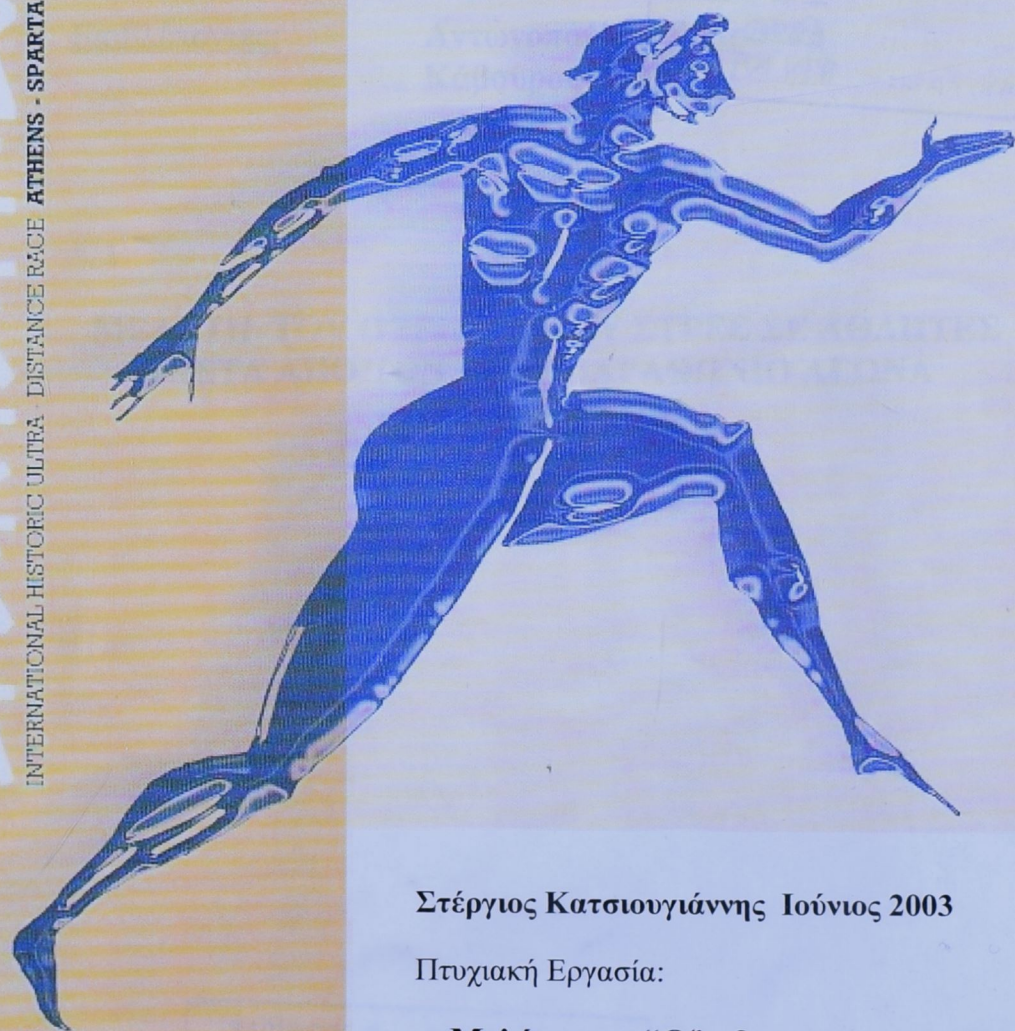


ΣΠΑΡΤΑΘΛΟΝ 2002

ΔΙΕΘΝΗΣ ΙΣΤΟΡΙΚΟΣ ΑΓΩΝΑΣ ΥΠΕΡΜΑΡΑΘΩΝ ΛΟΗΝΑ - ΣΠΑΡΤΗ 246 ΧΛΜ

INTERNATIONAL HISTORIC ULTRA DISTANCE RACE ATHENS - SPARTA 246 KI



Στέργιος Κατσιουγιάννης Ιούνιος 2003

Πτυχιική Εργασία:

Μελέτη του “Οξειδωτικού στρες”
μετά από τον υπερμαραθώνιο αγώνα
Σπάρταθλον

7-28 Σεπτεμβρίου 2002

Π Τ Υ
Κ Α Τ



Πτυχιακή μελέτη

Στέργιος Κατσιουγιάννης AM 9911

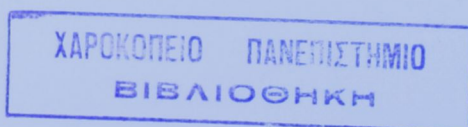
Υπεύθυνο μέλος ΔΕΠ : **Ματάλα Αντωνία**

Επιβλέποντες:

Αντωνοπούλου Σμαραγδή

Κάβουρας Σταύρος

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΣΕ ΑΘΛΗΤΕΣ
ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΤΟΝ ΥΠΕΡΜΑΡΑΘΩΝΙΟ ΑΓΩΝΑ
«ΣΠΑΡΤΑΘΛΟΝ»**



Ιούνιος 2003

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους, Ματάλα Αντωνία-Λήδα, Κάβουρα Σταύρο, και Αντωνοπούλου Σμαραγδή, για τη συνεργασία και την καθοδήγηση τους σ’ αυτή τη μελέτη. Ιδιαίτερες ευχαριστίες ανήκουν στην κυρία Κατερίνα Σκενδέρη, της οποίας η συμβολή τόσο σε θεωρητικό όσο και σε εργαστηριακό επίπεδο ήταν αναντικατάστατη.

Α. Θεωρητικό μέρος

1. Εισαγωγή.....	3
2. Λήξωνιμός δράσης.....	5
3. Φυσική γραμμή δράσης και τον ΣΥΝΕ.....	9
4. Λήξωνιμη παρέρχεται εν συντομία.....	15
5. Λήξωνιμη παρέρχεται τον ΣΥΝΕ.....	17
6. Λήξωνιμη παρέρχεται τον ΣΥΝΕ.....	21
7. Λήξωνιμη παρέρχεται τον ΣΥΝΕ.....	23
8. Λήξωνιμη παρέρχεται τον ΣΥΝΕ.....	25
9. Λήξωνιμη.....	26
10. Η διαδρομή του ΣΥΝΕ.....	26
11. Η γέννηση του ΣΥΝΕ.....	27

Β. Πραγματικό μέρος

1. Σύνολο.....	28
2. Μεθοδολογία.....	28
3. Αποτέλεσμα Συνολική ανάλυση.....	31

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

σελ..

Περίληψη.....	3
---------------	---

A.Θεωρητικό μέρος

1. Εισαγωγή.....	3
2. Μηχανισμός δράσης	5
3. Κυτταρική γραμμή άμυνας κατά των ROMs.....	14
4. Απομάκρυνση υπεροξειδικών ριζών.....	15
5. Απομάκρυνση υπεροξειδίου του υδρογόνου.....	15
6. Απομάκρυνση υδροξυλικών ριζών.....	17
7. Απομάκρυνση λιπιδικών ριζών.....	18
8. Ελεύθερες ρίζες και άσκηση υπεραντοχής.....	22
9. Σπάρταθλον.....	26
10.Η διαδρομή του αγώνα.....	26
11.Η γέννηση του Σπάρταθλον	27

B Πειραματικό μέρος

1. Σκοπός.....	28
2. Μεθοδολογία.....	28
3. Αποτελέσματα-Στατιστική ανάλυση.....	31

4. Συζήτηση.....	35
5. Παράρτημα.....	37
6. Βιβλιογραφία.....	41

Περίληψη

Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν να μελετηθεί το οξειδωτικό στρες λόγω ελευθέρων ριζών, μετά από τον διεθνή ιστορικό αγώνα Σπάρταθλον, που λαμβάνει χώρα κάθε χρόνο από την Αθήνα στη Σπάρτη. Το αγώνισμα χαρακτηρίζεται ως ένα από τα πιο δύσκολα αθλήματα υπεραντοχής στον κόσμο, λόγω της υψηλής έντασης και διάρκειας, γι' αυτό και η μελέτη του είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα. Παρόμοιες βιβλιογραφικές αναφορές δεν υπάρχουν γεγονός που κατέστησε την όλη μελέτη ακόμα δυσκολότερη. Το δείγμα που συμμετείχε ήταν 13 εθελοντές Σπαρταθλητές, που κατάφεραν να τερματίσουν μέσα στο χρονικό όριο των 36 ωρών. Συνολικά πραγματοποιήθηκαν δύο αιμοληψίες, μία στην Αθήνα την προηγούμενη του αγώνα και μία στη Σπάρτη, μισή ώρα περίπου μετά τον τερματισμό.

Μετά από τη ανάλυση των δειγμάτων βρέθηκε ότι η μέση τιμή ελευθέρων ριζών οξυγόνου στο αίμα ήταν $285,8 \pm 43,7$ U Carr στην Αθήνα, ενώ στη Σπάρτη ήταν $326,6 \pm 42,9$ U Carr. Η αύξηση του επιπέδου ελευθέρων ριζών οξυγόνου κατά 14,25% ήταν στατιστικά σημαντική ($p < 0,05$). Μετά από συσχέτιση της ηλικίας και του χρόνου τερματισμού των αθλητών με την αύξηση του οξειδωτικού στρες με απλή παλινδρόμηση, δεν βρέθηκε ότι επηρεάζονται.

Συμπερασματικά η μελέτη καταλήγει στην επιβεβαίωση της αρχικής υπόθεσης που υπαγορεύεται από τη βιβλιογραφία, ότι η άσκηση προκαλεί αύξηση του οξειδωτικού

στρες, ανάλογα με την ένταση, και τη διάρκεια του αγωνίσματος, καθώς και από το συνολικό αντιοξειδωτικό επίπεδο των αθλητών. Το αγώνισμα υπεραντοχής Σπάρταθλον προκαλεί αύξηση του επιπέδου ελευθέρων ριζών στο αίμα φτάνοντας σε ελαφρά οξείδωση, χωρίς να αγγίζει ακραίες τιμές . Μια μελέτη, ωστόσο, που θα εξετάζει τη διακύμανση αυτού του στρες θα οδηγήσει σε πιο ασφαλή συμπεράσματα για το σημαντικό αυτό τμήμα της σωματικής λειτουργίας που λέγεται αντιοξειδωτική άμυνα και προσαρμογή.

A. Θεωρητικό μέρος

1.Εισαγωγή

Τα τελευταία 20 περίπου χρόνια το ενδιαφέρον για τις ελεύθερες ρίζες έχει αυξηθεί κατακόρυφα κυρίως λόγω της αποδεδειγμένης πλέον συμμετοχής τους στην παθοφυσιολογία πολλών σημαντικών ασθενειών. Το μεγαλύτερο μέρος της ερευνητικής δραστηριότητας επικεντρώνεται στις ελεύθερες ρίζες που σχετίζονται με το οξυγόνο και το άζωτο (Δραστικές Μορφές Οξυγόνου και Αζώτου αντίστοιχα, ΔΜΟ ή ROMs και ΔΜΑ). Οι γνώσεις μας όσον αφορά στις παραπάνω ενώσεις προέρχονται κυρίως από έρευνες της τελευταίας επταετίας και καθημερινά εμπλουτίζονται με νέα στοιχεία .

Η τοξική δράση του οξυγόνου σε πειραματόζωα αν και είναι γνωστή τα τελευταία 100 χρόνια, υποτιμήθηκε αρκετά. Στις δεκαετίες του 40 και του 50 περίπου 10.000 πρόωρα μωρά έπαθαν σοβαρές βλάβες, κυρίως τύφλωση, από υπερβολική χορήγηση οξυγόνου (retroiental fibroplasia). Στα επόμενα 20 χρόνια παρατηρήθηκε ότι και άλλες παθολογικές καταστάσεις στον άνθρωπο μπορεί να οφείλονται στο οξυγόνο ή στα παράγωγά του. Παρόλαυτά η επιστημονική κοινότητα ήταν ανώριμη να δεχθεί

ότι αυτά τα τόσο καταστροφικά μόρια είναι δυνατόν να σχηματίζονται σε βιολογικά συστήματα

Θα μπορούσε κανείς να υποστηρίξει ότι το έτος σταθμός για τη σχέση ανάμεσα στις ελεύθερες ρίζες και στη βιοχημεία υπήρξε το 1969, οπότε και κατανοήθηκε από τους McCord και Fridovich, η αντίδραση που καταλύεται από τα ένζυμα δισμουτάσες του υπεροξειδίου (SOD)

SOD



Στις μέρες μας έχει αποδειχθεί από μεγάλο αριθμό μελετών ότι οι αντιδράσεις των ελεύθερων ριζών παίρνουν μέρος σε μια σειρά από παθοφυσιολογικές λειτουργίες (αναφέρονται περισσότερες από 100), όπως στην επανοξυγόνωση μετά από περίοδο ισχαιμίας, στην αθηρογένεση, στις πνευμονικές παθήσεις οι οποίες προκαλούνται από μολυσμένο περιβάλλον, στις τοξικές ή στις θεραπευτικές ιδιότητες διαφόρων φαρμάκων, στην τοξικότητα από ακτινοβολίες, σε χρόνιες φλεγμονώδεις παθήσεις, σε φωτοοξειδωτικά φαινόμενα στον οφθαλμό κατά τη δημιουργία του καταρράκτη, στις ασθένειες Parkinson's και Alzheimer's κ.α. [1][2][3][4][9].

Τέλος, υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι οι ελεύθερες ρίζες εμπλέκονται σε διαδικασίες μεταγωγής σήματος στα κύτταρα ως second messengers, γι αυτό και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της κυτταρικής ανάπτυξης, στη γήρανση, στην καρκινογένεση και στο AIDS, καθώς και στη διαδικασία του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (απόπτωση).[2] [5] [6][9].

Καθίσταται επομένως σαφές, ότι η κατανόηση των αντιδράσεων που οδηγούν στην παραγωγή ελευθέρων ριζών ,αλλά και των μηχανισμών που έχουν αναπτύξει οι οργανισμοί για την αντιμετώπιση τους, είναι περισσότερο από επιτακτική

Σε περιπτώσεις διαταραχής της ισορροπίας μεταξύ των προοξειδωτικών μηχανισμών από τη μια πλευρά, και των αντιοξειδωτικών από την άλλη σε βάρος του δεύτερου σκέλους, προκαλείται το λεγόμενο «οξειδωτικό στρες» (oxidative stress). Τέτοιες διαταραχές μπορεί να προκληθούν είτε από εξωγενείς παράγοντες (άσκηση, ακτινοβολίες τραυματισμοί, ανοξία κλπ), είτε από ενδογενείς παράγοντες οι οποίοι ενδέχεται και να συνδέονται με παθολογικές καταστάσεις όπως αναφέρθηκε παραπάνω.

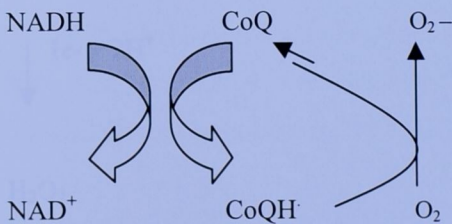
Πρόσφατες έρευνες έχουν μελετήσει την ικανότητα διάφορων αντιοξειδωτικών συστατικών της τροφής να μειώνουν τις πιθανότητες εμφάνισης καρδιαγγειακών

παθήσεων και καρκίνου που αποτελούν και τις κύριες αιτίες θανάτου στον ανεπτυγμένο κόσμο. Μια σειρά από επιδημιολογικές μελέτες έχει δείξει μια ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των βιταμινών C και E και των καρδιαγγειακών παθήσεων καθώς και του β-καροτένιου με τον καρκίνο, ειδικότερα στους πνεύμονες .[2][3][4]

2.Μηχανισμός δράσης

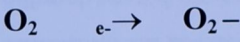
Οι πιο κοινές πηγές δραστικών παραγώγων οξυγόνου στις μυϊκές ίνες κατά τη διάρκεια της άσκησης είναι η αναπνευστική αλυσίδα των μιτοχονδρίων, η οξείδωση ξανθίνης και υποξανθίνης, η ενζυμική οξυγόνωση του αραχιδονικού οξέος, η οξείδωση των κατεχολαμινών καθώς και η δράση των ουδετερόφιλων. Παρόλαυτά η συνεισφορά στο οξειδωτικό στρες καθενός από τα παραπάνω μονοπάτια παραμένει αντικείμενο έντονης ερευνητικής δραστηριότητας

Η πλειοψηφία των οξειδωτικών αντιδράσεων που συμβαίνουν στο εσωτερικό του κυττάρου έχουν ως αποτέλεσμα τη μεταφορά δύο ηλεκτρονίων σε κατάλληλους υποδοχείς όπως είναι το NAD^+ και το FAD^+ , που ακολούθως οξειδώνονται στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων.

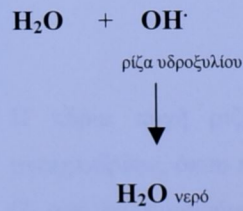
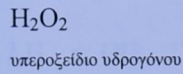
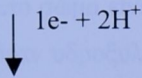


Όπως είναι γνωστό, το τελικό σημείο όπου το O_2 υποβαθμίζεται σε H_2O καταλύεται από το ένζυμο κυτοχρωμική οξειδάση c, η οποία δεσμεύει ισχυρά το O_2 στους δύο πυρήνες H_2 . Η βαθμιαία αυτή υποβάθμιση του O_2 πραγματοποιείται χωρίς απελευθέρωση των μεσολαβητών στη διαδικασία της οξείδωσης. Παρόλαυτά η ηλεκτρονική δομή του O_2 ευνοεί την υποβάθμιση του με πρόσληψη ενός ηλεκτρονίου που οδηγεί στη δημιουργία ρίζας οξυγόνου, η οποία είναι σε θέση να προκαλέσει κυτταρικές καταστροφές. Ως ρίζα χαρακτηρίζεται ένα μόριο που έχει ένα υψηλής δραστικότητας ασύζευκτο ηλεκτρόνιο στην εξώτατη στιβάδα του, το οποίο μπορεί να προκαλέσει αλυσιδωτές αντιδράσεις προσλαμβάνοντας ένα ηλεκτρόνιο από άλλο

μόριο για να συμπληρώσει το τροχιακό του. Η βαθμιαία μεταφορά ηλεκτρονίων στο O_2 έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ενδιάμεσων προϊόντων όπως φαίνεται στο σχήμα



και



Από τα ενδιάμεσα προϊόντα της υποβάθμισης του O_2 , η ρίζα του Υδροξυλίου $OH^\cdot$ είναι η πιο επικίνδυνη ελεύθερη ρίζα, αφού εμπλέκεται σε αντιδράσεις υπεροξειδωσής λιπιδίων ή δημιουργίας νέων ριζών, τοξικών για τον οργανισμό. Οι ελεύθερες ρίζες υδροξυλίου μπορούν να αντιδράσουν με όλα τα μόρια του οργανισμού. Φαίνεται ότι ουσιαστικά επάγει την λιπιδική υπεροξειδωση δημιουργώντας $LOOH$. Γι' αυτό η απομάκρυνση των ελεύθερων ριζών $OH^\cdot$ είναι σημαντική για την προστασία από κυτταρικές καταστροφές.

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου από μόνο του δεν αποτελεί ελεύθερη ρίζα, αλλά μπορεί να μετατραπεί σε ρίζα υδροξυλίου με τις αντιδράσεις Fenton ή Haber-Weiss παρουσία Fe^{2+} ή Cu^+

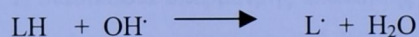
Fenton Reaction



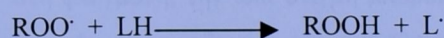
Haber-Weiss Reaction



Στο σώμα είναι δυνατό να παραχθούν λιπιδικές ρίζες με κεντρικό άτομο άνθρακα ($L^\cdot$) όταν υδροξυλικές ρίζες ή υπεροξειδικές ρίζες αντιδράσουν με πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (LH) των φωσφολιπιδίων των μεμβρανών του κυττάρου.



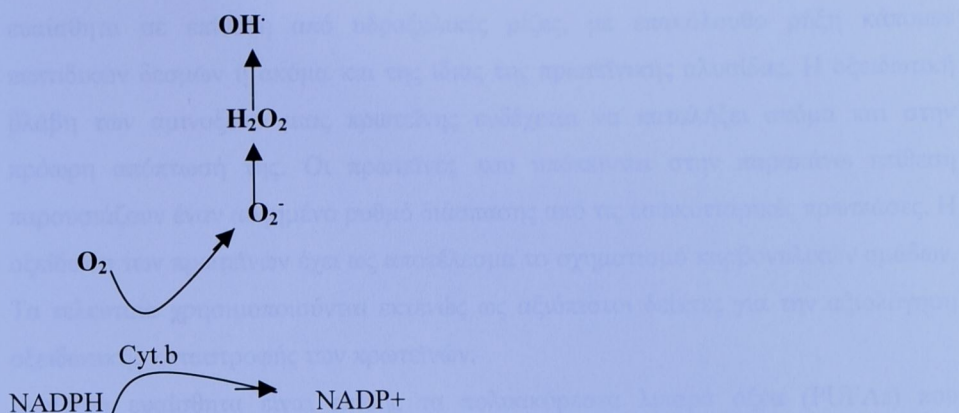
ή



Η κύρια πηγή ριζών O_2 εσωκυτταρικά είναι η αναπνευστική αλυσίδα των μιτοχονδρίων, όπου παράγεται υπεροξειδική O_2^- με μεταφορά ενός ηλεκτρονίου στο O_2 από την ημικίνη, η οποία προέρχεται από την υποβάθμιση της ουβικινόνης από τα σύμπλοκα I και II της αναπνευστικής αλυσίδας. Οι ρίζες οξυγόνου που παράγονται στα μιτοχόνδρια είναι O_2^- , H_2O_2 , και $OH^\cdot$. Ρίζες οξυγόνου παράγονται επίσης στα

$$\mathbf{O}_2$$

10



Δραστικά Παράγωγα Οξυγόνου

Ενώσεις O_2 που αποτελούν ρίζα	Ενώσεις O_2 που δεν αποτελούν ρίζα
Υπεροξειδίο $O_2^{\cdot -}$	Όζον O_3
Υδροξυλική $OH^{\cdot}$	Μονήρες Οξυγόνο 1O_2
Υδροϋπεροξυλική $HO_2^{\cdot}$	Υποχλωριώδες οξύ $HOCL$
Αλκοξυλική $LO^{\cdot}$ ή $RO^{\cdot}$	Υπεροξειδίο του υδρογόνου H_2O_2
Υπεροξυλική $LO^{\cdot}$ ή $RO^{\cdot}$	

(πίνακας 1)

Κυτταρική βλάβη από ελεύθερες ρίζες οξυγόνου συμβαίνει συχνά και κατά τη διάχυση σε ιστούς, υγρών που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις O_2 .

Αφού σχηματιστούν οι ελεύθερες ρίζες επιτίθενται σε σχηματισμούς του κυττάρου αφαιρώντας ηλεκτρόνια. Τα αμινοξέα προλίνη, ιστιδίνη, αργινίνη, καθώς και εκείνα με ελεύθερες σουλφυδρικές ομάδες όπως κυστεΐνη και μεθειονίνη, είναι ιδιαίτερα

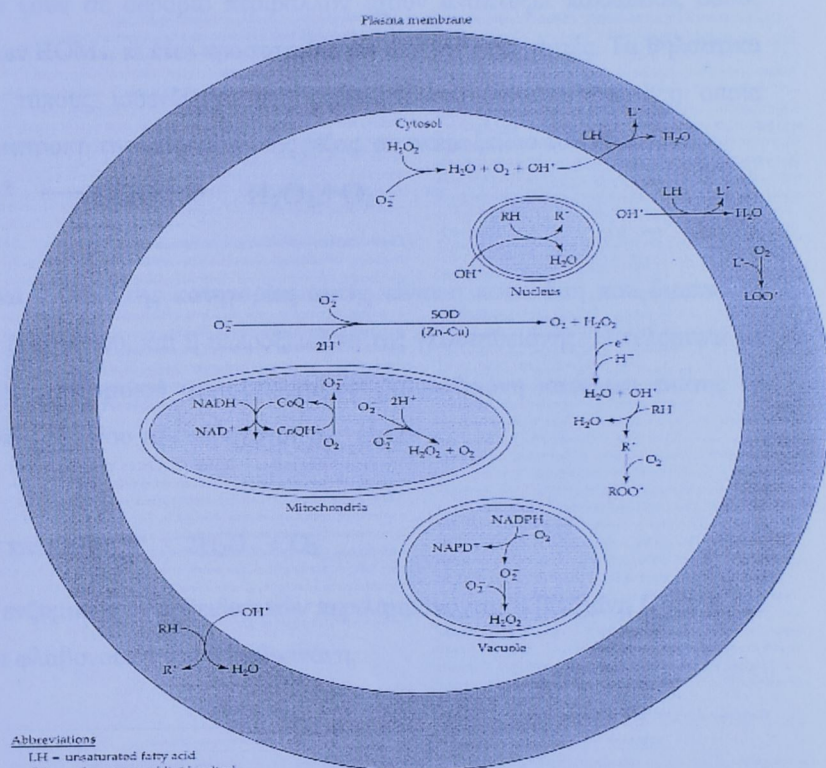
ευαίσθητα σε επίθεση από υδροξυλικές ρίζες, με επακόλουθο ρήξη κάποιων πεπτιδικών δεσμών ή ακόμα και της ίδιας της πρωτεϊνικής αλυσίδας. Η οξειδωτική βλάβη των αμινοξέων μιας πρωτεΐνης ενδέχεται να καταλήξει ακόμα και στην πρόωρη απόπτωσή της. Οι πρωτεΐνες που υπόκεινται στην παραπάνω επίθεση παρουσιάζουν έναν αυξημένο ρυθμό διάσπασης από τις εσωκυτταρικές πρωτεάσες. Η οξείδωση των πρωτεϊνών έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό καρβονυλικών ομάδων. Τα τελευταία χρησιμοποιούνται εκτενώς ως αξιόπιστοι δείκτες για την αξιολόγηση οξειδωτικής καταστροφής των πρωτεϊνών.

Ιδιαίτερα ευαίσθητα είναι επίσης τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFAs) που βρίσκονται στις κυτταρικές μεμβράνες ή στις μεμβράνες των διαφόρων οργανιδίων του κυττάρου. Η επίθεση ξεκινά εφόσον τα δραστικά παράγωγα οξυγόνου έχουν αρκετή ενέργεια για να παραλάβουν άτομα υδρογόνου από τις ομάδες μεθυλενίου των PUFAs. Μ' αυτόν τον τρόπο σχηματίζονται λιπιδικά υπεροξειδία που μπορούν να αντιδράσουν με άλλα PUFAs, ξεκινώντας έτσι μια ενισχυόμενη αλυσιδωτή αντίδραση. Ανάλογα και στα λιπίδια αυτά μπορεί να επέλθει πρόωρη απόπτωση. Το συνολικό αποτέλεσμα αυτής της καταστροφής των PUFAs είναι αύξηση του ιξώδους των μεμβρανών και αυξημένη διαπερατότητα. Για παράδειγμα όταν η βλάβη αυτή συμβεί στα πολυακόρεστα λιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης των ερυθροκυττάρων το αποτέλεσμα είναι η καταστροφή της μεμβράνης και κατεπέκταση του ίδιου του ερυθρού αιμοσφαιρίου (αιμόλυση). Τα παραπροϊόντα της λιπιδικής υπεροξειδωσής όπως η μαλονδιαλδεύδη (MDA), τα υπεροξειδία των λιπιδίων, τα συζυγή διένια καθώς και τα ισοπροσταννοειδή (TBARS), χρησιμοποιούνται ευρέως ως δείκτες για την εκτίμηση ιστικών βλαβών. Έτσι η απελευθέρωση αραχιδονικού οξέως αποτελεί έναν πολύ αξιόπιστο δείκτη απόπτωσης φωσφολιποειδών της μεμβράνης.

Αντίδραση μεταξύ βάσεων πουρινών και πυριμιδινών του DNA και ελευθέρων ριζών, ενδέχεται να οδηγήσει σε τομές της έλικας ή σε παύση της έκφρασης κάποιων γονιδίων, που αν δεν επιδιορθωθούν από τα κατάλληλα ένζυμα μπορεί να καταλήξουν σε καρκίνο. Αναμφίβολα η πιο σημαντική συνέπεια των ριζών οξυγόνου είναι η πρόκληση βλαβών τόσο στο μιτοχονδριακό όσο και στο πυρηνικό DNA, αυξάνοντας τις μεταλλάξεις.[2,3,8,9,29,30,32]

3. ΚΥΤΤΑΡΑΚΟ ΠΙΣΤΩΤΟ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΡΙΖΩΝ ΚΑΤΕ'ΥΘΕΝΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΝΤΙΟΚΣΗ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ

ΕΛΕΥΘΕΡΟΙ ΙΣΤΟΧΗΜΙΚΟΙ ΑΝΤΙΟΚΣΗ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ (ROMO)



Abbreviations

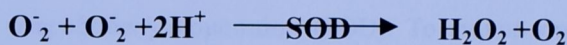
- LH = unsaturated fatty acid
- L• = carbon centered lipid radical
- RH = organic compound (e.g., amino acid, nucleic acid)
- O₂^{•-} = superoxide radical
- OH• = hydroxy radical
- R• = carbon centered nonlipid radical
- H₂O₂ = hydrogen peroxide
- ROO• = nonlipid peroxy radical
- LOO• = peroxy radical

Generation of reactive species.

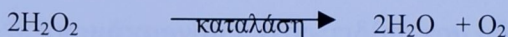
Εικόνα 2: παραγωγή ελευθέρων ριζών στο κύτταρο

3.Κυτταρική γραμμή άμυνας κατά των ενεργών μορφών οξυγόνου (reactive oxygen species-ROMs)

Τα κύτταρα που ζουν σε αερόβιο περιβάλλον έχουν αναπτύξει πολλαπλές οδούς απομάκρυνσης των ROMs, κι έτσι προστατεύονται από τις ρίζες αυτές. Τα θηλαστικά διαθέτουν τρεις τύπους ισοενζύμου της υπεροξειδικής δισμουτάσης, η οποία καταλύει την μετατροπή της υπεροξειδικής ρίζας σε υπεροξείδιο του υδρογόνου.



Επίσης σημαντικά ένζυμα της κατηγορίας αυτής είναι η καταλάση που διασπά το υπεροξείδιο του υδρογόνου, και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης. Η τελευταία με τη βοήθεια του μη ενζυμικού αντιοξειδωτικού γλουταθειόνη καταλύει επίσης τη μετατροπή του υπεροξειδίου του υδρογόνου σε H_2O .

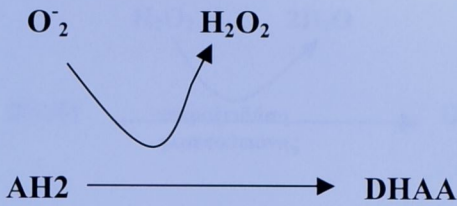


Μεταξύ των μη ενζυμικών αντιοξειδωτικών περιλαμβάνονται η βιταμίνη C και E, τα καροτενοειδή, τα φλαβονοειδή και η ουβικινόνη.

4.Απομάκρυνση υπεροξειδικών ριζών.

Ο βασικός μηχανισμός μέσω του οποίου το σώμα απαλλάσσεται από τις υπεροξειδικές ρίζες είναι μέσω της μετατροπής τους σε άλλα σύμπλοκα. Βασικό συστατικό του μηχανισμού αυτού αποτελεί η βιταμίνη C καθώς και τρία μέταλλα που λειτουργούν ως συμπαραγόντες στα ένζυμα που εμπλέκονται στην διαδικασία αυτή.

Η βιταμίνη C, ως υδατοδιαλυτή και υδρόφιλη, απαντάται στα υδάτινα τμήματα του σώματος όπως το αίμα και το κυτταρόπλασμα των κυττάρων. Το ασκορβικό οξύ (AH_2) λειτουργεί ως δότης ηλεκτρονίων υποβαθμίζοντας την υπεροξειδική ρίζα σε υπεροξείδιο του υδρογόνου και δεϋδροασκορβικό οξύ.



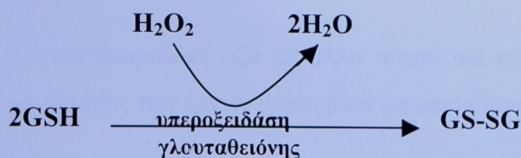
Η παραπάνω μετατροπή καταλύεται όπως προαναφέρθηκε από τη δράση του ενζύμου υπεροξειδική δισμουτάση (SOD). Το ένζυμο αυτό βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα όπου και η δράση του είναι εξαρτώμενη από δύο μέταλλα το χαλκό και τον ψευδάργυρο. Χωρίς το χαλκό η SOD δεν εμφανίζει δραστικότητα. Όμοια και στο εσωτερικό του μιτοχονδρίου η SOD απαιτεί παρουσία μαγγανίου για να δράσει. Γι' αυτό ο χαλκός, ο ψευδάργυρος και το μαγγάνιο είναι σημαντικά μέταλλα αφού εμπλέκονται στην αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού.

5.Απομάκρυνση υπεροξειδίου του υδρογόνου

Και πάλι η βιταμίνη C αντιδρά με το υπεροξείδιο του υδρογόνου όπως και τα ένζυμα. Δύο είναι τα ένζυμα που εμπλέκονται στη διαδικασία απομάκρυνσης του H_2O_2 : η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και η καταλάση για τις οποίες λόγος έγινε παραπάνω. Ένα τρίτο ένζυμο, η μυελουπεροξειδάση, χρησιμοποιεί το H_2O_2 για την παραγωγή άλλων ριζών που επιβληθούν στην άμυνα από βακτήρια ή ιούς που έχουν προσβάλει τα σωματικά κύτταρα.

Η βιταμίνη C εξουδετερώνει αποτελεσματικά το υπεροξείδιο του υδρογόνου παράγοντας νερό και δευδροασκορβικό όξύ (DHAA).

Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης που απαντάται στο κυτταρόπλασμα και στα μιτοχόνδρια, είναι ένα ένζυμο απαραίτητο όχι μόνο για την απομάκρυνση του H_2O_2 , αλλά και για την εξουδετέρωση λιπιδικών ριζών. Απαιτεί για τη δράση του την παρουσία τεσσάρων ατόμων σεληνίου ως συμπαραγόντα. Η δραστικότητα αυτή ελαττώνεται σε μειωμένα επίπεδα σεληνίου και σιδήρου. Γι' αυτό και το σελήνιο χαρακτηρίζεται ως αντιοξειδωτικό μέταλλο. Η αντίδραση που καταλύεται από την υπεροξειδάση τη γλουταθειόνης απαιτεί την παρουσία του τριπεπτιδίου γλουταθειόνης που αποτελείται από τα αμινοξέα γλυκίνη, κυστεΐνη και γλουταμινικό οξύ (GSH).

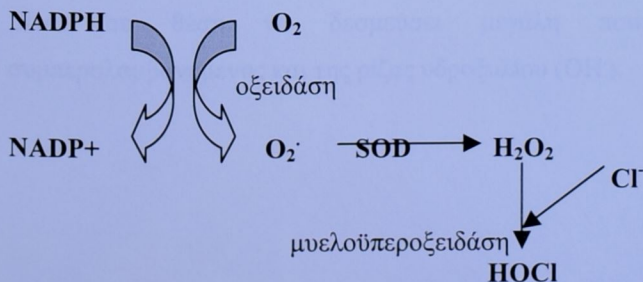


Η γλυταθειόνη λειτουργεί ως υπόστρωμα για το ένζυμο και κατά τη διάρκεια της αντίδρασης η GSH οξειδώνεται (GSSG).

Η καταλάση είναι ένα ακόμη ένζυμο κλειδί που εμπλέκεται στην απομάκρυνση του υπεροξειδίου του υδρογόνου. Το ένζυμο είναι εξαρτώμενο από το σίδηρο της αίμης και απαντάται κυρίως στα υπεροξειδισώματα του κυττάρου, όπου μεγάλες ποσότητες H_2O_2 παράγονται κατά την οξείδωση των πολύ μεγάλης αλυσού λιπαρών οξέων. Η καταλάση βρίσκεται επίσης σε ουδετερόφιλα ή άλλα λευκά αιμοσφαίρια όπου δρα επικουρικά στη διαδικασία της αναπνευστικής έκρηξης κατά τη φαγοκυττάρωση ιών βακτηρίων κλπ.

$2\text{H}_2\text{O}_2 \xrightarrow{\text{καταλάση-Fe}} 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$
Έτσι η εξουδετέρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου καταλύεται από δύο ένζυμα την καταλάση και την υπεροξειδάση της γλυταθειόνης. Η τελευταία λόγω της διπλής παρουσίας (μιτοχόνδριο και κυτοσόλιο), θεωρείται περισσότερο δραστική στην απομάκρυνση του H_2O_2 σε σχέση με την καταλάση.

Μυελοϋπεροξειδάση : πρόκειται για ένα σιδηρο-εξαρτώμενο ένζυμο που χρησιμοποιεί υπεροξείδιο του υδρογόνου για την αναπνευστική έκρηξη. Στο εσωτερικό των ενεργοποιημένων λευκών αιμοσφαιρίων, η μυελοϋπεροξειδάση απελευθερώνεται από κοκκία του κενотоπίου που περιέχει εγκλωπμένο το ξένο σωμα. Μέσα στο κενотоπίο το υπεροξείδιο του υδρογόνου που παράγεται από την υπεροξειδική ρίζα απαιτείται για την παραγωγή μιας τοξικής ένωσης, του υποχλωριώδους οξέος (HOCl).



Το υποχλωριώδες οξύ με άλλα σύμπλοκα συμβάλλει στην καταστροφή (λύση) της μεμβράνης των ξένων βακτηρίων με επακόλουθο το θάνατο του μικροοργανισμού.

6.Απομάκρυνση υδροξυλικών ριζών.

Η βιταμίνη C και άλλα υδατοδιαλυτά συστατικά όπως η γλουταθειόνη και το ουρικό οξύ συνεισφέρουν στην άμυνα κατά των υδροξυλικών ριζών. Η βιταμίνη E ωστόσο δεν είναι αρκετά αποτελεσματική σ' αυτή τη λειτουργία.

Η βιταμίνη C αντιδρά ταχύτατα και αποτελεσματικά με τις υδροξυλικές ρίζες, πριν αυτές επιτεθούν στα λιπίδια των λιποπρωτεϊνών των μεμβρανών. Κατά την αντίδραση αυτή παράγεται νερό καθώς και η αδρανής ημιδεϋδροασκορβική ρίζα (AH⁻).



Η γλουταθειόνη που όπως προαναφέρθηκε είναι μια θειόλη (R-SH) όπως η κυστεΐνη, η μεθειονίνη, και το λιποϊκό οξύ, μπορεί να αντιδράσει απευθείας με υδροξυλικές ρίζες σε υδατικό ή λιπιδικό περιβάλλον.



Οι ρίζες γλουταθειόλης (GS[·]) είναι σημαντικά λιγότερο οξειδωτικές από τις υδροξυλικές, και τυπικά αντιδρούν μεταξύ τους παράγοντας GS-SG.

Το ουρικό οξύ επίσης συμπεριφέρεται ως αντιοξειδωτικό σε υδατικά διαλύματα. Είναι σε θέση να δεσμεύσει μεγάλη ποικιλία ελεύθερων ριζών, συμπεριλαμβανομένης και της ρίζας υδροξυλίου (OH[·]).

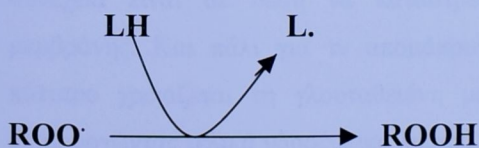
7.Απομάκρυνση λιπιδικών ριζών

Μια μεγάλη ποικιλία θρεπτικών συστατικών και συμπλόκων, μεταξύ των οποίων η βιταμίνη E, το μαγνήσιο, η γλουταθειόνη, η ουβικινόλη, η βιταμίνη C καθώς και το εξαρτώμενο από το σελήνιο ένζυμο υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, φαίνεται να εμπλέκονται στη διαδικασία της απομάκρυνσης λιπιδικών υπεροξειδωμένων ριζών.[30][32]

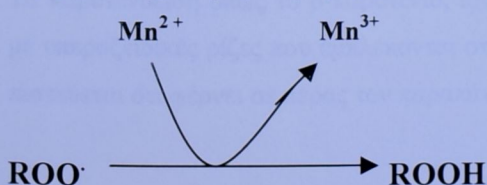
Η βιταμίνη E όντας λιποδιαλυτή και εγκατεστημένη δίπλα ή μέσα στις μεμβράνες, είναι ιδιαιτέρως αποτελεσματική στην αντίδραση με ρίζες που ξεκινούν την υπεροξειδωση όπως η ρίζα $\text{ROO}\cdot$, πρωτού η καταστροφή των μεμβρανών ξεκινήσει. Επιπλέον η βιταμίνη E εξολοθρεύει ρίζες με κεντρικό άτομο άνθρακα όπως για παράδειγμα ένα πολυακόρεστο λιπαρό οξύ (L.) ώστε να μην προσλάβουν αυτές άλλα άτομα υδρογόνου από λιπαρά οξέα. Η τοκοφερόλη είναι σε θέση επίσης να αντιδράσει και με ρίζες λιπιδικών υπεροξειδίων ($\text{LOO}\cdot$), δίνοντας ένα φαινολικό υδρογόνο από τον άνθρακα 6 της υδροξυλικής της ομάδας. Στη συνέχεια ο δακτύλιος της χρωμανόλης αναλαμβάνει να σταθεροποιήσει το ασύζευκτο ηλεκτρόνιο. Η παρακάτω αντίδραση δείχνει με ποιο τρόπο η τοκοφερόλη (EH) μπορεί να προστατέψει ένα πολυακόρεστο λιπαρό οξύ, αντιδρώντας με μια μη λιπιδική υπεροξειδική ρίζα ($\text{ROO}\cdot$).



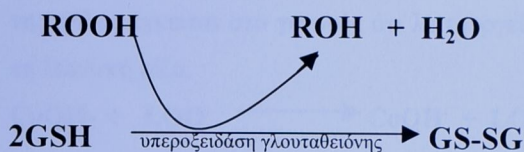
Χωρίς τη βιταμίνη E να δεσμεύσει το ($\text{ROO}\cdot$) τα τελικά προϊόντα θα περιελάμβαναν μια λιπιδική ρίζα με κεντρικό άτομο άνθρακα.



Επίσης κάποια μέταλλα όπως το μαγγάνιο είναι σε θέση να εξουδετερώσουν τις ίδιες ρίζες εμποδίζοντας την παραγωγή άλλων βλαπτικών.



Η γλουταθειόνη βοηθά στη δράση της βιταμίνης E και πιθανότατα και άλλων αντιοξειδωτικών απομακρύνοντας υπεροξειδία. Οιθειόλες δρουν σε υδατικό και λιπιδικό περιβάλλον ως αντιοξειδωτικά. Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης που είναι εξαρτώμενη από σελήνιο, καταλύει τη μετατροπή οργανικών υπεροξειδίων σε οργανικά υδροξυλικά οξέα ROH:



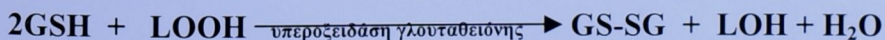
Οι ακόλουθες αντιδράσεις δείχνουν πώς η βιταμίνη E (EH), παρέχει ένα υδρογόνο για την εξουδετέρωση μιας λιπιδικής ρίζας με κεντρικό άτομο άνθρακα.



ή για την εξουδετέρωση μιας υπεροξειδικής λιπιδικής ρίζας



Μ' αυτόν τον τρόπο η βιταμίνη E διακόπτει τις αλυσιδωτές αντιδράσεις. Ωστόσο η δημιουργία λιπιδικών υπεροξειδίων (LOOH) μέσω των δράσεων της βιταμίνης E, μπορεί να προκαλέσει βλάβες στις κυτταρικές μεμβράνες. Τα υπεροξειδωμένα λιπαρά οξέα που γεννιούνται από την παραπάνω αντίδραση είναι πολικά σύμπλοκα. Η φωσφολιπάση A2 για παράδειγμα, μπορεί να αποκολήσει το υπεροξειδωμένο λιπαρό οξύ από το φωσφολιποειδές, επιτρέποντας έτσι τη διαφυγή του. Το μόριο αυτό στη συνέχεια είναι σε θέση να καταστρέψει τη φυσιολογική αρχιτεκτονική της μεμβράνης. Και πάλι για την απομάκρυνση των βλαπτικών αυτών ενώσεων, το κύτταρο χρειάζεται τη γλουταθειόνη με το αντίστοιχο ένζυμο (υπεροξειδάση), δημιουργώντας τελικά υδροξυλικά λιπαρά οξέα LOH.



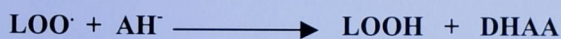
Τα καρροτενοειδή όπως το β-καροτένιο, έχουν την ικανότητα νααντιδρούν απευθείας με υπεροξειδικές ρίζες που εμπλέκονται στη λιπιδική υπεροξειδωση. Το β-καροτένιο πιστεύεται ότι φέρνει σε πέρας τον παραπάνω ρόλο, σε μικρότερη ίσως έκταση από

την τοκοφερόλη, ωστόσο λειτουργεί περισσότερο στο εσωτερικό του κυττάρου, τη στιγμή που η Ε δρα κυρίως στη επιφάνεια.[30]

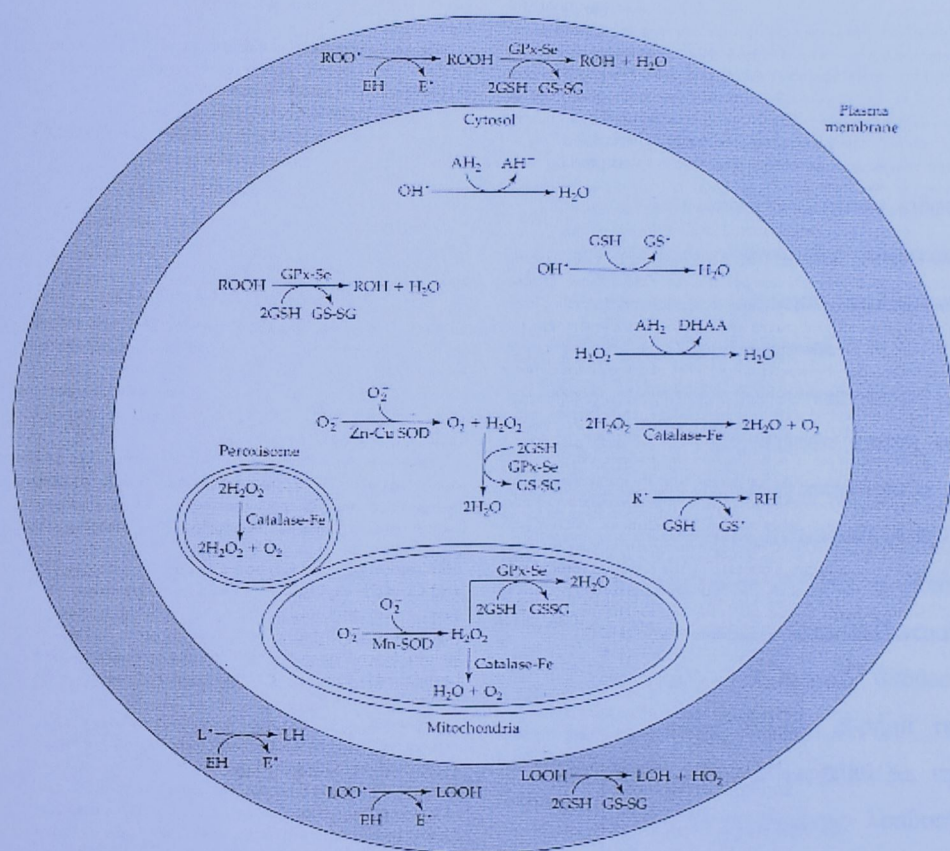
Η ουβικινόλη, (CoQH₂), η υποβαθμισμένη μορφή του συνενζύμου Q10, είναι ένα μικρό μόριο του οποίου η κύρια λειτουργία είναι η μεταφορά ηλεκτρονίων, παράγοντας ATP, στην αλυσίδα ηλεκτρονίων του μιτοχονδρίου. Ο αντιοξειδωτικός της ρόλος έγκειται στο γεγονός ότι λειτουργεί ως δότης ηλεκτρονίου εξολοθρεύοντα τη λιπιδική ρίζα.



Τέλος η βιταμίνη C δρα αποτελεσματικά και κατά των υπεροξειδικών λιπιδικών ριζών.



[4][8][9][21][29][30][32]



Abbreviations

EH = vitamin E
 AH₂ = vitamin C
 SOD = superoxide dismutase
 GSH = reduced glutathione
 GS-SG = oxidized glutathione
 O₂[•] = superoxide radical
 LOO[•] = peroxy radical
 LH = unsaturated fatty acid

L[•] = carbon centered lipid radical
 RH = organic nonlipid compound
 R[•] = carbon centered nonlipid radical
 H₂O₂ = hydrogen peroxide
 ROO[•] = nonlipid peroxy radical
 ROOH = nonlipid peroxides
 LOOH = lipid peroxides

The interaction between selected antioxidant nutrients to prevent cell damage.

Εικόνα 3: κυτταρική γραμμή άμυνας κατά των ελευθέρων ριζών

8.Ελεύθερες ρίζες και άσκηση υπεραντοχής

Οι μελέτες που έχουν μέχρι στιγμής πραγματοποιηθεί διεθνώς σε τέτοιου είδους αθλήματα είναι ελάχιστες, κυρίως λόγω της πολύ μεγάλης έντασης και διάρκειας. Παρόλαυτά υπάρχουν στοιχεία για κλινικά πειράματα σε άσκηση παρόμοιων χαρακτηριστικών, τα οποία και παρουσιάζονται παρακάτω επιγραμματικά

Σε μια καλά σχεδιασμένη μελέτη το 2001 οι Mastaloudis και συνεργάτες [10] εξέτασαν 11 αθλητές μετά από υπερμαραθώνιο αγώνα 50 χιλιομέτρων καθώς και μετά από μια περίοδο ανάπαυσης ένα μήνα αργότερα. Η υπόθεση στην οποία οι ερευνητές κλήθηκαν να δώσουν απάντηση ήταν η εξής: η άσκηση αυξάνει κατά πολύ την υπεροξειδωση των λιπιδίων των μεμβρανών (κυρίως των PUFA), συνεπώς μεγάλη ποσότητα βιταμίνης Ε θα καταναλωθεί ως πρώτη γραμμή αντιοξειδωτικής άμυνας, κι έτσι τα επίπεδα α-τοκοφερόλης θα μειωθούν. Η αρχική υπόθεση επαληθεύτηκε και σύμφωνα με τους ερευνητές, το σημαντικότερο εύρημα της μελέτης τους ήταν ο αυξημένος ρυθμός κατανάλωσης βιτ. Ε συγκριτικά με την περίοδο ανάπαυσης, γεγονός που αποτελεί καλό δείκτη αυξημένης λιπιδικής υπεροξειδωσης κατά τον υπερμαραθώνιο αγώνα.

Η ερευνητική ομάδα του Fernando D. Brites [11] μελετώντας μια ομάδα αθλητών ποδοσφαίρου σε αγωνιστική περίοδο και συγκρίνοντάς τη με ομάδα ελέγχου καθιστικής ζωής, διαπίστωσε ότι το αντιοξειδωτικό επίπεδο (total antioxidant capacity, TAC) της πρώτης ήταν κατά 25% υψηλότερο ($p < .005$). Ταυτόχρονα οι αθλητές έδειξαν σημαντικά αυξημένα επίπεδα ουρικού και ασκορβικού οξέως σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($p < .005$). Επιπλέον οι ποδοσφαιριστές εμφάνισαν υψηλότερες συγκεντρώσεις α-τοκοφερόλης ($p < .005$) καθώς και μεγαλύτερη δραστικότητα υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD) σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($p < .001$). Οι μελετητές καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι οι αθλητές σε συνθήκες

προπόνησης εμφανίζουν ένα βελτιωμένο αντιοξειδωτικό επίπεδο το οποίο ενδεχομένως να τους προστατεύει από ασθένειες άμεσα σχετιζόμενες με το οξειδωτικό στρες, όπως είναι η αθηροσκλήρωση.

Σε μια άλλη ερευνητική μελέτη η Vider και οι συνεργάτες της υπέβαλαν δεκαεννιά καλά προπονημένους άνδρες (ηλικία 22.21 ± 5.58 χρόνων) σε εξουθενωτική άσκηση υψηλής έντασης ($VO_{2max}=69.79 \pm 8.22$ ml/kg/min). Δείγματα αίματος λήφθηκαν αμέσως μετά και τριάντα λεπτά αργότερα από την περίοδο άσκησης. Το σύνολο των αθλητών απείχαν από κάθε δραστηριότητα για τουλάχιστον δύο μέρες πριν την άσκηση. Η τιμή της VO_{2max} αποτελεί έναν δείκτη ιδιαίτερα καλής φυσικής κατάστασης των αθλητών. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα το συνολικό αντιοξειδωτικό επίπεδο (total antioxidant status, TAS) αυξήθηκε σημαντικά ($p=.0012$) μετά την άσκηση και παρέμεινε αυξημένο $p=.01$) ακόμα και μετά από τριάντα λεπτά ανάρρωσης. Κάτι ανάλογο συνέβη και με τα TBARS ως δείκτες λιπιδικής υπεροξειδωσης ($p=.00064$). Σε επίπεδο κυτταρικής ανοσίας οι ερευνητές διαπίστωσαν εξαιρετικά σημαντική αύξηση των λευκών αιμοσφαιρίων ($p=.00001$), η τιμή των οποίων μειώθηκε κάτω από την αρχική μετά από τα τριάντα λεπτά της ανάρρωσης. Ειδικότερα για τα T λεμφοκύτταρα (CD4, CD8, NK) παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση της τιμής τους ($p=.00001$) αμέσως μετά τη δοκιμασία της άσκησης, η οποία επανήλθε επίσης στα φυσιολογικά επίπεδα μετά την ανάρρωση. Σύμφωνα με τους ερευνητές τα αποτελέσματα δείχνουν μια σημαντική σχέση ανάμεσα στο αυξημένο οξειδωτικό στρες λόγω άσκησης και στην ανοσολογική απάντηση του οργανισμού χωρίς να προσδιορίζεται επακριβώς αυτή η σχέση, στην παρούσα τουλάχιστον εργασία. [12]

Η ομάδα του Fournier μελετώντας έντεκα καλά προπονημένους αθλητές σε έναν υπερμαραθώνιο αγώνα 110 χιλιομέτρων αξιολόγησε τις ορμονικές μεταβολές που συμβαίνουν σε διάφορα σημεία αυτού. Έτσι η κορτιζόλη και οι β-ενδορφίνες παρουσίασαν σημαντική αύξηση ($p<.009$) κατά τη διάρκεια του αγώνα χωρίς μεγάλες διακυμάνσεις από το 33.3° χιλιόμετρο και μετά. Αντίθετα η τεστοστερόνη μειώθηκε σημαντικά κατά τη διάρκεια του αγώνα ($p=.02$). Η LH ήταν χαμηλότερη στο τέλος του αγώνα σε σχέση με την αρχή. Επίσης καμιά μεταβολή δεν παρατηρήθηκε στα επίπεδα της προλακτίνης. Συνολικά οι περισσότερες από τις μεταβολές των ορμονών

εκτός της τεστοστερόνης παρατηρήθηκαν από την αρχή μέχρι και το 33.3^ο χιλιόμετρο της διαδρομής, ενώ στη συνέχεια επανήλθαν στα αρχικά επίπεδα.[13]

Σε μια άλλη μελέτη μαραθώνιου αγώνα από την ομάδα του Takayo In. αν και διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση του οξειδωτικού στρες, καθώς και της δραστηριότητας της κρεατινικής κινάσης. Η τελευταία αποτελεί έναν καλό δείκτη μυϊκής καταστροφής. Παρολαυτά οι μελετητές δεν αναφέρουν μεταβολές στα TBARS γεγονός που δείχνει ότι στον απλό μαραθώνιο αγώνα δεν επέρχεται αυξημένη λιπιδική υπεροξειδωση ή δεν είναι δυνατό να προσδιοριστεί, αφού ίσως να επικαλύπτεται από τις δύο πρώτες μεταβολές. Ενδέχεται δηλαδή, οι παραγόμενες ελεύθερες ρίζες να εξουδετερώνονται αρχικά από τις πρωτεϊνοοξειδωτικές σουλφυδρυλικές ομάδες του πλάσματος, που αποτελούν μία από τις πρώτες γραμμές άμυνας όπως φαίνεται για τη συγκεκριμένη άσκηση.[14]

Ο ρόλος των αντιοξειδωτικών της τροφής φαίνεται να παίζει ένα σημαντικό ρόλο στην εξουδετέρωση των ελεύθερων ριζών που παράγονται κατά τη έντονη σωματική άσκηση. Έτσι τα επίπεδα της βιταμίνης C, μετά από υψηλής έντασης προπόνηση σε αθλητές καλαθοσφαίρισης, μειώνονται οριακά, γεγονός που αποδεικνύει την κατανάλωσή της για εξουδετέρωση, από συνολικό αντιοξειδωτικό σύστημα του ανθρώπινου οργανισμού.[15]

Οξειδωτικό στρες και βλάβες του γενετικού υλικού

Το DNA των θηλαστικών είναι εκτεθειμένο στις συνεχείς επιθέσεις των δραστικών παραγώγων οξυγόνου (ROMs) μέσα στο κύτταρο, με άμεσο αποτέλεσμα τις οξειδωτικές του βλάβες, σε περίπτωση που η παραγωγή των τελευταίων είναι σημαντική, όπως για παράδειγμα κατά την άσκηση. Παρολαυτά τα κύτταρα έχουν αναπτύξει μηχανισμούς ελέγχου και προστασίας από τις οξειδωτικές βλάβες με στόχο τη διατήρηση της ζωτικής σημασίας ακεραιότητας του DNA. Μεταξύ των προστατευτικών μηχανισμών, σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν ένζυμα επιδιόρθωσης οξειδωτικών βλαβών του γενετικού υλικού, όπως ο επιδιορθωτής εκτομής βάσης (BER) της διπλής έλικας. Το ένζυμο αυτό επιδιορθώνει βλάβες των βάσεων του DNA που προέρχονται από αντίδρασή του με τα ROMs.

Όπως είναι γνωστό η σωματική άσκηση προκαλεί οξειδωτικό στρες, δηλαδή παραγωγή ROMs η οποία ποικίλει ανάλογα με την ένταση τη διάρκεια κλπ της άσκησης. Από την άλλη πλευρά υπάρχουν ενδείξεις ότι η μέτριας έντασης άσκηση μειώνει την πιθανότητα εμφάνισης νοσημάτων που σχετίζονται με τις ελεύθερες ρίζες

όπως ο καρκίνος και η αθηροσκλήρωση. Ο τρόπος ωστόσο με τον οποίο οι ελεύθερες ρίζες επιτίθενται στο DNA, καθώς και η σημασία της άσκησης σ' αυτό βρίσκονται ακόμα υπό διερεύνηση.[16]

Η ομάδα του Radak εξετάζοντας αθλητές μετά από έναν υπερμαραθώνιο αγώνα 328 χιλιομέτρων, διαπίστωσαν στατιστικά σημαντική αύξηση ενός παραπροϊόντος της καταστροφής του γενετικού υλικού, με μέγιστο μετά από τα πρώτα 93 χιλιόμετρα διαδρομής. Τα επίπεδα, ωστόσο, του παραπροϊόντος αυτού, άρα και η έκταση της βλάβης του DNA, μετά από περίπου 213 χιλιόμετρα άρχισαν να μειώνονται, φτάνοντας στο τέλος του αγώνα (328χλμ) στα αρχικά επίπεδα. Οι αλλαγές αυτές κατά τη διάρκεια του υπερμαραθωνίου δείχνουν ξεκάθαρα την ύπαρξη μηχανισμού προσαρμογής. Επειδή όμως γνωρίζουμε ότι η σωματική άσκηση παράγει αυξημένα ποσά ROMs, τα τελευταία εκτός από την επίθεση στο γενετικό υλικό, πιθανότατα απορρυθμίζουν αρχικά τους μηχανισμούς άμυνας, οι οποίοι στη συνέχεια επανενεργοποιούνται και οδηγούν στην προσαρμογή που προαναφέρθηκε, εξουδετερώνοντας τα ROMs, και άρα περιορίζοντας τις βλάβες του DNA. Πιστεύεται ότι η ίδια η καταστροφή του γενετικού υλικού καθώς και τα παραπροϊόντα αυτής της καταστροφής προκαλούν κατά κάποιον τρόπο τη διαδικασία προσαρμογής.[18]

Υποστηρίζεται επίσης από ερευνητές ότι η άσκηση και πιο συγκεκριμένα ο μαραθώνιος αγώνας επιδρούν στη δραστηριότητα των ενζύμων επιδιόρθωσης του DNA. Έτσι μετά από μαραθώνιο αγώνα το ένζυμο BER αυξάνει τη δραστηριότητά του, επιδιορθώνοντας ταχύτερα τις βλάβες του γενετικού και πιθανότατα εδώ να βρίσκεται και ο τρόπος με τον οποίο η σωματική άσκηση δρα προστατευτικά από την καρκινογένεση.[17]

Τέλος υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι η βιταμίνη E, δρώντας στο σύστημα αντιξειδωτικής άμυνας του οργανισμού, ενδεχομένως να εμπλέκεται στην πρόληψη των βλαβών του DNA που προέρχονται από την υψηλής έντασης άσκηση, χωρίς ωστόσο να είναι γνωστός ο ακριβής μηχανισμός [30].

9.Λίγα λόγια για το Σπάρταθλον

Την άνοιξη του 490 π.Χ. ο στόλος των Περσών ξεκίνησε με σκοπό την υποδούλωση της Αθήνας, και η τελευταία διέτρεχε σημαντικό κίνδυνο να υποδουλωθεί στους βαρβάρους. Οι Αθηναίοι με επικεφαλής τον ευφυή Μιλτιάδη επέλεξαν για λόγους στρατηγικής το Μαραθώνα ως τόπο διεξαγωγής της μάχης, συγκεντρώνοντας εκεί τις ολιγάριθμες δυνάμεις τους. Έχουν ωστόσο επιτακτική ανάγκη άμεσης βοήθειας για να αποκρούσουν τα αναρίθμητα στρατεύματα των επιδρομέων, και στέλνουν στη σύμμαχο Σπάρτη τον ημεροδρόμο τους Φειδιππίδη για να ζητήσει βοήθεια. Σύμφωνα με τον Ηρόδοτο ο Φειδιππίδης έφτασε στη Σπάρτη την *επόμενη μέρα της αναχώρησής του από την Αθήνα*. Ήταν το αποκορύφωμα των ορίων της ανθρώπινης αντοχής! Η νίκη των Αθηναίων στο Μαραθώνα και η συντριβή των Περσών αποτέλεσαν αναμφισβήτητα σταθμό και αφετηρία της ιστορίας του πολιτισμού. Έτσι το Σπάρταθλον από πολεμική κραυγή έγινε αθλητική ιδέα που αγκαλιάζει τους λαούς πέρα και πάνω από φυλετικές, πολιτικές και κοινωνικές διακρίσεις.[7].

10.Η διαδρομή του αγώνα

Δεν είναι εύκολο να καθορίσει κανείς με απόλυτη ακρίβεια τη διαδρομή που ακολούθησε ο Φειδιππίδης για να φτάσει στη Σπάρτη. Ωστόσο είναι βέβαιο ότι ο Φειδιππίδης ξεκίνησε από την Αθήνα λίγες μέρες πριν τη μάχη του Μαραθώνα και ότι την επομένη της ημέρας που ξεκίνησε έφτασε στη Σπάρτη και παρέδωσε το μήνυμα του Μιλτιάδη στο βασιλιά της και στους Εφόρους της.

Σύμφωνα με τα στοιχεία που αναφέρει ο Ηρόδοτος, αλλά και με βάση τις γνωστές ιστορικά, πολιτικές συνθήκες της εποχής μπορούμε με μικρές αποκλίσεις να συμπεράνουμε την πιθανή διαδρομή του.

Ο Φειδιππίδης ξεκινώντας από την Αθήνα, ακολούθησε την αρχαία Ιερά Οδό (σχεδόν κατά μήκος της σημερινής Ιεράς Οδού) μέχρι την Ελευσίνα. Από εκεί ανηφόρισε τις πλαγιές των Γερανίων Ορέων, ακολουθώντας την αρχαία στρατιωτική οδό-τη Σκυρωνία Οδό της οποίας ίχνη δεν έχουν μέχρι σήμερα εντοπιστεί- για να κατευθυνθεί προς τα Ίσθμια, τα Εξαμίλια και την Ακροκόρινθο, οχυρά και κέντρα της αρχαίας Ελλάδας. Ο επόμενος σταθμός του πρέπει να ήταν η Νεμέα.

Η επικράτεια του Άργους ήταν ουδέτερη εκείνη την εποχή, ως προς του Περσικούς πολέμους, και σίγουρα ο Φειδιππίδης θα την απέφυγε. Έτσι από τη Νεμέα θα κατευθύνθηκε δυτικά προς τα βουνά που χωρίζουν την Αργολίδα από την Αρκαδία – το Λύρκειον, το Αρτεμίσιον και το Παρθένιον. Ο Ηρόδοτος μάλιστα αναφέρει ότι ο Φειδιππίδης διασχίζοντας το όρος Παρθένιον συνάντησε το θεό Πάνα μεταμφιεσμένο σε βοσκό.

Η λογική συνέχεια της διαδρομής, είναι πως ο Φειδιππίδης αφού διέσχισε το οροπέδιο της Αρκαδίας, θα κατευθύνθηκε νότια προς την Τεγέα, τοποθεσία όπου πάλλι αναφέρεται από τον Ηρόδοτο. Ακολούθως συνέχισε νότια προς τη Σπάρτη, όπου καίεφτασε *την επομένη της ημέρας που ξεκίνησε.*

11. Η γέννηση του Σπάρταθλον

Δυόμισι χιλιάδες χρόνια περίπου μετά από εκείνη την ιστορική άνοιξη του 490 π.Χ., ένας Βρετανός φιλέλληνας και μελετητής της Αρχαίας Ελληνικής Ιστορίας, ο John Foden, πτέραρχος της RAF και δρομέας μακρινών αποστάσεων, εντυπωσιασμένος από την εξιστόρηση του Ηροδότου για το κατόρθωμα του Φειδιππίδη, διερωτάται αν ένας σύγχρονος άνθρωπος είναι δυνατό να διατρέξει τα 250 χιλιόμετρα που χωρίζουν την Αθήνα από τη Σπάρτη, μέσα στα χρονικά όρια το Αθηναίου ημεροδρόμου.

Έτσι το φθινόπωρο του 1983 ο Φοντέν είναι έτοιμος να κάνει πράξη το όραμά του! Μαζί με άλλους 4 συναδέλφους του της RAF θα ξεκινήσουν τα χαράματα της 8^{ης} Οκτωβρίου από το χώρο της Αρχαίας Αγοράς με κατεύθυνση τη Σπάρτη. Ο Φοντέν κατόρθωσε να φτάσει μέσα σε 36 ώρες μπροστά στο άγαλμα του Λεωνίδα στη Σπάρτη, αποδεικνύοντας ότι είναι δυνατό να καλυφθεί αυτή η απόσταση από τον άνθρωπο. Έτσι το 1984 ιδρύεται ο Διεθνής Σύνδεσμος Σπάρταθλον, ο οποίος από τότε διοργανώνει τον αγώνα την τελευταία Παρασκευή του Σεπτεμβρη, τότε δηλαδή που ο Ηρόδοτος τοποθετεί χρονολογικά την αποστολή του Φειδιππίδη στη Σπάρτη.

Αξίζει να σημειωθεί ότι η προετοιμασία του αγώνα απαιτεί και τη συμμετοχή πολύ μεγάλου αριθμού εθελοντών που παρέχουν τις υπηρεσίες τους στους αθλητές κατά τη διάρκεια του αγώνα σε πάνω από 70 σταθμούς ανεφοδιασμού. [9]

B Πειραματικό μέρος

1.Σκοπός

Σκοπός τη παρούσης μελέτης ήταν να μελετήσει το φαινόμενο του οξειδωτικού στρες, που οφείλεται στους δραστικούς μεταβολίτες οξυγόνου, σε μια ομάδα εθελοντών αθλητών υπεραντοχής, τους δρομείς του Σπάρταθλον 2002. το σύνολο σχεδόν της βιβλιογραφίας καταλήγει στο συμπέρασμα ότι η σωματική άσκηση είτε μιρής είτε μεγάλης έντασης, είτε αναερόβια είτε αερόβια, καταλήγει μέσα από μια αναπνευστική έκρηξη στα μιτοχόνδρια των μυϊκών ινών, σε μια σημαντική αύξηση των ελευθέρων ριζών οξυγόνου στο αίμα των αθλητών.

Το Σπάρταθλον, ωστόσο, έχει ένα ιδιαίτερο ενδιαφέρον αφού πρόκειται για το αποκορύφωμα της ανθρώπινης προσπάθειας, και ειδικά κάτω από τέτοιες συνθήκες (36 ώρες τρέξιμο, 246 χλμ, ανώμαλος δρόμος, θερμοκρασίες από 8° έως 36° C), η μελέτη του οξειδωτικού στρες έχει μια αξία παραπάνω.

Η μελέτη προσπαθεί εκτός από τον προσδιορισμό του οξειδωτικού στρες σε Αθήνα και Σπάρτη, να συσχετίσει την άνοδο των επιπέδων των ελευθέρων ριζών με την ηλικία και με τον χρόνο τερματισμού.

Τέλος από τα αποτελέσματα και τα συμπεράσματα η εργασία αποσκοπεί στο να κατευθύνει με τη συμβολή της την έρευνα σ' αυτό το αντικείμενο σε πιο σωστά μονοπάτια,όσον αφορά το ρόλο των αντιοξειδωτικών της τροφής και της άσκησης στην προαγωγή της υγείας.

2.Μεθοδολογία

Λήψη δειγμάτων αίματος

Στη μελέτη συμμετείχαν εθελοντικά 13 άτομα-δρομείς του ΣΠΑΡΤΑΘΛΟΝ 2002. Κανένας από τους αθλητές δεν είχε τις μέρες πριν τον αγώνα ιδιαίτερη προπονητική δραστηριότητα. Για τη διεξαγωγή της μελέτης εξασφαλίστηκε η απαραίτητη άδεια από την επιτροπή Βιοηθικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου.

Η εκκίνηση του αγώνα δόθηκε στις 7.00 το πρωί με σημείο εκκίνησης την Αθήνα και ολοκληρώθηκε στη Σπάρτη 36 ώρες αργότερα. Μία ημέρα πριν τον αγώνα, πραγματοποιήθηκε στην Αθήνα, λήψη φλεβικού αίματος σε καθιστή θέση, από τους εθελοντές που συμμετείχαν στη μελέτη. Όμοια λήψη αίματος έγινε και 30 λεπτά μετά τον τερματισμό, στη Σπάρτη, αλλά μόνο στους εθελοντές που τερμάτισαν.

Όλα τα δείγματα αίματος έτυχαν της παρακάτω διεργασίας: Αρχικά τοποθετήθηκαν σε σωληνάρια ορού τύπου BD Vacutainer USA, και φυγοκεντρήθηκαν 20 λεπτά αργότερα. Στη συνέχεια οι οροί καταψύχθηκαν στους -70°C μέχρι την ανάλυσή τους.

Ανάλυση δειγμάτων αίματος

Η όλη διαδικασία ανάλυσης στηρίζεται στην ιδιότητα των ROMs να αντιδρούν με ειδικά υποστρώματα, δίνοντας ένα έγχρωμο σύμπλοκο, το οποίο μπορεί να μετρηθεί φωτομετρικά στα 500 έως τα 550 nm. Σύμφωνα με το νόμο των Lambert-Beer's, η πυκνότητα είναι ευθέως ανάλογη της συγκέντρωσης, κι έτσι υπολογίζεται η ακριβής συγκέντρωση των ROMs.

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν το d-ROMs Test της εταιρίας DIACRON INTERNATIONAL.

Αρχικά παρασκευάστηκαν σε δύο ξεχωριστούς δοκιμαστικούς σωλήνες, το τυφλό, και το Standard. Πιο συγκεκριμένα για το Blank με μια ημιαυτόματη πιπέτα μεταφέρθηκαν στο δοκιμαστικό σωλήνα 5 μL απιονισμένου νερού, 1ml από το διάλυμα Reagent R2, και 10 μl από το διάλυμα Reagent R1.

Για το Standard, με ημιαυτόματη πιπέτα μεταφέρθηκαν στο δοκιμαστικό σωλήνα 5 μl από το διάλυμα Standard Serum, 1 ml από το διάλυμα Reagent R2, και 10 μl από το διάλυμα Reagent R1.

Στη συνέχεια για κάθε δείγμα σε ξεχωριστό δοκιμαστικό σωλήνα μεταφέρθηκαν με ημιαυτόματη πιπέτα 5 μl δείγματος ορού, 1ml από το διάλυμα Reagent R2, και 10 μl από το Reagent R1.

	τυφλό	πρότυπο διάλυμα	δείγμα
απιονισμένο νερό	5 μl	-	-
Πρότυπος ορός	-	5 μl	-
Δείγμα	-	-	5 μl
αντιδραστήριο R2	1 ml	1 ml	1 ml
Αντιδραστήριο R1	10 μl	10 μl	10 μl

Πίνακας 2

Όλοι οι δοκιμαστικοί σωλήνες αφού αναμίχθηκαν σε Vortex, καλύφθηκαν επιφανειακά με μεμβράνη και τοποθετήθηκαν σε ζέον υδατόλουτρο στους 37° C για 90 λεπτά της ώρας προς επώαση. Οι ημιαυτόματες πιπέτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν μάρκας GILSON.

Ακολούθως έγινε βαθμονόμηση του φασματοφωτόμετρου με το τυφλό (Blank) στα 505 nm, και μετρήθηκε η απορρόφηση του πρότυπου διαλύματος (Standard), και κάθε δείγματος ξεχωριστά. Τόσο το τυφλό, όσο και το πρότυπο και τα δείγματα τοποθετήθηκαν για τη διαδικασία της φωτομέτρησης σε πλαστικές κυψελίδες μιας χρήσεως. Το χρώμα των δειγμάτων παραμένει σταθερό σε θερμοκρασία δωματίου για μισή ώρα περίπου, χρονικό διάστημα που ολοκληρώθηκαν οι μετρήσεις. Το φασματοφωτόμετρο που χρησιμοποιήθηκε ήταν της εταιρίας SHIMADZU, μοντέλο UV-1601.

Υπολογισμός

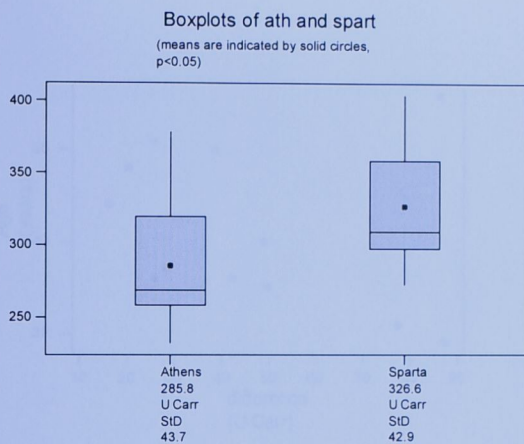
$$\frac{\text{απορρόφηση δείγματος}}{\text{απορρόφηση προτύπου}} \times \text{συγκέντρωση προτύπου} = \text{U.Carr}$$

Προσδοκώμενες τιμές οξειδωτικού στρες σύμφωνα με την εταιρία για υγιή άτομα είναι 250-300 U.Carr. Κάθε εργαστήριο ωστόσο συστήνεται να προσδιορίσει δικό του εύρος ανάλογα με τον πληθυσμό και τη χώρα. Τιμές κάτω από 250 U.Carr είναι δυνατό να εμφανιστούν σε άτομα που λαμβάνουν φαρμακευτική αγωγή κορτιζόνης, ή αντιοξειδωτική αγωγή.[30]

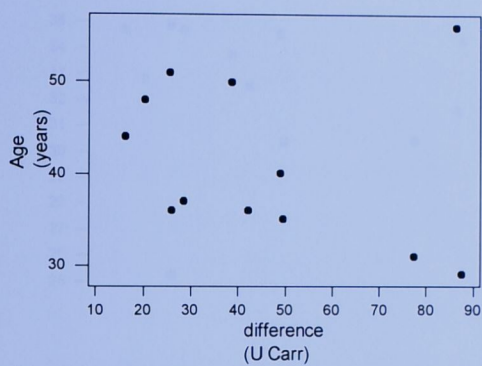
3.Αποτελέσματα- Στατιστική ανάλυση

Τόπος μέτρησης	Οξειδωτικό στρες σε μονάδες U.CARR
Αθήνα	285.8±43.7 (n=13)
Σπάρτη	326.6±42.9 (n=13) P<0.05

Πίνακας 3



Διάγραμμα 1: μέσες τιμές οξειδωτικού στρες σε Αθήνα και Σπάρτη ($p < 0.05$)



Διάγραμμα 2: συσχέτιση ηλικίας με την αύξηση του οξειδωτικού στρες μετά τον αγώνα, $p=0.448$ (απλή παλινδρόμηση)

4.Συζήτηση

Τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης επιβεβαιώνουν την αρχική υπόθεση, ότι άσκηση προκαλεί αύξηση του οξειδωτικού στρες, και συμφωνούν με το σύνολο των βιβλιογραφικών πηγών [10,20,23,24,35] ως προς αυτό το σκέλος της μεταβολής.

Οι υπεραθλητές που μελετήθηκαν εμφάνισαν στατιστικά σημαντική αύξηση του επιπέδου ελευθέρων ριζών οξυγόνου στο αίμα της τάξης του 14,25% (Αθήνα 285.8 ± 43.7 Ucart, Σπάρτη 326.6 ± 42.9 Ucart, $p < 0.05$)

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη συσχέτιση της αύξησης του οξειδωτικού στρες με την ηλικία, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της απλής παλινδρόμησης, δείχνουν ότι η ηλικία δεν φαίνεται να επηρεάζει την αύξηση των ελευθέρων ριζών τουλάχιστον για τη μελέτη του Σπάρταθλου.

Αντίστοιχα, με απλή παλινδρόμηση δεν βρέθηκε συσχέτιση ανάμεσα στην αύξηση του οξειδωτικού στρες και στο χρόνο τερματισμού για τους δρομείς του υπερμαραθωνίου Σπάρταθλου.

Σύμφωνα με την κλίμακα της εταιρίας DIACRON από την οποία προμηθευτήκαμε τα αντιδραστήρια, η μέση τιμή οξειδωτικού στρες των σπάρταθλητών 326,6 U Cart, κατατάσσει τα άτομα αυτά στο ελαφρά οξειδωτικό στρες (320 – 340 U Cart), γεγονός που υποδεικνύει ότι η ένταση και η διάρκεια του αγωνίσματος που είναι μέγιστα, δεν επηρεάζουν αναλογικά τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου ώστε να τις εξυψώσουν σε ακραία επίπεδα, όπως για παράδειγμα γίνεται με τη CK και τα άλλα ηπατικά ένζυμα [25]. Σε μια συναφή μελέτη, τη μόνη που έχει πραγματοποιηθεί για το Σπάρταθλο, οι Σκενδέρη Κ. και συνεργάτες [25], διαπιστώνουν μια σημαντική αύξηση των επιπέδων CK στο αίμα, τη μεγαλύτερη που έχει ποτέ αναφερθεί σε άσκηση, και που αποτελεί ασφαλή δείκτη μυϊκής καταστροφής. Το οξειδωτικό στρες, ωστόσο, φτάνει να αυξάνεται χωρίς ωστόσο να φτάνει σε ακραίες τιμές όπως τα ηπατικά και μυϊκά ένζυμα.

Στην παρούσα μελέτη μετρήθηκαν τα επίπεδα ελευθέρων ριζών οξυγόνου πριν και μετά τον υπερμαραθώνιο και η διαφορά τους βρέθηκε στατιστικά σημαντική. Θα ήταν ωστόσο χρήσιμο να γνωρίζουμε τη διακύμανση του οξειδωτικού στρες κατά τη διάρκεια του αγώνα, μιας και δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία στη βιβλιογραφία. Σε μια ενδιαφέρουσα μελέτη παρόμοιου υπερμαραθωνίου [18], οι ερευνητές διαπίστωσαν αύξηση της βλάβης του γενετικού υλικού, άρα και αύξηση του οξειδωτικού στρες, από την αρχή μέχρι το 93^ο χιλιόμετρο της διαδρομής. Στη

συνέχεια φαίνεται ότι ο οργανισμός προσαρμόζεται και επαναφέρει τις ελεύθερες ρίζες στα αρχικά επίπεδα, συνεπώς ελαχιστοποιεί τις βλάβες του DNA μέχρι το τέλος του αγώνα

Σημαντική είναι και η παρατήρηση αναφορικά με την ανοσολογική απόκριση του οργανισμού σε μεγάλης έντασης και διάρκειας άσκηση [12]. Το σύνολο των T-λεμφοκυττάρων μετά από μια σημαντική αύξηση, επανέρχεται στα αρχικά επίπεδα μέσα από έναν μηχανισμό προσαρμογής άγνωστο προς το παρόν. Κάτι ανάλογο συμβαίνει και με τις ορμόνες του πλάσματος κατά τον υπερμαραθώνιο, οι οποίες μετά από μια διακύμανση φτάνουν στην αρχική τους τιμή στο τέλος του αγώνα[13].

Καθίσταται επομένως σαφές, ότι ο οργανισμός των αθλητών μετά από το αρχικό σοκ λόγω της έντασης των πρώτων χιλιομέτρων, όπου συμβαίνουν οι περισσότερες μεταβολικές αλλαγές σε ένζυμα, ελεύθερες ρίζες, ορμόνες, λευκά αιμοσφαίρα και άλλα παραπροϊόντα, κινητοποιεί έναν μηχανισμό προσαρμογής προκειμένου να αντεπεξέλθει στις αυξημένες ανάγκες του αγωνίσματος. Ο μηχανισμός αυτός φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά από την προπόνηση και τη φυσική κατάσταση του κάθε αθλητή [11]. Πιθανότατα η διατροφή του και πιο συγκεκριμένα η λήψη αντιοξειδωτικών συστατικών, να συνεισφέρει στην αντιοξειδωτική άμυνα του σώματος, υπόθεση η οποία δεν πιστοποιείται πλήρως[15].

Ένα σημαντικό επίσης συμπέρασμα που προκύπτει από τη στατιστική ανάλυση, είναι ότι η ηλικία των αθλητών και ο χρόνος τερματισμού δεν επηρεάζουν τη μεταβολή των ROMs μετά το τέλος του αγώνα. Συνεπώς η ηλικία δεν μπορεί να θεωρηθεί παράγοντας που ευνοεί την ανάπτυξη ελευθέρων ριζών. Ωστόσο λόγω έλλειψης βιβλιογραφικών πηγών δεν μπορούμε να επιβεβαιώσουμε την παραπάνω παρατήρηση. Ειδικά για το χρόνο τερματισμού θα μπορούσε να υποστηριχθεί ότι η προσαρμογή του σώματος έχει γίνει πολύ πιο πριν, στα πρώτα χιλιόμετρα του δρόμου, και στη συνέχεια η περαιτέρω διάρκεια του αγώνα δεν επηρεάζει σημαντικά τον αντιοξειδωτικό μηχανισμό των αθλητών. Και αυτή, ωστόσο η υπόθεση δεν μπορεί να επιβεβαιωθεί λόγω έλλειψης βιβλιογραφικών πηγών.

Συμπερασματικά, μια καλύτερα σχεδιασμένη μελέτη στο μέλλον στο ίδιο αγώνισμα που θα εκτιμάει τις μεταβολές των ROMs κατά τη διάρκεια του αγώνα, καθώς και την ενδεχόμενη επίδραση αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων, πιθανότατα να απαντήσει σε πολλές από τις παραπάνω υποθέσεις, και να οδηγήσει σε νέα συμπεράσματα.

5.Παράρτημα



NO	NAME	SURNAME	SEX	COUNTRY	NO	NAME	SURNAME	SEX	COUNTRY	NO	NAME	SURNAME	SEX	COUNTRY
002	OLIVER	SIMDSFEG	M	GERMANY	078	KOSTAS	MPAXEVANIS	M	HELLAS	153	AKIO	MITSUHASHI	F	JAPAN
003	MARIDOS	FOLINARIS	M	HELLAS	080	IOANNIS	MARGARAS	M	HELLAS	154	HIROKO	OKINAKA	F	JAPAN
004	SEFFO	TAPIO LEINONEN	M	FINLAND	081	IOANNIS	SAMPAUS	M	HELLAS	155	SHIN	OKUMURA	M	JAPAN
007	KOSTAS	RICPOS	M	HELLAS	082	EPSTATHIOS	KARAHRISTOS	M	HELLAS	156	HIDEO	KATCH	M	JAPAN
008	HARLAOS	TSEPPADAKIS	M	HELLAS	083	GIORGIO	BUSCOS	M	ITALY	157	SACHIKO	KAWASE	F	JAPAN
009	PETER	FOXALL	M	ENGLAND	085	STANLEY	HARDESTY	M	GERMANY	158	TOSHIHIKO	HAYASHI	M	JAPAN
010	JAMIE	KALKANISYRJA	M	FINLAND	086	KENNY	WALLSTROM	M	SWEDEN	159	SAWAKO	WATANABE	F	JAPAN
011	NORIO	ITO	M	GERMANY	087	BERTIL	PALMQUIST	M	SWEDEN	160	TSUTOMU	ISHIBASHI	M	JAPAN
012	KJELL-OVE	SKOGLUND	M	SWEDEN	088	RUT	ZOUTMAN	M	HOLLAND	161	TOSHIE	YOSHIDA	F	JAPAN
014	THEODOROS	TSEKOURAS	M	HELLAS	090	ARI	MUSTALA	M	FINLAND	163	SEIICHI	KOGIKU	M	JAPAN
015	HELLE	MOLAND KNUDSEN	F	DENMARK	091	TROND	SVAVK	M	NORWAY	164	YOSHIMARU	MORISHITA	M	JAPAN
016	ANDERS	JEPFESSEN	M	DENMARK	092	EOLF	ENHUSEN	M	NORWAY	165	TOSHIO	OHMORI	M	JAPAN
017	KOSTAS	ZERVAS	M	HELLAS	094	NOBUAKI	KOYAGO	M	USA	166	TAKAKO	SUZUKI	F	JAPAN
018	STYLIANOS	NAXOS	M	HELLAS	097	ATILA	NEMES	M	HUNGARY	168	YOSHIO	NGHIMURA	M	JAPAN
019	EMIL	APOSTOLOV	M	BULGARIA	098	GIACOMO	MONTE	M	ITALY	169	TOCHIKAZU	SUENATSU	M	JAPAN
020	JOHANN	PRATSCHEER	M	AUSTRIA	099	FRANTSEK	BRABEC	M	CZECH REP.	172	RYUJI	TAKADA	M	JAPAN
022	RYSZARD	KAKACZYNSKI	M	POLAND	100	MILOS	SKORPIL	M	CZECH REP.	173	KAZUO	ISOMURA	M	JAPAN
023	KOSTAS	MICHAELIDIS	M	HELLAS	101	JINDRICH	LAKY	M	CZECH REP.	174	MAKOTO	SAKASHI	M	JAPAN
024	GABOR	SKE	M	HUNGARY	102	KENCHIRO	KUWABARA	M	JAPAN	175	HIROYUKI	ISHIMURA	M	JAPAN
025	VESA	MURTO	M	FINLAND	103	YICHI	KOMAI	M	JAPAN	176	TAKASHI	FUKAGAWA	M	JAPAN
026	IMRE	PIEK	M	HUNGARY	104	HIDEHISA	IMAI	M	JAPAN	177	MIYUKI	HASEGAWA	F	JAPAN
027	FREDERIC	VIGNON	M	FRANCE	105	YUKIHIRO	NISHINO	M	JAPAN	178	MAYUMI	DOBE	F	JAPAN
028	ALAIN	PONCHOLET	M	FRANCE	106	KATSUYOSHI	MIYANO	M	JAPAN	179	SUMIE	INAGAKI	F	JAPAN
029	CHRISTIAN	FATTON	M	SWITZERLAND	108	YOSHIO	OTSUKA	M	JAPAN	181	ELI	KOMURO	M	JAPAN
031	ROBERT	BERTIN	M	FRANCE	109	MITSUAKI	UCHIYAMA	M	JAPAN	183	HORVARTH	JENO	M	HUNGARY
032	STEPHANE	PELLISSIER	M	FRANCE	110	KAZUHIKO	HORIGUCHI	M	JAPAN	185	WIM BART	KNOX	M	HOLLAND
033	NICOLAS	RENNER	M	FRANCE	111	YUJI	SHINDO	M	JAPAN	187	FENDRIK	LASZLO	M	HUNGARY
034	THIBAUD	CAHEZ	M	FRANCE	112	MASATAKA	OKAZAKI	M	JAPAN	188	JEREMY	BOLAM	M	ENGLAND
035	LAURENT	SAIN-MARTIN	M	FRANCE	113	HIDENASA	UTSUNOMIYA	M	JAPAN	189	HERMANN	BOHM	M	GERMANY
036	CHRISTIAN	LEHOUX	M	FRANCE	114	NOBUHIKO	HAGURA	M	JAPAN	190	HERBERT	BRITZ	M	GERMANY
037	ROBERT	YAMN	M	FRANCE	115	KOUJI	YASUDA	M	JAPAN	191	GUSTAV	DIERS	M	GERMANY
038	GERHARD	EGGENREICH	M	AUSTRIA	116	KAZUYOSHI	IKEDA	M	JAPAN	192	FRANZ	HAUSLER	M	GERMANY
039	LEVENTE	KALOTAI	M	HUNGARY	117	YUJI	SAKAI	M	JAPAN	193	THOMAS	KABUSE	M	GERMANY
040	RAINER	NEUMANN	M	AUSTRALIA	118	HIROSHI	FUKUSHIMA	M	JAPAN	194	HUBERT	KARL	M	GERMANY
042	VALMIR	NUNES	M	BRAZIL	120	RIYOKU	MOTOKI	F	JAPAN	195	HEIKE	PAWZIK	F	GERMANY
043	DAVID JOHN	SILL	M	ENGLAND	121	TETSUO	IRIE	M	JAPAN	196	SEBASTIAN	SCHOBERT	M	GERMANY
045	EDWIN	LENAERTS	M	BELGIUM	122	SHOBU	SHINCHI	M	JAPAN	197	REINHARDT	SCHULZ	M	GERMANY
047	THEODOROS	ASTERIS	M	HELLAS	123	TOYOHISA	NAKASHIMA	M	JAPAN	198	WERNER	SEIGH	M	GERMANY
048	DIMITRIOS	KEHAGIDGLOU	M	HELLAS	124	MASAYUKI	OTAKI	M	JAPAN	199	SIMONE	STEGEMIER	F	GERMANY
049	STERGIOS	HYTAS	M	HELLAS	125	NOBUMI	INAMOTO	M	JAPAN	200	PETER HANS	JOACHIM WIENKE	M	GERMANY
050	ADAM	HATJIS	M	HELLAS	127	TOMOTAKA	KAMEI	M	JAPAN	201	CHRISTIAN	HOTTAS	M	GERMANY
051	MARK	WILLIAMS	M	USA	128	TAKAHIRO	SHIMOTANI	M	JAPAN	203	TOM	HENDRICKS	M	HOLLAND
052	WILLIAM	VERDONCK	M	BELGIUM	129	MASAHIKO	SASADA	M	JAPAN	204	RONALD	TEUNISSE	M	HOLLAND
053	YOSHITAKA	UEHIGI	M	JAPAN	130	TAKAO	NAKANUMA	M	JAPAN	205	ANDRAS	LOW	M	HUNGARY
054	GYULA	LAPOSI	M	HUNGARY	132	KATSUHIRO	TANAKA	M	JAPAN	206	JOSEPH	BUTENEERS	M	BELGIUM
057	MARIANNE	BLANGY	F	FRANCE	133	KIMI	NOTO (FUMADA)	F	JAPAN	207	PETRI	LIETZEN	M	FINLAND
058	FRANCIS	CASTEROT	M	FRANCE	134	YUTAKA	SHIRATORI	M	JAPAN	208	VITO ANTONIO	RECCHIA	M	ITALY
059	ERIC	CLOSSET	M	FRANCE	135	RYOICHI	SEKIYA	M	JAPAN	210	ADRIANO	LEONI	M	ITALY
060	MARCUS	THALMAN	M	AUSTRIA	136	KAZUYA	INOUE	M	JAPAN	212	ZOLTAN	ISPAKI	M	HUNGARY
061	LOUIS	EMMINGER	M	LOUXEMBOURG	138	RYOICHI	SATO	M	JAPAN	215	MICHAEL	ONISIFOROU	M	CYPRUS
062	PAULETTE	FEVRE	F	FRANCE	139	RYOJI	USAMI	M	JAPAN	216	ANTONIS	SAVVA	M	CYPRUS
063	ALAIN	FLOUREUX	M	FRANCE	140	MAKOTO	SUZUKI	M	JAPAN	217	ANDREAS	DRAGATIS	M	HELLAS
064	THERRY	FOUCAUD	M	FRANCE	141	MASAHARU	KAJIWARA	M	JAPAN	218	CHRISTOS	KANELLOS	M	HELLAS
065	PHILIPPE	GRIZARD	M	FRANCE	142	HIROAKI	ONDA	M	JAPAN	219	MARIOS	NOVAK	M	HELLAS
066	RENE	HEINITZ	M	FRANCE	143	HIDEO	KUWANO	M	JAPAN	220	MICHAEL	STYLLAS	M	HELLAS
067	JACQUES	MARTIN	M	FRANCE	144	KAZUHIRO	KAWAMURA	M	JAPAN	221	GEORGIOS	PSALAS	M	HELLAS
068	GILLES	PALLARUELLO	M	FRANCE	145	SHOICHI	OKAMURA	M	JAPAN	223	CARLOS ROA	LIMA DIAS	M	BRAZIL
069	WILLIAM	PILLAS	M	FRANCE	146	TOSHIO	KANO	M	JAPAN	224	IRINA	REUTOVICH	F	RUSSIA
070	WOLFGANG	PROTODIOPPOFF	M	FRANCE	147	SUSUMU	NAKAMICHI	M	JAPAN	225	ALEXANDER	TALCOV	M	RUSSIA
072	POLAND	ROUX	M	FRANCE	148	OSAMU	YOSHIKOSHI	M	JAPAN	226	ROLF	SIGEL	M	GERMANY
073	CHRISTIAN	SIBRA	M	FRANCE	149	MAYAKO	YOSHIKOSHI	F	JAPAN	228	ZAFRIN	PEPELOV	M	BULGARIA
075	FRANCIS	WEBER	M	FRANCE	150	TOYOKO	MAEDA	F	JAPAN	230	JEFFRY	OSCH	M	HOLLAND
076	FABIO	MARCHETTI	M	ITALY	151	FUSAKO	FUSHIMI	F	JAPAN	233	PIERRE	MITEV	M	FRANCE
077	TOSHIKI	IKEDA	M	JAPAN	152	YOSHIAKI	ISHIHARA	M	JAPAN	234	JOACHIM	HAUSER	M	GERMANY

POS	No	NAME	SURNAME	TIME	SEX	COUNTRY	AGE
1	136	RYOICHI	SEKIYA	23:47:54	M	JAPAN	35
2	060	MARCUS	THALMAN	25:16:56	M	AUSTRIA	36
3	230	JEFFRY	CONK	26:58:55	M	HOLLAND	31
4	164	YOSHIMARU	MORISHITA	27:50:42	M	JAPAN	30
5	224	IRINA	REUTOVICH	28:10:48	F	RUSSIA	52
6	053	YOSHITAKA	UESUGI	28:31:21	M	JAPAN	57
7	032	STEPHANE	PELUSIER	28:38:55	M	FRANCE	33
8	123	TOMOHISA	NAKASHIMA	29:19:19	M	JAPAN	44
9	205	ANDRAS	LOW	29:40:29	M	HUNGARY	35
10	221	GEORGIOS	PSALAS	29:45:42	M	HELLAS	45
11	217	ANDREAS	ORAGATIS	30:09:39	M	HELLAS	33
12	010	JANNE	KANKAANSYRJA	30:21:23	M	FINLAND	35
13	154	HIROKO	OKIYAMA	30:25:49	F	JAPAN	40
14	234	JOACHIM	HAUSER	30:26:16	M	GERMANY	37
14	132	KATSUHIRO	TANAKA	30:26:16	M	JAPAN	31
16	212	ZOLTAN	ISPAHNI	30:43:58	M	HUNGARY	32
17	124	MASAYUKI	OTAKI	31:18:10	M	JAPAN	38
18	194	HUBERT	KARL	31:26:57	M	GERMANY	44
19	178	MAYUMI	OKABE	31:33:35	F	JAPAN	30
20	125	NOBUMI	IWAMOTO	31:34:24	M	JAPAN	36
21	190	HERBERT	BRITZ	31:36:17	M	GERMANY	52
22	072	ROLAND	HOLM	31:37:12	M	FRANCE	50
23	172	RYUJI	TAKADA	31:53:38	M	JAPAN	39
24	179	SUMI	INAGAKI	31:54:18	F	JAPAN	36
25	189	HERMANN	BORH	31:56:58	M	GERMANY	52
26	157	SACHIKO	KANABE	31:57:19	F	JAPAN	30
27	155	SHIN	OKUMURA	31:58:39	M	JAPAN	24
28	086	RENE	HEINTZ	32:33:41	M	FRANCE	48
28	038	GERHARD	EGGENREICH	32:33:41	M	AUSTRIA	39
30	134	YUTAKA	SHIRATORI	32:42:14	M	JAPAN	52
31	144	KAZUHIRO	KAWAMURA	32:48:23	M	JAPAN	35
32	100	MILOŠ	SKORPI	32:48:56	M	CZECH REP	48
33	036	CHRISTIAN	LEROUX	32:54:27	M	FRANCE	35
34	215	MICHAEL	ONISFOROU	33:11:31	M	CYPRUS	49
35	073	CHRISTIAN	SIBRA	33:35:15	M	FRANCE	45
36	147	SUSUMU	NAKAMICHI	33:40:44	M	JAPAN	50
37	133	KIMIE	NOTO (FUNADA)	33:45:29	F	JAPAN	50
38	102	KENICHIRO	KUWABARA	33:47:25	M	JAPAN	35
39	140	MAKOTO	SUZUKI	33:48:07	M	JAPAN	35
40	188	YOSHIO	NISHIMURA	33:58:18	M	JAPAN	32
41	105	YUKIHIRO	NISHINO	34:05:28	M	JAPAN	50
42	145	SHOICHI	OKAMURA	34:09:33	M	JAPAN	43
43	009	PETER	FOXALL	34:20:55	M	ENGLAND	50
43	158	TOSHIHIKO	HAYASHI	34:20:55	M	JAPAN	45
45	003	MARIOS	FOURNARIS	34:21:14	M	HELLAS	35

POS	No	NAME	SURNAME	TIME	SEX	COUNTRY	AGE
45	033	NICOLAS	REMINDER	34:21:14	M	FRANCE	29
47	195	HEIKE	PAWZIK	34:29:12	F	GERMANY	39
48	012	KJELL-OVE	SKOGLUND	34:29:54	M	SWEDEN	51
49	024	GABRI	SIKE	34:32:05	M	HUNGARY	40
50	087	JACQUES	MARTIN	34:32:40	M	FRANCE	49
50	143	TOSHIO	KANO	34:32:40	M	JAPAN	32
52	225	ROLF	SIGEL	34:41:30	M	GERMANY	45
53	051	MARK	WILLIAMS	34:42:14	M	ENGLAND	37
54	015	ANDERS	JEPPENSEN	34:42:50	M	DENMARK	44
54	015	HELLE	MOLAND KNUDSEN	34:42:50	F	DENMARK	40
56	115	KOJI	YASUDA	34:45:33	M	JAPAN	50
57	129	MASAHIKO	SASADA	34:48:41	M	JAPAN	34
58	225	ALEXANDER	FALKOV	34:50:18	M	RUSSIA	48
59	055	STANLEY	HARDESTY	34:51:25	M	USA	51
59	019	EMIL	APOSTOLOV	34:51:28	M	BULGARIA	43
61	138	RYOICHI	SATO	34:52:40	M	JAPAN	41
62	070	VINCENT	PROTOPOPPOFF	34:54:45	M	FRANCE	41
62	068	GILLES	PALLARUELO	34:54:45	F	FRANCE	39
64	046	EDWIN	LENAERTS	34:57:03	M	BELGIUM	36
65	187	FENDRIK	LASZLO	34:57:10	M	HUNGARY	44
65	094	NOBUAKI	KOYAGO	35:01:20	M	JAPAN	45
67	198	WERNER	SELCH	35:05:45	M	GERMANY	51
68	115	HIROSHI	FUKUSHIMA	35:05:57	M	JAPAN	42
69	108	YOSHIKI	OTSUKA	35:10:42	M	JAPAN	47
70	141	MASAHARU	KAJIWARA	35:14:22	M	JAPAN	27
71	104	HIDCHISA	IMAI	35:16:23	M	JAPAN	58
72	011	NORIO	ITO	35:17:08	M	JAPAN	54
73	092	EIGOLF	ENVIENSEN	35:19:22	M	NORWAY	??
73	142	HIROAKI	ONDA	35:19:22	M	JAPAN	42
75	121	TETSUD	IRIE	35:22:21	M	JAPAN	55
76	128	TAKAHIRO	SHIMOTANI	35:25:18	M	JAPAN	30
77	152	YOSHIAKI	ISHIHARA	35:26:51	M	JAPAN	57
78	062	WILLIAM	VERDONCK	35:28:10	M	BELGIUM	58
79	233	PIERRE	MITEV	35:28:40	M	FRANCE	45
80	101	JINDRICH	LAKY	35:34:55	M	CZECH REP	46
81	045	DAVID JOHN	SILL	35:36:25	M	ENGLAND	55
82	148	OSAMU	YOSHIKOSHI	35:41:09	M	JAPAN	53
83	004	SEPPA TAPIO	LEINONEN	35:45:41	M	FINLAND	50
84	057	ATTILA	NEMES	35:48:41	M	HUNGARY	59
85	110	KAZUHIRO	HORIGUCHI	35:49:35	M	JAPAN	34
86	127	TOMOTAKA	KAMEI	35:50:45	M	JAPAN	37
87	106	KATSUYOSHI	MIYANO	35:56:48	M	JAPAN	58
88	077	TOSHIKI	IKEDA	35:59:02	M	JAPAN	53
89	159	SAWAKO	WATANABE	35:59:50	F	JAPAN	53

6.Βιβλιογραφία

1. ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΓΑΛΑΡΗΣ σημειώσεις για τα μάθημα των ελευθέρων ριζών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων
2. Halliwell Bary, **Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence?** The Lancet 344:721-724;1994
3. Joe M. McCord, **The Evolution of Free Radicals and Oxidative Stress**, The American Journal Of Medicine 108:652-654;2000
4. Groff James L, Gropper Sareen S. Advanced Nutrition and Human Metabolism 3rd Ed. Wadsworth publication
5. Χονδρογιάννη Νίκη, Γκόνοϋ Ευστάθιος, «**Αποδιάταξη οξειδωμένων πρωτεϊνών κατά την κυτταρική γήρανση: ο ρόλος του πρωτεοσώματος**», 3^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελευθέρων Ριζών και Οξειδωτικού στρες, Αθήνα 2002
6. Αλεξάνδρα Μπαρμπούτη, Δημήτριος Γαλάρης, «**Ο ρόλος του H₂O₂ στην απόπτωση: προ-αποπτωτικός ή αντι-αποπτωτικός παράγοντας**», 3^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελευθέρων Ριζών και Οξειδωτικού στρες, Αθήνα 2002
7. Διεθνής Σύνδεσμος Σπάρταθλον
8. Marius Locke, Earl G.Noble, **Exercise and Stress Response, the role of stress proteins**, CRC PRESS
9. Thomas Devlin, **Textbook of Biochemistry with Clinical Corellations**, fifth edition, WILLEY LISS Publications

10. Mastaloudis A, Scott W.L, Traber M. **Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise.** Free Radical Biology & Medicine 31:911-922;2001.
11. Brites Fernando, Pablo Evelson, Marina Garcia Christiansen, Maria Nicol, Maria Jose Basilico, Regina Wikinski, Suzana Llesuy. **Soccer players under regular training show oxidative stress but an improved plasma antioxidant status.** Clinical Science 96:381-385;1999.
12. Jelena Vider, Jane Lehtmaa, Tiiu Kullisaar, Titu Vihalemm, Kersti Zilmer, Ceslava Kairane, Anatoli Landor, Toomas Karu, Mihkel Zilmer. **Acute immune response in respect to exercise-induced oxidative stress** Pathophysiology 7:263-270;2001.
13. Fournier PE, Stalder J, Mermillod B, Chantraine A. **Effects of 110 kilometers ultra-marathon race on plasma hormone levels** International Journal of Sports Medicine 18(4):252-256;1997
14. Takayo Inayama, Yoshito Kumagai, Michiko Sakane, Makoto Saito, Mitsuo Matsuda. **Plasma protein-bound sulfhydryl group oxidation in humanw following a full marathon rase.** Life Science 59(7):573-578;1996
15. Schroder H, Navarro E, Tramoullas A, Mora J, Galiano D. **Nutrition antioxidant status and oxidative stress in professional basketball players: effects of a three compound antioxidative supplement.** International Journal of Sports Medicine, 21(2):146-150;2000
16. Hartmann A., Niess A.M. **Oxidative DNA damage in Exercise** Pathophysiology 5:112;1998
17. Zsolt Radak, Peter Apor, Jozsef Pucsok, Istvan Berkes, Helga Ogonovszky, Gabor Pavlik, Hideko Nakamoto, Sataro Goto, **Marathon runing alters the**

- DNA base excision repair in human skeletal muscle.** Life Sciences, 72:1627-1633;2003
18. Zsolt Radak, Jozsef Pucsok, Szilvia Boros, Lorand Jofai, A.W. Taylor, **Changes in urine 8-hydroxydeoxyguanosine levels of super-marathon runners during a four-day race period.** Life Sciences, 66(18):1763-1767;2000
 19. Maura Lodovici, Chiara Casalini, Roberta Cariaggi, Lucia Michelucci, Piero Dolara, **Levels of 8-hydroxydeoxyguanosine as a marker of DNA damage in human leukocytes.** Free Radical & Medicine, 28(1):13-17;2000
 20. Suzuki K, Nakaji S, Yamada M, Liu Q, Kurakake S, Okamura N, Kumae T, Umeda T, Sugawara K, **Impact of a competitive marathon race on systemic cytokine and neutrophil responses.** Medical Science of Sports and Exercise, 35(2):348-355;2003
 21. Jan Karlsson, **Antioxidants and Exercise**, Human Kinetics Publishing, 1997
 22. Leonard SW, Leklem JE, **Plasma B-6 vitamer changes following a 50-km ultra-marathon,** International Journal of Sports Nutrition and Exercise Metabolism, 10(3):302-314;2000
 23. Cooper MB, Jones DA, Edwards RH, Corbucci GC, Montanari G, Treviisani C, **The effect of marathon running on carnitine metabolism and some aspects of muscle mitochondrial activities and antioxidant mechanisms,** Journal of Sports Sciences, 4(2):79-87;1986
 24. Duthie GG, Robertson JD, Maughan RJ, Morrice PC, **Blood antioxidant status and erythrocyte lipid peroxidation following distance running,** Arch Biochem Biophys, 282(1):78-83;1990

25. Skenderi KP, Kavouras SA, Anastasiou C, Yiannakouris N, Yannakoulia M, Matalas AL, **Skeletal Muscle and Hepatic enzymes responses to a 246km foot race**, abstract under publication.
26. Vassilakopoulos t, Karatza ME, Katsaounou P, Kollintza A, Zakynthinos S, Roussos C, **Antioxidants attenuate the plasma cytokine response to exercise in humans**, Journal of Applied Physiology, 94(3):1025-1032;2003
27. Hessel E, Haberland A, Muller M, Lerche D, Schimke I, **Oxygen radical generation of neutrophils: a reason for oxidative stress during marathon running**, Clin Chim Acta, 298(1-2):145-156;2000
28. Zsolt Radak, Hisashi N, Takao K, Shunichi T, Hideko Nakamoto, Ryoya T, Cardozo-Pelaez F, Goto S, **Exercise training decreases DNA damage and increases DNA repair and resistance against oxidative stress of proteins in aged rat skeletal muscle**, Eur J Physiol, 445: 273-278;2002
29. **Nutrition and Exercise Immunology**, David C. Nieman, Bente K. Pederson, CRC PRESS
30. Sachek J, Blumberg J, **Role of Vitamin E and oxidative stress in Exercise**, Nutrition, 17:801-814;2001
31. **DIACRON INTERNATIONAL Italy**
32. Department of Kinesiology and Interdepartmental program of Nutritional Sciences, **Oxidative Stress during Exercise: Implication of Antioxidant Nutrients**, Free Radical Biology & Medicine, 18(6):1079-1086;1995
33. Cooper CE, Vollaard NB, Choueiri T, Wilson MT, **Exercise, free radicals and oxidative stress**, Biochem Soc Trans, 30(2):280-285;2002

34. Steinberg J, Gainnier M, Michel F, Faucher M, Arnaud C, Jammes Y, **The post-exercise oxidative stress is depressed by acetylosalicylic acid**, *Respir Physiol Neurobiol*, 130(2):189-199;2002
35. Schippinger G, Wonisch W, Abuja M, Fankhausr F, Halwachs G. **Lipid peroxidation and antioxidant status in professional American football players during competition**, *Eur J Of Clinical Investigation*, 32(9):686;2002



* 1 1 2 9 *