

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

ΑΠΟΣΤΟΛΟΠΟΥΛΟΣ ΑΝΤΩΝΙΟΣ

**«ΟΙ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΑΕΡΟΒΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΝΤΟΝΗΣ
ΕΠΑΝΑΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΗΣ ΑΣΚΗΣΗΣ ΣΕ ΑΝΤΙΔΡΩΣΕΣ ΟΥΣΙΕΣ
ΜΕ ΤΟ ΘΕΙΟΒΑΡΒΙΤΟΥΡΙΚΟ ΟΞΥ»**

ΤΡΙΚΑΛΑ 2014



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

Αριθ. Εισ.: 12998/1
Ημερ. Εισ.: 29/08/2014
Δωρεά: Συγγραφέα
Ταξιθετικός Κωδικός: ΠΤ-ΤΕΦΑΑ
2014
ΑΠΟ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ



004000117284

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω πρωτίστως τον καθηγητή κ. Αθανάσιο Τζιαμούρτα, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε καθ' όλη τη διάρκεια υλοποίησης της παρούσης διπλωματικής έρευνας, για τη βοήθεια και καθοδήγησή η οποία υπήρξε πολύτιμη για την επίλυση των δυσκολιών που προέκυπταν, καθώς επίσης για τις πολύτιμες γνώσεις που μου παρείχε κατά τη διάρκεια των σπουδών μου. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω θερμά την υποψήφια διδάκτορα κα. Γεωργακούλη Καλλιόπη, για την αμέριστη βοήθεια και τις συμβουλές που μου παρείχε κατά τη διάρκεια της εκπόνησης αυτής της εργασίας.

Τέλος θα ήθελα να απευθύνω τις ευχαριστίες προς την οικογένειά μου, η οποία στήριξε και στηρίζει τις σπουδές μου, με κάθε δυνατό τρόπο.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Αποστολόπουλος Αντώνιος: «Οι επιδράσεις της έντονης επαναλαμβανόμενης άσκησης και της αερόβιας άσκησης στις αντιδραστικές ουσίες του θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBARS)»

Σκοπός της παρούσας έρευνας ήταν να αξιολογηθεί η επίδραση που έχει η έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση στις αντιδρώσες ουσίες με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS) και να συγκριθεί με την επίδραση που έχει η αερόβια άσκηση στο συγκεκριμένο δείκτη.

Στην έρευνα συμμετείχαν 12 υγιείς νεαροί άνδρες, οι οποίοι έλαβαν μέρος σε μια τυχαιοποιημένη έρευνα, η οποία χωρίζονταν σε δύο συνεδρίες που περιλάμβαναν δύο διαφορετικά πρωτόκολλα άσκησης. Η μία συνεδρία ήταν αερόβια. Η δεύτερη συνεδρία άσκησης αποτέλεσε την έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση. Οι αιμοληψίες πραγματοποιήθηκαν πριν από κάθε πρωτόκολλο άσκησης, αμέσως μετά, 24, 48 και 72 ώρες έπειτα από το τέλος της άσκησης. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε πως δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > .05$) στα TBARS έπειτα από καμία από τις δύο συνεδρίες άσκησης. Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας δείχνουν πως η έντονη επαναλαμβανόμενη και η αερόβια άσκηση δεν μεταβάλλουν δείκτες λιπιδικής υπεροξειδωσης στο πλάσμα του αίματος.

Περαιτέρω έρευνα πρέπει να γίνει για την επίδραση που έχει η άσκηση σε συνδυασμό με τη διατροφή σε μεγαλύτερο δείγμα και αριθμό δεικτών λιπιδικής υπεροξειδωσης.

Λέξεις κλειδιά: *οξειδωτικό στρες, ελεύθερες ρίζες, λιπιδική υπεροξειδωση, άσκηση.*

ABSTRACT

Apostolopoulos Antonios: “The effects of low-volume HIIT and aerobic exercise on Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS)”

The purpose of the present study was to evaluate the effects of low-volume HIIT on TBARS and compare them with the effects of aerobic exercise.

Twelve healthy young men participated in a randomized cross-over design in two exercise sessions. In one session, participants performed four 30 second sprints on a cycle ergometer interspersed with 4 min of recovery (HIIT). Resistance on the cycle ergometer was equivalent to 0.075 kg/kg of body mass. The aerobic exercise session consisted of cycling on a cycle ergometer for 30 minutes at an intensity corresponding to 70% of their predetermined VO₂max. Blood was drawn before the exercise, immediately post, 24, 48 and 72 hours post-exercise and was analyzed for thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). Results revealed no significant changes ($p > .05$) for TBARS following neither exercise session. These results indicate that low-volume HIIT and aerobic exercise do not modulate plasma lipid peroxidation. Further research should examine the effects of exercise combined with nutrition on more redox status indices, using a larger number of participants.

Key words: *oxidative stress, free radicals, lipid peroxidation, exercise.*

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ABSTRACT

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

◇ Οξυγόνο και ιόντα

Ελεύθερες ρίζες

◇ Πώς δημιουργούνται

◇ Δραστικά είδη οξυγόνου

◇ Σχηματισμός δραστικών ειδών οξυγόνου

◇ Δραστικά είδη αζώτου

◇ Σχηματισμός δραστικών ειδών αζώτου

Τρόποι δημιουργίας ελευθέρων ριζών

◇ Δημιουργία ριζών μέσω της αναπνευστικής αλυσίδας

◇ Οξειδωτική έκρηξη

◇ Ισχαιμία επαναιμάτωση: το παράδοξο του οξυγόνου

◇ Οξείδωση αιμοσφαιρίνης

◇ Κατεχολαμίνες

Αντιοξειδωτικό σύστημα

◇ Ενζυμικό αντιοξειδωτικό σύστημα

◇ Μη-ενζυμικό αντιοξειδωτικό σύστημα

Δράση των ελευθέρων ριζών

◇ «Καλή δράση»

◇ «Κακή δράση»

Οξειδωτικό στρες

◇ Τι είναι το οξειδωτικό στρες

◇ Από τι προκαλείται

◇ Οξειδωτική βλάβη

Λιπιδική Υπεροξειδωση

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

Οξειδωτικό στρες και άσκηση

Αερόβια Άσκηση

Έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση (High Intensity Interval Training)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΟΞΥΓΟΝΟ ΚΑΙ ΙΟΝΤΑ

Το οξυγόνο είναι ένα θεμελιώδες μόριο για την επιβίωση των αερόβιων οργανισμών (οργανισμοί που δεν μπορούν να ζήσουν χωρίς οξυγόνο), αφού χρησιμοποιείται για την παραγωγή ενέργειας μέσω της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια ως τελικό οξειδωτικό [1]. Κατά τη διάρκεια του αερόβιου μεταβολισμού σε φυσιολογικά κύτταρα, 30 με 32 μόρια τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) παράγονται από 1 μόριο οξυγόνου. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας το οξυγόνο ανάγεται σε νερό (αναγωγή 4 ηλεκτρονίων) [2].

Ιόντα

Τα μόρια συγκρατούνται από ηλεκτρικώς ουδέτερα άτομα, γι' αυτό τον λόγο είναι και αυτά ηλεκτρικώς ουδέτερα. Στα βιολογικά υγρά όμως, οι περισσότερες ενώσεις συναντώνται σε μορφή ιόντων. Αυτό σημαίνει ότι τα μόρια αυτά φέρουν ηλεκτρικά φορτία. Αυτό γίνεται μέσω της ανταλλαγής ενός ή περισσότερων ιόντων H^+ με το περιβάλλον που βρίσκονται. Υπάρχουν τρεις μορφές ιόντων: Τα ανιόντα, τα οποία είναι αρνητικά φορτισμένα ιόντα (φέρουν αρνητικό ηλεκτρικό φορτίο). Τα κατιόντα, τα οποία είναι θετικά φορτισμένα ιόντα (φέρουν θετικό ηλεκτρικό φορτίο). Τρίτη κατηγορία είναι τα επαμφοτερίζοντα ιόντα, τα οποία φέρουν και τα δύο είδη φορτίων [1].

ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ

Ο μεγαλύτερος αριθμός των ιόντων φέρει τα ηλεκτρόνιά του σε ζεύγη. Μερικά ιόντα όμως δεν τα έχουν. Τα ιόντα αυτά ονομάζονται ελεύθερες ρίζες [1]. Σαν γενικότερη έννοια, ελεύθερες ρίζες είναι άτομα ή μόρια τα οποία φέρουν ένα ασύζευκτο (μονήρες) ηλεκτρόνιο [2].

Πώς δημιουργούνται

Η παραγωγή ελευθέρων ριζών είναι κυρίως μια φυσιολογική διαδικασία. Μπορούν να δημιουργηθούν μέσω της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων ή μέσω άλλων αντιδράσεων [1]. Γενικά από το οξυγόνο συνεχώς παράγονται

ελεύθερες ρίζες μέσω διάφορων κυτταρικών μεταβολικών μονοπατιών [3]. Ασθένειες, φυσική δραστηριότητα και έκθεση στον ήλιο σχετίζονται επίσης με την παραγωγή τους. Επίκτητες συνήθειες ακόμη, σχετίζονται με αυτές (κάπνισμα, έκθεση σε ακτινοβολία, ατμοσφαιρικοί ρύποι κ.α.) και αντικατοπτρίζουν τις ανθρώπινες δραστηριότητες [14].

Οι ελεύθερες ρίζες που έχουν βιολογική σχέση και προέρχονται από το μοριακό οξυγόνο (O_2) είναι το ανιόν του υπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$), η ρίζα υπερυδροξυλίου (προτονισμένη ρίζα υπεροξειδίου του υδρογόνου, $HO_2^{\cdot-}$), η ρίζα υδροξυλίου (OH^{\cdot}) - η οποία είναι η πιο αντιδραστική και λιγότερο επιλεκτική από τους οξειδωτικούς παράγοντες- και η ρίζα νιτρικού οξέος (NO^{\cdot}) [5].

Δραστικά είδη οξυγόνου

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου είναι γνωστές ως δραστικά είδη οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS) [4].

Σχηματισμός δραστικών ειδών οξυγόνου

Ανιόν υπεροξειδίου ($O_2^{\cdot-}$): Σχηματίζεται από την αναγωγή του μορίου του οξυγόνου (O_2) και τη μεσολάβηση της NADPH οξειδάσης και της οξειδάσης της ξανθίνης (ενζυμικός τρόπος παραγωγής). Μη-ενζυμικά παράγεται από οξειδοαναγωγικές αντιδραστικές ενώσεις (redox reactive compounds) -όπως η ένωση ημι-ουμπικουϊνόνη (semi-ubiquinone compound)- από τη μιτοχονδριακή αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων.[4]

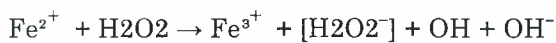
Το ανιόν του υπεροξειδίου αυτοοξειδοανάγεται (dismutation), μέσω της δράσης του υπεροξειδίου της δισμουτάσης (SOD), σε υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) [4]. $O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ [5]

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου περισυλλέγεται με μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα από το ένζυμο υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx) η οποία προϋποθέτει σαν δότη ηλεκτρονίου τη γλουταθειόνη (GSH).

Μέσω του ενζύμου αναγωγάση της γλουταθειόνης (glutathione reductase, Gred) , η οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG) ανάγεται σε γλουταθειόνη. Το ένζυμο Gred χρησιμοποιεί σαν δότη ηλεκτρονίου το NADPH [4].

Κάποια μέταλλα μετάπτωσης, όπως λ.χ. Fe^{2+} , Cu^+ κ.α. έχουν την ικανότητα να καταλύουν το υπεροξειδίο του υδρογόνου στην αντιδραστική ρίζα υδροξυλίου (OH^\cdot) (αντίδραση Fenton) [4].

Σημείωση: Ο όρος αντίδραση Fenton παραπέμπει στην αντίδραση μεταξύ του υπεροξειδίου του υδρογόνου και μεταλλικών αλάτων, που παράγει δραστικές ουσίες που έχουν την ικανότητα να οξειδώνουν ένα μεγάλο αριθμό οργανικών υποστρωμάτων. Η απλούστερη μορφή απεικόνισης δίνεται παρακάτω:



Όπως φαίνεται υπάρχει μια αρχική μεταφορά ηλεκτρονίου χωρίς τη δημιουργία ή την καταστροφή δεσμών στη διαδικασία, ενώ παράγονται ρίζες υδροξυλίου (outer sphere mechanism). [6]

Το υπεροξειδίο του υδρογόνου, μπορεί να αντιδράσει με το υπεροξειδίο του υδρογόνου σχηματίζοντας έτσι ρίζα υδροξυλίου (αντίδραση Haber-weiss) $O_2^{\cdot-} + H_2O_2 \rightarrow O_2 + OH^\cdot + OH^-$ [46]. Η ρίζα υδροξυλίου μπορεί να δημιουργηθεί επίσης και σαν πρόσθετο παράγωγο της αναγωγής του οξυγόνου [5]. Αυτή η ρίζα μπορεί να αφαιρέσει ένα ηλεκτρόνιο από πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (LH) για να δημιουργήσει έτσι τη ρίζα λιπιδίου (L^\cdot), η οποία έχει το μόριο του άνθρακα στο κέντρο.

Η ρίζα του λιπιδίου (L^\cdot) μπορεί επιπλέον να αντιδρά με το O_2 για να δώσει ρίζα υπεροξυλίου του λιπιδίου (LOO^\cdot) [4].

Δραστικά είδη αζώτου

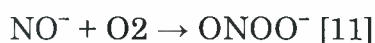
Οι ελεύθερες ρίζες αζώτου είναι γνωστές ως δραστικά είδη αζώτου (reactive nitrogen species, RNS) [4].

Σχηματισμός δραστικών ειδών αζώτου

Η ρίζα αζώτου (NO^\cdot): Η NO^\cdot συντίθεται από τη γουανινο-ομάδα της L-αργινίνης, από μια ομάδα η οποία ορίζεται ως συνθάσες νιτρικού οξέος

(NOSs) [5]. Το σύνολο των NOSs αποτελείται από τρία κύρια μέλη. Αυτά είναι οι νευρωνικές (neuronal NOS, nNOS), οι επαγωγικές (inducible NOS, iNOS) και οι ενδοθηλιακές (endothelial NOS, eNOS) [7]. Υπάρχουν επίσης έρευνες που παρουσιάζουν μιτοχονδριακές NOS (mtNOS) [8][9], σε ποιο σημείο του κυττάρου βρίσκονται και τη δράση τους [9], αλλά δεν αναφέρεται η δομή και η ρύθμισή τους [7].

Ανιόν υπεροξυνιτρώδους (peroxynitrite anion ONOO⁻): Μπορεί να παραχθεί από οξειδίο του αζώτου και οξυγόνο. Το οξειδίο του αζώτου μπορεί να αναχθεί σε ανιόν νιτροξυλίου. Αυτό με τη σειρά του αντιδρά με το μόριο του οξυγόνου, για να παραχθεί ONOO⁻ [11]:



Ρίζα διοξειδίου του αζώτου (NO₂[·]): Η ρίζα διοξειδίου του αζώτου μπορεί να σχηματιστεί από την οξείδωση του ONOO⁻ και από ένα μόριο υπεροξυνιτρώδους οξέος [11]:



ΤΡΟΠΟΙ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑΣ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ

Δημιουργία ριζών μέσω της αναπνευστικής αλυσίδας

Όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω Από το οξυγόνο συνεχώς παράγονται ελεύθερες ρίζες μέσω διάφορων κυτταρικών μεταβολικών μονοπατιών [3]. Στο τελικό στάδιο της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων, σαν παράπλευρη αντίδραση, έχει παρατηρηθεί ότι κάποια μόρια οξυγόνου αντί για τέσσερα ηλεκτρόνια, προσλαμβάνουν μόνο ένα. Έτσι δημιουργείται η ρίζα του υπεροξειδίου (O₂^{·-}) [1]. Η μεταφορά των ηλεκτρονίων πραγματοποιείται στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη και σημαντικό ρόλο σε αυτό διαδραματίζουν συγκεκριμένες πρωτεΐνες ενσωματωμένες στις μεμβράνες του μιτοχονδρίου [28]. Μια κύρια ομάδα πρωτεϊνών που θεωρείται απαραίτητος μεταφορέας ηλεκτρονίων αποτελούν τα κυτοχρώματα.

Γενικότερα είναι πιθανό να επιτελούν ένα μεγάλο αριθμό λειτουργιών όμως ο προαναφερόμενος ρόλος τους φαίνεται να αποτελεί τη σημαντικότερη από αυτές. Η αλυσίδα των κυτοχρωμάτων που βρίσκεται στα μιτοχόνδρια αποτελείται από τα κυτοχρώματα b, c, a και a₃ [42]. Γενικότερα και λόγω των προηγούμενων, τα μιτοχόνδρια θεωρούνται κύρια οργανίλια παραγωγής ελευθέρων ριζών (ROS) [28,29]. Το 80% του μοριακού οξυγόνου καταναλώνεται στα μιτοχόνδρια. Το 5% μετατρέπεται σε υπεροξειδίο και υδροξυλικές ρίζες. Επίσης, μέσω του λείου ενδοπλασματικού δικτύου ενδογενείς (προσταγλανδίνες, λιπαρά οξέα κ.α.) και εξωγενείς (φάρμακα, χρωστικές και αρωματικές ουσίες αντιοξειδωτικά κ.α.) ουσίες μεταβολίζονται, καταναλώνοντας με αυτό τον τρόπο το 15% του μοριακού οξυγόνου, από το οποίο έχει αναφερθεί ότι το 20-30% μετατρέπεται σε ελεύθερες ρίζες, κυρίως OH[·] (ρίζες υδροξυλίου) [3].

Οξειδωτική έκρηξη (oxidative burst)

Προκαλείται από τα ουδετερόφιλα. Τα ουδετερόφιλα είναι κύτταρα-κλειδιά στην ανοσολογική απάντηση του οργανισμού για το γεγονός ότι έχουν διπλό ρόλο ως αντι-μολυσματικά και προ-φλεγμονώδη κύτταρα, όντας κρίσιμοι συντελεστές στην έμφυτη αλλά και χυμική (humoral) ανοσοποίηση (immunity). Έχουν δυο σημαντικούς ρόλους στο ανοσοποιητικό σύστημα: ανοσοποιητική επιτήρηση (immune surveillance) και εξόντωση μικροοργανισμών. Η οξειδωτική έκρηξη προκαλείται όταν τα εξαρτώμενα από το οξυγόνο μονοπάτια των ουδετερόφιλων (τα οποία χρησιμοποιούν σαν μέσο αντιμετώπισης παθογόνων μικροοργανισμών), οδηγούν στην παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) από το σύμπλεγμα της οξειδάσης του NADPH [10].

Ισχαιμία επαναιμάτωση: Το παράδοξο του οξυγόνου (oxygen paradox)

Η ισχαιμία όπως και τα περιφερειακά ισχαιμικά επεισόδια συμβαίνουν σε πολλές κλινικές καταστάσεις [2], (αλλά και στην ισχαιμική μυϊκή συστολή [24] η οποία αναλύεται στη σελ.13) λόγω σοβαρών περιορισμών στην κυκλοφορία του αίματος (π.χ. καρδιακοί ιστοί κατά τη διάρκεια

εμφράγματος, ιστοί του εγκεφάλου κατά τη διάρκεια εγκεφαλικού). Η καταλληλότερη ιατρική παρέμβαση σε αυτές τις περιπτώσεις είναι η αφαίρεση του εμφράγματος και η επαναφορά του οξυγόνου στους ιστούς. Φαίνεται ότι η επαναφορά του οξυγόνου στους ισχαιμικούς ιστούς (επαναιμάτωση) πέρα από τα ευεργετικά της αποτελέσματα, φαίνεται ότι προκαλεί καταστροφή των ιστών. Αυτό το φαινόμενο ονομάζεται «παράδοξο του οξυγόνου» [2]. Φαίνεται πως υπεύθυνη αιτία είναι η αλληλεπίδραση ανάμεσα στη δημιουργία ελευθέρων ριζών και στη διαταραχή στην ομοιοστασία του ασβεστίου [12]. Σαν κύριες πηγές δημιουργίας ελευθέρων ριζών στην ισχαιμία και την επαναιμάτωση της καρδιάς έχουν καθιερωθεί οι καταλυόμενες αντιδράσεις την οξειδάσης της ξανθίνης [30].

Όταν συμβαίνει η ισχαιμία το ATP υποβαθμίζεται (is degraded) σε ADP και AMP. Αυτό συμβαίνει λόγω της ζήτησης ενέργειας από το μυοκάρδιο το οποίο συσπάται. Εάν η παροχή οξυγόνου είναι ανεπαρκής το AMP συνεχώς υποβαθμίζεται σε υποξανθίνη, η οποία με τη σειρά της μπορεί να μετατραπεί σε ξανθίνη και ουρικό οξύ από την ένωση της οξειδάσης της ξανθίνης με το ανηγμένο από ένα ηλεκτρόνιο O₂ (one electron reduction of O₂), δημιουργώντας έτσι το O₂^{•-}. Απαραίτητες για τη ενεργοποίηση αυτού του μονοπατιού είναι οι επαρκείς ποσότητες υποξανθίνης και ξανθίνης που πρέπει να είναι παρόντα στον ιστό. Η οξειδάση της ξανθίνης πρέπει να μετατραπεί από την ανηγμένη του μορφή (xanthine dehydrogenase) στην οξειδωμένη, από μια ενδοκυττάρια προτεάση, η οποία φαίνεται πως ενεργοποιείται από το Ca²⁺. Το οξυγόνο επίσης πρέπει να είναι διαθέσιμο σαν δέκτης ηλεκτρονίων [24].

Οξείδωση αιμοσφαιρίνης

Ελεύθερες ρίζες φαίνεται ότι παράγονται και από την οξείδωση της αιμοσφαιρίνης με τη συμβολή της μεναδιόνης [13].

Κατεχολαμίνες

Οι κατεχολαμίνες επίσης θεωρούνται παράγοντες παραγωγής ROS. Και αυτό γιατί οι κατεχολαμίνες ενισχύουν τον οξειδωτικό μεταβολισμό στους

σκελετικούς μύες και το μυοκάρδιο, αυξάνοντας έτσι την παραγωγή ROS στα μιτοχόνδρια. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της δραστηριοποίησης των β-αδρενεργικών υποδοχέων [24].

ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

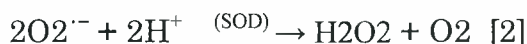
Για την καταπολέμηση και απομάκρυνση των ελευθέρων ριζών ο ανθρώπινος οργανισμός είναι εφοδιασμένος με μια ποικιλία αντιοξειδωτικών. Το αντιοξειδωτικό σύστημα μπορεί να χωριστεί σε δύο κατηγορίες: το ενζυμικό και το μη-ενζυμικό αντιοξειδωτικό σύστημα [15].

Τα αντιοξειδωτικά συνήθως εντοπίζονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Όμως έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν την οξείδωση ενός οξειδώσιμου υποστρώματος [2].

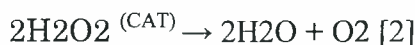
Ενζυμικό αντιοξειδωτικό σύστημα

Κύρια ενζυμικά αντιοξειδωτικά είναι:

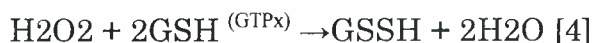
1. Υπεροξειδάση της δισμουτάσης (SOD). Έχει τρεις μορφές: CuZn-SOD, Mn-SOD, EC-SOD [15]



2. Καταλάση (CAT) [15]



3. Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GTPx)



4. Θειορεδοξίνη (TRX)

5. Περοξυρεδοξίνη (PRX)

6. Τρανσφεράση της γλουταθειόνης (GST) [15]

Μη-ενζυμικό αντιοξειδωτικό σύστημα

Κύρια μη-ενζυμικά αντιοξειδωτικά είναι:

1. Βιταμίνη C
2. Βιταμίνη E

3. Βιταμίνη Α [16] (Η βιταμίνη Α έχει διατροφική σχέση με τη βιταμίνη Ε [17])
4. Θειόλες: Κύριο αντιοξειδωτικό αυτής της ομάδας είναι η γλουταθειόνη (GSH)
5. α-λιποϊκό οξύ (ALA)
6. Μελατονίνη (N-ακετυλ-5-μεθοξυτριπταμίνη)
7. Καροτενοειδή
8. Φλαβονοειδή (έχουν και προ-οξειδωτική δράση) [16]
9. Σελήνιο [18]
10. ουρικό οξύ [15]

ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ

Οι ελεύθερες ρίζες όπως το O_2^- έχουν την τάση να αφαιρούν ηλεκτρόνια από γειτονικές ενώσεις για να τα ζευγαρώσουν με τα δικά τους ασύζευκτα ηλεκτρόνια [1].

«Καλή Δράση» Των Ε.Ρ.

Μέσω της δράσης τους οι ελεύθερες ρίζες, μπορούν να πυροδοτήσουν σηματοδοτικά μονοπάτια και να καταστρέψουν παθογόνους εισβολείς [1].

Επίσης θεωρείται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην κυτταρική απόκριση αλλαγών του ασβεστίου στο κύτταρο [28].

«Κακή Δράση» ΤΩΝ Ε.Ρ.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω οι ελεύθερες ρίζες έχουν την τάση να αφαιρούν ηλεκτρόνια από γειτονικές τους ενώσεις. Μέσα από αυτή τους τη δράση μπορούν να βλάψουν το DNA, τις πρωτεΐνες και τα λιπίδια και έτσι να επιταχύνουν τη γήρανση ή να προκαλέσουν ασθένεια [1]. Οι ελεύθερες ρίζες σχετίζονται με παθήσεις και ασθένειες που παρουσιάζονται παρακάτω:

Καρδιαγγειακές παθήσεις [16]

Ισχαιμικές, αιμορραγικές και άλλες προσβολές [16]

Ισχαιμική βλάβη επαναιμάτωσης [4] (oxygen paradox [2])

Νευροεκφυλιστικά νοσήματα [16]

- Νόσος Alzheimer
- Νόσος Huntington
- Νόσος Parkinson

Καρκίνος [16]

Διαβήτης [16]

Ρευματοειδής αρθρίτιδα [4]

ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

Τι είναι το οξειδωτικό στρες

Οι Surh και Packer ορίζουν ως: «Το οξειδωτικό στρες αναφέρεται στην κατάσταση της σοβαρής ανισορροπίας ή της ακατάλληλης οξειδοαναγωγικής ισορροπίας μεταξύ της παραγωγής των δραστικών ειδών οξυγόνου και της ικανότητας των κυττάρων να αμυνθούν ενάντια τους. Έτσι το οξειδωτικό στρες συμβαίνει όταν η παραγωγή των ROS αυξάνεται, η εξάλειψη τους ή η επιδιόρθωση των κατεστραμμένων-λόγω της οξείδωσης-μακρομορίων μειώνεται ή και τα δύο». [27] (ανισορροπία μεταξύ του λόγου ROS/RNS και των αντιοξειδωτικών συστημάτων [20]). Γενικά προκαλεί βλάβες στα κύτταρα (κυτταρικές πρωτεΐνες, DNA, λιπίδια) και γι' αυτό το λόγο θεωρείται επιβλαβές [21].

Από τι προκαλείται

Πολλοί λόγοι μπορούν να προκαλέσουν οξειδωτικό στρες. Ελαττώματα στον αντιοξειδωτικό μηχανισμό έκφρασης του αντιοξειδωτικού γονιδίου ή μειωμένα επίπεδα αντιοξειδωτικών ενζύμων μπορούν να προκαλέσουν οξειδωτικό στρες. Σε περίπτωση εξάντλησης αντιοξειδωτικών της διατροφής (βιταμίνες E, C, D, φλαβονοειδή, κορτικοειδή) ή και μικροθρεπτικών συστατικών (σίδηρος, χαλκός, ψευδάργυρος, σελήνιο), τα οποία χρησιμεύουν στην σωστή λειτουργία των αντιοξειδωτικών ενζύμων, παρουσιάζεται αύξηση στη συσσώρευση προ-οξειδωτικών [2].



Πολλοί στρεσογόνοι παράγοντες -κάποιοι από τους οποίους έχουν ήδη αναφερθεί- οφείλονται για το οξειδωτικό στρες. Μπορούν να χωριστούν σε ενδογενείς και εξωγενείς.

Παραδείγματα ενδογενών παραγόντων [14]:

- Νοσηρές καταστάσεις (π.χ. διαβήτη)
- Η σωματική άσκηση
- Αναπνοή (αερόβιες διαδικασίες)
- Αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων
- Φλεγμονή
- Νευρολογικές διαταραχές (νευροεκφυλιστικά νοσήματα [16])
- Σύνδρομο αυτοάνοσης ανεπάρκειας
- Καρκίνος
- εγχείρηση [14]

Παραδείγματα εξωγενών παραγόντων[14]:

- Κάπνισμα
- Ακτινοβολία
- Όζον
- Οξειδωτικοί ατμοσφαιρικοί ρύποι
- Διοξείδιο του αζώτου
- Σωματίδια
- Ξενοβιοτικές ουσίες
- Παρασιτοκτόνα (Paraquat)
- Βλεομυκίνη
- Ακεταμινοφαίνη [14]

Οξειδωτική βλάβη (oxidative damage)

Η ανισορροπία που μπορεί να τροποποιήσει ή να προκαλέσει βλάβη στα λιπίδια στις πρωτεΐνες και στο DNA ονομάζεται οξειδωτική βλάβη (oxidative damage) [2].

DNA: Όσον αφορά την οξειδωτική καταστροφή του DNA, δεν αντιδρούν όλες οι ελεύθερες ρίζες με αυτό. Η οξειδωτική καταστροφή στις δομές του DNA έχει σαν κύριο επακόλουθο την μετάλλαξη που προκαλείται από την αλλαγή AT↔GC (transition) και από τη μεταστροφή GC↔TA (transversion). Σε περίπτωση που αυτές οι μεταλλάξεις δεν επιδιορθωθούν μπορεί να προκληθεί αλλαγή στη γενετική έκφραση των πρωτεϊνών [2].

Πρωτεΐνες: Τα ROS/RNS προκαλούν πρωτεϊνικές τροποποιήσεις. Αυτές περιλαμβάνουν το σχηματισμό καρβονυλίων διτυροσίνης και χλωριωμένων και νιτρωμένων (nitrated) τυροσινών. Οι νιτρωμένες, χλωριωμένες και βρωμιούχες τυροσίνες έχουν εντοπιστεί σε νοσούντες ιστούς και σε ασθενείς με φλεγμονώδη νοσήματα, σε υψηλές συγκεντρώσεις [2].

ΛΙΠΙΔΙΚΗ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΩΣΗ (LIPID PEROXIDATION)

Λόγω της συγκεκριμένης έρευνας, η αναφορά στη λιπιδική υπεροξείδωση είναι εκτενέστερη.

Υπάρχει η υπόθεση ότι λόγω της τοξικότητας των ριζών οξυγόνου συμβαίνει λιπιδική υπεροξείδωση [22]. Αυτή η υπόθεση έχει κερδίσει μεγάλη προσοχή και σε νοσηρές καταστάσεις θεωρείται η βάση που προκαλεί βλάβη στους ιστούς [22] μαζί με άλλους παράγοντες όπως η έκθεση σε ξеноβιοτικά ή τοξικά χημικά [23].

Τα πολύ-ακόρεστα λιπαρά οξέα που περιέχονται σε φωσφολιπίδια είναι ιδιαίτερα επιρρεπή σε τροποποιήσεις από τις αντιδραστικές ουσίες οξυγόνου. Κάτω από διάφορες συνθήκες η υπεροξείδωση είναι πολύ εύκολο να συμβεί σε αυτά και να δώσει οξειδωμένα φωσφολιπίδια [25, 26].

Στις περισσότερες περιπτώσεις συμβαίνει μια αλυσιδωτή αντίδραση ελευθέρων ριζών. Μπορεί να περιγραφεί από άποψη διαδικασιών ως μεταλλαγή (initiation), διάδοση, διακλάδωση και λήξη διαδικασιών [23].

Η υπεροξείδωση των λιπιδίων μπορεί να πραγματοποιηθεί με διάφορους τρόπους:

- Από ρίζες υπεροξειδίου και περοξυδριλίου
- Από υπεροξείδιο του υδρογόνου και ρίζες υδροξυλίου

- Από μονήρες οξυγόνο και όζον [23]
- Από την αντίδραση της ρίζας υδροξυλίου ένα πολυακόρεστο λιπαρό οξύ μπορεί να δημιουργηθεί η ρίζα λιπιδίου (L[•]). Περεταίρω αντίδραση αυτής της ρίζας με το μοριακό οξυγόνο μπορεί να σχηματίσει τη λιπιδική ρίζα περοξυλίου (lipid peroxy radical) (LOO[•]). Σε περίπτωση που αυτή η ρίζα δεν αναχθεί από τα αντιοξειδωτικά τότε συμβαίνει η διαδικασία της λιπιδικής υπεροξειδωσης [4].

Υπάρχουν δύο τρόποι για τον έλεγχο της υπεροξειδωσης των λιπιδίων:

- Εκείνες οι μέθοδοι που η δράση τους αποσκοπεί στον έλεγχο των επιπέδων οξυγόνου και των ενεργών ειδών οξυγόνου.
- Αυτές που η δράση τους ελέγχει τους ενεργοποιημένους καταλύτες και τις ελεύθερες ρίζες. [23]

Σε ότι αφορά τη μελέτη της λιπιδικής υπεροξειδωσης η αντίδραση TBA έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως [57]. Στην κατηγορία των TBARS περιλαμβάνονται οι ουσίες που αντιδρούν με το 2-θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBA). Τέτοιες ουσίες είναι οι κετόνες, τα κετοστεροειδή, τα οξέα, οι εστέρες, τα σάκχαρα, οι οξειδωμένες πρωτεΐνες, τα αμινοξέα, οι βιταμίνες, οι πυριδίνες και οι πυριμιδίνες, τα ιμίδια και τα αμίδια [56].

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΑΣΚΗΣΗ

Η κινητικότητα είναι ένας απαραίτητος παράγοντας για τη ζωή στο ζωικό βασίλειο. Για τους ανθρώπους η άσκηση δεν είναι πλέον μέσο επιβίωσης, όμως σε πολλές περιπτώσεις έχει γίνει τρόπος ζωής, άλλες φορές χρησιμοποιείται για αναψυχή, ακόμη και σαν μέσο θεραπευτικής αγωγής [24].

Η συγκέντρωση οξυγόνου μπορεί να αυξηθεί σε μεγάλο βαθμό στους κινητήριους μύες στην καρδιά και σε άλλους ιστούς, από τον σχετιζόμενο με την άσκηση αυξημένο μεταβολικό ρυθμό [24]. Επίσης η άσκηση μπορεί να προκαλέσει αύξηση στον αριθμό των μιτοχονδρίων [35, 36], τα οποία θεωρούνται και υπεύθυνα και για την ικανότητα αντοχής [37].

Η άσκηση σε συνδυασμό με την έλλειψη βιταμίνης E προκαλούν αύξηση στις ελεύθερες ρίζες και μπορούν να προκαλέσουν τις ήδη προαναφερθείσες βλάβες στον οργανισμό [24]. Διάφορα είδη άσκησης όπως η αερόβια άσκηση μεγάλης διάρκειας αλλά και η προπόνηση σπριντ μπορούν να ξεπεράσουν την ικανότητα του οργανισμού να εξουδετερώσει τα ROS, δημιουργώντας έτσι οξειδωτικό στρες [62].

Οι λόγοι παραγωγής ελευθέρων ριζών κατά τη διάρκεια της άσκησης δεν διαφέρουν από αυτούς που έχουν ήδη αναφερθεί. Παρουσιάζονται παρακάτω κάποια επιπλέον στοιχεία που σχετίζονται και με την άσκηση.

Σχετικά με την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια, υπάρχουν λίγες απόλυτες ενδείξεις -παρά το θεωρητικό υπόβαθρο- ότι η μιτοχονδριακή παραγωγή $O_2^{\cdot-}$ αυξάνεται με την άσκηση. Ο ισχυρισμός αυτός έγκειται στο γεγονός ότι η κατανάλωση οξυγόνου αυξάνεται σε μεγάλο

βαθμό με την άσκηση [24]. Επίσης έχει φανεί πως η συγκέντρωση των κυτοχρωμάτων c αυξάνεται με την άσκηση και αυτό αποτελεί έναν δείκτη πως τα συστατικά της αναπνευστικής αλυσίδας διπλασιάζονται ως απάντηση στην άσκηση [43].

Στην περίπτωση της ισχαιμίας υπάρχει η παρουσία της οξειδάσης της ξανθίνης. Δεν έχει ξεκαθαριστεί εντελώς αν η οξειδάση της ξανθίνης παίζει σημαντικό ρόλο στην παραγωγή ελευθέρων ριζών κατά την άσκηση [24]. Υπάρχουν έρευνες in vivo που δείχνουν ότι η έντονη άσκηση μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα οξειδάσης της ξανθίνης στον εργαζόμενο μυ [31]. Η οξειδάση της ξανθίνης επίσης μπορεί να γίνει και ένα σημαντικό μονοπάτι σε καταστάσεις που ο μυ υπόκειται σε σημαντική έλλειψη νουκλεοτιδίων αδενίνης. Σε θεωρητικό επίπεδο αυτή η κατάσταση μπορεί να συμβεί κατά τη διάρκεια ισχαιμικής μυϊκής συστολής, σε ισομετρική άσκηση, στα σπριντ, σε άσκηση σε υποξικό περιβάλλον και σε άσκηση με μειωμένη κυκλοφορία του αίματος λόγω αγγειακών παθήσεων [24]. Άλλες έρευνες έχουν δείξει πως η άσκηση μέχρι την εξάντληση μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα της υποξανθίνης στον εργαζόμενο μυ [32]. Η υποξανθίνη αποτελεί πρόδρομο της ξανθίνης και του ουρικού οξέος και η υψηλή συγκέντρωσή της μπορεί να αυξήσει τη ροή διαμέσου της οξειδάσης της ξανθίνης η οποία μπορεί ενδεχομένως να αποτελέσει σημαντική πηγή ελευθέρων ριζών [32].

Όπως έχει αναφερθεί, τα ουδετερόφιλα αποτελούν σημαντική πηγή παραγωγής ελευθέρων ριζών [10]. Σχετικά με την άσκηση έχει παρατηρηθεί πως ο αριθμός των λευκοκυττάρων, των λεμφοκυττάρων και των ουδετερόφιλων μπορεί να αυξηθεί σημαντικά έπειτα από μια οξεία συνεδρία άσκησης μέχρι την εξάντληση [33]. Έχει φανεί επίσης πως 1 ώρα άσκησης μέτριας έντασης μπορεί να τριπλασιάσει την παραγωγή H₂O₂ διαμέσου των ουδετερόφιλων [34].

Σε ότι αφορά τις κατεχολαμίνες, φαίνεται πως τα επίπεδά τους αυξάνονται στην κυκλοφορία του αίματος κατά τη διάρκεια παρατεταμένης άσκησης,

όμως η ποσοτική σημασία των κατεχολαμινών σαν πηγή παραγωγής ROS κατά τη διάρκεια της άσκησης δεν έχει αποσαφηνιστεί [24].

Αερόβια Άσκηση

Η αερόβια προπόνηση μπορεί να προκαλέσει οξειδωτικό στρες [32, 37]. Η άσκηση εκτός από τον αυξημένο αριθμό ελεύθερων ριζών μπορεί να προκαλέσει και αυξημένη λιπιδική υπεροξειδωση. Αυτό το φαινόμενο παρατηρείται επίσης και σε καταστάσεις έλλειψης βιταμίνης E [37]. Από έρευνες που έχουν γίνει έχει φανεί πως οι ερυθρές μυϊκές ίνες περιέχουν περισσότερα λιπίδια που μπορούν να υποστούν υπεροξειδωση σε σχέση με τις λευκές [38] και αυτό πιθανώς να σχετίζεται με το γεγονός ότι υπάρχει μεγαλύτερη συγκέντρωση μιτοχονδρίων στις πρώτες [39]. Η προκαλούμενη από την άσκηση ή από την έλλειψη βιταμίνης E βλάβη στις μεμβράνες πιστεύεται πως αποτελεί παράγοντα κόπωσης κατά τη διάρκεια υπομέγιστης άσκησης [37]. Επίσης η αερόβια άσκηση φαίνεται πως μειώνει τα επίπεδα βιταμίνης E και αυτό μπορεί να θεωρηθεί ως ενδεικτικό λιπιδικής υπεροξειδωσης μεγαλύτερου βαθμού [58]. Από την άλλη πλευρά η προπόνηση αντοχής θεωρείται επίσης πως μπορεί να ενεργοποιήσει μηχανισμούς που είναι υπεύθυνοι για την προστασία από λιπιδική υπεροξειδωση. Αυτό θεωρητικά επιτυγχάνεται είτε μειώνοντας την υπεροξειδωση, είτε ενισχύοντας συστήματα εξάλειψης ριζών (scavenger systems) [38]. Επίσης αυτό το είδος προπόνησης μπορεί να προκαλέσει αυξημένα επίπεδα μιτοχονδριακής καταστροφής. Έτσι οι ελεύθερες ρίζες που επάγονται της άσκησης μπορεί να προκαλούν περιορισμένη βλάβη σε μιτοχονδριακές μεμβράνες. Γι αυτό το λόγο έχει προταθεί πως η χρόνια προπόνηση αντοχής μπορεί να αποτελέσει το εναρκτήριο ερέθισμα μιτοχονδριακής βιογένεσης [37].

Έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση (High Intensity Interval Training)

Η ΗΠΙΤ τα τελευταία χρόνια έχει κινήσει το ενδιαφέρον για διάφορους λόγους. Αρχικά θεωρείται μια στρατηγική που απαιτεί λιγότερο χρόνο, αλλά παρ' όλα αυτά έχει γρηγορότερες προσαρμογές στο μυ και στην απόδοση σχετιζόμενη με την παραδοσιακή προπόνηση αντοχής [45]. Επίσης θεωρείται ένας ιδανικός τρόπος προπόνησης για τη βελτίωση της υγείας, ενώ παρουσιάζει μικρότερη ανοσοκαταστολή σε σχέση με την παραδοσιακή προπόνηση αντοχής [20]. Επίσης έρευνες έχουν δείξει πως η αερόβια αντοχή αυξάνεται σε μεγάλο βαθμό μέσω της διαλειμματικής προπόνησης σπριντ [40]. Έχουν παρατηρηθεί αυξήσεις τόσο στη μέγιστη [44] όσο και στην κορυφαία [40] πρόσληψη οξυγόνου. Επίσης το οξειδωτικό δυναμικό των μυών έχει φανεί πως φτάνει σε παρόμοια ή και ανώτερα επίπεδα σε σχέση με έρευνες πάνω στην αερόβια προπόνηση [40]. Παρ' όλα αυτά αυτού του είδους η άσκηση μπορεί να προκαλέσει οξεία αύξηση σε δείκτες οξειδωτικού στρες και λιπιδικής υπεροξειδωσης [20, 21]. Υπάρχουν λίγες έρευνες σχετικά με τις διαφορές στα επίπεδα οξειδωτικού στρες ανάμεσα στα δύο είδη άσκησης. Ο υπολογισμός της επίδρασης της έντονης επαναλαμβανόμενης άσκησης σε δείκτες οξειδωτικού στρες και η σύγκρισή του με την αερόβια άσκηση αποτελεί έναν τομέα που χρήζει περαιτέρω έρευνας.



ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να αξιολογηθεί η επίδραση που έχει η έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση σε δείκτες οξειδωτικού στρες (TBARS) και να συγκριθεί με την επίδραση που έχει η αερόβια άσκηση στο συγκεκριμένο δείκτη.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ [40,60, 61]

Δώδεκα νεαροί άνδρες ηλικίας 18-45 ετών έλαβαν μέρος στην εργασία. Τα προσωπικά στοιχεία των συμμετεχόντων εμφανίζονται στον Πίνακα 1. Οι συμμετέχοντες εμφανίστηκαν στο Κέντρο Έρευνας και Αξιολόγησης της Φυσικής Απόδοσης (ΚΕΑΦΑ) της Σχολής Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού (ΣΕΦΑΑ) του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας τρεις φορές. Την πρώτη φορά έγινε αξιολόγηση των σωματομετρικών χαρακτηριστικών (ύψος, βάρος, ποσοστό λίπους) με τη μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια. Το βάρος μετρήθηκε με τη μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια χρησιμοποιώντας ζυγό ακριβείας (Beam Balance 710; Seca, Birmingham, United Kingdom). Οι δοκιμαζόμενοι είχαν τη μικρότερη δυνατή ένδυση και η αξιολόγηση του βάρους και του ύψους έγινε χωρίς υπόδηση. Το ύψος μετρήθηκε χρησιμοποιώντας ένα αναστημόμετρο ακριβείας (Stadiometer 208; Seca). Το ποσοστό λίπους μετρήθηκε με την τεχνική της βιοαγωγιμότητας (Tanita BF 522 W, TANITA Corp US).

Table 1: Subjects' personal characteristics

Variable	Mean \pm SD
Body Fat (%)	10.8 \pm 4.1
Weight (kg)	75.3 \pm 8.9
Height (m)	1.80 \pm 0.1
Age (years)	22.4 \pm 0.5
VO _{2max} (ml/kg/min)	45.3 \pm 8.4
HR max (bpm)	185.2 \pm 7.1

VO_{2max}: Maximum oxygen consumption; HR: Heart rate

Αξιολόγηση Μέγιστης Πρόσληψης Οξυγόνου και υπομέγιστη άσκηση

Η αξιολόγηση της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου έγινε στο κυκλοεργόμετρο (Monark 834 E) χρησιμοποιώντας έναν αναλυτή αερίων (Vmax, Sensormedics). Ο δοκιμαζόμενος ξεκινούσε να ποδηλατεί στις 70 στροφές (rpm) χωρίς καμία αντίσταση. Κάθε 2 λεπτά προσθέτονταν στο ποδήλατο αντίσταση (300g), ενώ ο δοκιμαζόμενος συνέχιζε να ποδηλατεί με τον ίδιο ρυθμό. Όταν έφτανε σε σημείο κόπωσης η διαδικασία σταματούσε. Τα κριτήρια προσδιορισμού της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου περιλάμβαναν: 1) Αύξηση της έντασης χωρίς την ταυτόχρονη μεταβολή της πρόσληψης οξυγόνου (πλατώ), 2) Μέγιστη καρδιακή συχνότητα ± 10 χτύποι ανά λεπτό, αναπνευστικό πηλίκιο ≥ 1.1 και εθελοντική διακοπή της δοκιμασίας εξαιτίας κόπωσης.

Υπομέγιστη Άσκηση

Τις επόμενες δύο φορές εμφανίστηκαν για να πραγματοποιήσουν τις δύο συνεδρίες άσκησης. Η σειρά έγινε με τυχαιοποιημένο τρόπο. Η μια συνεδρία άσκησης ήταν αερόβια. Η έντασή της καθορίστηκε στο 70% της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου, που είχε οριστεί με την πρώτη επίσκεψη και η επιβάρυνση προσαρμοζόταν έτσι ώστε η ένταση να αντιστοιχεί στο 70% της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου. Ο έλεγχος της έντασης γινόταν κάθε 10 λεπτά χρησιμοποιώντας τα δεδομένα του αναλυτή αερίων. Η διάρκεια της άσκησης ορίστηκε στα 30 λεπτά. Η δεύτερη συνεδρία άσκησης ήταν έντονη επαναλαμβανόμενη άσκηση. Σε αυτή τη συνεδρία οι συμμετέχοντες πραγματοποίησαν τέσσερα Wingate test. Η επιβάρυνση για το κάθε test ορίστηκε στο 7,5% του σωματικού βάρους του κάθε συμμετέχοντα και η διάρκεια του κάθε test ήταν 30 δευτερόλεπτα. Η διαδικασία του Wingate test περιλαμβάνει: Ο δοκιμαζόμενος ανεβαίνει σε κυκλοεργόμετρο το οποίο είναι συνδεδεμένο με έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή εφοδιασμένο με το κατάλληλο λογισμικό και αρχίζει και ποδηλατεί με την μέγιστη ταχύτητα. Μόλις παρατηρηθεί πλατώ στις μέγιστες στροφές του κυκλοεργόμετρου, βάρος ορισμένο στο 7,5% του σωματικού βάρους του δοκιμαζόμενου εναποτίθεται ακαριαία στην υποδοχή του ποδηλάτου. Έπειτα ο

δοκιμαζόμενος ποδηλατεί για 30 δευτερόλεπτα στη μέγιστη ένταση που μπορεί να πετύχει με λεκτική ενθάρρυνση. Το διάλειμμα μεταξύ των test ήταν 4 λεπτά.

Διατροφή

Στους εξεταζόμενους ζητήθηκε να καταγραφεί η διατροφή των ημερών που συμμετείχαν στην πρώτη δοκιμασία άσκησης και τους ζητήθηκε να την επαναλάβουν όταν επανήλθαν για την πραγματοποίηση της δεύτερης μορφής άσκησης.

Αιμοληψία

Το πρωί και μετά από 10ωρη νηστεία οι συμμετέχοντες εμφανίστηκαν στο ΚΕΑΦΑ για την αιμοληψία και την πραγματοποίηση της άσκησης. Η διαδικασία των αιμοληψιών, του διαχωρισμού και της αποθήκευσης του αίματος έγινε στο Εργαστήριο Βιοχημείας της ΣΕΦΑΑ του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Για τις δύο συνεδρίες άσκησης, πραγματοποιήθηκε αιμοληψία πριν, αμέσως μετά, 24, 48, και 72 ώρες μετά το τέλος της άσκησης. Το αίμα (15 ml) λήφθηκε σε σωληνάρια που περιείχαν αντιπηκτικό παράγοντα (EDTA) και φυγοκεντρήθηκαν σε φυγόκεντρο (Heraeus Biofuge Prime R) και το πλάσμα χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση των TBARS. Το πλάσμα διαχωρίστηκε σε Eppendorf® και αποθηκεύτηκε σε θερμοκρασία -80°C και η ανάλυση για τα TBARS έγινε σε μετέπειτα χρόνο.

Μέτρηση ουσιών που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS)

Η μέτρηση των TBARS έγινε στο Εργαστήριο Βιοχημείας της ΣΕΦΑΑ του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Παραγωγή αντιδραστηρίων για τη μέτρηση των TBARS:

Απαραίτητα για τη μέτρηση των TBARS είναι συγκεκριμένα αντιδραστήρια τα οποία χρησιμοποιούνται στη διαδικασία. Χρησιμοποιήθηκε ζυγαριά Kern ALS 120-4.

Tris-HCL (pH 7,4): Tris ((HOCH₂)₃CNH₂): Ζυγίστηκαν 7,1g Tris και έπειτα διαλύθηκαν σε 25mL απιονισμένο νερό.

HCL: Διαλύθηκαν 0,42ml του διαλύματος 37% HCL και συμπληρώθηκε απιονισμένο νερό μέχρι τα 42ml.

TCA 35%: Ζυγίστηκαν 35g TCA ($C_2H_3ClO_2$) και διαλύθηκαν σε περίπου 70ml απιονισμένου νερού. Αφού αναδεύτηκε (αναδευτήρας τύπου Heidolph MR Hei-Standard) το μείγμα μέχρι να ομογενοποιηθεί, μεταφέρθηκε σε ογκομετρικό κύλινδρο και συμπληρώθηκε νερό μέχρι τα 100ml και αναδεύτηκε ξανά. Τέλος αποθηκεύτηκε σε γυάλινο δοχείο.

TCA 70%: Ζυγίστηκαν 70g TCA ($C_2H_3ClO_2$) και διαλύθηκαν σε περίπου 70ml απιονισμένου νερού. Αφού διαλύθηκε το μείγμα μέχρι να ομογενοποιηθεί (αναδευτήρας τύπου Heidolph MR Hei-Standard), μεταφέρθηκε σε ογκομετρικό κύλινδρο και συμπληρώθηκε νερό μέχρι τα 100ml και αναδεύτηκε ξανά. Τέλος αποθηκεύτηκε σε γυάλινο δοχείο.

Διάλυμα TBA (Na_2SO_4): 2,84g Na_2SO_4 και 0,08g TBA ($C_4H_4N_2O_2S$). Τοποθετήθηκαν μαζί σε ποτήρι ζέσεως και προστέθηκαν 10ml απιονισμένο νερό. Αναδεύτηκαν (αναδευτήρας τύπου Heidolph MR Hei-Standard), σε θερμοκρασία 25°C, μέχρι να ομογενοποιηθεί πλήρως το μείγμα. Το συγκεκριμένο διάλυμα δεν μπορεί να αποθηκευτεί και γι' αυτό τον λόγο σε κάθε μέρα μέτρησης που έγινε παραγόταν καινούριο.

Διαδικασία: Αρχικά το υδατόλουτρο τέθηκε σε λειτουργία, στη θερμοκρασία των 95°C. Όλα τα δείγματα μετρήθηκαν εις διπλούν και για κάθε μέτρηση χρησιμοποιήθηκαν 2 τυφλά δείγματα (blank). Χρησιμοποιήθηκαν σωληνίσκοι Falcon™ για τη μέτρηση. Σε κάθε Falcon™ προστέθηκαν 500μl TCA 35%, 500μL Tris-HCL και έπειτα 100μl πλάσμα (στα τυφλά δείγματα προστέθηκαν 100μL απιονισμένο νερό στη θέση του πλάσματος). Έπειτα έγινε vortex (MS2 Minishaker IKA®) στα δείγματα και αφέθηκαν 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Έπειτα προστέθηκε 1ml διαλύματος TBA σε κάθε σωληνίσκο και τα δείγματα μεταφέρθηκαν στο υδατόλουτρο, όπου παρέμειναν για 45 λεπτά. Αφού βγήκαν από το υδατόλουτρο, τα δείγματα

τοποθετήθηκαν σε πάγο για 5 λεπτά. Στη συνέχεια προστέθηκε 1ml διαλύματος TCA 70% και έγινε vortex. 1ml χωρίς ίζημα από κάθε σωληνίσκο μεταφέρθηκε στο αντίστοιχο Eppendorf®. Έγινε φυγοκέντρηση για 3 λεπτά στα 11200G και σε θερμοκρασία 25°C.

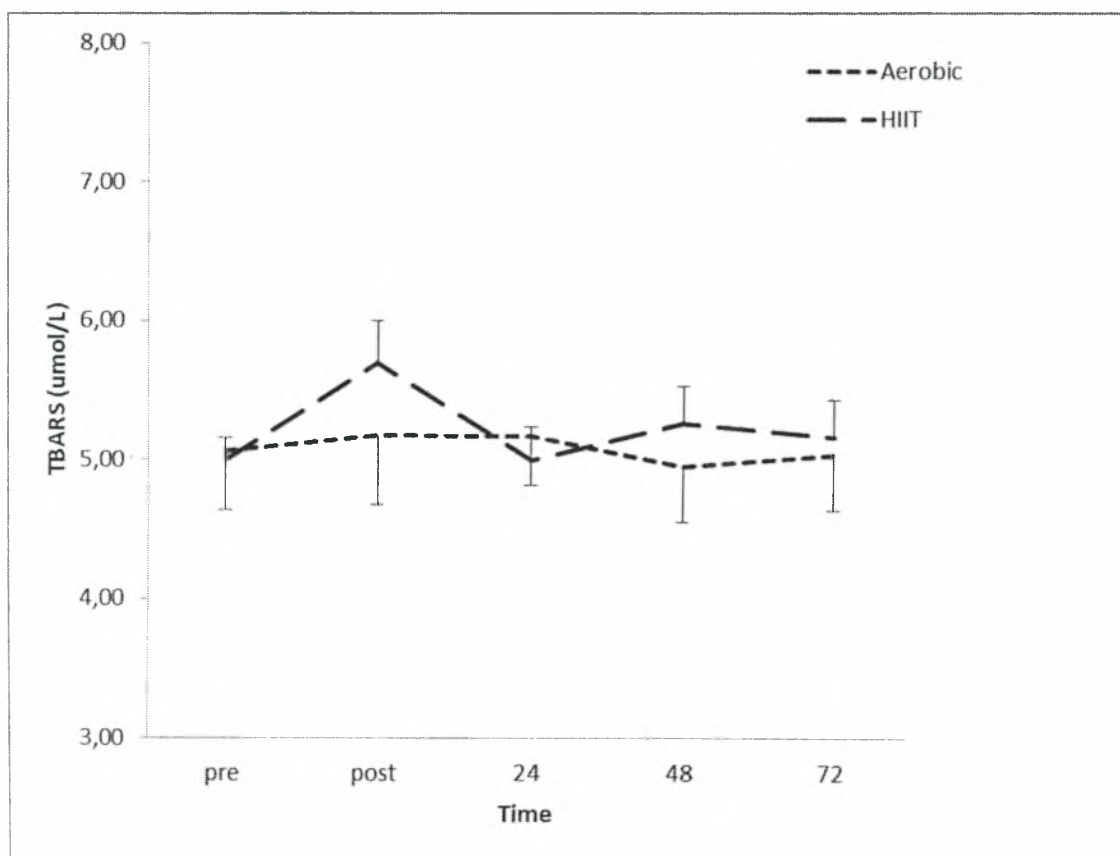
Η μέθοδος της φασματοφωτομετρίας είναι η κατάλληλη για τη μέτρηση των TBARS. Χρησιμοποιήθηκε φασματοφωτόμετρο HITACHI U-1900 και πλαστική κυψελίδα. Το φασματοφωτόμετρο λειτουργούσε στα 530nm και είχε μηδενιστεί στο κενό. 900μl από κάθε δείγμα μεταφέρθηκαν στην κυψελίδα και οι τιμές τους καταγράφηκαν. Για κάθε μέτρηση χρησιμοποιήθηκε σαν αρχική τιμή η τιμή του τυφλού δείγματος (blank).

Στατιστική ανάλυση

Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας 2 X 5 Ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις στο χρόνο (repeated measures ANOVA). Χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο SPSS ενώ το όριο σημαντικότητας ορίστηκε στο $p < 0.05$. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Οι συμμετέχοντες πραγματοποίησαν την αερόβια άσκηση μέσα στα προκαθορισμένα επίπεδα της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου ($70.0 \pm 2.0\%$). Η μέση παραγωγή ισχύος κατά την πραγματοποίηση των τεσσάρων wingate ήταν ($412,5 \pm 77,3$ watt). Η μέση θερμιδική κατανάλωση για έναν από τους συμμετέχοντες κατά τη διάρκεια των 30 λεπτών αερόβιας άσκησης ήταν $12600 \pm 1954,4$ θερμίδες ενώ κατά τη συνολική διάρκεια για την πραγματοποίηση των τεσσάρων wingate ήταν $8032,2 \pm 3105,2$. Όσον αφορά την επίδραση που είχαν οι δύο μορφές άσκησης η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p > .05$) στα TBARS έπειτα και από τις δύο συνεδρίες άσκησης σε καμία χρονική στιγμή αλλά και ούτε υπήρξαν διαφορές μεταξύ των δύο μορφών άσκησης. Το Γράφημα 1 παρουσιάζει την απόκριση των TBARS έπειτα από τις δύο μορφές άσκησης.



Γράφημα 1: Απόκριση των αντιδρώντων ουσιών με το θειοβαρβιτουρικό οξύ

(TBARS) μετά από αερόβια (Aerobic) και έντονη διαλειμματική άσκηση (HIIT).

Table 2: Wingates' mean and standard deviation results

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

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης έδειξαν πως τόσο η αερόβια άσκηση μέτριας έντασης όσο και η έντονη διαλειματική άσκηση δε μετέβαλαν σημαντικά τα επίπεδα των TBARS. Επίσης, δεν υπήρξε καμία σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο μορφών άσκησης στην απόκριση των επιπέδων των TBARS.

Όπως έχουν δείξει διάφορες έρευνες, διάφορα και διαφορετικά είδη άσκησης μπορούν να προκαλέσουν οξειδωτικό στρες στον οργανισμό [20, 21, 24, 32, 37]. Όπως επισημάνθηκε και στην αρχή, η υψηλής έντασης επαναλαμβανόμενη άσκηση, είναι ένας τρόπος άσκησης που κερδίζει όλο και περισσότερο χώρο έναντι της παραδοσιακής προπόνησης αντοχής, λόγω της μικρότερης απαίτησης σε χρόνο, αλλά και των γρήγορων προσαρμογών που μπορεί να προκαλέσει στο μυ [45]. Πέραν όμως αυτών, η συγκεκριμένη άσκηση μπορεί να προκαλέσει οξειδωτικό στρες [20, 21] Στην παρούσα έρευνα, κύριος σκοπός ήταν η σύγκριση των επιπέδων του οξειδωτικού στρες και συγκεκριμένα ενός δείκτη λιπιδικής υπεροξειδωσης (TBARS) ανάμεσα στην υψηλής έντασης επαναλαμβανόμενη και στην αερόβια άσκηση. Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας έδειξαν πως δεν υπάρχουν διαφορές στα TBARS έπειτα από τα δύο είδη άσκησης.

Σε ότι αφορά την αερόβια άσκηση, οι de Lima και συνεργάτες (2012), έδειξαν πως σε πειραματόζωα μετά από μια συνεδρία αερόβιας άσκησης δεν υπάρχουν σημαντικές αλλαγές στα επίπεδα των TBARS [47]. Αυτά τα ευρήματα συμφωνούν με αυτά της παρούσας έρευνας. Οι Nikolaidis και συνεργάτες (2006), έδειξαν πως σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD, έπειτα από άσκηση μέχρι την εξάντληση, η συγκέντρωση των TBARS ήταν αυξημένη. Αυτή η αύξηση είναι ανεξάρτητη της διάρκειας της άσκησης, και επίσης ανεξάρτητη σε σχέση με την έλλειψη του ενζύμου αυτού [48]. Από έρευνα που έχουν γίνει σε πειραματόζωα έχει φανεί πως σε καταστάσεις άσκησης υπομέγιστης αντοχής μέχρι την εξάντληση, υπάρχει σημαντική

αύξηση της λιπιδικής υπεροξειδωσης [37]. Οι Rokitzki και συνεργάτες (1994), βρήκαν μείωση στα επίπεδα των TBARS ανάμεσα σε αθλητές, έπειτα από έναν αγώνα μααραθωνίου [50]. Οι Salminen και Vihko (1983) έδειξαν πως οι χρόνιες επιδράσεις της αερόβιας άσκησης σε πειραματόζωα in vitro, προκαλούν μείωση στα επίπεδα της λιπιδικής υπεροξειδωσης [38]. Μειωμένα επίπεδα λιπιδικής υπεροξειδωσης έπειτα από μια συνεδρία άσκησης μέχρι την εξάντληση φάνηκαν να έχουν και οι ποδοσφαιριστές σε σχέση με μη ασκούμενους [49].

Όπως έχει αναφερθεί προηγουμένως, η υψηλής έντασης διαλειμματική άσκηση έχει κερδίσει έδαφος έναντι της παραδοσιακής προπόνησης αντοχής ως ένας τύπος άσκησης που απαιτεί λίγο χρόνο και έχει μεγάλες προσαρμογές στο μυ [45], παρουσιάζει μικρότερη ανοσοκαταστολή σε σχέση με την προπόνηση αντοχής [20] και έχει βελτιώσεις στην αερόβια αντοχή [40, 44]. Επίσης σε άτομα με στεφανιαία νόσο, τέτοιου είδους άσκηση αύξησε περισσότερο τα επίπεδα υπομέγιστης αντοχής σε σχέση με την μέτρια έντασης συνεχόμενη άσκηση [59]. Από την άλλη πλευρά, για το συγκεκριμένο πρωτόκολλο άσκησης που υπάρχει, θεωρείται αμφίβολο αν ο γενικός πληθυσμός μπορεί να το ακολουθήσει με ασφάλεια ή πρακτικά να υιοθετήσει αυτό το σύστημα προπόνησης [41].

Διάφορα πρωτόκολλα άσκησης υψηλής έντασης έχουν χρησιμοποιηθεί. Το Wingate test όμως είναι πλέον το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο τεστ όχι μόνο ανάμεσα στα τεστ των αθλητών αλλά και σε έρευνες πάνω στις προσαρμογές στην έντονη άσκηση [51]. Υπάρχουν αντικρουόμενα αποτελέσματα ερευνών όσον αφορά τη διαλειμματική προπόνηση υψηλής έντασης. Οι Bogdanis και συνεργάτες (2013), έδειξαν πως αυτή η προπόνηση σε οξεία φάση μπορεί να αυξήσει σημαντικά τα TBARS, με κορύφωση στις 24 ώρες και διατήρηση αυτών των τιμών μέχρι και τις 48 ώρες [21]. Σε χρόνια φάση, αυτή η προπόνηση φάνηκε πως μείωσε τους δείκτες του οξειδωτικού στρες, ενώ φάνηκε αύξηση στους δείκτες της αντιοξειδωτικής κατάστασης [21]. Ο Fisher και οι συνεργάτες του (2011), χρησιμοποιώντας πρωτόκολλο HIIT για τρεις συνεδρίες, παρατήρησαν πως υπήρχε σημαντική αύξηση στα TBARS μόνο τις δύο πρώτες μέρες [20]. Σε

έρευνα των Groussard και συνεργατών (2003) φάνηκε πως μετά από τεστ Wingate η συγκέντρωση των TBARS δεν αυξήθηκε, αλλά παρουσίασε σημαντική μείωση σε όλους τους δοκιμαζόμενους [52]. Οι Spirlandeli, Deminice και Jordao (2014) χρησιμοποιώντας το πρωτόκολλο RAST (Running-based Anaerobic Sprint Test) βρήκαν πως η οξεία προπόνηση προκάλεσε αλλαγές στα TBARS του πλάσματος. Αυτήν όμως την αλλαγή την εξήγησαν σε υπερεκτίμηση των επιπέδων της MDA από αυτή την μέτρηση [53]. Τα ευρήματα της παρούσας έρευνας φαίνεται να μην συμφωνούν με αυτά των αναφερθέντων ερευνών.

Κοιτώντας πιο μακροσκοπικά στο επίπεδο του αθλητισμού, ο Kostaropoulos και οι συνεργάτες του (2006) έδειξαν πως δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ αυτών των δύο κατηγοριών αθλητών στα TBARS, αλλά και γενικά στην οξειδοαναγωγική τους κατάσταση, με εξαίρεση την δράση της καταλάσης [54]. Οι Djordjevic και συνεργάτες (2012) βρήκαν τα επίπεδα των TBARS χαμηλότερα στην ηρεμία σε αθλητές απ' ότι σε μη αθλητές. Ενώ μετά από άσκηση μέχρι την εξάντληση βρέθηκε μείωση στα επίπεδα των TBARS σε σχέση με την ηρεμία στους μη-αθλητές [55]. Ωστόσο, στη συγκεκριμένη έρευνα δεν ελήφθησαν υπ' όψιν οι διατροφικές συνήθειες των δοκιμαζομένων πριν και κατά τη διάρκεια των ημερών που διεξήχθησαν οι δοκιμασίες. Η διατροφή που ακολούθησαν οι δοκιμαζόμενοι τις ημέρες των δοκιμασιών μπορεί να περιείχαν αντιοξειδωτικά όπως λ.χ. βιταμίνες A, C, E [16], οι οποίες να επηρέασαν τα επίπεδα του οξειδωτικού στρες στο αίμα. Επίσης το αποτέλεσμα μπορεί να επηρέασε και ο αριθμός του δείγματος.

Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

Η διατροφή φαίνεται να επηρεάζει την λιπιδική υπεροξειδωση και το οξειδωτικό στρες γενικότερα. Μελλοντικές έρευνες θα μπορούσαν να χρησιμοποιήσουν μεγαλύτερο δείγμα και περισσότερους δείκτες λιπιδικής υπεροξειδωσης ή και να καταγράψουν τις διατροφικές συνήθειες των ασκουμένων κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας. Ακόμη θα μπορούσαν να προτείνουν ένα συγκεκριμένο διατροφικό πλάνο το οποίο θα



μπορεί να μειώνει την επίδραση της προσλαμβανόμενης τροφής στους δείκτες του οξειδωτικού στρες.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Mougios, V. (2008) Βιοχημεία της άσκησης. (Πετρίδου Π.Α. μετάφραση). Αθήνα: Π.Χ. Πασχαλίδης σελ. 8, 9, 42, 181.
2. Kalyanaraman, B. (2013). Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms Graphical review. *Redox Biology* 1, 244–257.
3. Ríos-Arrabal, S., Artacho-Cordón, F., León, J., Román-Marinetto, E., Salinas-Asensio, M., Calvente, et al. (2013). Involvement of free radicals in breast cancer. *SpringerPlus*, 2, 404.
4. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin T.D.M., Mazur, M., & Telser, J., (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39, 44–84.
5. Cuzzocrea, S., Riley, P.D., Caputi, P.A., & Salvemini, D. (2001). Antioxidant Therapy: A New Pharmacological Approach in Shock, Inflammation, and Ischemia/Reperfusion Injury. *Pharmacological Reviews*, 53,135–159.
6. Winterbourn, C.C. (1995). Toxicity of iron and hydrogen peroxide: the Fenton reaction. *Toxicology Letters*, 82/83, 969-974
7. Kone, C.B. (2001) Molecular biology of natriuretic peptides and nitric oxide synthases. *Cardiovascular Research*, 51, 429 – 441.
8. López-Figueroa, O.M., Caamaño, C., M. Morano, I.M., Rønn, C.L., Akil, H., & Watson, J.S. (2000) Direct Evidence of Nitric Oxide Presence within Mitochondria. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 272, 129–133.
9. Ghafourifar, P., & Richter, C. (1997) Nitric oxide synthase activity in mitochondria. *FEBS Letters*, 418, 291-296.
10. Cascão R., Rosário H.S., & Fonseca J.E. (2009) Neutrophils: Warriors and commanders in immune mediated inflammatory diseases. *Acta Reumatologica Portuguesa*, 34, 313-326

11. Beckman, S.J., Chen, J., Ischiropoulos, H., & Crow, P.J. (1994) Oxidative Chemistry of Peroxynitrite. *Methods in Enzymology*, 233, 229-240.
12. Jeroudi, O.M., Hartley, J.C., & Bolli, R. (1994). Myocardial Reperfusion Injury: Role of Oxygen Radicals and Potential Therapy with Antioxidants. *The American Journal of Cardiology*, 73, 2B-7B.
13. Goldberg, B., & Stern, A. (1976). Production of Superoxide Anion during the Oxidation of Hemoglobin by Menadione. *Biochimica et Biophysica Acta*, 437, 628—632.
14. Elsayed, M.N. (2001). Antioxidant Mobilization in Response to Oxidative Stress: A Dynamic Environmental–Nutritional Interaction. *Nutrition* 17, 828–834.
15. Birben, E., Sahiner, M.U., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defence. *World Allergy Organization Journal*, 5, 9-19.
16. Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clinical Interventions in Aging*, 2, 219–236.
17. Green, J. (1972). Vitamin E and the Biological Antioxidant Theory. *Annals New York Academy of Sciences*, 203, 29-44.
18. Rayman, P.M. (2012). Selenium and human health. *Lancet*, 379, 1256–68
19. Murad, F. (2006). Nitric Oxide and Cyclic GMP in Cell Signaling and Drug Development. *New England Journal of Medicine*, 355, 2003-11.
20. Fisher, G., Schwartz, D.D., Quindry, J., Barberio, D.M., Foster, B.E., Jones, W.K., et al. (2011) Lymphocyte enzymatic antioxidant responses to oxidative stress following high-intensity interval exercise. *Journal of Applied Physiology*, 110, 730–737.
21. Bogdanis, C.G., Stavrinou, P., Fatouros, G.I., Philippou, A., Chatzinikolaou, A., Draganidis, D., et al. (2013). Short-term high-intensity interval exercise training attenuates oxidative stress

- responses and improves antioxidant status in healthy humans. *Food and Chemical Toxicology*, *61*, 171-7.
22. Watson, D.B. (1998). Usual and Unusual Methods for Detection of Lipid Peroxides as Indicators of Tissue Injury in Cerebral Ischemia: What Is Appropriate and Useful? *Cellular and Molecular Neurobiology*, *18*, 581-98.
23. Kanner, J., German J.B., Kinsella E., & Hultin, O.H. (1987). Initiation of Lipid Peroxidation in Biological Systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *25*, 317-364.
24. Ji, L.L. (1999) Antioxidants and Oxidative Stress in Exercise. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, *222*, 283-92.
25. Subbanagounder, G., Leitinger, N., Schwenke, C.D., Wong, W.J., Lee, H., Rizza, C., et al. (2000). Determinants of Bioactivity of Oxidized Phospholipids: Specific Oxidized Fatty Acyl Groups at the sn-2 Position. *Atherosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, *20*, 2248-2254.
26. Deigner, H.P., & Hermetter, A. (2008). Oxidized phospholipids: emerging lipid mediators in pathophysiology. *Current Opinion in Lipidology*, *19*, 289-294.
27. Surh, Y.J., Packer, L. (2005). Transcriptional Regulation of Cellular Antioxidant Defense Mechanisms, in Oxidative Stress, Inflammation, and Health. Taylor and Francis Group publication 2005 οελ 22-23.
28. Newmeyer, D.D., & Ferguson-Miller, S. (2003). Mitochondria: Releasing Power for Life and Unleashing the Machineries of Death. *Cell Press*, *112*, 481-90.
29. Boveris, A., & Chance, B. (1973). The Mitochondrial Generation of Hydrogen Peroxide. *Biochemical Journal*, *134*, 707-716.
30. Zweier, L.J., Kuppusamy, P., & Lutty, A.G. (1988). Measurement of endothelial cell free radical generation: Evidence for a central

- mechanism of free radical injury in postischemic tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85, 4046-4050.
31. Hellsten, Y., Ahlborg, G., Jensen-Urstad, M., & Sjodin, B. (1988). Indication of in vivo xanthine oxidase activity in human skeletal muscle during exercise. *Acta Physiologica Scandinavica*, 134, 159-160.
32. Sahlin, K., Ekberg, K., & Cizinsky, S. (1991). Changes in plasma hypoxanthine and free radical markers during exercise in man. *Acta Physiologica Scandinavica*, 142, 275-281
33. Hack, V., Strobel, G., Rau, J.P., & Weicker H. (1992). The effect of maximal exercise on the activity of neutrophil granulocytes in highly trained athletes in a moderate training period. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 65, 520-4.
34. Smith, J.A., Gray, A.B., Pyne, D.B., Baker, M.S., Telford, R.D., & Weidemann, M.J. (1996). Moderate exercise triggers both priming and activation of neutrophil subpopulations. *American Journal of Physiology*, 270, 838-45.
35. Bylund, A.C., Bjurö, T., Cederblad, G., Holm, J., Lundholm, K., Sjöström, M., et al. (1977). Physical training in man. Skeletal muscle metabolism in relation to muscle morphology and running ability. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 36, 151-69.
36. Ingjer, F. (1979). Effects of endurance training on muscle fibre ATP-ase activity, capillary supply and mitochondrial content in man. *The Journal of Physiology*, 294, 419-432.
37. Davies, J.A.K., Quintanilha, T.A., Brooks, A.G., & Packert, L. (1982). Free Radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 107, 1198-1205.

38. Salminen, A., & Vihko, V. (1983). Endurance training reduces the susceptibility of mouse skeletal muscle to lipid peroxidation in vitro. *Acta Physiologica Scandinavica*, *117*, 109-113.
39. Fiehn, W., Peter, B.J., Mead, F.J., & Gan-Elepano, M. (1971). Lipids and Fatty Acids of Sarcolemma, Sarcoplasmic Reticulum, and Mitochondria from Rat Skeletal Muscle. *The Journal of Biological Chemistry*, *246*, 5617-5620.
40. Burgomaster, A.K., Hughes, C.S., Heigenhauser, J.F.G., Bradwell, N.S., & Gibala, J.M. (2005). Six sessions of sprint interval training increases muscle oxidative potential and cycle endurance capacity in humans. *Journal of Applied Physiology*, *98*, 1985–1990.
41. Gibala, J.M., & McGee, L.S. (2008). Metabolic Adaptations to Short-term High-Intensity Interval Training: A Little Pain for a Lot of Gain? *Exercise and Sport Sciences Reviews*, *36*, 58-63.
42. Pullman, B., Spanjaard, C., & Berthier, G. (1960). Features Of The Electronic Structure Of The Iron-Porphyrin Complexes With Special Reference To The Oxido-Reductive Properties Of Cytochromes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *46*, 1011-20.
43. Holloszy, J.O., Oscai, L.B., Don, I.J., & Molé, P.A. (1970). Mitochondrial Citric Acid Cycle and Related Enzymes: Adaptive response to exercise. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *40*, 1368-73.
44. Astorino, A.T., Allen, P.R., Roberson, W.D., & Jurancich, M. (2012). Effect of High-Intensity Interval Training on Cardiovascular Function VO₂max and Muscular Force. *The Journal of Strength and Conditioning Research*, *26*, 138–145.
45. Gibala, J.M., Little, P.J., van Essen, M., Wilkin, P.G., Burgomaster, A.K., Safdar, A., et al. (2006). Short-term sprint interval versus traditional endurance training: similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. *The Journal of Physiology*, *575*, 901–911.

46. Tandon, V., Gupta, B.M., & Tandon, R. (2005). Free Radicals/Reactive Oxygen Species. *JK-Practitioner*, 12, 143-148.
47. Cruvinel de Lima, M., Marks, G., Schettert Silva, I., Kato da Silva, A.B.I., Cônsolo, Z.Z.L., & Nogueira, B.G. (2012). Evaluation of oxidative stress in mice subjected to aerobic exercise *Acta Cirúrgica Brasileira*, 27, 544-51.
48. Nikolaidis, M.G., Jamurtas, A.Z., Paschalis, V., Kostaropoulos, I.A., Kladi-Skandali, A., Balamitsi, V., et al. (2006). Exercise-Induced Oxidative Stress in G6PD-Deficient Individuals. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 38, 1443-50.
49. Metin, G., Gümüştaş, M.K., Uslu, E., Belce, A., Kayserilioglu, A. (2003). Effect of Regular Training on Plasma Thiols, Malondialdehyde and Carnitine Concentrations in Young Soccer Players. *Chinese Journal of Physiology*, 46, 35-39.
50. Rokitzki, L., Logemann, E., Sagredos, A.N., Murphy, M., Wetzel-Roth, W., Keul, J. (1994). Lipid peroxidation and antioxidative vitamins under extreme endurance stress. *Acta Physiologica Scandinavica*, 151, 149-58.
51. Driss, T., & Vandewalle, H. (2013). The Measurement of Maximal (Anaerobic) Power Output on a Cycle Ergometer: A Critical Review. *BioMed Research International*, 2013, 589361.
52. Groussard, C., Rannou-Bekono, F., Machefer, G., Chevanne, M., Vincent, S., Sergent, O., et al. (2003). Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 89, 14-20.
53. Spirlandeli, L., Deminice, R., & Jordao, A.A. (2014). Plasma Malondialdehyde as Biomarker of Lipid Peroxidation: Effects of Acute Exercise. *International Journal of Sports Medicine*, 35, 14-18.
54. Kostaropoulos, I.A., Nikolaidis, M.G., Jamurtas, A.Z., Ikonomidou, G.V., Makrygiannis, V., Papadopoulos, G., et al. (2006). Comparison

- of the Blood Redox Status between Long Distance and Short-Distance Runners. *Physiological Research*, *55*, 611-6.
55. Djordjevic, Z.D., Cubrilo, G.D., Barudzic, S.N., Vuletic, S.M., Zivkovic, I.V., Nestic, M., et al. (2012). Comparison of blood pro/antioxidant levels before and after acute exercise in athletes and non-athletes. *General Physiology and Biophysics*, *31*, 211–219.
56. Guillén-Sans R., & Guzmán-Chozas, M. (1998). The Thiobarbituric Acid (TBA) Reaction in Foods: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *38*, 315-350.
57. Blackard, W.G., Ball, M.F., Engel, F.L. (1962). Some hormonal, metabolic and nutritional factors influence lipid peroxidation by rat adipose tissue in vitro. *Journal of Clinical Investigation*, *41*, 1288-96.
58. Packer, L., Almada, A.L., Rothfuss, L.M., & Wilson, D.S. (1989). Modulation of Tissue Vitamin E Levels by Physical Exercise. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *570*, 311-21.
59. Keteyian, J.S., Hibner, A.B., Bronsteen, K., Kerrigan, D., Aldred, A.H., Reasons, M.L., et al. (2014). Greater Improvement in Cardiorespiratory Fitness Using Higher-Intensity Interval Training in the Standard Cardiac Rehabilitation Setting. *Journal of Cardiopulmonary Rehabilitation and Prevention*, *34*, 98-105.
60. Theodorou A A., Nikolaidis G. M., Paschalis V., Koutsias S., Panayiotou G, Fatouros G. I., Koutedakis Y., Jamurtas A. Z. (2011). No effect of antioxidant supplementation on muscle performance and blood redox status adaptations to eccentric training. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *93*, 1373–83.
61. Theodorou, A.A., Nikolaidis, G.M., Paschalis, V., Sakellariou, K.G., Fatouros, G.I., Koutedakis, Y., Jamurtas A.Z. (2009). Comparison between Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase–Deficient and Normal Individuals after Eccentric Exercise *Medicine & Science in Sports & Exercise* *42*, 1113-21.

62. Marzatico, F., Pansarasa, O., Bertorelli, L., Somenzini, L., Della Valle, G. (1997). Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness* 37, 239–23.