίσης θα προστατευτούν από την κόπωση.

Οι περιπτώσεις στις οποίες έχουν καταγραφεί σοβαρά περιστατικά λόγω της άσκησης σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD είναι ελάχιστες (Bresolin et al., 1989; Bresolin et al., 1987; Bresolin et al., 1992; Ninfali et al., 1991; Kimmick et al., 1996). Οι ελάχιστες πειραματικές μελέτες δεν έχουν δείξει ότι παρουσιάζεται σημαντικά μεγαλύτερο επίπεδο οξειδωτικού στρες ή αιμόλυσης στα άτομα με έλλειψη σε σχέση με τα άτομα που παρουσιάζουν κανονική δραστηριότητα του ενζύμου (Nikolaidis et al., 2006; Jamurtas et al., 2006; Theodorou et al., 2010).

Σε έρευνα των Nikolaidis et al., (2006), 9 άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD (μεσογειακή μορφή) και 9 άτομα που αποτελούσαν την ομάδα ελέγχου, ακολούθησαν δύο πρωτόκολλα άσκησης σε δαπεδοεργόμετρο. Το πρώτο πρωτόκολλο αφορούσε άσκηση μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου μέχρι εξάντλησης με σημείο έναρξης την ταχύτητα των 9 χιλιομέτρων ανά ώρα και σημείο τερμάτισμού την εξάντληση. Το δεύτερο πρωτόκολλο αφορούσε άσκηση 45 λεπτών στο 70%-75% της VO_{2max} , και στη συνέχεια αύξηση της έντασης στο 90% της VO_{2max} μέχρι την εξάντληση. Οι δύο αυτές ομάδες είχαν αντίστοιχες ηλικίες και επίπεδο μέγιστης ικανότητας πρόσληψης οξυγόνου. Στο πρωτόκολλο μικρής διάρκειας οι δύο ομάδες δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην άσκηση μέχρι την εξάντληση. Τα ίδια αποτελέσματα προέκυψαν και στο δεύτερο πρωτόκολλο, κατά το οποίο οι δύο ομάδες δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην εκτέλεση της άσκησης.

Σε άλλη έρευνα (Jamurtas et al., 2006), συμμετείχαν 9 ενήλικες άνδρες με μεσογειακού τύπου έλλειψη του ενζύμου G6PD και 9 άνδρες με φυσιολογική δραστηριότητα του ενζύμου (αντίστοιχης ηλικίας, βάρους, ύψους, λιπώδους μάζας και

ικανότητας πρόσληψης οξυγόνου), οι οποίοι μελετήθηκαν ως προς την αντιοξειδωτική ικανότητα και την απόδοσή τους στην άσκηση. Τα άτομα αυτά αρχικά συμμετείχαν σε υπομέγιστο τεστ αερόβιας ικανότητας σε δαπεδοεργόμετρο. Μία εβδομάδα μετά, πραγματοποίησαν δοκιμασία άσκησης στο ίδιο δαπεδοεργόμετρο με ένταση στο 74% περίπου της ΜΚΣ και με διάρκεια 45 λεπτά. Οι αναλύσεις έδειξαν ότι ο αιματοκρίτης σε κατάσταση ανάπαυσης ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερος σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD. Επίσης η δραστικότητα του ενζύμου ήταν 22 φορές χαμηλότερη στα άτομα με έλλειψη. Ωστόσο, η άσκηση δεν επέφερε την παρουσία σωματιδίων Heinz σε καμία από τις δύο ομάδες. Η άσκηση μέτριας έντασης δεν προκάλεσε παρενέργειες στα άτομα με έλλειψη του ενζύμου, οπότε κρίθηκε ασφαλής η συμμετοχή των ατόμων αυτών σε άσκηση μέτριας έντασης και μέσης διάρκειας. Δεν υπάρχουν στοιχεία σε ό,τι αφορά τη διαφορά στην απόδοση κατά την άσκηση μεταξύ των δύο ομάδων στην έρευνα αυτή, καθώς ο σχεδιασμός αφορούσε την εύρεση τυχόν παρενεργειών της άσκησης μέτριας έντασης στα άτομα που παρουσίαζαν έλλειψη.

Σε άλλη μελέτη (Theodorou et al., 2010), συμμετείχαν 9 άτομα (άνδρες) με έλλειψη του ενζύμου και 9 άτομα (άνδρες) χωρίς έλλειψη (ομάδα ελέγχου) σε πρωτόκολλο έκκεντρης άσκησης σε ισοκινητικό δυναμόμετρο. Τα άτομα αυτά πραγματοποίησαν 5 σειρές (σετ) των 15 επαναλήψεων ανά σειρά, έκκεντρες μέγιστες εκούσιες συστολές των εκτεινόντων μυών των δύο γονάτων. Τα αποτελέσματα δεν έδειξαν διαφορές στην ικανότητα για άσκηση με τα παραπάνω χαρακτηριστικά, ανάμεσα στις δύο ομάδες. Οι συγγραφείς αυτής της έρευνας συμπέραναν ότι τα άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD, μπορούν να συμμετέχουν με ασφάλεια σε άσκηση μεγάλης έντασης που επιφέρει μικροβλάβες στον μυϊκό ιστό (όπως είναι η έκκεντρη άσκηση), χωρίς τις πιθανές παρενέργειες που θεωρητικά δύναται να προκύψουν. Ένα τέτοιο συμπέρασμα όμως δεν

είναι ασφαλές, καθώς δεν υπάρχει πλήθος βιβλιογραφικών αναφορών που να ενισχύουν την άποψη αυτή.

Αντίθετα, σε μία έρευνα των Chanda et al., (2015) μελετήθηκαν 18 γυναίκες 18-24 ετών με φυσιολογική έκφραση του γονιδίου G6PD και σε 18 γυναίκες 18-24 ετών με έλλειψη G6PD τύπου Viangchan. Οι γυναίκες αυτές δεν ασκούσαν συστηματικά τους τρεις τελευταίους μήνες και δεν είχαν σοβαρά προβλήματα υγείας. Οι δοκιμασίες στις οποίες υποβλήθηκαν ήταν δύο. Στη μία εκ των δύο δοκιμασιών κλήθηκαν να εκτελέσουν σε δαπεδοεργόμετρο άσκηση μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου (VO_2max). Διαπιστώθηκε ότι στην άσκηση μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου, τα επίπεδα ολικών μικροσωματιδίων (TTMPs) παρουσιάστηκαν αυξημένα σε σχέση με το επίπεδο ηρεμίας και στις δύο ομάδες αμέσως μετά την άσκηση. Ωστόσο η αύξηση των ολικών μικροσωματιδίων στα άτομα με έλλειψη του ενζύμου ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη από αυτή της ομάδας ελέγχου. Με ειδικά αντισώματα διαπιστώθηκε ότι τα μικροσωματίδια προέρχονταν κυρίως από ερυθροκύτταρα και αιμοπετάλια. Επίσης τα επίπεδα MDA (δείκτης υπεροξειδωσής λιπιδίων) ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα στα άτομα με G6PD (Viangchan) σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Στην άλλη δοκιμασία στην οποία οι συμμετέχουσες υποβλήθηκαν σε άσκηση μέτριας έντασης 45 λεπτών, δεν διαπιστώθηκε σημαντική αύξηση των μικροσωματιδίων και δεν διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε οξειδωτικούς δείκτες. Αυτό υποδηλώνει ότι η ένταση της άσκησης και η διάρκεια της παίζουν σημαντικό ρόλο σε ό,τι αφορά το οξειδωτικό στρες. Σε ό,τι αφορά την απόδοση κατά την άσκηση, η ομάδα με την έλλειψη του ενζύμου G6PD (Viangchan) είχε στατιστικά σημαντικά μειωμένα επίπεδα πρόσληψης οξυγόνου [VO_2max 29.4 ± 1.8 (kg/ml/min)], σε σχέση με την ομάδα ελέγχου [VO_2max 38.2 ± 3.3 (kg/ml/min)]. Τα κύρια συμπεράσματα της έρευνας αυτής ήταν, ότι η άσκηση μέτριας έντασης και μέσης χρονικής διάρκειας είναι ασφαλής για τα άτομα με την έλλειψη Viangchan του ενζύμου G6PD, ότι η

υψηλής έντασης άσκηση επιφέρει αύξηση του οξειδωτικού στρες και των κυτταρικών βλαβών στα άτομα με έλλειψη Viangchan του ενζύμου G6PD, και τέλος ότι η απόδοση των ατόμων που παρουσιάζουν αυτή την έλλειψη έχουν ιδιαίτερα χαμηλότερα επίπεδα αερόβιας ικανότητας, άρα και χαμηλότερα επίπεδα απόδοσης κατά την άσκηση.

Συμπερασματικά, φαίνεται ότι η άσκηση είναι ασφαλής για τα περισσότερα άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD, ιδιαίτερα όταν αυτή έχει μέτρια ένταση και μέτριο χρονικό διάστημα εκτέλεσης. Σε ότι αφορά την υψηλής έντασης άσκηση τα αποτελέσματα των ελάχιστων ερευνών δεν συμφωνούν. Έτσι, σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της συμπληρωματικής χορήγησης α -ΛΟ και της οξείας άσκησης σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD (μεσογειακού τύπου).

3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Αρχικά λήφθηκε έγκριση για το πειραματικό πρωτόκολλο από την Επιτροπή Βιοηθικής και Δεοντολογίας του Τμήματος Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού (Τ.Ε.Φ.Α.Α.) του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Παράρτημα Ι). Έπειτα, έγινε καταχώρηση ως κλινική μελέτη στην ιστοσελίδα <https://clinicaltrials.gov/> με κωδικό NCT02937363 (US National Institutes of Health, 2017).

3.1. Συμμετέχοντες

Στην έρευνα συμμετείχαν εθελοντικά υγιή άτομα (ηλικία: $38,4 \pm 5,6$ ετών) με έλλειψη του ενζύμου G6PD (μεσογειακού τύπου). Όλοι οι συμμετέχοντες ενημερώθηκαν για τον σκοπό της μελέτης, τα προσκοδώμενα οφέλη και τους κινδύνους από τις πειραματικές διαδικασίες, και στη συνέχεια υπέγραψαν ένα έντυπο συναίνεσης (Παράρτημα ΙΙ).

Ζητήθηκε από τους συμμετέχοντες να απέχουν από κάθε είδους έντονη φυσική δραστηριότητα δυο ημέρες πριν από κάθε επίσκεψη στο εργαστήριο, όπως επίσης να μην αλλάξουν το επίπεδο της φυσικής τους δραστηριότητας και τις διατροφικές τους συνήθειες. Επίσης, προκειμένου να συμμετάσχουν, έπρεπε να μην έχουν λάβει φαρμακευτική αγωγή που να επηρεάζει τον αντιοξειδωτικό μηχανισμό του οργανισμού το τελευταίο εξάμηνο, καθώς και συμπληρώματα διατροφής που περιέχουν αντιοξειδωτικά. Επιπλέον, από τη μελέτη αποκλείστηκαν άτομα με σοβαρά προβλήματα υγείας κατά το παρελθόν, τα οποία δεν θα τους επέτρεπαν να λάβουν μέρος σε κάποιες από τις αξιολογήσεις. Επίσης αποτράπηκε η συμμετοχή ατόμων με προβλήματα στο ήπαρ και στο γαστρικό σωλήνα (π.χ. έλκος).

3.2. Πειραματικό πρωτόκολλο

Οι συμμετέχοντες έλαβαν μέρος σε δύο καταστάσεις με τυχαία σειρά. Στη μια περίπτωση τους έγινε χορήγηση συμπληρώματος α-ΛΟ (600 mg την ημέρα) για 4 εβδομάδες, ενώ στην άλλη περίπτωση χορήγηση εικονικού σκεύασματος επίσης για 4 εβδομάδες. Μεταξύ της λήψης της κάθε ουσίας υπήρξε μια περίοδος έκπλυσης 4 εβδομάδων. Το συμπλήρωμα α-λιποϊκού οξέος αγοράστηκε από την εταιρία Myprotein, (Cheshire, United Kingdom). Σύμφωνα με τον παρασκευαστή, περιέχει 100% α-ΛΟ που προέρχεται από φυτικές πηγές.

Από τους συμμετέχοντες ζητήθηκε να καταγράψουν τη διατροφή τους για τις δυο ημέρες πριν τις πρώτες μετρήσεις, καθώς και να ακολουθήσουν την ίδια διατροφή πριν από κάθε επόμενη επίσκεψη στο εργαστήριο. Οι συμμετέχοντες προσέρχονταν στο εργαστήριο πρωί, μετά από ολονύκτια νηστεία και αποχή από αλκοόλ και καφεΐνη για 24 ώρες. Οι διάφορες αξιολογήσεις έγιναν πριν και αμέσως μετά το τέλος της συμμετοχής στην κάθε κατάσταση, συνολικά δηλαδή έγιναν τέσσερις φορές. Πριν όμως από την έναρξη της χορήγησης του συμπληρώματος ή του εικονικού φαρμάκου, έγινε και αξιολόγηση της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου (VO₂max).

3.3. Μετρήσεις

Σωματομετρικές αξιολογήσεις

Το ποσοστό του σωματικού λίπους μετρήθηκε με απορροφησιομετρία ακτίνων X διπλής ενέργειας (dual-energy X-ray absorptiometry – DEXA) (Lunar DPX NT, GE Healthcare, UK). Το σωματικό ύψος μετρήθηκε κατά προσέγγιση 0,1 cm και το σωματικό

βάρος κατά προσέγγιση 0.1 kg (Beam Balance, Seca, UK), ενώ οι συμμετέχοντες ήταν ελαφρά ντυμένοι και ξυπόλυτοι.

Επίπεδο φυσικής δραστηριότητας

Ο προσδιορισμός του επιπέδου φυσικής δραστηριότητας των συμμετεχόντων έγινε με τη χρήση της ελληνικής έκδοσης του διεθνούς ερωτηματολογίου του επιπέδου της φυσικής δραστηριότητας (International Physical Activity Questionnaire - IPAQ) (Parathanasiou et al., 2009).

Εκτίμηση μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου (VO_{2max})

Ο κάθε συμμετέχοντας έλαβε μέρος σε μια δοκιμασία εκτίμησης της VO_{2max} σε χώρο με ελεγχόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες (~22°C, ~50% υγρασία). Αρχικά έγινε προθέρμανση στο δαπεδοεργόμετρο, όπου επιβεβαιώθηκε ότι ο εξεταζόμενος μπορούσε να κατεβαίνει από αυτό ασφαλώς κάνοντας 2-3 δοκιμαστικές εξόδους στηριζόμενος στα χέρια και ανοίγοντας τα πόδια, ώστε να πατήσει εκτός του περιστρεφόμενου τάπητα. Επίσης έγινε εξήγηση των σημάτων που μπορούσε να κάνει με τα χέρια στον εξεταστή, ώστε να επικοινωνεί μαζί του (αντίχειρας πάνω: όλα καλά, αντίχειρας κάτω: κάτι ενοχλεί/κούραση/πλησιάζει το τέλος της άσκησης).

Στη συνέχεια ο συμμετέχοντας συνδέθηκε με τον εξοπλισμό αξιολόγησης, δηλαδή τη μάσκα αναλυτή και το καρδιοσυχνόμετρο (Polar RC3 GPS HR; Polar Electro Oy, Kempele, Finland). Η ταχύτητα έναρξης της άσκησης υπολογίστηκε να είναι κοντά στο 60% της VO_{2max} , ώστε η συνολική διάρκεια του πρωτοκόλλου να είναι μεταξύ 8-12 λεπτών. Τα πρώτα δυο λεπτά της άσκησης (~60% της VO_{2max}) η ταχύτητα ήταν σταθερή

και έπειτα κάθε λεπτό αυξανόταν κατά 0,5 χιλιόμετρα/ώρα (km/h). Γινόταν παρακίνηση του συμμετέχοντα να συνεχίσει την άσκηση για όσο περισσότερο γινόταν ώστε να φθάσει στο ανώτατο φυσιολογικό όριο παραγωγής έργου και η προσπάθειά του να είναι μέγιστη.

Αξιολογήσεις απόδοσης κατά την άσκηση

Χρόνος μέχρι την εξάντληση (αξιολόγηση αερόβιας αντοχής): Ο χρόνος μέχρι την εξάντληση καταγράφηκε έπειτα από δοκιμασία σε δαπεδοεργόμετρο. Πιο συγκεκριμένα, οι συμμετέχοντες έτρεξαν για 45 λεπτά σε ένταση που ανταποκρίνονταν στο 70-75% της VO_2max τους (που είχε καθοριστεί νωρίτερα). Με το πέρας των 45 λεπτών, οι συμμετέχοντες έτρεξαν σε ταχύτητα που ανταποκρίνονταν στο 90% της VO_2max τους, μέχρι να επέλθει εξάντληση και να σταματήσουν. Καθόλη τη διάρκεια της μέτρησης γινόταν έλεγχος της καρδιακής συχνότητας με καρδιοσυχνόμετρο (Polar RC3 GPS HR; Polar Electro Oy, Kempele, Finland), καθώς και της ανταλλαγής αερίων μέσω σταθερού αναλυτή αερίων. Επιπλέον, κάθε πέντε λεπτά γινόταν ερώτηση για την αντιλαμβανόμενη αίσθηση κόπωσης (Borg scale).

Μέγιστη ισοκινητική ροπή δύναμης (αξιολόγηση μυικής αντοχής): Η μέτρηση της μέγιστης ισοκινητικής ροπής των εκτεινόντων (Q30 and Q90) και καμπτήρων (H30 and H90) του γονάτου, στις γωνιακές ταχύτητες των 30 και 90°/s, έγινε με το ισοκινητικό μηχάνημα Cybex 340 (Lymex Corporation, Ronkhoma, NY). Συνοπτικά, εκτελέστηκαν τρεις μέγιστες προσπάθειες σε κάθε αξιολόγηση για κάθε πόδι και καταγράφηκε η προσπάθεια με το καλύτερο αποτέλεσμα. Οι συμμετέχοντες είχαν ικανοποιητικό χρόνο ανάπαυσης μεταξύ των διαφόρων δοκιμασιών, ενώ κατά τη διάρκεια όλων των προσπαθειών ενθαρρύνονταν λεκτικά και είχαν ανατροφοδότηση για τις επιδόσεις τους.

Αξιολογήθηκε η μέγιστη βουλητική ισομετρική σύσπαση (Maximum Voluntary Contraction – MVC).

Δραστικότητα G6PD

Οι συμμετέχοντες προσήλθαν στο εργαστήριο πριν ξεκινήσει η πειραματική διαδικασία για τον ποσοτικό προσδιορισμό της δραστικότητας του G6PD στα ερυθροκύτταρα. Η αιμοληψίες έγιναν πρωινές ώρες, μετά ολονύκτια νηστεία και αποφυγή έντονης φυσικής δραστηριότητας τις 2 προηγούμενες ημέρες. Λήφθηκε αίμα (3 ml) μετά από ξεκούραση για 5 λεπτά τουλάχιστον, το οποίο τοποθετήθηκε σε φυαλίδια με EDTA, ενώ έγινε αμέσως ανάδευση.

Έγινε ποσοτικός, υπεριώδης, κινητικός προσδιορισμός του G6PDH στο αίμα με αντιδραστήρια της Trinity Biotech Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (Trinity Biotech, Jamestown, NY). Το φασματοφωτόμετρο που χρησιμοποιήθηκε για την μέτρηση της απορρόφησης στα 340nm ήταν το Hitachi U-1900 (Hitachi, Tokyo, Japan).

Στη συνέχεια, προκειμένου να εκφραστεί η δραστικότητα του G6PD ως U/g αιμοσφαιρίνης (Hb), έπρεπε να μετρηθεί και η Hb στο αίμα. Έτσι, μια ποσότητα από το αίμα που λήφθηκε, χρησιμοποιήθηκε για γενική εξέταση αίματος σε αυτόματο αναλυτή (Mythic 18 Orphée, Orphée Medical, Geneva, Switzerland). Η κάθε εξέταση έγινε εις διπλούν και λήφθηκε ο μέσος όρος.

Σύμφωνα με τις οδηγίες του εγχειριδίου για τον προσδιορισμό της δραστικότητας του G6PD, οι φυσιολογικές τιμές κυμαίνονται μεταξύ 4.5-13.5 U/g Hb.

3.4. Στατιστική ανάλυση

Πραγματοποιήθηκε περιγραφική στατιστική για τον υπολογισμό του μέσου όρου της δραστηριότητας του G6PD και της ηλικίας των συμμετεχόντων. Πραγματοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης 2 παραγόντων (κατάσταση x χρόνος) με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις στο χρόνο (repeated measures analysis of variance) για να διαπιστωθούν τυχόν διαφορές μεταξύ των δύο καταστάσεων (α-ΛΟ και εικονικό σκεύασμα) και των δυο χρονικών στιγμών που έγιναν οι μετρήσεις (πριν και αμέσως μετά).

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέσος όρος \pm τυπικό σφάλμα. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας τέθηκε $p = 0.05$. Το στατιστικό πακέτο SPSS έκδοση 18.0 χρησιμοποιήθηκε για όλες τις αναλύσεις (SPSS Inc., USA).

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Δραστικότητα του G6PD. Η δραστικότητα του G6PD στα ερυθροκύτταρα των συμμετεχόντων ήταν 0.502 ± 0.01 U/g Hb, σαφώς χαμηλότερη από τις φυσιολογικές τιμές (4.6-13.5 U/g Hb).

Σύσταση σώματος. Δεν υπήρξε σημαντική αλλαγή στο σωματικό βάρος, το λίπος και το δείκτη μάζας σώματος (Δ.Μ.Σ.) σε καμία κατάσταση (Πίνακας 3).

Πίνακας 3. Σωματική σύσταση των συμμετεχόντων πριν και μετά από τη χορήγηση συμπληρώματος α-λιποϊκού οξέος και εικονικού σκευάσματος.

	α-Λιποϊκό οξύ		Εικονικό σκεύασμα	
	Πριν	Μετά	Πριν	Μετά
Βάρος (kg)	81.64±5.65	81.67±5.32	81.53±5.96	82.00±5.86
Δ.Μ.Σ. (kg/m²)	25.72±1.33	25.74±1.25	22.70±3.52	22.83±3.52
% Λίπος	25.84±2.16	25.36±2.32	25.43±2.18	26.37±1.92

Σημείωση: Δ.Μ.Σ.: Δείκτης Μάζας Σώματος

Φυσιολογικές παράμετροι. Οι συμμετέχοντες δεν μετέβαλλαν το επίπεδο της φυσικής τους δραστηριότητας καθόλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας, σύμφωνα με το IPAQ. Η καρδιακή συχνότητα ηρεμίας μειώθηκε σημαντικά μετά από 4 εβδομάδες συμπληρωματικής λήψης α-ΛΟ (Πίνακας 4)

Απόδοση κατά την άσκηση. Ο χρόνος μέχρι εξάντληση στη δοκιμασία στο δαπεδοεργόμετρο δεν μεταβλήθηκε μετά από τη χορήγηση είτε του συμπληρώματος είτε

του εικονικού σκευάσματος. Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκε διαφορά στην MVC των καμπτήρων και των εκτεινόντων των γονάτων (Πίνακας 4).

Πίνακας 4. Φυσιολογικές παράμετροι και απόδοση κατά την άσκηση των συμμετεχόντων πριν και μετά από τη χορήγηση συμπληρώματος α-λιποϊκού οξέος και εικονικού σκευάσματος.

	α-Λιποϊκό οξύ		Εικονικό σκεύασμα	
	Πριν	Μετά	Πριν	Μετά
ΚΣΗ	63.43±2.57	59.29±1.91*	62.14±2.53	62.00±2.73
IPAQ (MET-min/week)	1226±336	1199±281	922±323	981±336
Χρόνος μέχρι την εξάντληση (s)	198.9±37.0	246.9±37.6	207.9±37.4	267.4±36.4
MVC (Εκτείνοντες)				
- Αριστερός	206.8±18.1	205.3±23.6	196.3±18.8	202.8±22.0
- Δεξιός	213.8±15.7	231.5±22.5	209.8±10.7	220.5±11.1
MVC (Καμπτήρες)				
- Αριστερός	170.7±14.4	169.3±10.4	164.8±10.9	172.7±12.4
- Δεξιός	169.2±18.8	169.0±13.8	167.7±14.3	172.2±14.2

Σημείωση: *Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με την αρχική τιμή (πριν) στην ίδια κατάσταση. ΚΣΗ: Καρδιακή Συχνότητα Ηρεμίας; IPAQ: International Physical Activity Questionnaire; MET: Metabolic Equivalent of Task; MVC: Maximum Voluntary Contraction (Μέγιστη βουλητική ισομετρική σύσπαση).

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα εργασία διερεύνησε για πρώτη φορά την επίδραση μίας διατροφικής αντιοξειδωτικής ουσίας στην απόδοση κατά την άσκηση σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD. Φάνηκε ότι η συμπληρωματική χορήγηση α-ΛΟ δεν προκάλεσε μεταβολές στους δείκτες απόδοσης στα άτομα με αυτή την έλλειψη, καθώς ούτε στα σωματομετρικά χαρακτηριστικά τους.

Όσον αφορά τα σωματομετρικά χαρακτηριστικά, φάνηκε ότι δεν άλλαξε η σύσταση σώματος των συμμετεχόντων μετά τη χορήγηση του συμπληρώματος. Έτσι, τυχόν μεταβολές στην απόδοση κατά την άσκηση, δεν θα μπορούσαν να αποδοθούν σε αλλαγές στη σύσταση σώματος.

Διάφοροι άλλοι παράγοντες θα μπορούσαν να επηρεάσουν επίσης την απόδοση κατά την άσκηση στα άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD. Ένας από αυτούς είναι τα επίπεδα αντιοξειδωτικής ικανότητας. Στην παρούσα μελέτη δεν έχει γίνει ανάλυση δεικτών της οξειδοαναγωγικής κατάστασης, ωστόσο σε προηγούμενη μελέτη των Georgakouli et al. (2013), φάνηκε ότι η συμπληρωματική χορήγηση α-ΛΟ για 4 εβδομάδες επέφερε αύξηση της GSH, της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (Total Antioxidant Capacity - TAC), της καταλάσης και του ουρικού οξέος, ενώ μειώθηκαν τα πρωτεϊνικά καρβονύλια (δείκτης οξείδωσης πρωτεϊνών) και οι ουσίες που αντιδρούν με θειοβαρβιτουρικό οξύ (Thiol-Barbituric Acid Reactive Substances – TBARS, δείκτης λιπιδικής υπεροξείδωσης) σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD. Επομένως, είναι πιθανό και στην παρούσα μελέτη να επηρεάστηκε η οξειδοαναγωγική κατάσταση των συμμετεχόντων, χωρίς όμως αυτό να έχει επιφέρει κάποια επίδραση στην απόδοση κατά την άσκηση. Πράγματι, σε έρευνα των Nikolaidis et al. (2006), 9 άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD και 9 άτομα με φυσιολογική δραστηριότητα του ενζύμου (παρόμοιας ηλικίας και VO_{2max}) ακολούθησαν

το ίδιο πρωτόκολλο άσκησης μέχρι εξάντλησης με αυτό που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία. Οι δύο ομάδες δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην απόδοση κατά την άσκηση, ενώ και οι αποκρίσεις του οξειδοαναγωγικού συστήματος ήταν παρόμοιες. Αυτό θα μπορούσε να οφείλεται στην ανάπτυξη αντιροπιστικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών των κυττάρων των ατόμων με έλλειψη του G6PD, ώστε να είναι ικανά να καταπολεμήσουν το ασκησιογενές οξειδωτικό στρες σε τέτοιο βαθμό που να μην επηρεάζονται αρνητικά τα συστήματα του οργανισμού που συμβάλλουν στην απόδοση κατά την άσκηση (όπως οι μύες). Έτσι, η συμπληρωματική χορήγηση αντιοξειδωτικών, τουλάχιστον στη διάρκεια και ποσότητα χορήγησης στην παρούσα μελέτη, μπορεί να μην αποτελεί παράγοντα διαφοροποίησης των αποκρίσεων κατά την άσκηση αυτών των συστημάτων. Προσδιορισμός των δεικτών οξειδοαναγωγικής κατάστασης θα βοηθούσε στην καλύτερη κατανόηση και ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Επιπλέον, η μέγιστη ισοκινητική ροπή δύναμης των εκτεινόντων και καμπτήρων των γονάτων δεν άλλαξε μετά τη χορήγηση του συμπληρώματος. Σε προηγούμενη από τους Theodorou et al. (2010), άτομα με έλλειψη του ενζύμου φάνηκε να έχουν ίδια απόδοση και αποκρίσεις κατά την έκκεντρη άσκηση υψηλής έντασης με αυτές ατόμων με φυσιολογική δραστηριότητα του ενζύμου, υποδηλώνοντας ότι αυτή η άσκηση είναι ασφαλής, χωρίς τις πιθανές παρενέργειες που θεωρητικά δύναται να προκύψουν. Έτσι, μπορεί και με βάση αυτή την παρατήρηση να γίνει η υπόθεση ότι οι αποκρίσεις των ατόμων με έλλειψη του ενζύμου δεν διαφέρουν σε μεγάλο βαθμό από αυτές φυσιολογικών ή ότι το σχήμα χορήγησης του συμπληρώματος δεν ήταν επαρκές ώστε να επιφέρει αλλαγές που θα μπορούσαν να μεταβάλλουν και τη μυϊκή αντοχή κατά την άσκηση.

Τέλος η καρδιακή συχνότητα ηρεμίας παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά μετά την λήψη του α-λιποϊκού οξέος. Το εύρημα αυτό θα ήταν αρκετά σημαντικό εάν στην

παρούσα μελέτη θα βρίσκαμε διαφορά στην απόδοση των εξεταζόμενων. Στην προκειμένη περίπτωση όμως μπορεί να προέκυψε αυτή η στατιστικά σημαντική διαφορά λόγω του μικρού αριθμού των εξεταζόμενων.

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Ελάχιστες μελέτες έχουν ασχοληθεί με την απόδοση κατά την άσκηση (Nicolaidis et al., 2006; Jamurtas et al., 2006; Theodorou et al., 2010) ατόμων με έλλειψη του G6PD. Τα μέχρι στιγμής στοιχεία δείχνουν ότι το επίπεδο οξειδωτικού στρες στα άτομα με την έλλειψη είναι παρόμοιο με αυτό ατόμων που παρουσιάζουν κανονική δραστηριότητα του ενζύμου, ενώ επίσης δεν δημιουργείται αιμόλυση (Nicolaidis et al., 2006; Jamurtas et al., 2006; Theodorou et al., 2010). Ελάχιστες επίσης μελέτες έχουν καταγράψει περιστατικά με σοβαρές διαταραχές μετά από άσκηση (Bresolin et al., 1989; Bresolin et al., 1987; Bresolin et al., 1992; Ninfali et al., 1991; Kimmick et al., 1996).

Με τα μέχρι στιγμής στοιχεία, θα μπορούσε να ειπωθεί ότι η άσκηση μέτριας έως υψηλής έντασης και μέτριας διάρκειας είναι ασφαλής για τα άτομα με μειωμένη δραστηριότητα του ενζύμου. Σε ότι αφορά την απόδοση κατά την άσκηση, δεν υπάρχει ικανός αριθμός μελετών με πρωτόκολλα τα οποία να στοχεύουν στην ανάδειξη της απάντησης σε αυτό το ζήτημα. Οπότε δεν μπορεί να γίνει ασφαλής εκτίμηση σε ό,τι αφορά το επίπεδο απόδοσης στο οποίο μπορούν να φτάσουν τα άτομα που παρουσιάζουν μειωμένη δραστηριότητα του ενζύμου G6PD, σε σχέση με τα άτομα που έχουν φυσιολογική δραστηριότητα του εν λόγω ενζύμου. Χρειάζεται περαιτέρω έρευνα για να φανεί εάν η άσκηση πολύ μεγάλης έντασης και μεγάλης διάρκειας, μπορεί να επιφέρει βλάβες στους ιστούς των ατόμων με έλλειψη του ενζύμου G6PD.

Επιπρόσθετα, ένας άλλος παράγοντας που θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη είναι ο τύπος της έλλειψης του G6PD και το επίπεδο δραστηριότητα αυτού, καθώς διαφορετικοί τύποι έλλειψης μπορεί να επιφέρουν διαφορετικές αποκρίσεις κατά την άσκηση. Θεωρητικά, όσο μικρότερη είναι η δραστηριότητα, τόσο μεγαλύτερη θα είναι και η πιθανότητα για αύξηση του οξειδωτικού στρες και των αρνητικών συνεπειών που μπορούν

να επέλθουν μετά από άσκηση. Σε μία μελέτη των Chanda et al. (2015), άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD (τύπου Viangchan) είχε σημαντικά μειωμένα επίπεδα πρόσληψης οξυγόνου σε σχέση με φυσιολογικά. Επίσης, φάνηκε ότι η υψηλής έντασης άσκηση μπορεί να επιφέρει αύξηση του οξειδωτικού στρες και των κυτταρικών βλαβών στα άτομα με έλλειψη Viangchan του ενζύμου G6PD, και τέλος ότι η απόδοση των ατόμων που παρουσιάζουν αυτή την έλλειψη έχουν ιδιαίτερα χαμηλότερα επίπεδα αερόβιας ικανότητας, άρα και χαμηλότερα επίπεδα απόδοσης κατά την άσκηση. Αυτά τα αποτελέσματα έρχονται σε αντίθεση με τα εκείνα μελετών που αναφέρθηκαν νωρίτερα όπου οι συμμετέχοντες είχαν τον μεσογειακό τύπο της έλλειψης.

Τέλος, μελέτες σε μεγαλύτερο δείγμα που θα περιλαμβάνουν και τη σύγκριση της απόδοσης κατά την άσκηση μετά από ένα πρόγραμμα παρέμβασης μεταξύ ατόμων με και χωρίς την έλλειψη του G6PD, μπορεί να δώσουν περισσότερες πληροφορίες.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Αγγλόγωνα βιβλιογραφία

American Cancer Society. "Lipoic Acid". November 2008. Retrieved 5 October 2013.

Aguilo, A., Tauler, P., Sureda, A., Cases, N., Tur, J., & Pons, A. (2007). Antioxidant diet supplementation enhances aerobic performance in amateur sportsmen. *Journal of Sports Sciences*, 25, 1203-10.

Anuradha, B. & Varalakshmi, P. (1999). Protective role of DL-alpha-lipoic acid against mercury-induced neural lipid peroxidation. *Pharmacol. Res.*, 39, 67–80.

Aoyama, Y., Amano, N. & Yoshida, A. (1999). Cholesterol synthesis and degradation in normal rats fed a cholesterol-free diet with excess cysteine. *Lipids*, 34, 583–589.

Au, S.W., Gover S, Lam VM, Adams MJ. (2000). Human glucose-6-phosphate dehydrogenase: the crystal structure reveals a structural NADP(+) molecule and provides insights into enzyme deficiency. *Structure*, 8, 293-303.

Ashton, T., Young, I.S., Peters, J.R., Jones, E., Jackson, S.K., Davies, B., Rowlands, C.C. (1985). Electron spin resonance spectroscopy, exercise, and oxidative stress: an ascorbic acid intervention study. *J Appl Physiol*, 87(6), 2032-2036.

Barker, J.E., Bolanos, J.P., Land, J.M., Clark, J.B., Heales, S.J.R. (1996). Glutathione protects astrocytes from peroxynitrite-mediated mitochondrial damage: Implications for neuronal/astrocytic trafficking and neurodegeneration. *Dev Neurosci*, 18, 391-396.

Bast, A. & Haenen, G.R. (1988). Interplay between lipoic acid and glutathione in the protection against microsomal lipid peroxidation. *Biochim Biophys Acta*, 963, 558–561.

- Bast, A. & Haenen, G.R. (2003). Lipoic acid: a multifunctional antioxidant. *Biofactors*, 17, 207–213.
- Beal, M.F. (1995). Aging, energy, and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Ann Neurol*, 38, 357-366.
- Berger, B. G., Pargman, D., & Weinberg, R. S. (2007). Foundations of exercise psychology (2nd ed.). Morgantown, WV: Fitness Information Technology.
- Beutler, E. 1994. G6PD deficiency. *Blood*, 84, 3613-36.
- Bresolin, N., Bet, L., Moggio, M., Meola, G., Comi, G., Gilardi, A., et al., (1987). Muscle G6PD deficiency. *Lancet*, 330, 212-3.
- Bresolin, N., Bet, L., Moggio, M., Meola, G., Fortunato, F., Comi, G., Adobbati, L., Geremia, L., Pittalis, S., Scarlato, G. (1989). Muscle glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *J Neurol*, 236, 193-8.
- Biewenga, G.P., Haenen, G.R., Bast, A. (1997). The pharmacology of the antioxidant lipoic acid. *Gen Pharmacol*, 29, 315-31.
- Busse, E., Zimmer, G., Schopohl, B., Kornhuber, B. (1992). Influence of alpha-lipoic acid on intracellular glutathione in vitro and in vivo. *Arzneimittelforschung*, 42, 829-31.
- Cadet, J.L. & Brannock, C. (1998). Free radicals and pathobiology of brain dopamine systems. *Newrochem Int*, 32, 117-131.
- Chan, A.C., Chow, C.K. & Chiu, D. (1999). Interaction of antioxidants and their implication in genetic anemia. *P.S.E.B.M.*, 222, 274-282.
- Chanda, M., Nantakomol, D., Suksom, D., Palasuwan, A. (2015). Cell-derived microparticles after exercise in individuals with G6PD Viangchan. *Clin Hemorheol Microcirc*, 60, 241-51.

- 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-46S.
- Counous, G. (2000). Whey protein concentrate (WPC) and glutathione modulation in cancer treatment. *Anticancer Res*, 20, 4785-4789.
- Cui, X., Zuo, P., Zhang, Q., Li, X., Hu, Y., Long, J., Packer, L. & Liu, J. (2006). Chronic systemic D-galactose exposure induces memory loss, neurodegeneration, and oxidative damage in mice: protective effects of R-alpha-lipoic acid. *J. Neurosci. Res.*, 83, 1584-1590.
- Di Monte, D.A., Chan, P., Sandy, M.S. (1992). Glutathione in Parkinson's disease: a link between oxidative stress and mitochondrial damage? *Ann Neurol*, 32 Suppl, S111- S115.
- Demir, U., Demir, T. & Ilhan, N. (2005). The protective effect of alpha-lipoic acid against oxidative damage in rabbit conjunctiva and cornea exposed to ultraviolet radiation. *Ophthalmologica*, 219, 49-53.
- Devasagayam, T.P., di Mascio, P., Kaiser, S. & Sies, H. (1991). Singlet oxygen induced singlestrand breaks in plasmid pBR322 DNA: the enhancing effect of thiols. *Biochim. Biophys. Acta*, 1088, 409-412.
- Devasagayam, T.P., Subramanian, M., Pradhan, D.S. & Sies, H. (1993). Prevention of singlet oxygen-induced DNA damage by lipoate. *Chem. Biol. Interact.*, 86, 79-92.
- El-Zoghby, S.M., Helmy, M.H., Ghanem, A.M., Hanafi, M.Y., El-Nabi Kamela, M.A., El-Sayed, A.A. (2007). The status of antioxidant defences in g-6-pd deficient patients. The role of antioxidants to ameliorate hemolytic crisis. *The Egyptian Journal of Biochemistry & Molecular Biology*, 25 (2), 114-133.
- Frank, J.E. (2005). Diagnosis and Management of G6PD Deficiency. *Am Fam Physician*, 72, 1277-82.

- Gaetani, G.F., Rolfo, M., Arena, S., Mangerini, R., Meloni, G.F., Ferraris, A.M. (1996). Active Involvement of Catalase During Hemolytic Crises of Favism. *Blood*, 88(3), 1084-8.
- Gems, D. & Partridge, L. (2008). Stress-response hormesis and aging: "that which does not kill us makes us stronger". *Cell Metab*, 7(3), 200-3.
- Georgakouli, K., Deli, C.K., Zalavras, A., Fatouros, I.G., Kouretas, D., Koutedakis, Y., Jamurtas, A.Z. (2013). A-lipoic acid supplementation up-regulates antioxidant capacity in adults with G6PD deficiency. *Food Chem Toxicol*, 61, 69-73.
- Goldfarb AH. (1993). Antioxidants: Role of supplementation to prevent exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc*, 25(2), 232-236.
- Goldfarb, A.H., McIntosh, M.K., Boyer, B.T., Fatouros, J. (1994). Vitamin E effects on indexes of lipid peroxidation in muscle from DHEA-treated and exercised rats. *J Appl Physiol* (1985), 76(4), 1630-1635.
- Gutteridge, J.M. & Halliwell, B. (1994). Antioxidants in nutrition, health, and disease. New York. *Oxford University Press*, 111-123.
- Ha, SB1., Smith, A.P., Howden, R., Dietrich, W.M., Bugg. S., O'Connell, M.J., Goldsbrough, P.B., Cobbett, C.S. (1999). Phytochelatin synthase genes from Arabidopsis and the yeast Schizosaccharomyces pombe. *Plant Cell*. 11(6):1153-64.
- Hagen, T.M., Ingersoll, R.T., Lykkesfeldt, J., Liu, J., Wehr, C.M., Vinarsky, V., Bartholomew, J.C., Ames, A.B. (1999). R-alpha-lipoic acid-supplemented old rats have improved mitochondrial function, decreased oxidative damage, and increased metabolic rate. *FASEB J*, 13, 411-418.

Halliwell B. (1989). Oxidants and the central nervous system: some fundamental questions. Is oxidant damage relevant to Parkinson's disease, Alzheimer's disease, traumatic injury or stroke? *Acta Neurol Scand Suppl*, 126, 23-33.

Halliwell B, Cuttidge JMC. Free radicals in biology and medicine. Oxford, Clarendon Press. 1989.

Halliwell, B., & Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol*, 142(2), 231-255.

Halprin, Kenneth (1967). «The Measurement of Glutathione in Human Epidermis using Glutathione Reductase». *Journal of Investigative Dermatology* 48(2), 149.

Han, D., Sen, C.K., Roy, S., Kobayashi, M.S., Tritschler, H.J., Packer L. (1997). Protection against glutamate-induced cytotoxicity in C6 glial cells by thiol antioxidants. *Am. J. Physiol*, 273, R1771–R1778.

Ho, H.Y., Cheng, M.L., Chiu, D.T. (2007). Glucose-6-phosphate dehydrogenase – from oxidative stress to cellular functions and degenerative diseases. *Redox Report*, 12(3), 109-118.

Hornberger, C.S., Heitmiller, R.F., Gunsalus, I.C., Schnakenberg, G.H.F. et al., (1953). "Synthesis of DL—lipoic acid". *Journal of the American Chemical Society*, 75 (6), 1273–7.

Hornberger, C.S., Heitmiller, R.F., Gunsalus, I.C., Schnakenberg, G.H.F., et al., (1952). "Synthetic preparation of lipoic acid". *Journal of the American Chemical Society*. 74 (9), 2382.

- Jamurtas, A.Z., Fatouros, I.G., Koukousias, N., Manthou, E., Tofas, T., Yfanti, C., Nikolaidis, M.G., Koutedakis, Y. (2006). Effect of exercise on oxidative stress in individuals with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *In Vivo*, 20(6B), 875-80.
- Jariwalla, R.J., Lalezari, J., Cenko, D., Mansour, S.E., Kumar, A., Gangapurkar, B., Nakamura, D. (2008). Restoration of blood total glutathione status and lymphocyte function following alpha-lipoic acid supplementation in patients with HIV infection. *J. Altern. Complement. Med.*, 14, 139–146.
- Kaiser, S., di Mascio, P., Sies, H. (1989). Lipoat und Singulett-sauerstoff, in: H.O. Borbe, H. Ulrich (Eds.), *Thioctseure*, pmi Verlag GmbH, Frankfurt, pp. 69–76.
- Kalafati, M., Jamurtas, A.Z., Nikolaidis, M.G., Paschalis, V., Theodorou, A.A., Sakellariou, G.K., Koutedakis, Y., Kouretas, D. (2010). Ergogenic and antioxidant effects of spirulina supplementation in humans. *Med Sci Sports Exerc*, 42(1), 142-51.
- Kanter, M.M. & Williams, M.H. (1995). Antioxidants, carnitine, and choline as putative ergogenic aids. *Int J Sport Nutr*, 5 Suppl, S120-31.
- Kimmick, G. & Owen J. (1996). Rhabdomyolysis and hemolysis associated with sickle cell trait and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *South Med J*, 89(11), 1097-8.
- Kleeman, A; Borbe, HO; Ulrich, H. (1991). "Thioctic Acid-Lipoic Acid". In Borbe, HO; Ulrich, H. *Thioctsäure: Neue Biochemische, Pharmakologische und Klinische Erkenntnisse zur Thioctsäure [Thioctic Acid. New Biochemistry, Pharmacology and Findings from Clinical Practice with Thioctic Acid]*. Symposium at Wiesbaden, DE, 16–18 February 1989. Frankfurt, DE: Verlag. pp. 11–26.
- Krissansen, G.W. (2007). Emerging Health Properties of Whey Proteins and Their Clinical Implications. *Journal of the American College of Nutrition*, 26 (6), 713S–723S.

- Kojima, M., Sun, L., Hata, I., Sakamoto, Y., Sasaki, H., Sasaki, K., (2007). Efficacy of alpha-lipoic acid against diabetic cataract in rat. *Jpn. J. Ophthalmol*, 51, 10–13.
- Kwok, C.J., Martin, A.C., Au, S.W., Lam, V.M. (2002). G6PDdb, an integrated database of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutations. *Hum Mutat*, 19(3), 217-24.
- Laosombat, V., Sattayasevana, B., Chotsampancharoen, T., Wongchanchailert, M. (2006). Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Variants Associated with Favism in Thai Children. *Int J Hematol*, 83(2), 139-43.
- Lehninger A.L. (1975). Biochemistry. 2nd edition. New York, Worth, pp. 693-727.
- Leopold, J.A., Cap, A., Scribner, A.W., Stanton, R.C. & Loscalzo, J. (2001). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency promotes endothelial oxidant stress and decreases endothelial nitric oxide bioavailability. *FASEB J*, 15(10), 17771-3.
- Lim, F., Vulliamy, T. & Abdalla, S.H. (2005). An Ashkenazi Jewish woman presenting with favism. *J Clin Pathol*, 58(3), 317-9.
- Liochev, S.I. & Fridovits I. 1994. The role of $O_2^{\bullet -}$ in the production of HO^{\bullet} : in vitro and in vivo. *Free Radic Biol Med* 16, 29-33.
- Lodge, J.K., Traber, M.G. & Packer, L. (1998). Thiol chelation of Cu^{2+} by dihydrolipoic acid prevents human low density lipoprotein peroxidation. *Free Radic. Biol. Med.*, 25, 287–297.
- Lopez-Burillo, S., Tan, D.X., Mayo, J.C., Sainz, R.M., Manchester, L.C. & Reiter, R.J. (2003). Melatonin, xanthurenic acid, resveratrol, EGCG, vitamin C and alpha-lipoic acid differentially reduce oxidative DNA damage induced by Fenton reagents: a study of their individual and synergistic actions. *J. Pineal Res.*, 34, 269–77.

- Luzzatto, L. & Battistuzzi, G. (1985). Glucose 6-phosphate dehydrogenase. *Adv Hum Genet*, 14, 217-329.
- Lykkesfeldt, J., Hagen, T.M., Vinarsky, V. & Ames, B.N. (1998). Age-associated decline in ascorbic acid concentrations recycling and biosynthesis in rat hepatocytes – reversal with (R)- α -lipoic acid supplementation. *FASEB J*, 12, 1183–1189.
- Marcason, W. (2007). Is supplementation of B vitamins still recommended to reduce the risk of heart disease? *J Am Diet Assoc*, 107, 525–31.
- McNamara, J.O. & Fridowich, I. (1993). Did free radicals strike Lou Gehrig? *Nature*, 362, 20-21.
- Mehta, A., Mason, P.J., Vulliamy, T.J. (2000). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol*, 13(1), 21-38.
- Meister, A. (1994). Glutathione, ascorbate, and cellular protection. *Cancer Res*, 54 (7 Suppl), 1969-1975.
- Meyers, D.G., Maloley, P.A., Weeks, D. (1996). Safety of antioxidant vitamins. *Arch Intern Med*, 156(9), 925-35.
- Missiou-Tsagaraki, S. (1991). Screening for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency as a preventive measure: prevalence among 1,286,000 Greek newborn infants. *J Pediatr*, 119(2), 293-299.
- Naziroğlu, M., Kiliç, F., Uğuz, A.C., Celik, O., Bal, R., Butterworth, P.J., Baydar, M.L. (2010). Oral vitamin C and E combination modulates blood lipid peroxidation and antioxidant vitamin levels in maximal exercising basketball players. *Cell Biochem Funct*, 28(4), 300-5.

- Nikolaidis, M.G., Jamurtas, A.Z., Paschalis, V., Kostaropoulos, I.A., Kladi-Skandali, A., Balamitsi, V., Koutedakis, Y., Kouretas, D. (2006). Exercise-induced oxidative stress in G6PD-deficient individuals. *Med Sci Sports Exerc*, 38(8), 1443-50.
- Ninfali, P., Bresolin, N., Baronciani, L., Fortunato, F., Comi, G., Magnani, M., et al., (1991) Glucose-6-phosphate dehydrogenase Lodi 844 C: A study on its expression in blood cells and muscle. *Enzyme*, 45, 180-7.
- Ninfali, P. & Bresolin N. (1995). Muscle Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD) Deficiency and Oxidant Stress During Physical Exercise. *Cell BiochemFunct*, 13, 297-8.
- Ninfali, P., Baronciani, L., Bardoni, A., Bresolin N. (1995). Muscle expression of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in different variants. *Clin Genet*, 48(5), 232-7.
- Oehler, R. & Roth, E. (2003) Regulative capacity of glutamine. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 6, 277–282.
- Olney, J. W. & Ho, O. L. (1970) Brain damage in infant mice following oral intake of glutamate, aspartate or cysteine. *Nature (Lond.)*, 227, 609–611.
- Packer, L., Kraemer, K. & Rimbach, G. (2001). Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition*, 17, 888–895.
- Palaniyappan, A. & Alphonse, R. (2011). Immunomodulatory effect of DL- α -lipoic acid in aged rats. *Exp. Gerontol.*, 46(9), 709-15.
- Papathanasiou, G., Georgoudis, G., Papandreou, M., Spyropoulos, P. Georgakopoulos, D., Kalfakakou, V. et al. (2009). Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults, *Hellenic J. Cardiol.*, 50(4), 283-294.
- Pawelek, G., Effros, R.B., Caruso, C., Remarque, E., Barnett, Y., Solana, R., 1999. T cells and aging. *Front. Biosci.*, 4, 216–269.

- Petersen Shay, K., Moreau, R.F., Smith, E.J., Smith, A.R. & Hagen, T.M. (2009). Alpha-lipoic acid as a dietary supplement. Molecular mechanisms and therapeutic potential. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1790(10), 1149–1160.
- Pfeffer, G., Majamaa, K., Turnbull, D.M., Thorburn, D., Chinnery, P.F. (2012). Treatment for mitochondrial disorders. *Cochrane Database Syst Rev* (Systematic review). 4 (4), CD004426. PMID 22513923. doi:10.1002/14651858.CD004426.pub3.
- Roitt, I., Brostoff, J., Male, D. Immunity to bacteria and fungi. In: *Immunology*. London Mosby, 4th edition. 1996: 17.1-17.13
- Reiter, R.J. (1996). Antioxidant actions of melatonin. *Adv. Pharmacol.*, 38, 103-117.
- Reiter, R.J., Tan, D.X. & Burkhardt, S. (A) (2002). Reactive oxygen and nitrogen species and cellular and organismal decline: *amelioration with melatonin*. *Mech. Ageing Dev*, 123, 1007–19.
- Reiter, R.J., Tan, D.X. & Allegra, M. (B) (2002). Melatonin: reducing molecular pathology and dysfunction due to free radicals and associated reactants. *Neuro. Endocrinol. Lett.*, 23(Suppl 1), 3–8.
- Reiter, R.J., et al., (2003). Melatonin: detoxification of oxygen and nitrogen-based toxic reactants. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 527, 539–48.
- Reed D.J. (1990). Glutathione: Toxicological implications. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 30, 603-631.
- Ronquist, G., & Theodorsson, E. (2007). Inherited, non-spherocytic haemolysis due to deficiency of glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 67(1), 105-111.

- Rukaj, A. & Se'rougne, C. (1983) Effect of excess dietary cystine on the biodynamics of cholesterol in the rat. *Biochim. Biophys. Acta*, 753, 1–5.
- Ruwende, C. & Hill, A. (1998). Glucose-6-phosphate Dehydrogenase deficiency and malaria. *J Mol Med*, 76, 581-8.
- Salway, J.G. (2006). *Ιατρική Βιοχημεία με μια Ματιά*, 2η Έκδοση. Blackwell Publishing. ISBN 1-4051-1322-7, σελ. 49.
- Schulpis, K.H., Reclos, G.J., Parthimos, T., Parthimos, N., Gavriilidis, A., Tsakiris, S. (2006). L-cysteine supplementation protects the erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase activity from reduction induced by forced training. *Clin Biochem*, 39(10), 1002-6.
- Schupke, H., Hempel, R., Peter, G., Hermann, R., et al., (2001). New metabolic pathways of alpha-lipoic acid. *Drug Metabolism and Disposition*, 29 (6), 855–62.
- Schuurman, M., Waardenburg, D., Costa, J.D., Niemarkt, H. & Leroy, P. (2009). Severe hemolysis and methemoglobinemia following fava beans ingestion in glucose-6-phosphatase dehydrogenase deficiency: case report and literature review. *European Journal of Pediatrics*, 168(7), 779-782.
- Scott, B.C., Aruoma, O.I., Evans, P.J., O'Neill, C., Van der Vliet, A., Cross, C.E., Tritschler, H. & Halliwell, B. (1994). Lipoic and dihydrolipoic acids as antioxidants. A critical evaluation. *Free Radic. Res.*, 20, 119–133.
- Senozan, N.M. & C.A. Thielman. (1991). Glucose 6 phosphate dehydrogenase deficiency: An inherited ailment that affects 1000 million people. *Journal of chemical Education* 681, 7-10.

Smith, A.R., Shenvi, S.V., Widlansky, M., Suh, J.H. & Hagen, T.M. (2004). Lipoic acid as a potential therapy for chronic diseases associated with oxidative stress. *Curr Med Chem*, *11*, 1135-1146.

Spain R., Powers K., Murchison C., Heriza E., Wings K., Yadav V., Cameron M., Kim E., Horak F., Simon J., Bourdette D. (2017). Lipoic Acid in Secondary Progressive MS. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*, *4*(5):e374.

Suh, J.H., Shigeno, E.T., Morrow, J.D., Cox, B., Rocha, A.L., Frei, B. & Hagen, T.M.. (2001). Oxidative stress in the aging rat heart is reversed by dietary supplementation with (R)-(α)-lipoic acid. *FASEB J*, *15*, 700–706.

Suh, J.H., Shenvi, S.V., Dixon, B.M., Liu, H., Jaiswal, A.K., Liu, R.M., Hagen, T.M. (2004). Decline in transcriptional activity of Nrf2 causes age-related loss of glutathione synthesis, which is reversible with lipoic acid. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *101*(10), 3381-6.

Sudnikovich, E.J., et al., (2007). Melatonin attenuates metabolic disorders due to streptozotocin-induced diabetes in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, *569*, 180–7.

Suzuki, Y.J., Tsuchiya, M. & Packer, L. (1991). Thioctic acid and dihydrolipoic acid are novel antioxidants which interact with reactive oxygen species. *Free Radic. Res. Commun.*, *15*, 255–263.

Tateishi, N., Higashi, T., Naruse, A., et al., (1981). Relative contributions of sulfur atoms of dietary cysteine and methionine to rat liver glutathione and proteins. *J Biochem*, *90*, 1603-1610.

Teichert, J., Hermann, R., Ruus, P., Preiss, R. (2003). "Plasma kinetics, metabolism, and urinary excretion of alpha-lipoic acid following oral administration in healthy volunteers". *Journal of Clinical Pharmacology*, *43* (11), 1257–67.

- Theodorou, A.A., Nikolaidis, M.G., Paschalis, V., Sakellariou, G.K., Fatouros, I.G., Koutedakis, Y., Jamurtas, A.Z. (2010). Comparison between glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient and normal individuals after eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc*, 42(6), 1113-21.
- Thompson D, Williams C, McGregor SJ, Nicholas CW, McArdle F, Jackson MJ, Powell JR. Prolonged vitamin C supplementation and recovery from demanding exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2001 Dec;11(4):466-81.
- Thorn research Inc. (2000). N-acetylcysteine monograph. *Alternative Medicine Review*, 5, 467-471.
- Tsai, K. J., Hung, I. J., Chow, C. K., Stern, A., Chao, S. S., & Chiu, D. T. (1998). Impaired production of nitric oxide, superoxide, and hydrogen peroxide in glucose 6-phosphate-dehydrogenase-deficient granulocytes. *FEBS Lett*, 436(3), 411-414.
- Tsakiris, S., Reelos, G.J., Parthimos, T., Tsakiris, T., Parthimos, N., Schulpis, K.H. (2006). alpha-Tocopherol supplementation restores the reduction of erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase activity induced by forced training. *Pharmacol Res*, 54(5), 373-9.
- Turan, Y. (2006). Prevalence of erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency in the population of western Turkey. *Arch Med Res*, 37(7), 880-2.
- Usanga, E.A. & Ameen, R. (2000). Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency in Kuwait, Syria, Egypt, Iran, Jordan and Lebanon. *Hum Hered*, 50(3), 158-61.
- van Zandwijk N. (1995). N-acetylcysteine (NAC) and glutathione (GSH): antioxidant and chemopreventive properties, with special reference to lung cancer. *J Cell Biochem (Suppl)*, 22, 24-32.

- Wang, X.T., Chan, T.F., Lam, V.M., Engel, P.C. (2008). What is the role of the second "structural" NADP⁺-binding site in human glucose 6-phosphate dehydrogenase? *Protein Sci.*, 17(8), 1403-11.
- Wayne, S.J., Rhyne, R.L., Garry, P.J., Goodwin, J.S. (1990). Cell-mediated immunity as a predictor of morbidity and mortality in subjects over 60. *J. Gerontol.* 45, M45–M48.
- WHO Working Group. (1989). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Bull World Health Organ*, 67, 601-611.
- Winiarska, K., Fraczyk, T., Malinska, D., Drozak, J. & Bryla, J. (2006). Melatonin attenuates diabetes-induced oxidative stress in rabbits. *J Pineal Res*, 40, 168–76.
- Wu, L.C., Ho, J.A., Shieh, M.C., Lu, I.W. (2005). Antioxidant and antiproliferative activities of Spirulina and Chlorella water extracts. *J Agric Food Chem*, 53, 4207–12.
- Yan, L.J., Traber, M.G., Kobuchi, H., Matsugo, S., Tritschler, H.J. & Packer, L. (1996). Efficacy of hypochlorous acid scavengers in the prevention of protein carbonyl formation. *Arch. Biochem. Biophys.*, 327, 330–334.
- Ziegler, D., Hanefeld, M., Ruhnau, K.J., Meissner, H.P., Lobisch, M., Schutte, K. & Gries, F.A. (1995). Treatment of symptomatic diabetic peripheral neuropathy with the antioxidant alpha-lipoic acid. A 3-week multicentre randomized controlled trial (ALADIN study). *Diabetologia*, 38, 1425–1433.
- Ziegler, D., Hanefeld, M., Ruhnau, K.J., Hasche, H., Lobisch, M., Schutte, K., Kerum, G. & Malessa, R. (1999). Treatment of symptomatic diabetic polyneuropathy with the antioxidant alpha-lipoic acid: a 7-month multicenter randomized controlled trial (ALADIN III study). ALADIN III Study Group. Alpha-Lipoic Acid in Diabetic Neuropathy. *Diabetes Care*, 22, 1296–1301.

Zwaal, R.F., Comfurius, P., Bevers, E.M. (2005). Surface exposure of phosphatidylserine in pathological cells. *Cell Mol Life Sci* 62(9) 971–988.

- Ελληνόφωνη βιβλιογραφία

Δέρβος, Κωνσταντίνος. Βασιλείου Παναγιώτα (2009). ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΑ ΥΛΙΚΑ ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ. 3ο Κεφάλαιο, Οι ηλεκτρικές ιδιότητες των υλικών. Αθήνα: Εθνικό Μετσόβειο Πολυτεχνείο.

Παπαδημητριού, Μ. (1998). Εσωτερική Παθολογία, Θεσσαλονίκη: University studio Press.

Τρακατέλλης, Α. (1992). Βιοχημεία, Θεσσαλονίκη: Εκδόσεις Κυριακίδη.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ

Εσωτερική Επιτροπή Δεοντολογίας

Τρίκαλα: 10/02/2016
Αριθμ. Πρωτ.: 1076

Βεβαίωση έγκρισης της πρότασης για διεξαγωγή Έρευνας με τίτλο:

Διερεύνηση και σύγκριση των προκαλούμενων με την οξεία άσκηση αλλαγών στην οξειδοαναγωγική κατάσταση ατόμων με έλλειψη του ενζύμου αφυδρογονάση της 6 φωσφορικής γλυκόζης (G6PD) μετά τη συμπληρωματική λήψη λιποϊκού οξέος και Ν-ακετυλοκυστεΐνης (NAC)

Επιστημονικός υπεύθυνος – επιβλέπων: Τζιαμούρτας Αθανάσιος

Κύρια ερευνήτρια – φοιτήτρια: Γεωργακούλη Καλλιόπη

Ίδρυμα & Τμήμα: 1) Τμήμα Επιστήμης Φυσικής αγωγής και Αθλητισμού, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Η προτεινόμενη έρευνα θα είναι:

Ερευνητικό πρόγραμμα Μεταπτυχιακή διατριβή Διπλωματική εργασία Ανεξάρτητη έρευνα

Τηλ. επικοινωνίας: 6977989041

Email επικοινωνίας: ajamurt@pe.uth.gr

Η Εσωτερική Επιτροπή Δεοντολογίας του Τ.Ε.Φ.Α.Α., Πανεπιστημίου Θεσσαλίας μετά την υπ. Αριθμ. 3-2/10-2-2016 συνεδρίασή της εγκρίνει τη διεξαγωγή της προτεινόμενης έρευνας.

Ο Πρόεδρος της
Εσωτερικής Επιτροπής
Δεοντολογίας – ΤΕΦΑΑ

Τσιόκανος Αθανάσιος
Αναπληρωτής Καθηγητής

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ

Έντυπο συναίνεσης δοκιμαζόμενου σε ερευνητική εργασία

Επιστημονικός υπεύθυνος – επιβλέπων: Τζιαμούρτας Αθανάσιος

Τίτλος Μελέτης: Διερεύνηση και σύγκριση των προκαλούμενων με την οξεία άσκηση αλλαγών στην οξειδοαναγωγική κατάσταση ατόμων με έλλειψη του ενζύμου αφυδρογονάση της 6 φωσφορικής γλυκόζης (G6PD) μετά τη συμπληρωματική λήψη λιποϊκού οξέος και N-ακετυλοκυστεΐνης (NAC)

Εργαστήριο υλοποίησης της μελέτης: Κέντρο Έρευνας και αξιολόγησης της Απόδοσης, ΤΕΦΑΑ, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Σκοπός της ερευνητικής εργασίας

Σκοπός αυτής της εργασίας είναι να διερευνηθούν και να συγκριθούν οι προκαλούμενες με την οξεία άσκηση αλλαγές στην οξειδοαναγωγική κατάσταση ατόμων με έλλειψη του ενζύμου G6PD μετά τη συμπληρωματική λήψη λιποϊκού οξέος και NAC. Επίσης να γίνει σύγκριση των αποτελεσμάτων μεταξύ της συμπληρωματικής λήψης λιποϊκού οξέος, NAC και εικονικού συμπληρώματος.

Τα επίπεδα της γλουταθειόνης (ενδογενής αντιοξειδωτική ουσία) είναι πολύ χαμηλότερα σε αυτά τα άτομα σε σχέση με άτομα με φυσιολογικές τιμές δραστηριότητας του ενζύμου. Επομένως, υποθέτουμε ότι η συμπληρωματική λήψη ουσιών που αυξάνουν τα επίπεδα της γλουταθειόνης (όπως είναι το λιποϊκό οξύ και η NAC) θα βελτιώσουν την οξειδοαναγωγική κατάσταση σε αυτά τα άτομα, επιφέροντας θετικές συνέπειες σε δείκτες υγείας αλλά και στην απόδοση.

Διαδικασία μετρήσεων

Οι συμμετέχοντες θα επισκεφτούν το εργαστήριο πέντε φορές. Στην 1η επίσκεψη θα υπογραφεί η συναίνεση αφού γίνει ενημέρωση για τη διαδικασία, θα γίνουν οι ανθρωπομετρικές μετρήσεις (ύψος, βάρος, ποσοστό λίπους) και φυσιολογικές μετρήσεις (καρδιακή συχνότητα ηρεμίας, αρτηριακή πίεση), καθώς και η δοκιμασία για προσδιορισμό της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου (VO₂max) σε δαπεδοεργόμετρο.

Επίσης θα δοθούν στους συμμετέχοντες πλήρεις οδηγίες για τον τρόπο καταγραφής της διατροφής τους, ώστε να καταγράψουν αναλυτικά τι έφαγαν τις 2 ημέρες που θα προηγηθούν πριν την επόμενη επίσκεψη στο εργαστήριο. Αυτό θα γίνει ώστε να επαναλαμβάνει ο κάθε συμμετέχοντας την ίδια διατροφή τις 2 ημέρες που θα προηγούνται πριν από κάθε επόμενη επίσκεψη.

Στη 2η επίσκεψη θα γίνουν φυσιολογικές μετρήσεις και λήψη αίματος, καθώς επίσης θα δοθεί λιποϊκό οξύ (600 mg/ημέρα) ή NAC (10mg/Kg σωματικού βάρους) ή εικονικό φάρμακο (κάψουλες με αλεύρι) σε επαρκή ποσότητα για 4 εβδομάδες. Μετά το πέρας των 4 εβδομάδων οι εθελοντές θα επανέλθουν στο εργαστήριο όπου θα γίνει η δεύτερη αιμοληψία και φυσιολογικές μετρήσεις. Θα υπάρξει μια περίοδος 2 ή 4 εβδομάδων όπου δεν θα γίνει κάποια παρέμβαση. Στη συνέχεια, οι εθελοντές θα επαναλάβουν την ίδια διαδικασία άλλη μια φορά για το άλλο σκευάσματα που πρέπει να λάβουν συμπληρωματικά. Η ουσία που λαμβάνουν σε κάθε περίπτωση οι συμμετέχοντες, θα είναι γνωστή μόνο σε έναν ερευνητή και θα αποκαλυφθεί μετά το τέλος και των βιοχημικών αναλύσεων (διπλή τυφλή μελέτη).

Κίνδυνοι και ενοχλήσεις

Αιμοληψία:

Θα χρησιμοποιηθεί μία μικρή βελόνα σύριγγας για τη λήψη φλεβικού αίματος από τη μεσοβασίλική φλέβα. Υπάρχει πιθανότητα μικρού μώλωπα στο σημείο της αιμοληψίας ενώ ο εθελοντής μπορεί να αισθανθεί πόνο κατά τη διάρκεια της αιμοληψίας και ζαλάδα ή τάσεις λιποθυμίας τόσο κατά τη διάρκεια όσο και μετά από την αιμοληψία. Σε κάθε δείγμα η συνολική ποσότητα αίματος που θα ληφθεί από έμπειρο γιατρό θα είναι 10ml η οποία δεν θα έχει απολύτως καμία αρνητική συνέπεια.

Δοκιμασία μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου:

Θα νιώσετε την φυσιολογική κόπωση που προκαλεί η υπομέγιστη άσκηση. Δεν υπάρχει κανένας κίνδυνος τραυματισμού κατά τη διάρκεια των δοκιμασιών. Παρ' όλα αυτά υπάρχει πρόβλεψη πρώτων βοηθειών και εκπαιδευμένο προσωπικό για κάθε ενδεχόμενο.

Προσδοκώμενες ωφέλειες

Τα ευρήματα από την εργασία θα δώσουν την δυνατότητα στους συμμετέχοντες να μάθουν ποιο είναι το ποσοστό του σωματικού λίπους, τα επίπεδα της αντιοξειδωτικής ικανότητας στο αίμα και την ποιότητα της διατροφής τους.

Δημοσίευση δεδομένων – αποτελεσμάτων

Η συμμετοχή σου στην έρευνα συνεπάγεται ότι συμφωνείς με τη δημοσίευση των δεδομένων και των αποτελεσμάτων της, με την προϋπόθεση ότι οι πληροφορίες θα είναι ανώνυμες και δε θα αποκαλυφθούν τα ονόματα των συμμετεχόντων. Τα δεδομένα που θα συγκεντρωθούν θα κωδικοποιηθούν με αριθμό, ώστε το όνομα σου δε θα φαίνεται πουθενά.

Πληροφορίες

Μη διστάσεις να κάνεις ερωτήσεις γύρω από το σκοπό ή/και τον τρόπο πραγματοποίησης της εργασίας. Αν έχεις κάποιες αμφιβολίες ή ερωτήσεις, ζήτησέ μας να σου δώσουμε πρόσθετες εξηγήσεις.

Ελευθερία συναίνεσης

Η άδειά σου να συμμετάσχεις στην εργασία είναι εθελοντική. Είσαι ελεύθερος να μην συναινέσεις ή να διακόψεις τη συμμετοχή σου όποτε επιθυμείς.

Διάβασα το έντυπο αυτό και κατανοώ τις διαδικασίες που θα εκτελέσω. Συναινώ να συμμετέχω στην εργασία.

Ημερομηνία: __/__/__

Όνοματεπώνυμο και
υπογραφή συμμετέχοντος

Υπογραφή ερευνητή

Όνοματεπώνυμο και
υπογραφή παρατηρητή

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ

Ερωτηματολόγιο υγείας

Όνοματεπώνυμο:

Ημερομηνία:

Παρακαλώ συμπληρώστε

1. Έχετε κάποιο πρόβλημα υγείας για το οποίο
 - A) είστε υπό φαρμακευτική αγωγή ναι [] όχι []
 - B) είστε υπό ιατρική παρακολούθηση ναι [] όχι []

2. Τα τελευταία 2 χρόνια, εξαιτίας κάποιας ασθένειας
 - A) επισκεφτήκατε το γιατρό σας ναι [] όχι []
 - B) επισκεφτήκατε εξωτερικά ιατρεία ναι [] όχι []
 - Γ) μείνατε στο νοσοκομείο ναι [] όχι []

3. Είχατε ποτέ κάποια από τις παρακάτω καταστάσεις;
 - A) Επιληψία ναι [] όχι []
 - B) Έκζεμα ναι [] όχι []
 - Γ) Διαβήτης ναι [] όχι []
 - Δ) Άσθμα ναι [] όχι []
 - E) Καρδιαγγειακά νοσήματα ναι [] όχι []
 - Z) Πεπτικά προβλήματα ναι [] όχι []
 - H) Προβλήματα γυναικολογικά ναι [] όχι []
 - Θ) Προβλήματα οστών και αρθρώσεων ναι [] όχι []
 - I) Προβλήματα ισορροπίας και συναρμογής ναι [] όχι []
 - K) Προβλήματα όρασης/ ακοής ναι [] όχι []
 - Λ) Προβλήματα θυρεοειδούς ναι [] όχι []
 - M) Ορμονικά προβλήματα ναι [] όχι []
 - N) Προβλήματα ήπατος και νεφρών ναι [] όχι []
 - Ξ) Μούδιασμα άκρων ναι [] όχι []
 - O) Άλλα προβλήματα ναι [] όχι []

4. Αν είστε γυναίκα
- | | | |
|--|---------|---------|
| A) σχεδιάζετε να μείνετε έγκυος | ναι [] | όχι [] |
| B) είστε η νομίζετε ότι είστε έγκυος | ναι [] | όχι [] |
| Γ) παίρνετε χάπια αντισύλληψης ή ορμόνες | ναι [] | όχι [] |
| Δ) είστε στην εμμηνόπαυση | ναι [] | όχι [] |
5. Κάποιος από τους συγγενείς πρώτου βαθμού είχε
- | | | |
|-----------------------------|---------|---------|
| A) Καρδιαγγειακά προβλήματα | ναι [] | όχι [] |
| B) Διαβήτη | ναι [] | όχι [] |
| Γ) Εγκεφαλικό | ναι [] | όχι [] |
| Δ) Κάποια άλλη ασθένεια | ναι [] | όχι [] |
6. Καπνίζετε αυτή την περίοδο
- | | | |
|---------------------|---------|---------|
| Έχετε καπνίσει ποτέ | ναι [] | όχι [] |
|---------------------|---------|---------|
- Αν ναι, για πόσο καιρό κα πότε το κόψατε:
Πόσες μονάδες αλκοόλ πίνετε σε μια εβδομάδα:
7. Γυμνάζεστε
- | | | |
|--|---------|---------|
| | ναι [] | όχι [] |
|--|---------|---------|
- Πόσες φορές την εβδομάδα:
Αναφέρετε το είδος γυμναστικής:

Αν απαντήσατε ναι σε κάποια από τις ερωτήσεις, παρακαλώ περιγράψτε εν συντομία

.....

- Δηλώνω ότι είμαι σωματικά υγιής και δεν πάσχω από κάποια πάθηση, βλάβη, ασθένεια ή αναπηρία που θα μπορούσε να εμποδίσει τη συμμετοχή μου στην πειραματική διαδικασία.
- Αναγνωρίζω ότι έχω εξετασθεί και ο γιατρός μου έχει δώσει την άδεια να συμμετάσχω, ή έχω αποφασίσει να συμμετάσχω στην πειραματική διαδικασία χωρίς την έγκριση του γιατρού μου. Αναλαμβάνω κάθε ευθύνη για την συμμετοχή μου.

Ημ/νία

___/___/___

Υπογραφή ερευνητή

Υπογραφή συμμετέχοντα

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ IV

ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΕΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

Ημερομηνία γέννησης:

Καρδιακή συχνότητα ηρεμίας:

Αρτηριακή πίεση:

Ύψος:

Βάρος:

G6PD δραστικότητα:

Παρατηρήσεις:

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ V

Αξιολόγηση VO₂max

Λεπτό	Ταχύτητα	Καρδιακή συχνότητα	Borg scale
0			
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			

VO₂max:

70% VO₂max:

Km/h:

Bpm:

90% VO₂max:

Km/h:

Bpm:

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ VI

Δοκιμασία άσκησης μέχρι εξάντλησης σε δαπεδοεργόμετρο

	Λεπτό άσκησης	Καρδιακή συχνότητα	Ταχύτητα	RPE (Borg scale)
	0			
	5			
12	10			
	15			
	20			
27	25			
	30			
	35			
42	40			
	45			
	Τέλος			
	1 ώρα		---	

Παρατηρήσεις:

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ VII

Ερωματοματολόγιο Φυσικής Δραστηριότητας (ΙΡΑΟ)

Παρακάτω ακολουθούν ερωτήσεις σχετικά με την άσκηση που κάνεις στον ελεύθερο χρόνο σου

Σκέψου το χρόνο που αφιέρωσες στο διάστημα των τελευταίων 7 ημερών για να ασκηθείς στον ελεύθερο χρόνο σου. Σκέψου μόνο τις φορές που έκανες άσκηση για τουλάχιστον 10 λεπτά κάθε φορά.

1. Κατά τη διάρκεια των **τελευταίων 7 ημερών**, πόσες ημέρες έκανες **στον ελεύθερο χρόνο σου** άσκηση **υψηλής έντασης** (ανέπνεες πολύ πιο δύσκολα από ότι συνήθως), όπως προπόνηση με βάρη, γρήγορη ποδηλασία, τρέξιμο, αθλοπαιδιές (π.χ., ποδόσφαιρο, μπάσκετ)

_____ **ημέρες ανά εβδομάδα**

Καμία έντονη άσκηση → **προχωρήστε στην ερώτηση 3**

2. Πόσο χρόνο συνήθως αφιέρωσες για να κάνεις άσκηση **υψηλής έντασης** σε μία από αυτές τις ημέρες;

_____ **ώρες την ημέρα ή**

_____ **λεπτά την ημέρα**

3. Κατά τη διάρκεια των **τελευταίων 7 ημερών**, πόσες μέρες έκανες **στον ελεύθερο χρόνο σου** άσκηση **μέτριας έντασης** (ανέπνεες λίγο πιο δύσκολα από ότι συνήθως), όπως κολύμπι, ποδηλασία σε κανονικό ρυθμό, γρήγορο περπάτημα. Σκέψου μόνο τις φορές που έκανες άσκηση για τουλάχιστον 10 λεπτά. **Μην συμπεριλάβεις το περπάτημα.**

_____ **ημέρες ανά εβδομάδα**

Καμία άσκηση μέτριας έντασης → **προχωρήστε στην ερώτηση 5**

4. Πόσο χρόνο συνήθως αφιέρωσες για να κάνεις άσκηση **μέτριας έντασης** σε μία από αυτές τις ημέρες;

_____ **ώρες την ημέρα ή**

_____ **λεπτά την ημέρα**

Δεν γνωρίζω/ Δεν είμαι σίγουρος/η

5. Κατά τη διάρκεια των **τελευταίων 7 ημερών**, πόσες ημέρες έκανες **στον ελεύθερο χρόνο σου περπάτημα** για τουλάχιστον 10 λεπτά;

_____ **ημέρες ανά εβδομάδα**

Καθόλου περπάτημα

6. Πόσο χρόνο συνήθως αφιέρωσες **περπατώντας** σε μία από αυτές τις ημέρες;

_____ **ώρες την ημέρα ή**

_____ **λεπτά την ημέρα**

Δεν γνωρίζω/ Δεν είμαι σίγουρος/η

7. Κατά τη διάρκεια των **τελευταίων 7 ημερών**, πόσο χρόνο **καθίσατε** σε μια **συνηθισμένη ημέρα της εβδομάδας**;

_____ **ώρες την ημέρα ή**

_____ **λεπτά την ημέρα**

Δεν γνωρίζω/ Δεν είμαι σίγουρος/η

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ VIII

ΙΣΟΚΙΝΗΤΙΚΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ (πόδι)

Extensors	Right	
	Left	
Flexors	Right	
	Left	