



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΗΣ ΛΗΨΗΣ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ
ΒΙΤΑΜΙΝΩΝ C & E ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΝΕΑΡΩΝ
ΑΝΔΡΩΝ**

ΤΟΥ

ΟΙΚΟΝΟΜΟΥ ΝΕΚΤΑΡΙΟΥ ΔΗΜΗΤΡΙΟΥ

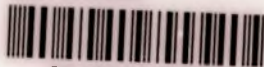
Επιβλέπων Καθηγητής: Δρ Τζιαμούρτας Αθανάσιος
Επίκουρος Καθηγητής Π.Θ



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

Αριθ. Εισ.: 6719/1
Ημερ. Εισ.: 12/11/2009
Λωρεά:
Ταξιθετικός Κωδικός: ΠΤ-ΤΕΦΑΑ
2009
ΟΙΚ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ



004000102566

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....ΣΕΛΙΔΑ

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	3
2. ABSTRACT.....	4
3. ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	5
4. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	6
4.1 Τι είναι οξειδωτικό στρες.....	6
4.2 Η επίδραση της άσκησης στην δημιουργία μηχανισμών που οδηγούν στην παραγωγή ελευθέρων ριζών.....	8
4.3 Ενδογενής αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί.....	9
4.4 Εξωγενείς αντιοξειδωτικές ουσίες (ασκορβικό οξύ και α-τοκοφερόλη) και προοξειδωτική δράση.....	11
Σκοπός της έρευνας.....	13
Στατιστικές υποθέσεις.....	13
Περιορισμοί της εργασίας.....	13
Σημασία της εργασίας.....	14
5. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ	
5.1 Η επίδραση της άσκησης στο οξειδωτικό στρες.....	14
5.2 Η επίδραση της λήψης αντιοξειδωτικών ουσιών στους δείκτες οξειδωτικού στρες μετά την άσκηση.....	17
6. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	
6.1 Δοκιμαζόμενοι και χαρακτηριστικά επιλογής.....	21
6.2 Βασικές μετρήσεις ελέγχου φυσικής κατάστασης.....	22
6.3 Διαιτητικές υποδείξεις και αντιοξειδωτική θεραπεία.....	23
6.4 Πειραματικές μετρήσεις.....	24
6.5 Συλλογή αίματος και αναλύσεις.....	25
6.6 Στατιστική ανάλυση.....	26
7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	26
8. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	29
9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ.....	33
10. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	35

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός: Αυτή η εργασία σχεδιάστηκε για να εξετάσει, εάν η συμπληρωματική λήψη αντιοξειδωτικών ουσιών όπως η βιταμίνη C και η βιταμίνη E, θα επηρεάσει την αντιοξειδωτική ικανότητα νεαρών ανδρών, μετά από παρατεταμένη αερόβια άσκηση. **Μέθοδος:** Δεκαοκτώ νεαροί άνδρες συμμετείχαν σε μια διπλά τυφλή μελέτη με σχεδιασμό διασταύρωσης και εικονικού συμπληρώματος. Οι συμμετέχοντες έλαβαν μέρος σε μια αερόβια δοκιμασία σε δαπεδοεργόμετρο, διάρκειας 45 λεπτών, υπομέγιστης εντάσης (75% της VO_2max) μετά από δυο εβδομάδες συμπληρωματικής λήψης αντιοξειδωτικών βιταμινών (2 X 294mg βιταμίνης E και 1000mg βιταμίνης C) και έπειτα από δυο εβδομάδες λήψης εικονικού συμπληρώματος. Αιμοληψίες πραγματοποιήθηκαν πριν, αμέσως μετά, 1 ώρα και 24 ώρες μετά την δοκιμασία. Οι δείκτες που εξετάστηκαν περιελάμβαναν την ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC), την ανηγμένη γλουταθειόνη (GSH) και το ουρικό οξύ (UA).

Αποτελέσματα: Σημαντική μεταβολή παρατηρήθηκε και για τις δυο ομάδες στις τιμές της TAC και της GSH [($P < 0,05$) (κύρια επίδραση χρόνου)] και του UA [($P < 0,05$) (κύρια επίδραση χρόνου και ομάδας)].

Επίλογος: Αερόβια άσκηση μακράς χρονικής διάρκειας επιφέρει αύξηση του οξειδωτικού στρες του οργανισμού, χωρίς ωστόσο η συμπληρωματική λήψη βιταμινών C και E να αυξάνει την αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού, όπως αυτή ορίζεται από τους συγκεκριμένους δείκτες, που χρησιμοποιήθηκαν στην έρευνα αυτή, αφού δεν υπήρξαν διαφορές ανάμεσα στη πειραματική κατάσταση και την κατάσταση ελέγχου.

Λέξεις κλειδιά : οξειδωτικό στρες, ελεύθερες ρίζες, βιταμίνη C, βιταμίνη E.

ABSTRACT

Purpose: This study was designed to investigate whether antioxidant supplementation can affect the antioxidant capacity of young males after prolonged aerobic exercise. **Methods:** Eighteen young males participated in a cross-over, placebo controlled study where they performed an aerobic workout for 45min at 75% of VO_2 max after either two weeks of antioxidant vitamin supplementation (2 X 294mg of vitamin E and 1000mg of vitamin C) or two weeks of placebo supplementation. Blood samples were taken before, immediately post exercise, 1 h and 24 h post exercise and were analyzed for total antioxidant capacity (TAC), reduced glutathione (GSH) and uric acid (UA). **Results:** Exercise resulted in a significant elevation ($P < 0.05$) of TAC, GSH and UA after both conditions with no interaction between the two conditions. **Conclusion:** It seems that aerobic exercise results in an elevation of oxidative stress and antioxidant supplementation does not alter the antioxidant capacity as there were no differences between the experimental and control condition..

Key words: *oxidative stress, free radicals, vitamin C, vitamin E.*

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Μέσω αυτής της παραγράφου θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή μου κ. Αθανάσιο Τζιαμούρτα για την καθοδήγηση που μου πρόσφερε, τον Γιώργο Σακελλαρίου για την πολύτιμη βοήθεια του, τον Μιχάλη Νικολαΐδη, τον Βασίλη Πασχάλη και τον Τάσο Θεοδώρου για την υποστήριξη τους.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τους ανώνυμους εθελοντές που συμμετείχαν με την συγκατάθεση τους στο πείραμα.

4. Εισαγωγή

Στις μέρες μας είναι ορατή η διάθεση των ανθρώπων να βελτιώσουν τη ποιότητα ζωής τους, τη στιγμή που οι περιβαλλοντικές συνθήκες και οι διατροφικές τους συνήθειες τείνουν να οδηγούν σε μια κατάσταση η οποία μακροχρόνια επιβαρύνει την υγεία τους. Συχνά παρατηρείται η προσπάθεια όλο και μεγαλύτερου ποσοστού να ασχοληθούν με τον μαζικό αθλητισμό. Ο λόγος είναι τα οφέλη που προσφέρει η άσκηση, η οποία λειτουργεί ως μέσο πρόληψης και σε ορισμένες περιπτώσεις θεραπείας πλήθους παθήσεων [36]. Μέσω της άσκησης είναι δυνατό να προληφθεί ο διαβήτης τύπου II, η δυσλιπιδεμία, η παχυσαρκία, η αθηροσκλήρωση, η υπέρταση, ασθένειες του αναπνευστικού και του καρδιοκυκλοφορικού συστήματος, φλεγμονές των μυών, των οστών και των αρθρώσεων και αρκετές άλλες ασθένειες που σχετίζονται με την υποκινητικότητα (Østergård, Jessen, Schmitz, & Mandarino, 2007; Paschalis et al., 2007). Επιπλέον η απλή επαναλαμβανόμενη αερόβια άσκηση, βοηθά στην δημιουργία ενός καλύτερου αντιοξειδωτικού μηχανισμού (Bloomer, Goldfarb, & McKenzie, 2006). Την σημασία της άσκησης κάνει ακόμα μεγαλύτερη το γεγονός που παρατηρείται τα τελευταία χρόνια σε παιδιά και εφήβους και αφορά στην εμφάνιση ασθενειών όπως η αντίσταση στην ινσουλίνη, που χαρακτηρίζουν κυρίως τις μεγάλες ηλικίες (Kriemler et al., 2008).

4.1. Τι είναι οξειδωτικό στρες.

Η άσκηση ευθύνεται για την παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου (ROS) και ελευθέρων ριζών αζώτου (RNS) στους μυς, σε χαμηλές συγκεντρώσεις, ως φυσιολογική απόρεια του μεταβολισμού τους. Ωστόσο όταν τα χαρακτηριστικά της άσκησης όπως η ένταση και η διάρκεια, ξεπερνούν τα φυσιολογικά όρια του ανθρώπου, οδηγούμαστε σε μια κατάσταση που ονομάζεται οξειδωτικό στρες (Nikolaidis et al., 2007; Sacheck & Blumberg, 2001).

Ο όρος οξειδωτικό στρες αναφέρεται σε μια σοβαρή δυσαναλογία μεταξύ της παραγωγής και μείωσης των ελευθέρων ριζών μέσω του αντιοξειδωτικού μηχανισμού του οργανισμού. Το οξειδωτικό στρες

χαρακτηρίζεται από την τάση ορισμένων μορίων και ατόμων, που έχουν απολέσει το ένα από τα δυο ηλεκτρόνια της τελευταίας στιβάδας, να αναζητούν ένα ηλεκτρόνιο με σκοπό να αποκαταστήσουν της σταθερότητα τους. Αυτό συμβαίνει διότι το μόριο χάνοντας ένα ηλεκτρόνιο από την τελευταία στιβάδα είναι πλέον ανεξάρτητο, μετατρέπεται σε ελεύθερη ρίζα και αναζητά ένα ηλεκτρόνιο από άλλα μόρια για να μπορέσει να σταθεροποιηθεί. Αυτή η κατάσταση μπορεί να βλάψει μόρια τα οποία είναι σημαντικά στην κυτταρική λειτουργία και οδηγούν σε ολοκληρωτική απώλεια της (Evans, 2000).

Οι ελεύθερες ρίζες έχουν ένα θεμελιώδη ρόλο σε αρκετά ενδοκυτταρικά μεταβολικά μονοπάτια ενώ η οξειδωση των μορίων που προκαλούν, αποτελεί έναν τρόπο επικοινωνίας μεταξύ των κυττάρων και ρύθμισης της λειτουργίας τους (Ascensão et al., 2008). Παρόλο που οι ελεύθερες ρίζες θεωρούνται αποκλειστικά επιβλαβείς, σε ορισμένες περιπτώσεις, πιθανολογείται πως προσφέρουν ευεργετικά οφέλη στην υγεία (Rietjens et al., 2007). Είναι δε απαραίτητες καθώς ενεργοποιούν διαδικασίες αποκατάστασης για τον οργανισμό. Για παράδειγμα, έχει αναφερθεί ότι η δημιουργία ελευθέρων ριζών είναι απαραίτητη έτσι ώστε να επέλθουν οι ευνοϊκές προσαρμογές στο μυϊκό ιστό, όπως η υπερτροφία και η αύξηση της μυϊκής δύναμης μετά την άσκηση (Peake, Suzuki, & Coombes, 2006).

Από την άλλη, το οξειδωτικό στρες και ο αυξημένος αριθμός RONS, ευθύνονται για την δημιουργία παθήσεων όπως ο διαβήτης, καρδιοαναπνευστικές διαταραχές, υπέρταση, αθηροσκλήρωση, νευροεκφυλιστικές διαταραχές, αυτοάνοσα νοσήματα, πρόωγη γήρανση, ασθένεια του Parkinson, ασθένεια του Alzheimer και μερικών τύπων καρκίνου (Bloomer et al., 2006b; Ratnam, Ankola, Bhardwaj, Sahana, & Kumar, 2006). Επιπλέον, αρνητική συνέπεια της παρουσίας των ελευθέρων ριζών αποτελούν η αυξημένη μυϊκή βλάβη και η μυϊκή κόπωση κατά τη διάρκεια της άσκησης, στοιχεία που συναντιόνται ιδιαίτερα σε αθλητές (Nikolaidis et al., 2006; Peake et al., 2006).

Τα μόρια τα οποία επιδέχονται ιδιαίτερη οξειδωτική βλάβη είναι τα λιπίδια, διάφορα ένζυμα, οι υδατάνθρακες, οι κυτταρικές πρωτεΐνες, το DNA των κυττάρων, η κυτταρική μεμβράνη και το σαρκοπλασματικό δίκτυο (Peake

et al., 2006; Ratnam et al., 2006). Τα ερυθροκύτταρα επίσης επιδέχονται αρκετά μεγάλη οξειδωτική βλάβη εξαιτίας του μεγάλου ποσοστού πολυακόρεστων λιπαρών οξέων που βρίσκεται στις μεμβράνες τους και της μεγάλης ποσότητας αιμοσφαιρίνης (Nikolaidis et al., 2006; Oztasan et al., 2004).

Καθώς παράγονται τα RONS, επιτίθενται στα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα των κυτταρικών μεμβρανών με αποτέλεσμα να τα οξειδώνουν, δημιουργώντας μια κατάσταση γνωστή ως υπεροξειδωση λιπιδίων (Urso & Clarkson, 2003). Δύο από τους δείκτες οξειδωσης των λιπιδίων είναι η μαλονοδιαλδεϋδη (MDA) και τα TBARS. Όσον αφορά την οξειδωση των πρωτεϊνών, οι ελεύθερες ρίζες του οξυγόνου επιτίθενται στα αμινοξέα των πρωτεϊνών και προκαλούν την εμφάνιση της οξειδωμένης μορφής τους, δηλαδή των πρωτεϊνικών καρβονυλίων (PC). Τέλος η οξειδωση του DNA των κυττάρων, ανιχνεύεται μέσω της αυξημένης παρουσίας της 8-υδροξυ-δεοξυγουανোসίνη (8-OHdG) που θεωρείται ως ο κύριος δείκτης οξειδωσης του (Urso & Clarkson, 2003). Όλα τα παραπάνω αποτελούν τη βάση για της δημιουργία όλων αυτών των ανεπιθύμητων καταστάσεων που περιγράφησαν, οδηγώντας τα κύτταρα στην καταστροφή, μειώνοντας έμμεσα την ποιότητα ζωής των ανθρώπων.

4.2. Η επίδραση της άσκησης στην δημιουργία μηχανισμών που οδηγούν στην παραγωγή ελευθέρων ριζών.

Άσκηση επαρκής σε ένταση και διάρκεια, καθώς και η τακτική επανάληψη της, επιφέρει μεγάλη ζήτηση και χρήση οξυγόνου (Bloomer et al., 2006a; Palazzetti, Rousseau, Richard, Favier, & Margaritis, 2004; Sacheck & Blumberg, 2001). Στα μιτοχόνδρια, κατά την αναπνευστική αλυσίδα, ένα ποσοστό της τάξης του 2-5% του οξυγόνου, που χρησιμοποιείται για την παραγωγή ενέργειας, καταλήγει σε παραγωγή ελευθέρων ριζών (Palazzetti et al., 2004; Sacheck & Blumberg, 2001; Urso & Clarkson, 2003). Ταυτόχρονα τα μιτοχόνδρια φαίνεται να αποτελούν την κύρια πηγή παραγωγής ελευθέρων ριζών.

Η αερόβια άσκηση προκαλεί αυξημένη διέγερση του φλοιού των επινεφριδίων με αποτέλεσμα την έκκριση επινεφρίνης και νορεπινεφρίνης.

Κατά συνέπεια η αύξηση της συγκέντρωσης των κατεχολαμινών, μπορεί να προκαλέσει αυξημένη δημιουργία ελευθέρων ριζών (Urso & Clarkson, 2003). Η αυξημένη απόκριση των ερυθρών αιμοσφαιρίων κατά τη διάρκεια της μεταφοράς του οξυγόνου αυξάνει την παραγωγή υπεροξειδίων από την οξειδωση της ξανθίνης. Αναφέρεται επίσης πως η διαταραχή της ομοιόστασης του ασβεστίου ή η βλάβη των πρωτεϊνών που περιέχουν σίδηρο μέσα στο μυ, μπορεί να προκαλέσει τη δημιουργία ελευθέρων ριζών οξυγόνου (Sacheck & Blumberg, 2001). Το συλλογισμό αυτό επιβεβαιώνουν και άλλες δυο ερευνητικές εργασίες των Jackson (2000) και Margaritis και των συνεργατών του (2003) (Jackson, 2000; Margaritis, Palazzetti, Rousseau, Richard, & Favier, 2003).

Τέλος αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών μπορεί να προκαλέσει η οξειδωση του NAD(P)H και η δραστηριότητα των μακροφάγων, που επιστρατεύονται για την αποκατάσταση τραυματισμένων κυττάρων σαν αποτέλεσμα της μυϊκής βλάβης (Evans, 2000).

4.3. Ενδογενής αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί

Για τη ρύθμιση της συγκέντρωσης των ελευθέρων ριζών σε όλους τους ζωντανούς οργανισμούς, υπάρχουν διάφοροι αμυντικοί αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί, οι οποίοι μειώνουν αλλά δεν εξαλείφουν την οξειδωτική βλάβη που προκαλούν τα RONS (Nikolaidis et al., 2006). Παράλληλα αποτελούν και δείκτες οξειδωτικού στρες στο αίμα. Συμπεριλαμβάνονται τα αντιοξειδωτικά ένζυμα καταλάση, δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD), υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPx), αναγωγάση της γλουταθειόνης και το αντιοξειδωτικό συνένζυμο Q10 (Ratnam et al., 2006; Urso & Clarkson, 2003). Επίσης ο οργανισμός διαθέτει και μη ενζυμικούς ενδογενείς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς που περιλαμβάνουν τα χαμηλού μοριακού βάρους μόρια όπως το ουρικό οξύ, την χολερυθρίνη και την γλουταθειόνη (Ratnam et al., 2006).

Αναλυτικότερα η SOD δρα πρωταρχικά ως ενζυμικός αντιοξειδωτικός παράγων ενάντια στις ελεύθερες ρίζες του υπεροξειδίου. Αυξημένη ενζυμική δραστηριότητα της SOD υποδηλώνει αυξημένη αντίσταση στο οξειδωτικό στρες (Urso & Clarkson, 2003). Η καταλάση βρίσκεται διασκορπισμένη στο κύτταρο και το μεγαλύτερο μέρος της δραστηριότητας της πραγματοποιείται στα μιτοχόνδρια. Η GPx είναι ένα άλλο αντιοξειδωτικό ένζυμο, το οποίο

παρόμοια με την SOD και την καταλάση, βρίσκεται στα μιτοχόνδρια. Η βασική λειτουργία που επιτελεί αφορά στην προστασία του κυττάρου ενάντια στην βλάβη που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες στα λιπίδια των μεμβρανών, στις πρωτεΐνες και στο DNA. Η GPx σε σχέση με την καταλάση, παρουσιάζει πολύ μεγαλύτερη δραστικότητα έναντι των υπεροξειδίων του υδρογόνου και των οργανικών υπεροξειδίων (Urso & Clarkson, 2003). Η αναγωγή της γλουταθειόνης από την άλλη είναι σημαντική για την αναγωγή της GSH, που συνεισφέρει στην αντιοξειδωτική ικανότητα (Urso & Clarkson, 2003).

Επιπλέον σημαντική δράση επιτελούν και οι μη ενζυμικοί παράγοντες όπως η GSH. Η GSH αποτελεί την πλειοψηφία της ενδοκυττάριας μη πρωτεϊνικής θειόλης, η οποία επηρεάζει την πρωτεϊνοσύνθεση και τη σύνθεση του DNA, προστατεύοντας από τη βλάβη που προκαλούν τα ROS (Sacheck & Blumberg, 2001). Από όλους τους αντιοξειδωτικούς παράγοντες η αναλογία της GSH/GSSG είναι το κύριο αντιοξειδωτικό σύστημα στα ζωικά κύτταρα και χρήζει ιδιαίτερης σημασίας. Σε καταστάσεις οξειδωτικού στρες, η αναλογία της GSH/GSSG μειώνεται (Nikolaidis et al., 2006).

Στον άνθρωπο τα ερυθροκύτταρα είναι αυτά που έχουν έναν πολύ καλά αναπτυγμένο αντιοξειδωτικό μηχανισμό ο οποίος περιλαμβάνει εκτός από ένζυμα και μη ενζυμικούς μηχανισμούς. Αυτό συμβαίνει καθώς τα ερυθρά αιμοσφαίρια περιέχουν ένα μεγάλο αριθμό πολυακόρεστων φωσφολιπιδίων στη μεμβράνη τους και υψηλά επίπεδα αιμοσφαιρίνης και οξυγόνου (Nikolaidis et al., 2006). Ωστόσο οι παράγοντες αυτοί έχουν μέτρια ικανότητα αντιμετώπισης της οξειδωτικής βλάβης που προκαλείται από τις ελεύθερες ρίζες. Αυτό επιβεβαιώνεται από έρευνες οι οποίες θεωρούν ότι ακόμα και τα πιο ισχυρά αντιοξειδωτικά ένζυμα όπως η καταλάση και η SOD προσφέρουν μέτρια αντιοξειδωτική προστασία (Nikolaidis et al., 2006; Ratnam et al., 2006). Αλλαγές στα επίπεδα των αντιοξειδωτικών ενζύμων στα ερυθροκύτταρα χρησιμοποιούνται για να περιγράψουν την ύπαρξη οξειδωτικού στρες στον οργανισμό. Αξίζει τέλος να σημειωθεί ότι όταν ο άνθρωπος νοσεί το αντιοξειδωτικό του σύστημα ευνοεί την δημιουργία ελευθέρων ριζών, και σαν συνέπεια να αυξάνονται τα επίπεδα της οξειδωτικής βλάβης (Halliwell, 2001).

4.4. Εξωγενείς αντιοξειδωτικές ουσίες (ασκορβικό οξύ και α-τοκοφερόλη) και προοξειδωτική δράση.

Η μέθοδος για να μειώσουμε την παραγωγή των RONS και ακολούθως την οξείδωση των μακρομορίων σε καταστάσεις οξειδωτικού στρες είναι να διατηρούμαστε σε καλή φυσική κατάσταση πραγματοποιώντας απλές αθλητικές δραστηριότητες και να προσθέτουμε στον οργανισμό μας αντιοξειδωτικές ουσίες (Bloomer et al., 2006b). Η πρόσληψη εξωγενών αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων μπορεί να προσφέρει μια πρώτης τάξεως υποστήριξη στον αντιοξειδωτικό μηχανισμό και να μειώσει την αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών. Αυτό συμβαίνει καθώς τα αντιοξειδωτικά, είναι ουσίες που αντιμάχονται την δράση των ελευθέρων ριζών και της αλυσιδωτής οξειδωτικής βλάβης που προκαλούν (Ratnam et al., 2006)

Αρκετές έρευνες έχουν επισημάνει μια καθαρά ευεργετική δράση των συμπληρωμάτων αντιοξειδωτικών στη μείωση του οξειδωτικού στρες (Davison & Gleeson, 2006; Fischer et al., 2004; Jakeman, & Maxwell, 1993; Kanter, Nolte, & Holloszy, 1993; Palazzetti et al., 2004; Rokitzki, Logemann, Huber, Keck, & Keul, 1994; Schroder, Navarro, Tramullas, Mora, & Galiano, 2000), άλλες δεν εντοπίζουν κάποια επίδραση (Helgheim, Hetl, Nilsson, Ingjer, & Stromme, 1979; McBride, Kraemer, Triplett-McBride, & Sebastianelli, 1998) και αρκετές άλλες παρουσιάζουν αρνητικές συνέπειες (Bloomer et al., 2006b; Bryant, Ryder, Martino, Kim, & Craig, 2003; Goldfarb, Bloomer, & McKenzie, 2005; Huang, Kathy, Helzlsouer & Appel, 2000; Maxwell, Jakeman, Thomason, Leguen, & Thorpe, 1993; Nieman et al., 2002; Sumida, Tanaka, Kitao, & Nakadomo, 1989).

Στην κατηγορία των εξωγενών αντιοξειδωτικών ουσιών έχουμε μη ενζυμικές ουσίες. Την πιο μεγάλη θέση κατέχουν οι πολυφαινόλες ενώ στη δεύτερη και πιο μικρή κατηγορία ανήκουν ουσίες όπως οι βιταμίνες, τα μέταλλα και τα καροτενοειδή (Ratnam et al., 2006). Οι βιταμίνες οι οποίες διακρίνονται για την αντιοξειδωτική δράση τους είναι οι λιποδιαλυτές A, E, K, και η υδατοδιαλυτή βιταμίνη C (Ροντογιάννης, 2007).



Βιταμίνη C και E

Η Βιταμίνη C χαρακτηρίζεται από την δυνατότητα της να δρα αιμοποιητικά, στην αποκατάσταση μυοσκελετικών βλαβών, στην απορρόφηση σιδήρου Fe από τον πεπτικό σωλήνα, στη συμμετοχή στον κυτταρικό μεταβολισμό κτλ. Η βιταμίνη E πιθανολογείται ότι δρα σε επίπεδο νευρομυϊκό και εκτιμάται ότι είναι η εξωγενής αντιοξειδωτική ουσία με την πιο σημαντική λιπολυτική δράση στους ανθρώπους. (Margaritis et al., 2003; Ροντογιάννης, 2007).

Αυτές οι δυο βιταμίνες επιτελούν ένα φάσμα πολύπλοκων και συνεργατικών βιολογικών δραστηριοτήτων αλληλοσυμπληρώνοντας η μια την άλλη, καθώς η βιταμίνη C βοηθά την E να παραμένει ενεργή (Bloomer et al., 2006b). Η λήψη αυτών των βιταμινών πιθανολογείται ότι είναι πιο σημαντική στους αθλητές καθώς παρουσιάζουν σημαντικές απώλειες μέσω της υψηλής ενεργειακής δαπάνης, του ιδρώτα και των ούρων. Η βιταμίνη C λειτουργώντας ως αντιοξειδωτικός παράγων εξυπηρετεί την δράση της καταστρέφοντας κατευθείαν τις ελεύθερες ρίζες και έμμεσα αναγεννά την βιταμίνη E (Margaritis et al., 2003). Η βιταμίνη E προστατεύει από την οξειδωση των λιπιδίων, κυρίως μετά το οξειδωτικό στρες που προκαλεί η άσκηση (Urso & Clarkson, 2003). Επίσης ο συνδυασμός τους φαίνεται να είναι αρκετά αποτελεσματικός στην υποστήριξη του αντιοξειδωτικού μηχανισμού (Peake et al., 2006; Urso & Clarkson, 2003) και στην μείωση της οξειδωτικής βλάβης (Goldfarb, 1999; Palazzetti et al., 2004).

Ωστόσο, αναφέρεται πως σε ορισμένες περιπτώσεις τα αντιοξειδωτικά συμπληρώματα του ασκορβικού οξέος και της α-τοκοφερόλης, προσλαμβανόμενα ξεχωριστά, είτε σε συνδυασμό, δεν λειτουργούν ενάντια στις ελεύθερες ρίζες αλλά αντιθέτως εμφανίζουν μια προοξειδωτική δραστηριότητα (Davison & Gleeson, 2006; Peake et al., 2006; Ratnam et al., 2006). Ο Bloomer με τους συνεργάτες του (2006) επιβεβαιώνουν αυτόν το συλλογισμό και προσθέτουν ότι η πρόσληψη υψηλών δόσεων αντιοξειδωτικών βιταμινών έχει τη δυνατότητα να ενεργεί αντίθετα από τον σκοπό για τον οποίο χορηγήθηκαν (Bloomer et al., 2006a).

Σκοπός της εργασίας

Σκοπός της παρούσας ερευνητικής μελέτης ήταν να εξετάσει εάν η συμπληρωματική λήψη αντιοξειδωτικών βιταμινών C και E θα μεταβάλλει την οξειδωαναγωγική κατάσταση του οργανισμού νεαρών ανδρών μετά από παρατεταμένη αερόβια άσκηση.

Ερευνητικές υποθέσεις.

1. Η αερόβια άσκηση θα προκαλέσει σημαντική αύξηση στους δείκτες οξειδωτικού στρες.
2. Η ομάδα συμπληρωματικής λήψης αντιοξειδωτικών ουσιών θα βελτιώσει την αντιοξειδωτική ικανότητα της.

Στατιστικές Υποθέσεις

Μηδενικές υποθέσεις

1. Μηδενική υπόθεση ($\mu_1 = \mu_2$): Δεν θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά την άσκηση), στους δείκτες προσδιορισμού του οξειδωτικού στρες.
2. Μηδενική υπόθεση ($\mu_1 = \mu_2$): Δεν θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά την άσκηση), στους δείκτες προσδιορισμού του οξειδωτικού στρες μεταξύ των δυο ομάδων.

Εναλλακτικές υποθέσεις

1. Εναλλακτική υπόθεση ($\mu_1 \neq \mu_2$): Θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά την άσκηση), στους δείκτες προσδιορισμού του οξειδωτικού στρες.
2. Εναλλακτική υπόθεση ($\mu_1 \neq \mu_2$): Θα υπάρξουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων (πριν και μετά την άσκηση), στους δείκτες προσδιορισμού του οξειδωτικού στρες μεταξύ των δυο ομάδων.

Περιορισμοί της ερευνάς

Οι περιορισμοί της συγκεκριμένης εργασίας οφείλονται στο γεγονός ότι οι μετρήσεις για τον προσδιορισμό του οξειδωτικού στρες στο αίμα έγιναν μόνο σε αγύμναστους νεαρούς άνδρες χωρίς την δυνατότητα ελέγχου της διατροφής τους. Επιπλέον πραγματοποιήθηκαν τέσσερις αιμολυψίες και εξετάστηκαν τρεις δείκτες της οξειδωαναγωγικής κατάστασης.

Σημασία της εργασίας

Τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής μας δίνουν τη δυνατότητα να δούμε αν όντως η παρατεταμένη αερόβια άσκηση μπορεί να επιφέρει σημαντική αύξηση στους δείκτες οξειδωτικού στρες στο αίμα, καθώς και το χρονικό διάστημα που θα διαρκέσουν οι μεταβολές αυτές. Παράλληλα εξετάστηκε εάν η συμπληρωματική πρόσληψη αντιοξειδωτικών βιταμινών θα συνεισφέρει στη μεταβολή της αντιοξειδωτικής ικανότητας των νεαρών ανδρών.

5. Ανασκόπηση βιβλιογραφίας

5.1. Η επίδραση της άσκησης στο οξειδωτικό στρες.

Υπάρχουν αρκετές έρευνες στη βιβλιογραφία οι οποίες έχουν ως αντικείμενο έρευνας και μελέτης το οξειδωτικό στρες. Αρκετές από αυτές επικεντρώθηκαν στην μέτρηση των δεικτών οξειδωτικού στρες στο αίμα όπως αυτοί διαμορφώνονται μετά την άσκηση. Με βάση τα τελευταία ερευνητικά δεδομένα είναι πλέον γνωστό ότι ασυνήθιστης και έντονης μορφής άσκηση προκαλεί μια σοβαρή δυσαναλογία μεταξύ παραγωγής και απομάκρυνσης των ελευθέρων ριζών (Ratnam et al., 2004). Αυτό μεταφράζεται ως ταχύτεροι ρυθμοί παραγωγής RONS από ότι απομάκρυνσης με αποτέλεσμα τον πολλαπλασιασμό τους και την απαρχή της επιβλαβούς δράσης τους.

Σε εργασία των Ascensão και των συνεργατών του (2008) εξετάστηκε η επίδραση ενός ποδοσφαιρικού αγώνα στους δείκτες οξειδωτικού στρες στο πλάσμα και στους δείκτες μυϊκής βλάβης. Τα αποτελέσματα φάνέρωσαν αύξηση της MDA, της ολικής αντιοξειδωτικής κατάστασης (TAS), όπως και του ουρικού οξέος ακόμα και 72 ώρες κατά την φάση της αποκατάστασης

(Ascensão et al., 2008). Σε μια άλλη εργασία ο Κυπάρος και οι συνεργάτες του 2007 εξέτασαν την επίδραση εξαντλητικής αερόβιας άσκησης μικρής διάρκειας σε έντεκα εθελοντές. Η μορφή της άσκησης ήταν προσομοίωση της μορφής ενός αγώνα αντισφαίρισης. Οι μετρήσεις στο αίμα συγκριτικά με τα πριν την άσκηση δεδομένα, έδειξαν σημαντικές αυξήσεις στα TBARS (22%), στα πρωτεϊνικά καρβονύλια (58%), στην ενεργότητα της καταλάσης (143%), στην TAC (34%), στην GSSG (81%) καθώς και μια πτώση στην GSH (15%) και στην αναλογία GSH / GSSG (Κυπάρος, Salonikidis, Nikolaidis, & Kouretas, 2007). Παρόμοια ήταν και τα αποτελέσματα της έρευνας του Νικολαΐδη και των συνεργατών του (2007) σε μια έντονη δοκιμασία. Στην συγκεκριμένη 11 προπονημένα αγόρια και 11 προπονημένα κορίτσια, πραγματοποίησαν ένα πρωτόκολλο κολυμπώντας με το 70%-75% της μέγιστης ταχύτητας τους. Από τις βιοχημικές αναλύσεις προέκυψαν σημαντικές αυξήσεις στα TBARS στην TAC, στα πρωτεϊνικά καρβονύλια, στην ενεργότητα της καταλάσης και στην συγκέντρωση της GSSG. Μείωση επήλθε στην GSH και στην αναλογία GSH:GSSG στα αγόρια και στα κορίτσια (Nicolaidis et al., 2007).

Άνοδο στις τιμές των TBARS και της GSH φανέρωσε η εργασία του Jammes και των συνεργατών του (2004). Σε αυτή αγύμναστα άτομα πραγματοποίησαν δραστηριότητα που περιλάμβανε ποδήλατο μέχρι τα επίπεδα της VO_2 max. Οι αυξημένες τιμές των TBARS και της GSH μετρήθηκαν 20 λεπτά μετά την άσκηση και με το πέρας 30 λεπτών έτειναν να επιστρέψουν στα αρχικά επίπεδα ηρεμίας (Jammes, Steinberg, Brégeon, & Delliaux, 2004). Η Alessio και οι συνεργάτες της (2000) ανέφεραν μια θετική μεταβολή στις τιμές των πρωτεϊνικών καρβονυλίων, των TBARS, των λιπιδικών υπεροξειδίων (LH) και της ικανότητας για απορρόφηση οξειδωτικών ριζών (ORAC), μετά από την εφαρμογή μιας μέγιστης αερόβιας και μιας μέγιστης ισομετρικής άσκησης σε δώδεκα εθελοντές (Alessio et al., 2000).

Έρευνες ωστόσο έχουν πραγματοποιηθεί για να εξετάσουν την επίδραση και της αναερόβιας άσκησης στους δείκτες οξειδωτικού στρες στο αίμα. Σε μια από αυτές εξετάστηκε ο συνδυασμός πραγματοποίησης άσκησης με αντιστάσεις όμοια σε έργο με αυτή 6 ταχυτήτων (sprint) των 10 δευτερολέπτων στους δείκτες πρωτεϊνικά καρβονύλια, TBARS και MDA. Κανένας από τους δυο δείκτες δεν επηρεάστηκε από την άσκηση, πιθανά εξ

αιτίας του ότι τα άτομα που επιλέχθηκαν ήταν προπονημένα σε παρόμοιες δραστηριότητες.

Προσπάθεια να εκτιμηθεί η συνέπεια της εφαρμογής προγράμματος άσκησης με βάρη στους δείκτες οξειδωτικού στρες έγινε από τον Rietjens και την ερευνητική ομάδα του (2007). Για τον καθορισμό των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκαν μυϊκές βιοψίες, έλεγχος των ούρων και αιμοληψίες σε 7 υγιείς άνδρες. Οι μετρήσεις εμφάνισαν 40% αύξηση στην συγκέντρωση των F2 α-ισοπροστανίων στα ούρα, 16% άνοδο της TAC και 53% άνοδο στις τιμές του UA στο πλάσμα. Επιπλέον η GSH του ερυθροκυτταρικού αιμολύματος παρουσίασε αύξηση της τάξης του 47% όπως και η τιμή της αναγωγάσης της γλουταθειόνης κατά 42%. Η απόκριση του οργανισμού στην παραγωγή ελευθέρων ριζών ερευνήθηκε μετά από πραγματοποίηση έκκεντρης μορφής άσκηση στους εκτείνοντας μυς του γόνατος σε 10 γυναίκες. Ο Πασχάλης και οι συνεργάτες του (2007) αξιολόγησαν τις τιμές της GSH, της GSSG, των TBARS, των πρωτεϊνικών καρβονυλίων, τη καταλάση, του ουρικού οξέος, της χολερυθρίνης και της TAC πριν, 24, 48 και 72 ώρες μετά την άσκηση. Τα αποτελέσματα και εδώ φανέρωσαν μεταβολές στους δείκτες οξειδωτικού στρες στο αίμα μετά την εφαρμογή του πρωτοκόλλου έκκεντρης άσκησης (GSH και GSH/GSSG μειώθηκαν, ενώ GSSG, TBARS, πρωτεϊνικά καρβονύλια, καταλάση, ουρικό οξύ, χολερυθρίνη και TAC αυξήθηκαν) (Paschalis et al., 2007).

Στη μοναδική έρευνα που μετρήθηκαν άμεσα τα επίπεδα ελεύθερων ριζών μετά από άσκηση που προκαλεί μυϊκή καταστροφή (ανεξαρτήτως ιστού), βρέθηκε βαθμιαία αύξηση των ελεύθερων ριζών στο αίμα αμέσως μετά το τέλος της άσκησης ως και 72 ώρες μετά όπου και η αύξηση των ελεύθερων ριζών ήταν κατά 122% υψηλότερη σε σύγκριση με τις τιμές ηρεμίας (Close et al., 2004). Παράλληλα, σε αυτή την έρευνα, συγκρίθηκαν οι επιδράσεις του κατηφορικού τρεξίματος (έκκεντρες κυρίως συστολές) και του οριζόντιου τρεξίματος. (Close et al., 2004).

Το γενικότερο συμπέρασμα από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας είναι ότι όλες οι έρευνες για το θέμα του οξειδωτικού στρες φανερώνουν πως η δημιουργία οξειδωτικού στρες στον οργανισμό και κατά συνέπεια η παραγωγή ελευθέρων ριζών είναι επακόλουθο αρκετού είδους αθλητικών δραστηριοτήτων όπως αυτές που περιγράφηκαν. Πιο επιρρεπή είναι άτομα

που δεν ασκούνται σχεδόν καθόλου και δεν έχουν ενισχυμένο αντιοξειδωτικό σύστημα. Επίσης όσο μεγαλύτερη είναι η μυϊκή βλάβη που προκαλεί η άσκηση στο μυ, τόσο μεγαλύτερη είναι η εμφάνιση οξειδωτικού στρες και η παραγωγή ελευθέρων ριζών.

5.2. Η επίδραση της λήψης αντιοξειδωτικών ουσιών στους δείκτες οξειδωτικού στρες μετά την άσκηση.

Οι συνέπειες που προκαλεί η συμμετοχή του ανθρώπου σε δραστηριότητες που περιλαμβάνουν υπερβολική ένταση, ποσότητα και συχνότητα, είτε στα πλαίσια του αγωνιστικού αθλητισμού είτε στα πλαίσια της αναψυχής, έχουν είδη αναλυθεί. Αξίζει λοιπόν να εξετάσουμε την επίδραση της λήψης συμπληρωμάτων αντιοξειδωτικών στην αντιοξειδωτική ικανότητα μετά από άσκηση. Μελέτες σε ανθρώπους που συγκρίνουν τις επιδράσεις της εξωγενούς συμπληρωματικής λήψης βιταμίνης C και βιταμίνης E ξεχωριστά καθώς και του συνδυασμού αυτών, διαπιστώνουν ότι τα συμπληρώματα των βιταμινών ενισχύουν το αντιοξειδωτικό σύστημα παράλληλα με την καθημερινή διατροφή η οποία περιλαμβάνει αυτές τις ουσίες.

Συμπληρωματική λήψη βιταμίνης C.

Σε μια έρευνα των Davison και Gleeson (2006) εννέα υγιείς προπονημένοι στην αντοχή άνδρες πραγματοποίησαν ένα πρωτόκολλο που περιλάμβανε 2.5 ώρες ποδηλασία στο 60% της VO_2 max. Τα αποτελέσματα φανέρωσαν μια θετική συσχέτιση μεταξύ της χορήγησης της βιταμίνης C (1000mg) και αντιοξειδωτικού μηχανισμού των αθλητών (Davison, & Gleeson, 2006). Ο Jakeman και ο Maxwell, (1993) ανέφεραν ότι άτομα που έλαβαν 400 IU βιταμίνης C για 21 ημέρες, πιθανά να προστάτεψαν δομικά μέρη των κυττάρων τους όπως του σαρκοπλασματικό δίκτυο, από το οξειδωτικό στρες και τον τραυματισμό που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες (Jakeman, & Maxwell, 1993). Σε αντίθεση με αυτές τις μελέτες, σε μια άλλη πειραματική εργασία, χορηγήθηκαν 1500 mg βιταμίνης C σε αθλητές για 7 ημέρες πριν και κατά τη διάρκεια ενός υπερμαραθωνίου. Μετά τον αγώνα οι συγκεντρώσεις κυτοκίνης του πλάσματος ήταν ανεβασμένες χωρίς ωστόσο να υπάρχουν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στην ομάδα ελέγχου και στην ομάδα με τα αντιοξειδωτικά.

Επιπλέον, η βιταμίνη C ίσως να λειτουργήσει προοξειδωτικά καθώς οι τιμές των F2-ισοπροστανίων ήταν ανεβασμένες στην ομάδα που έλαβε τα συμπληρώματα βιταμίνης C (Nieman et al, 2002).

Παρατηρούμε επομένως ότι η συμπληρωματική χορήγηση βιταμίνης C δείχνει να έχει ένα διφορούμενο ρόλο όσον αφορά την αντιοξειδωτική της δράση. Παρ' όλα αυτά πρέπει να συνυπολογίσουμε ότι η ποσότητα που λαμβάνονταν διέφερε σημαντικά και στις τρεις εργασίες.

Συμπληρωματική λήψη βιταμίνης E.

Ο Rokitzki με τους συνεργάτες του (1994) χορήγησαν 330 mg /d βιταμίνης E για 5 εβδομάδες σε 30 προπονημένους ποδηλάτες και βρήκαν μια σημαντική μείωση στην κρεατινική κινάση και στην MDA του ορού μετά το τέλος της δοκιμασίας (Rokitzki et al., 1994). Παρόμοια ο McBride και οι συνεργάτες του (1998) χορηγώντας 1200 IU/d βιταμίνης E σε ένα πρωτόκολλο άσκησης με βάρη υψηλής έντασης, παρατήρησαν μια μείωση στην κρεατινική κινάση (CK) 24 ώρες μετά την άσκηση σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, χωρίς αντίστοιχες αλλαγές στην MDA (McBride et al., 1998). Ο Helgheim και οι συνεργάτες του (1979) χορήγησαν 450 IU/d βιταμίνης E για 6 εβδομάδες σε αγύμναστους και σε προπονημένους και δεν εντόπισαν καμία επίδραση στην αντιοξειδωτική δράση των ενζύμων στον ορό του αίματος. (Helgheim et al., 1979). Ο Sumida και οι ερευνητική ομάδα του (1989) από την άλλη, βρήκαν μια ασθενή αύξηση στα επίπεδα της MDA, μετά από πρόσληψη 300 mg/day βιταμίνης E, για 4 εβδομάδες ως απόκριση σε εντατική δοκιμασία (Sumida et al., 1989). Σε συμφωνία με τις μελέτες με τη συμπληρωματική λήψη μόνο βιταμίνης C, βλέπουμε πως στην περίπτωση της μεμονωμένης χορήγησης βιταμίνης E, οι συνέπειες της δράσης της στους δείκτες οξειδωτικού στρες, παρουσιάζει και εδώ τρεις διαφορετικές καταστάσεις.

Συνδυασμός βιταμίνης E & C

Η βιταμίνη E και η βιταμίνη C έχουν χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό για να εξεταστεί η επίδραση τους στο οξειδωτικό στρες μετά την άσκηση. Αν και

αυτός ο συνδυασμός θεωρείται πιο αποτελεσματικός από οποιαδήποτε χορήγηση βιταμίνης ξεχωριστά, τα ευρήματα των ερευνών αποκαλύπτουν ένα φάσμα αποτελεσμάτων. Σε μια έρευνα της Palazzetti και της ερευνητικής ομάδας της (2004) πραγματοποιήθηκε συμπληρωματική λήψη, 60 mg βιταμίνη C και 60 mg βιταμίνη E σε 20 καλά γυμνασμένους άνδρες τριαθλητές, μετά από μια οξεία και μια κανονικής έντασης προπονητική φάση στο τρίαθλο. Το αγωνιστικό πρωτόκολλο της έρευνας περιλάμβανε δυο δοκιμασίες διάρκειας 4 εβδομάδων η κάθε μια. Παράλληλα με την προπόνηση, τους χορηγούνταν και οι παραπάνω αντιοξειδωτικές ουσίες. Τα αποτελέσματα ανέδειξαν ότι τα συμπληρώματα έπαιξαν ένα ρόλο κλειδί στον αντιοξειδωτικό μηχανισμό διατηρώντας ακόμα και στην έντονη προπονητική φάση τα επίπεδα των δεικτών οξειδωτικού στρες σε φυσιολογικά όρια (Palazzetti et al., 2004).

Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με μία άλλη ερευνητική ομάδα του Schroder και των συνεργατών του (2000). Πιο συγκεκριμένα χορήγησαν σε αθλητές της καλαθοσφαίρισης 592 mg βιταμίνη E και 1000 mg βιταμίνης C, καθώς και ένα εικονικό σκεύασμα (placebo) για διάστημα 32 ημερών και πρότειναν μια μείωση στο οξειδωτικό στρες στην ομάδα συμπληρωματικής λήψης αντιοξειδωτικών (Schroder et al., 2000). Για περιορισμένη αύξηση στις τιμές της MDA και κατά συνέπεια μικρότερα επίπεδα οξειδωτικού στρες στον οργανισμό έκαναν λόγο τα ευρήματα της έρευνας του Kanter και των συνεργατών του (1993). Οι ίδιοι εκτίμησαν την επίδραση της συμπληρωματικής λήψης 592 mg βιταμίνης E, 1000 mg βιταμίνη C, για έξι εβδομάδες στα επίπεδα της MDA μετά από 30 λεπτά επίπονης άσκησης (Kanter et al., 1993). Ο Fischer με την ερευνητική ομάδα του (2004) χορήγησαν σε αθλούμενους άνδρες για χρονικό διάστημα 4 εβδομάδων, 500 mg βιταμίνης C και 400 IU RRR-βιταμίνη E, πριν και 3 ώρες μετά από άσκηση εκτάσεων των κάτω άκρων στο 50% του 1RM (μέγιστη επανάληψη). Σαν αποτέλεσμα της λήψης ήταν να μειωθεί το οξειδωτικό στρες, γεγονός το οποίο αποτυπώθηκε με την διατήρηση των επιπέδων των F2 – ισοπροστανίων σε χαμηλά επίπεδα, στο γκρουπ που έλαβε τα συμπληρώματα (Fischer et al., 2004).

Αρνητική σχέση μεταξύ συμπληρωματικής λήψης και ενίσχυσης του αντιοξειδωτικού συστήματος, παρουσιάζονται στα ευρήματα μελετών άλλων

ερευνητικών ομάδων. Ο Maxwell με τους συνεργάτες του (1993) εκτίμησε την δράση του συνδυασμού βιταμίνη C και E (400 mg/d για 3 εβδομάδες) σε μια πλειομετρική άσκηση για 1 ώρα και φανέρωσε μια αύξηση στην TAC και στην MDA του πλάσματος στην ομάδα ελέγχου και στην ομάδα λήψης αντιοξειδωτικών (Maxwell et al., 1993). Παρόμοια με τα αποτελέσματα της προηγούμενης έρευνας, ο Bryant με τους συνεργάτες του (2003) παρατήρησαν μια αύξηση στις τιμές της MDA στο πλάσμα σε ηρεμία μετά την άσκηση σε 7 προπονημένους ποδηλάτες. Το πρωτόκολλο της άσκησης περιελάμβανε δυο δοκιμασίες στο εργοποδήλατο στο 70% της VO₂max (Bryant et al., 2003).

Ο Goldfarb και οι συνεργάτες του (2005) εξέτασαν σε 18 ενήλικες γυναίκες, την επίδραση της λήψης 400 IU βιταμίνης E, 1 g βιταμίνης C και 90 mg σελήνιο / ημέρα για 14 ημέρες, μετά από έκκεντρη άσκηση στους δείκτες οξειδωτικού στρες στο αίμα. Το πρωτόκολλο περιλάμβανε έκκεντρη άσκηση στους καμπτήρες του βραχίονα. Τα αποτελέσματα του πειράματος φανέρωσαν μικρή αύξηση στα PC, στην MDA, και στην GSSG καθώς και μείωση στη GSH (Goldfarb et al., 2005). Τρεις ομάδες αερόβια προπονημένων ανδρών και γυναικών αποτέλεσαν το πρωτόκολλο της άσκησης στην έρευνα των Bloomer και των συνεργατών του (2006). Οι εθελοντές χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες και υποβλήθηκαν σε μια δοκιμασία που περιλάμβανε 30 λεπτά αερόβιο τρέξιμο στο 80% της VO₂ max, πριν την χορήγηση, μετά την χορήγηση αντιοξειδωτικών ουσιών και μετά από μια εβδομάδα αποχής από οποιαδήποτε συμπληρωματική λήψη. Στη πρώτη ομάδα χορηγήθηκε εικονικό σκεύασμα, στην δεύτερη 400 IU βιταμίνης E + 1 g βιταμίνης C και στην τρίτη ένα μείγμα από φρούτα και λαχανικά. Τα αποτελέσματα μετά από 2 εβδομάδες πρόσληψης, έδειξαν μια συγκρατημένη άνοδο στις τιμές στα πρωτεϊνικά καρβονύλια, ενώ η MDA παρέμεινε ανεπηρέαστη από την άσκηση και από την επίδραση της χορήγησης αντιοξειδωτικών βιταμινών (Bloomer, et al, 2006b).

Ασήμαντη φαίνεται να ήταν και η συνδυασμένη δράση των βιταμινών E και C στην έρευνα των Huang και των συνεργατών του (2000). Σε αυτή την έρευνα ενήλικοι μη καπνιστές χωρίστηκαν σε μια ομάδα ελέγχου (placebo-control team) και μια λειτουργική. Στην δίαιτα τους συμπεριελήφθησαν για 2 μήνες οι παραπάνω εξωγενείς αντιοξειδωτικές βιταμίνες, οι οποίες παρόλα

αυτά δεν παρουσίασαν καμιά αλληλεπίδραση με την οξειδωτική βλάβη στο DNA, όπως μετρήθηκε στην συγκέντρωση της 8-OHdG στα ούρα (Huang, Kathy, Helzlsouer & Appel, 2000).

Στην βιβλιογραφία δεν έχει αποσαφηνιστεί ακόμα ποια ποσότητα ή ποιος συνδυασμός αντιοξειδωτικών ουσιών μπορεί να παρέχει καλύτερη αντιοξειδωτική δράση χωρίς να έχει αντίθετα αποτελέσματα από τα αναμενόμενα. Διακρίνοντας μια σύγκρουση στα ευρήματα των παραπάνω ερευνών, μπορούμε να καταλήξουμε στο συμπέρασμα πως οι αντιοξειδωτικές ουσίες βιταμίνη E, βιταμίνη C και ο συνδυασμός τους, σε ορισμένες περιπτώσεις προσφέρουν ευεργετική λειτουργία στον αντιοξειδωτικό μηχανισμό και σε άλλες περιπτώσεις λειτουργούν ανεπαίσθητα, καθόλου ή και προοξειδωτικά. Σημαντικό ρόλο σε αυτό φαίνεται να παίζουν το είδος των δραστηριοτήτων που πραγματοποιείται, η ηλικία, το επίπεδο φυσικής κατάστασης των συμμετεχόντων, το χρονικό σημείο λήψης των ουσιών, η ποσότητα των ουσιών που λαμβάνεται καθώς επίσης και το διάστημα της συμπληρωματικής λήψης τους. Επομένως για τον καθορισμό της ποσότητας που πρέπει να προσλαμβάνεται δεν εντοπίζονται ξεκάθαρες απαντήσεις αναφορικά με τα παραπάνω ζητήματα, τα οποία χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης.

6. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

6.1. Δοκιμαζόμενοι και χαρακτηριστικά επιλογής.

Στην έρευνα έλαβαν μέρος εθελοντικά 18 μέτρια γυμνασμένοι άνδρες ηλικίας 21 ± 3 έτη, μετά από ενημέρωση για τις διαδικασίες που έπρεπε να ακολουθήσουν. Όλοι οι εθελοντές συμπλήρωσαν ένα πρωτόκολλο συναίνεσης το οποίο αναζητούσε πληροφορίες σχετικά με το οικογενειακό ιστορικό ασθενειών των ίδιων και των συγγενών τους. Περιείχε ένα ερωτηματολόγιο σχετικό με πιθανή φαρμακευτική αγωγή ή λήψη αντιοξειδωτικών ουσιών που πιθανώς είχαν χορηγηθεί και ερωτήματα αναφορικά με το επίπεδο της φυσικής δραστηριότητας τους. Σκοπός όλων αυτών ήταν να εξακριβωθεί η συμβατότητα τους με τις προαπαιτούμενες ερευνητικές παραμέτρους. Τα άτομα που έδωσαν προφορική και έγγραφη συγκατάθεση να συμμετάσχουν δεν ήταν καπνιστές, δεν χρησιμοποιούσαν

αντιφλεγμονώδη ή αναλγητικά χάπια, και δεν χορηγούνταν αντιοξειδωτικά συμπληρώματα για τουλάχιστο ένα μήνα πριν και κατά τη διάρκεια της έρευνας.

Όλες οι πειραματικές μετρήσεις έγιναν σε συμφωνία και έγκριση από την Επιτροπή Βιοηθικής και Δεοντολογίας (ΕΒΔ) του Τμήματος Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού (ΤΕΦΑΑ) του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

6.2. Βασικές μετρήσεις ελέγχου φυσικής κατάστασης.

Το πείραμα περιελάμβανε τέσσερις φάσεις: α) επίσκεψη στο εργαστήριο εργοφυσιολογίας και ενυπόγραφη συγκατάθεση αποδοχής της συμμετοχής τους στις πειραματικές διαδικασίες, β) πραγματοποίηση του μέγιστου τεστ φυσικής κατάστασης και έλεγχος των σωματομετρικών χαρακτηριστικών, γ) συμμετοχή στο πρώτο υπομέγιστο τεστ και αιμοληψίες σε τέσσερα χρονικά σημεία και δ) παρόμοια με την γ' φάση.

Στην δεύτερη επίσκεψη των δοκιμαζόμενων στο εργαστήριο εργοφυσιολογίας του ΤΕΦΑΑ, έγινε έλεγχος των σωματομετρικών τους χαρακτηριστικών και ακολούθως υποβλήθηκαν σε ένα τεστ μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου. Για τον καθορισμό του ύψους και του βάρους χρησιμοποιήθηκε ένα όργανο μέτρησης τύπου Gymna της εταιρίας Seca, και ακολούθως για την λιπομέτρηση χρησιμοποιήθηκε ειδικό δερματοπτυχόμετρο τύπου Harpenden. Ο έλεγχος έγινε σε 7 ανατομικά σημεία σύμφωνα με δημοσιευμένες οδηγίες (American College of Sports Medicine, 2000). Έπειτα ολοκλήρωσαν το μέγιστο τεστ αφού πρώτα είχαν κάνει μια μικρή προθέρμανση. Σε ότι αφορά το τεστ όλοι οι δοκιμαζόμενοι ξεκίνησαν να τρέχουν στο δαπεδοεργόμετρο με ταχύτητα 10km/h, η οποία σταδιακά αυξανόταν κατά ½ km/h κάθε λεπτό. Κατά αυτό τον τρόπο οι εθελοντές θα έφταναν στην εξάντληση και μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου σε σύντομο χρονικό διάστημα. Στο τεστ χρησιμοποιήθηκε ένας κυλιόμενος τάπητας τύπου Stex και ένας αναλυτής αερίων τύπου Vmax29 της εταιρείας Sensormedics. Πριν από τη μέγιστη δοκιμασία πραγματοποιήθηκε βαθμονόμηση του αναλυτή με βάση τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Κατά τη διάρκεια του τεστ στους συμμετέχοντες είχε τοποθετηθεί περιμετρικά του στήθους, ένα ειδικό sport tester καταγραφής της καρδιακής συχνότητας τύπου POLAR.



Τα δεδομένα του τεστ της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου, χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της αερόβιας ικανότητας των δοκιμαζόμενων και μέσω αυτών να σχεδιαστεί το υπομέγιστο τεστ που θα ακολουθούσε στην τρίτη και τέταρτη φάση της έρευνας. Ο πίνακας 1. παρουσιάζει τα περιγραφικά χαρακτηριστικά των εθελοντών.

6.3. Διαιτητικές υποδείξεις και αντιοξειδωτική θεραπεία.

Όλοι οι συμμετέχοντες είχαν οδηγίες να διατηρήσουν τη διατροφή τους κανονική με βάση τις συνήθειες τους αποφεύγοντας ωστόσο τη λήψη συμπληρωμάτων με αντιοξειδωτικές ουσίες, αλκοόλ, καφεΐνη και γεύματα πλούσια σε λιπαρά και πρωτεΐνες. Επίσης ζητήθηκε να κρατήσουν ένα διαιτητικό αρχείο για τις τρεις τελευταίες ημέρες πριν την πρώτη υπομέγιστη δοκιμασία έτσι ώστε να μπορούν να επαναλάβουν την ίδια δίαιτα και πριν την επόμενη. Για την καλύτερη αξιοπιστία των αποτελεσμάτων, αφαιρέθηκε από τα άτομα η δυνατότητα πρόσληψης τροφής από τις 22:00μμ και μετά πλην ύδατος, ακόμα και μια ώρα μετά το τεστ. Κατά αυτό τον τρόπο ελαχιστοποιήθηκε η πιθανότητα να αλλάξει η συγκέντρωση των ουσιών που εμπεριέχονταν στο αίμα. Οι νεαροί άνδρες συμμετείχαν σε μια διπλά τυφλή μελέτη με σχεδιασμό διασταύρωσης και εικονικού συμπληρώματος. Οι συμμετέχοντες έλαβαν μέρος σε μια αερόβια δοκιμασία σε δαπεδοεργόμετρο, διάρκειας 45 λεπτών, υπομέγιστης εντάσης (75% της VO_{2max}) μετά από δυο εβδομάδες συμπληρωματικής λήψης αντιοξειδωτικών βιταμινών (2 X 294mg βιταμίνης E και 1000mg βιταμίνης C) και έπειτα από δυο εβδομάδες λήψης εικονικού συμπληρώματος. Η λήψη των σκευασμάτων ξεκίνησε την ημέρα αμέσως μετά το μέγιστο τεστ πρόσληψης οξυγόνου και συνεχίστηκε μέχρι την παραμονή της ημέρας του υπομέγιστου τεστ.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά 18 ανδρών. Οι τιμές αντιπροσωπεύουν τη μέση τιμή ± την τυπική απόκλιση.

Χαρακτηριστικά συμμετεχόντων	
Ηλικία (έτη)	21 ± 3
Βάρος (χιλ/μα)	76 ± 9,5
Ύψος (εκατοστά)	175 ± 10
Ποσοστό λίπους %	14 ± 6
Vo ₂ max (ml kg ⁻¹ min ⁻¹)	52 ± 6

6.4. Πειραματικές μετρήσεις.

Οι κύριες διαδικασίες αυτής της έρευνας περιλάμβαναν την πραγματοποίηση δυο υπομέγιστων δοκιμασιών στο 75% της ταχύτητας της VO₂ max ακριβώς μετά από δυο εβδομάδες λήψης των συμπληρωμάτων. Οι δοκιμαζόμενοι μετά και τη δεύτερη επίσκεψη τους στο εργαστήριο επέστρεψαν εκ νέου μετά από δυο εβδομάδες για την ολοκλήρωση της τρίτης φάσης της έρευνας. Κατ' αυτήν πραγματοποίησαν το πρώτο υπομέγιστο αερόβιο τεστ το οποίο είχε τα εξής χαρακτηριστικά: 45' συνεχόμενο τρέξιμο στο δαπεδοεργόμετρο ακολουθούμενο από ένα μέγιστης έντασης ανέβασμα στο 90% της ταχύτητας της VO₂ max, για όσο το δυνατό μεγαλύτερο διάστημα.

Τα άτομα ενημερώθηκαν να μην συμμετάσχουν σε κανενός είδους φυσική δραστηριότητα το προηγούμενο 48 ώρες πριν και 1 μέρα μετά το τεστ. Πριν τη δοκιμασία πραγματοποιήθηκε μια προθέρμανση για 3 με 4 λεπτά σε χαμηλής έντασης τρέξιμο στο 40% της ταχύτητας της VO₂ max. Για τον ακριβή έλεγχο της καρδιακής συχνότητας (ΚΣ) τοποθετήθηκε καθ' όλη τη διάρκεια του τεστ ένα ειδικό όργανο καταγραφής της ΚΣ τύπου POLAR tester, στο οποίο γινόταν έλεγχος κάθε 5 λεπτά. Η παραπάνω διαδικασία επαναλήφθηκε μετά το πέρας τεσσάρων εβδομάδων και αφού προηγήθηκε περίοδος δυο εβδομάδων αποχής από τη λήψη ουσιών και δυο εβδομάδων πρόσληψης διαφορετικού σκευάσματος.

6.5. Συλλογή αίματος και αναλύσεις.

Στους μετέχοντες πραγματοποιήθηκαν αιμοληψίες τις ημέρες των δυο υπομέγιστων τεστ. Η συλλογή έγινε από φλέβα του πήχη, από εξουσιοδοτημένο φλεβοτόμο και αφορούσε τέσσερα χρονικά σημεία: πριν από την άσκηση, αμέσως μετά την άσκηση, 1 ώρα και 24 ώρες μετά την άσκηση. Η ποσότητα του αίματος που συλλέχθηκε ήταν 14ml. Από αυτά 9 ml τοποθετήθηκαν σε ειδικό φιαλίδιο με αντιπηκτικό EDTA τα οποία αναμίχθηκαν και φυγοκεντρίθηκαν στην ειδική ψυχόμενη φυγόκεντρο τύπου Heraeus Biogigante Primo. Η φυγοκέντριση έγινε στα 1370 x g για 10 λεπτά σε θερμοκρασία 4° C. Ακολούθησε η συλλογή του πλάσματος το οποίο τοποθετήθηκε σε φιαλίδια τύπου Eppendorf, τα οποία και παρέμειναν σε θερμοκρασία -80 ° C μέχρι τις τελικές αναλύσεις. Στα ερυθρά αιμοσφαίρια που παρέμειναν από το διαχωρισμό με το πλάσμα, τοποθετήθηκε ποσότητα απιονισμένου νερού σε περιεκτικότητα 1:1 v/v και φυγοκεντρήθηκαν στα 4000 G για 15 λεπτά σε θερμοκρασία +4° C, έτσι ώστε να διασπαστούν τα ερυθροκύτταρα και να συλλέξουμε το ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα. Το υπερκείμενο αποθηκεύτηκε σε μικρά φιαλίδια Eppendorf και σε θερμοκρασία -80 ° C. Τα εναπομείναντα 5ml αίματος από την αρχική αιμοληψία τοποθετήθηκαν σε ειδικά σωληνάρια διαχωρισμού ορού και παρέμειναν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος ώστε να επέλθει η πήξη. Ακολούθως έγινε φυγοκέντριση στα 1370 x g για 10 λεπτά στους +5 ° C για να διαχωριστεί ο ορός. Παρόμοια ο ορός τοποθετήθηκε σε φιαλίδια Eppendorf στους -80 ° C μέχρι την τελική βιοχημική ανάλυση.

Βασικές μετρήσεις δεικτών οξειδωτικού στρες.

Για την μέτρηση των δεικτών καθορισμού του οξειδωτικού στρες στο αίμα χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω δείκτες: TAC ,UA και GSH. Για τον υπολογισμό της TAC στο πλάσμα χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των Janaszewska & Bartosz (Janaszewska, & Bartosz 2002) και για την μέτρηση του ουρικού οξέος στον ορό χρησιμοποιήθηκε kit της εταιρίας Assel (Rome, Italy). Η GSH μετρήθηκε σε ερυθροκυτταρικό αιμόλυμα με την μέθοδο του Reddy και των συνεργατών του (2004) (Reddy, Murthy, Krishna, & Prabhakar, 2004).

6.6. Στατιστική ανάλυση

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέσοι όροι \pm τυπικό σφάλμα, εκτός από τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των δοκιμαζόμενων, τα οποία παρουσιάζονται ως μέσες τιμές \pm τυπικές αποκλίσεις. Για την ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης 2 παραγόντων ANOVA (ομάδα \times χρόνος) με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις στο χρόνο. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας τέθηκε $\alpha = 0.05$. Το στατιστικό πακέτο SPSS έκδοση 15.0 χρησιμοποιήθηκε για όλες τις αναλύσεις (SPSS Inc., USA).

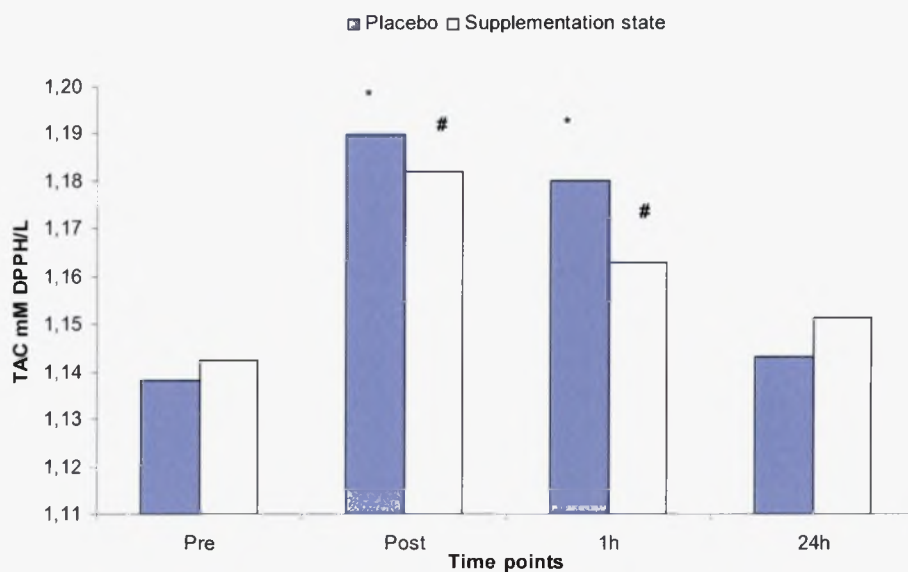
7. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Δείκτες οξειδωτικού στρες.

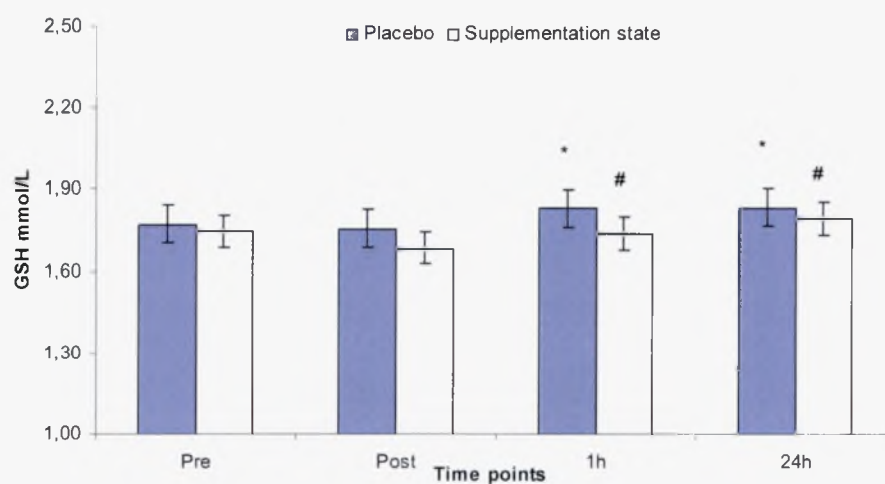
TAC, GSH, UA. Οι τιμές των παραμέτρων προσδιορισμού του οξειδωτικού στρες που εξετάστηκαν παρουσιάζονται στα Γραφήματα 1-3. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων της TAC φανέρωσαν τιμές ηρεμίας, παρόμοιες και στις δυο ομάδες. Η συνεδρία παρατεταμένης αερόβιας άσκησης επέφερε μεταβολή της TAC ($P < 0.05$) κυρίως λόγω της επίδρασης του χρόνου και για τις δυο ομάδες. Οι τιμές της TAC διέφεραν σημαντικά σε σχέση με την τιμή ηρεμίας αμέσως μετά την άσκηση και 1 ώρα μετά το τέλος της άσκησης (Γράφημα 1).

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων της GSH φανέρωσαν παρόμοιες τιμές ηρεμίας και στις δυο ομάδες. Η συνεδρία παρατεταμένης αερόβιας άσκησης επέφερε μεταβολή της GSH ($P < 0.05$) κυρίως λόγω της επίδρασης του χρόνου και για τις δυο ομάδες (Γράφημα 2).

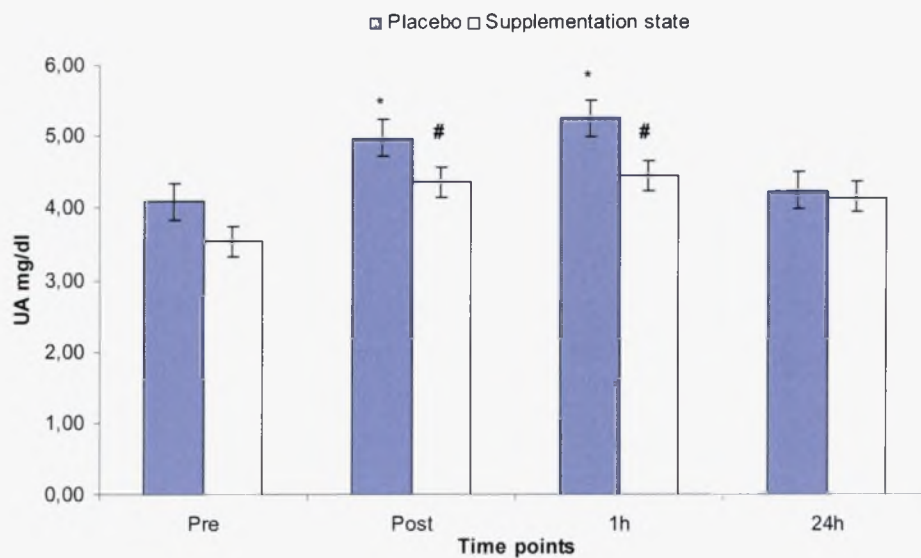
Η συγκέντρωση του ουρικού οξέος μεταβλήθηκε σημαντικά λόγω της επίδρασης του χρόνου και της ομάδας ($P < 0.05$). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο ομάδων σε σχέση με τις τιμές πριν την δοκιμασία (Γράφημα 3).



ΓΡΑΦΗΜΑ 1. Η επίδραση της άσκησης στα επίπεδα της TAC του πλάσματος (μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα). *Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τις προ της άσκησης τιμές στην κατάσταση ελέγχου ($P < 0.05$). # Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τις προ της άσκησης τιμές στην πειραματική κατάσταση ($P < 0.05$).



ΓΡΑΦΗΜΑ 2. Η επίδραση της άσκησης στα επίπεδα της GSH ολικού αίματος (μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα). *Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τις προ της άσκησης τιμές στην κατάσταση ελέγχου ($P < 0.05$). # Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τις προ της άσκησης τιμές στην πειραματική κατάσταση.



ΓΡΑΦΗΜΑ 3. Η επίδραση τη άσκησης στα επίπεδα του ουρικού οξέος του ορού (μέση τιμή ± τυπικό σφάλμα). *Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τις προ της άσκησης τιμές στην κατάσταση ελέγχου ($P < 0.05$). # Στατιστικά σημαντική διαφορά σε σχέση με τις προ της άσκησης τιμές στην πειραματική κατάσταση.

8. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην εργασία αυτή έγινε προσπάθεια να εξεταστεί ένας σημαντικός αριθμός από λειτουργικούς και βιοχημικούς δείκτες οξειδωτικού στρες, που παρουσιάζονται κατά την διάρκεια της αποκατάστασης έπειτα από παρατεταμένη αερόβια άσκηση, με σκοπό να μελετηθούν οι μεταβολές που επιφέρει αυτή όσον αφορά την εκδήλωση οξειδωτικού στρες. Εκτελέστηκαν πολλαπλές αιμοληψίες καθ'όλη τη διάρκεια της αποκατάστασης και δεν έγινε οποιαδήποτε επιπλέον άσκηση από τους συμμετέχοντες για 24 ώρες μετά το τέλος της άσκησης έτσι ώστε να δοθεί μια πλήρη και σωστή εικόνα όλων αυτών των παραμέτρων που εξετάστηκαν. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η αερόβια άσκηση μεταβάλλει τα επίπεδα των δεικτών του οξειδωτικού στρες αφού οι δείκτες που επιλέχθηκαν αυξάνονται αμέσως μετά την άσκηση, εκτός από την GSH, και κορυφώνονται μέσα στις πρώτες 24 ώρες. Όλοι οι οξειδοαναγωγικοί δείκτες που μετρήθηκαν στην εργασία αυτή παρουσίασαν αξιόλογες αλλαγές.

Άσκηση και οξειδοαναγωγικοί δείκτες.

Η εμφάνιση οξειδωτικού στρες ανιχνεύεται μέσω της οξειδωσης των λιπιδίων των πρωτεϊνών, των υδατανθράκων και άλλων μορίων καθώς και από την αυξημένη παρουσία αντιοξειδωτικών μορίων (Peake et al., 2004; Ratnam et al., 2004). Ο οργανισμός διαθέτει ενδογενή αντιοξειδωτικά μόρια, όπως ένζυμα και μη ενζυματικές αντιοξειδωτικές ενώσεις μέσω των οποίων εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες (Ratnam et al., 2004). Η GSH αποτελεί την πλειοψηφία της ενδοκυττάριας μη πρωτεϊνικής θειόλης και λειτουργεί προστατεύοντας από τη βλάβη που προκαλούν τα ROS ενισχύοντας το αντιοξειδωτικό σύστημα (Urso, & Clarkson, 2003). Στην παρούσα έρευνα η τιμή της GSH κορυφώθηκε μία ώρα μετά την δοκιμασία και διατηρήθηκε έως και μία μέρα κατά την φάση της αποκατάστασης. Εικάζουμε πως η διάρκεια του ερεθίσματος ήταν μια σημαντική αιτία που οδήγησε στην αύξηση της συγκέντρωσης της GSH στα ερυθροκύτταρα. Επιπλέον θεωρούμε πως ο οργανισμός αποκρινόμενος στην αυξημένη παρουσία των ελευθέρων ριζών, προκάλεσε την αυξημένη ενεργοποίηση του ήπατος παράγοντας την GSH. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με τα ευρήματα της έρευνας του

Jammes και των συνεργατών του (2004) οι οποίοι διαπίστωσαν αύξηση της GSH του ερυθροκυτταρικού αιμολύματος αμέσως μετά από μια αερόβια άσκηση.

Η TAC αντιπροσωπεύει την ικανότητα του ορού να εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες (Halliwell, 2001; Helgheim et al., 1979). Στην παρούσα μελέτη η αερόβια άσκηση αύξησε τα επίπεδα της TAC (αυξηθήκαν αμέσως μετά και 1 ώρα μετά και σταθεροποιήθηκαν 24 ώρες μετά). Αντίστοιχες εργασίες που εξέτασαν τις μεταβολές που επιφέρει η αερόβια άσκηση στα επίπεδα της TAC, παρουσιάζουν παρόμοιες διαφοροποιήσεις σε σχέση με τα πριν την άσκηση δεδομένα (Kyparos, et al., 2007; Nikolaidis et al., 2006; Paschalis et al., 2007). Η αυξημένη απόκριση της TAC, φανέρωσε πως η παρατεταμένη αερόβια άσκηση ενεργοποιεί την αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού ενάντια στις ελεύθερες ρίζες. Υποθέτουμε πως η αύξηση αυτή οφείλεται στην άνοδο των τιμών του ουρικού οξέος και της ποσότητας της βιταμίνης C στο αίμα κατά τη διάρκεια της άσκησης (Nikolaidis et al., 2006). Το γεγονός αυτό επιβεβαίωσε την συσχέτιση που υφίσταται ανάμεσα στο ουρικό οξύ και την TAC.

Το ουρικό οξύ αντιπροσωπεύει το μεγαλύτερο μέρος της ολικής αντιοξειδωτικής ικανότητας (Halliwell, 2001; Helgheim et al., 1979). Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της εργασίας του Rietjens και των συνεργατών του (2007) οι τιμές του ουρικού οξέος αυξήθηκαν αμέσως μετά την άσκηση και διατηρήθηκαν μέχρι και 24 ώρες μετά την δοκιμασία. Σε αυτό φαίνεται συνέβαλε ο παρατεταμένος χρόνος ημιζωής του ουρικού οξέος, ο οποίος προσδιορίζεται περίπου στις 20 ώρες (Rietjens et al., 2007). Δυο κύριοι παράγοντες που πιθανά καθόρισαν την αύξηση της συγκέντρωσης του ουρικού οξέος ήταν η ενεργοποίηση της οξειδάσης της ξανθίνης καθώς και η διάσπαση του ATP (Rietjens et al., 2007). Επιπλέον πιθανολογείται πως η εκκρινόμενη ποσότητα του γαλακτικού οξέος που παρέμεινε στους νεφρούς συνέβαλε επιπλέον στην άνοδο των τιμών του ουρικού οξέος. Η υψηλή συγκέντρωση του ίσως να συγκαταλέγεται στους φυσιολογικούς μηχανισμούς απομάκρυνσης των ελευθέρων ριζών που προκαλεί η άσκηση.



Η επίδραση της συμπληρωματικής λήψης των βιταμινών.

Η άσκηση αυξάνει την παραγωγή ελευθέρων ριζών. Αρχικά υποθέσαμε ότι τα συμπληρώματα των αντιοξειδωτικών βιταμινών C και E θα ενίσχυαν την αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού και συνεπώς θα παρείχαν μια αποτελεσματικότερη προστασία στην πειραματική ομάδα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Ωστόσο τα ευρήματα δεν επιβεβαίωσαν αυτό τον συλλογισμό καθώς και οι δυο ομάδες παρουσίασαν παρόμοια άνοδο στους δείκτες οξειδωτικού στρες ως απόκριση στην παρατεταμένη αερόβια άσκηση.

Οι οξειδοαναγωγικοί δείκτες της GSH και της TAC στην πειραματική ομάδα, παρουσίασαν ανάλογη μεταβολή όπως και στην ομάδα ελέγχου για τους πιθανούς λόγους που αναφέρθηκαν. Αντίστοιχες εργασίες που εξέτασαν τις μεταβολές που επιφέρει η αερόβια άσκηση στην GSH και την TAC σε άτομα που έλαβαν βιταμίνη C και βιταμίνη E, συμφωνούν με τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας (Maxwell et al., 1993; Palazzetti et al., 2004). Παρόμοια οι τιμές του ουρικού οξέος ως απόκριση στην παρατεταμένη αερόβια άσκηση παρουσίασαν μεταβολή στην πειραματική ομάδα ανάλογη με αυτή της ομάδας ελέγχου αμέσως μετά την άσκηση, η οποία διατηρήθηκε έως και 24 ώρες.

Συνεπώς η έρευνα αυτή αποκάλυψε πως ο συνδυασμός των αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων δεν διαδραμάτισε ουσιαστικό ρόλο στη συγκράτηση των επιπέδων των δεικτών οξειδοαναγωγικής κατάστασης στα χρονικά σημεία μετά το τέλος της άσκησης. Το γεγονός αυτό πιθανά οφείλεται και σε κάποιους παράγοντες όπως: οι δοκιμαζόμενοι ήταν απροπόνητοι και ακολούθησαν μια ασυνήθιστη υπομέγιστη δραστηριότητα για 45', η προσλαμβανόμενη δόση αντιοξειδωτικών ήταν υψηλή και ακόμα το χρονικό διάστημα εξωγενούς λήψης των αντιοξειδωτικών ουσιών ήταν μόνο 2 εβδομάδες.

Χρονική σειρά των λειτουργικών και βιοχημικών αλλαγών.

Παράλληλα, σε αυτή τη μελέτη έχουμε εξετάσει και τις χρονικές αλλαγές οξειδοαναγωγικών παραμέτρων μετά από παρατεταμένη αερόβια άσκηση σαν ένα βήμα για να καθορίσουμε το ρολό που διαδραμάτισαν οι

αντιοξειδωτικές βιταμίνες στο οξειδωτικό στρες. Η TAC και το ουρικό οξύ αυξηθήκαν αμέσως μετά την άσκηση και διατήρησαν τα επίπεδα τους έως και 24 μετά την άσκηση και στις δυο ομάδες. Η GSH από την άλλη επέδειξε μια διπλή αλλαγή, η οποία περιλάμβανε μείωση αμέσως μετά την άσκηση και άνοδο 1 ώρα έως και τις 24 ώρες μετά. Έτσι από τα δεδομένα αυτά μας είναι ευνόητο ότι οι αλλαγές που επέρχονται στην οξειδοαναγωγική κατάσταση του αίματος, έπειτα από παρατεταμένη αερόβια άσκηση, μπορούν να διαρκούν για 24 ώρες μετά την ολοκλήρωση αυτής. Αυτή η μεταβολή των δεικτών της οξειδοαναγωγικής κατάστασης του αίματος επιβάλλει την ανάγκη μέτρησης αυτών των δεικτών σε διαφορετικά χρονικά σημεία μετά την άσκηση ώστε να υπάρχει μια ολοκληρωμένη εικόνα των μεταβολών που επέρχονται, χωρίς να οδηγηθούμε σε λάθος αποτελέσματα.

Περιορισμοί

Σημαντικοί περιορισμοί της παρούσας εργασίας αποτελούν, το καθημερινό διαιτολόγιο των δοκιμαζόμενων, η σύνθεση του δείγματος, ο αριθμός των δεικτών οξειδωτικού στρες που εξετάστηκε καθώς και οι πραγματοποιούμενες αιμοληψίες μετά το πέρας της άσκησης. Πιο συγκεκριμένα το διαιτολόγιο που ακολούθησαν οι δοκιμαζόμενοι στις δυο φάσεις συμπληρωματικής λήψης, δεν μπορούσε να ελεγχθεί εξ ολοκλήρου την στιγμή που η διατροφή μπορεί να επηρεάσει άμεσα τους δείκτες οξειδωτικού στρες (Bloomer et al., 2006b). Επιπλέον, όσον αφορά στη σύνθεση, το δείγμα μας αποτελούνταν αποκλειστικά από αγύμναστους άνδρες νεαρής ηλικίας περιορίζοντας τις δυνατότητες πρόβλεψης των αποτελεσμάτων σε παρόμοιο πρωτόκολλο άσκησης και για άλλους πληθυσμούς. Σημαντικό επίσης περιορισμό αποτελεί το γεγονός πως οι δείκτες καθορισμού του οξειδωτικού στρες που εξετάστηκαν στο αίμα ήταν μόνο τρεις. Τα χρονικά σημεία μέτρησης που επιλέχθηκαν αντιπροσωπεύουν την λειτουργία του αντιοξειδωτικού μηχανισμού για τις πρώτες 24 ώρες μετά την δοκιμασία. Δεν μπορούμε επομένως να γνωρίζουμε την απόκριση των δεικτών οξειδωτικού στρες μακροπρόθεσμα μετά το πέρας της 1 ημέρας σε συνδυασμό με την δράση των βιταμινών.

9. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Κύριο εύρημα αυτής της εργασίας είναι ότι η αερόβια άσκηση προκαλεί σημαντικές μεταβολές στους διάφορους δείκτες προσδιορισμού του οξειδωτικού στρες και συνεπώς επιφέρει διέγερση του αντιοξειδωτικού συστήματος του οργανισμού. Πιθανές αιτίες για αυτό είναι ο σχηματισμός δραστικών στοιχείων οξυγόνου εξ αίτιας της αυξημένης ζήτησης οξυγόνου για την παραγωγή ενέργειας μέσω των μιτοχονδρίων καθώς επίσης και το γεγονός πως το δείγμα αποτελούσαν μέτρια γυμνασμένοι νεαροί άνδρες η οποίοι δεν είχαν αναπτυγμένο αντιοξειδωτικό μηχανισμό. Επιπλέον ένα πολύ σημαντικό εύρημα ήταν ότι η εξωγενής λήψη υψηλών δόσεων αντιοξειδωτικών βιταμινών C και E, δεν κατάφερε να περιορίσει την άνοδο στους δείκτες οξειδωαναγωγικής κατάστασης, καταγράφοντας τιμές παρόμοια μεταβαλλόμενες στην πειραματική και την ομάδα ελέγχου. Το γεγονός αυτό πιθανά οφείλεται σε κάποιους παράγοντες όπως: τα χαρακτηριστικά του δείγματος και τα χαρακτηριστικά του πρωτοκόλλου ως προς την χρονική διάρκεια και ποσότητα πρόσληψης των αντιοξειδωτικών βιταμινών.

Η παρούσα μελέτη αποτελεί ένα ισχυρό ερέθισμα για την υλοποίηση μελλοντικών ερευνών, οι οποίες θα δώσουν περισσότερο χρήσιμες πληροφορίες όσον αφορά την πρόκληση οξειδωτικού στρες μετά την άσκηση.

Μελλοντικές έρευνες θα πρέπει:

- να επικεντρωθούν στα χαρακτηριστικά του δείγματος, συμπεριλαμβάνοντας άνδρες και γυναίκες όλων των ηλικιών είτε φυσικά προπονημένους είτε απροπόνητους.
- Η ποσότητα και το χρονικό διάστημα πρόσληψης των αντιοξειδωτικών βιταμινών που θα χορηγηθεί, θα πρέπει να διαφοροποιείται από αντίστοιχα που παρατηρούνται στην βιβλιογραφία, στην προσπάθεια να αποσαφηνιστεί ποια ποσότητα και για ποιο χρονικό διάστημα, θα μπορεί να προάγει το αντιοξειδωτικό σύστημα του οργανισμού.
- Οι συμμετέχοντες θα πρέπει να απέχουν από οποιαδήποτε φυσική δραστηριότητα για τουλάχιστο 3 μέρες πριν από τη

συμμετοχή τους στο πείραμα για να εξασφαλίσουμε τις πραγματικές τιμές του οξειδωτικού στρες σε ηρεμία.

- Επιπλέον οποιαδήποτε μορφή έντονης άσκησης κατά την διάρκεια της αποκατάστασης, όπου θα γίνονται και οι αιμοληψίες, πρέπει να αποφευχθεί έτσι ώστε οι μετρήσεις να μπορούν να θεωρηθούν αξιόπιστες.
- να εκτελούν πολλαπλές αιμοληψίες καθόλη την διάρκεια της αποκατάστασης, και όχι μια πριν και μια μετά την άσκηση. Αυτό θα δώσει τη δυνατότητα για καλύτερη παρακολούθηση των αλλαγών που επέρχονται χρονικά έπειτα από την άσκηση.

Είναι πλέον αποδεκτό πως η παρατεταμένη αερόβια άσκηση προκαλεί την αύξηση των δεικτών του οξειδωτικού στρες στο αίμα. Ο ρόλος που διαδραματίζει η βιταμίνη C και η βιταμίνη E στην αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού χρήζει περαιτέρω αξιολογής έρευνας και μελέτης.

10. Βιβλιογραφία

1. Alessio, H.M., Hagerman, A.E., Fulkerson, B.K., Ambrose, J., Rice, R.E., & Wiley, R.L. (2000). Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic & isometric exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 32, 1576-81.
2. American College of Sports Medicine. ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000, p. 77.
3. Ascensão, A., Rebelo, A., Oliveira, E., Marques, F., Pereira, L. & Magalhães, J. (2008). Biochemical impact of a soccer match — analysis of oxidative stress and muscle damage markers throughout recovery. *Clinical Biochemistry.* 41, 841-51.
4. Bloomer, R.J., Falvo, M.J., Fry, A.C., Schilling, B.K., Smith, W.A. & Moore, C.A. (2006). Oxidative stress response in trained men following repeated squats or sprints. *Med Sci Sports Exerc.* 38,1436-42.
5. Bloomer, R.J., Goldfarb, A.H., & Mckenzie, M.J. (2006) Oxidative Stress Response to Aerobic Exercise: Comparison of Antioxidant Supplements. *Medicine & science in sports & exercise.* 38, 1098-105.
6. Bryant, R.J., Ryder, J., Martino, P., Kim, J., & Craig, B.W. (2003). Effects of vitamin E and C supplementation either alone or in combination on exercise-induced lipid peroxidation in trained cyclists. *J Strength Cond Res.* 17, 792-800.
7. Close, G.L., Ashton, T., Cable, T., Doran, D., & MacLaren, D.P.M. (2004). Eccentric exercise, isokinetic muscle torque & delayed onset muscle soreness: The role of reactive oxygen species. *91*, 615-621.

8. Davison, G., & Gleeson, M.Z. (2006). The effect of 2 weeks vitamin C supplementation on immunoendocrine responses to 2.5 h cycling exercise in man. *Eur J Appl Physiol* 97, 454–461.
9. Evans, W.J. (2000). Vitamin E, vitamin C, and exercise. *American Journal of Clinical Nutrition*. 72, 647-652.
10. Fischer, C., Hiscock, N., Penkowa, M., Basu, S., Vessby, B., Kallner, A., et al. (2004). Vitamin C and E supplementation inhibits the release of interleukin-6 from contracting human skeletal muscle. *J Physiol*. 558, 633–45.
11. Goldfarb, A.H. (1999). Nutritional antioxidants as therapeutic and preventive modalities in exercise-induced muscle damage. *Can J Appl Physiol* 24, 249–266.
12. Goldfarb, A.H., Bloomer, R.J., & McKenzie, M.J. (2005). Combined antioxidant treatment effects on blood oxidative stress after eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 37, 234-9.
13. Halliwell, B. (2001). Free radicals and other reactive species in disease. In J. Wiley & Sons (Eds.), *Encyclopedia of Life Sciences* (pp. 11–17). Chichester : John Wiley & Sons
14. Helgheim, I., Hetland, O., Nilsson, S., Ingjer, F. & Stromme, S., (1979) The effects of vitamin E on serum enzyme levels following heavy exercise. *Eur J Appl Physiol*. 40, 283-9.
15. Huang, H.Y., Kathy, J., Helzlsouer & Appel, L.J. (2000). The Effects of Vitamin C & Vitamin E on Oxidative DNA Damage: Results from a Randomized Controlled Trial *American Association for Cancer Research*. 9, 647-52.

16. Jackson, M.J., 2000. In: Hanninen, O., Packer, L., Sen, C.K. (Eds.), *Handbook of Oxidants & Antioxidants in Exercise*. Elsevier, Amsterdam, pp. 57-68.
17. Jakeman, P. & Maxwell, S., 1993. Effect of antioxidant vitamin supplementation on muscle function after eccentric exercise. *Eur. J. Appl. Physiol.* 67, 426-430.
18. Jammes, Y., Steinberg, J.G., Brégeon, F. & Delliaux, S. (2004). The oxidative stress in response to routine incremental cycling exercise in healthy sedentary subjects. *Respir Physiol Neurobiol.* 30, 81-90.
19. Janaszewska, A., & Bartosz, G. (2002). Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma. *Sc& J. Clin. Lab. Invest.* 62, 231-236.
20. Kanter, M.M., Nolte, L.A., & Holloszy, J.O. (1993). Effects of an antioxidant vitamin mixture on lipid peroxidation at rest and postexercise. *J. Appl. Physiol.* 74, 965-969.
21. Kriemler, S., Manser-Wenger, S., Zahner, L., Braun-Fahrlander, C., Schindler, C., & Puder, J.J. (2008). Reduced cardiorespiratory fitness, low physical activity and an urban environment are independently associated with increased cardiovascular risk in children. *Diabetologia.* 51, 1408-15.
22. Kyparos, A., Salonikidis, K., Nikolaidis, M.G., & Kouretas, D. (2007). Short duration exhaustive aerobic exercise induces oxidative stress: a novel play-oriented volitional fatigue test. *J Sports Med Phys Fitness.* 47, 483-90.
23. Margaritis, I., Palazzetti, S., Rousseau, A.S., Richard, M.J., & Favier, A. (2003). Antioxidant supplementation and tapering exercise improve exercise-induced antioxidant response. *Journal of the American College of Nutrition.* 22, 147-156.

24. Maxwell, S., Jakeman, P., Thomason, H., Leguen, C. & Thorpe, G. (1993). Changes in plasma antioxidant status during eccentric exercise and the effect of vitamin supplementation. *Free Radic Res Commun.* 19, 191-202.
25. McBride, J., Kraemer, W., Triplett-McBride, T. & Sebastianelli, W. (1998). Effect of resistance exercise on free radical production. *Med Sci Sports Exerc* 30, 67-73.
26. Nieman, D.C., Henson, D.A., McAnulty, S., McAnulty, L., Swick, N., & Utter, A., et al. (2002). Influence of vitamin C supplementation on oxidative and immune changes after an ultramarathon. *J Appl Physiol.* 92, 1970-7.
27. Nikolaidis, M.G., Jamurtas, A.Z., Paschalis, V., Kostaropoulos, I.A., Kladi-Sk&ali, A., Balamitsi, V., et al., (2006). Exercise-Induced Oxidative Stress in G6PD-Deficient Individuals. *American College of Sports Medicine.* 38, 1443-50.
28. Nikolaidis, MG., Kyparos, A., Hadziioannou, M., Panou, N., Samaras, L., Jamurtas, A.Z., et al., (2007). Acute exercise markedly increases blood oxidative stress in boys and girls. *Appl Physiol Nutr Metab.* 32, 197-205.
29. Østergård, T., Jessen, N., Schmitz, O., & Mandarino, L.J. (2007). The effect of exercise, training, and inactivity on insulin sensitivity in diabetics and their relatives: what is new? *Appl Physiol Nutr Metab.* 32, 541-8.
30. Oztasan, N., Taysi, S., Gumustekin, K., Altinkaynak, K., Aktas, O., Timur, H., et al., (2004). Endurance training attenuates exercise-induced oxidative stress in erythrocytes in rat. *Eur. J. Appl. Physiol.* 91,622-627.
31. Palazzetti, S., Rousseau, A.S., Richard, M.J., Favier, A., & Margaritis, I., (2004). Antioxidant supplementation preserves antioxidant response in physical training and low antioxidant intake. *British Journal of Nutrition.* 91, 91-100

32. Paschalis, V., Nikolaidis, M.G., Fatouros, I.G., Giakas, G., Koutedakis, Y., Karatzaferi, C., et al., (2007). Uniform and prolonged changes in blood oxidative stress after muscle-damaging exercise. *In Vivo*. 21, 877-83.
33. Peake, J.M., Suzuki, K., Coombes, S.J. (2006). The influence of antioxidant supplementation on markers of inflammation and the relationship to oxidative stress after exercise. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 18, 357-71.
34. Ratnam, D.V., Ankola, D.D., Bhardwaj, V., Sahana, D.K., & Kumar, M.N.V. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release*. 113, 189-207.
35. Reddy, Y., Murthy, S., Krishna, D., & Prabhakar, M. (2004). Role of free radicals and antioxidants in tuberculosis patients. *Indian J. Tuberc*. 51, 213-218.
36. Rietjens, S.J., Beelen, M., Koopman, R., VAN Loon, L.J., Bast, A., & Haenen, G.R. (2007). A single session of resistance exercise induces oxidative damage in untrained men. *Med Sci Sports Exerc*. 39, 2145-51.
37. Rokitzki, L., Logemann, E., Huber, G., Keck, E. & Keul J. (1994) Alpha-tocopherol supplementation in racing cyclists during extreme endurance training. *Int J Sport Nutr*. 4, 253-64.
38. Sacheck, J.M., & Blumberg, J.B. (2001). Role of Vitamin E and Oxidative Stress in Exercise. *Nutrition*. 17, 809-14.
39. Schroder, H., Navarro, E., Tramullas, A., Mora, J. & Galiano, D., (2000). Nutrition antioxidant status and oxidative stress in professional basketball players: effects of a three compound antioxidative supplement. *Int. J. Sports Med*. 21, 146-150.

40. Sumida, S., Tanaka, K., Kitao, H. & Nakadomo, F., (1989). Exercise-induced lipid peroxidation & leakage of enzyme before and after vitamin E supplementation. *Int. J. Biochem.* 21, 835-838.

41. Urso, M.L. & Clarkson, P.M. (2003). Oxidative stress, exercise, & antioxidant supplementation. *Toxicology.* 15, 41-54.

42. Ροντογιάννης Π.Γ. (2007). *Θέματα αθλητικής διατροφής*. Πανεπιστημιακές εκδόσεις Θεσσαλίας, Βόλος σελ. 27 – 28.