

ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΣΤΗΝ «ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΑΠΟΔΟΣΗ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑ»
Κατεύθυνση: ΠΡΟΠΟΝΗΤΙΚΗ ΑΘΛΗΜΑΤΩΝ

**ΔΕΙΚΤΕΣ ΑΝΤΙΟΞΙΔΩΤΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΚΟΛΥΜΒΗΤΕΣ ΚΑΤΑ
ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΕΝΟΣ ΠΡΟΠΟΝΗΤΙΚΟΥ ΜΑΚΡΟΚΥΚΛΟΥ**

Μεταπτυχιακή διατριβή του
Κωνσταντίνου Καλίτση (Α.Μ. 22/04)

Θεσσαλονίκη 2006

Τριμελής επιτροπή:

Βασίλης Μούγιος, αναπληρωτής καθηγητής (επιβλέπων)

Τμήμα Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού, Α.Π.Θ.

Δημήτριος Κουρέτας, αναπληρωτής καθηγητής

Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Δημήτριος Λούπος, λέκτορας

Τμήμα Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού, Α.Π.Θ.

© 2006

Καλίτσης Κωνσταντίνος

Απαγορεύεται η με οποιονδήποτε τρόπο, μερική ή ολική, αντιγραφή του παρόντος χωρίς προηγούμενη γραπτή άδεια του συγγραφέα.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	Σελ.
Ευχαριστίες	5
Περίληψη	6
Εισαγωγή	8
Βιβλιογραφική ανασκόπηση	11
<i>Δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας και οξειδωτικού στρες στο αίμα</i>	11
<i>Αυξημένη παραγωγή ROS κατά την άσκηση</i>	12
<i>Οξεία επίδραση της άσκησης</i>	13
<i>Μεσοπρόθεσμη επίδραση της άσκησης</i>	15
<i>Διαφορές προπονημένων και απροπόνητων</i>	17
<i>Επίδραση της διατροφής</i>	18
<i>Επίδραση άλλων παραγόντων</i>	20
<i>Φλεγμονή, ανοσοποιητικό σύστημα και οξειδωτικό στρες</i>	21
<i>Επίδραση οξειδωτικού στρες στην απόδοση</i>	22
<i>Οξειδωτικό στρες στο φορμάρισμα</i>	22
Σκοπός της έρευνας	26
Σημασία της έρευνας	26
Μεθοδολογία	27
<i>Δείγμα</i>	27
<i>Σχεδιασμός</i>	27
<i>Χειρισμός δειγμάτων αίματος</i>	28
<i>Προσδιορισμός GSH</i>	29
<i>Προσδιορισμός GSSG</i>	30
<i>Προσδιορισμός TAC</i>	31
<i>Προσδιορισμός καταλάσης</i>	32

<i>Προσδιορισμός TBARS</i>	33
<i>Προσδιορισμός αιματολογικών παραμέτρων</i>	34
<i>Προσδιορισμός βιοχημικών παραμέτρων</i>	35
<i>Ανάλυση διατροφής</i>	35
<i>Στατιστική επεξεργασία</i>	36
Αποτελέσματα	37
Συζήτηση	46
Συμπεράσματα-προτάσεις	52
Βιβλιογραφία	54
Παράρτημα Α	68
Παράρτημα Β	71
Παράρτημα Γ	73

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω όσους με βοήθησαν στην εκπόνηση της παρούσας εργασίας. Πρώτα από όλα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κύριο επιβλέποντα της εργασίας, τον αναπληρωτή καθηγητή κ. Βασίλη Μούγιο, ο οποίος ακούραστα με βοηθάει όλα αυτά τα χρόνια που συνεργαζόμαστε και μου έχει δώσει κάτι παραπάνω από τα απαραίτητα εφόδια για να μπορέσω να εξελιχθώ στο επιστημονικό πεδίο της φυσικής αγωγής. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον αναπληρωτή καθηγητή κ. Δημήτρη Κουρέτα και το λέκτορα κ. Δημήτρη Λούπο, αμφοτέρους μέλη της τριμελούς επιτροπής, για την καθοδήγηση και την πολύτιμη συμβολή τους στην εργασία. Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στο διδάκτορα κ. Μιχάλη Νικολαΐδη που με εκπαίδευσε στην απαραίτητη εργαστηριακή τεχνογνωσία. Ακόμα, θα ήθελα να ευχαριστήσω το διδάκτορα κ. Γιώργο Τσαλή για τη βοήθειά του στην οργάνωση της εργασίας, καθώς και την ιατρό κ. Κατερίνα Ζαφρανά για την άψογη συνεργασία μας. Ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ είναι το λιγότερο που μπορώ να πω στο φίλο και συνεργάτη Θανάση Καμπασακάλη, με τον οποίο εδώ και 5 χρόνια συνεργαζόμαστε άριστα και με στηρίζει ουσιαστικά σε κάθε μου προσπάθεια. Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στη διδάκτορα Ανατολή Πετρίδου και την υποψήφια διδάκτορα Σοφία Τσαλουχίδου, που καθημερινά με καθοδηγούν στο εργαστήριο και με συμβουλεύουν.

K.K.

Δεκέμβριος 2006

Περίληψη

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να εξετάσει τις μεταβολές σε δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας και οξειδωτικού στρες σε κολυμβητές κατά τη διάρκεια εξαμήνου προπονητικού μακρόκυκλου που περιλάμβανε διαφορετικές φάσεις προπόνησης με μεταβολές στη δυναμική της επιβάρυνσης. Επιπροσθέτως, σκοπός της μελέτης ήταν να εξετασθούν πιθανές συσχετίσεις των παραμέτρων της αντιοξειδωτικής ικανότητας και του οξειδωτικού στρες με μια σειρά αιματολογικών, βιοχημικών και διατροφικών παραμέτρων. Στη μελέτη έλαβαν μέρος 18 κολυμβητές ηλικίας $18,2 \pm 1,3$ ετών, οι οποίοι πραγματοποιούσαν τουλάχιστον έξι προπονητικές μονάδες την εβδομάδα. Οι κολυμβητές έδωσαν τρία δείγματα αίματος σε κατάσταση ηρεμίας: ένα στην αρχή της προετοιμασίας, ένα κατά την περίοδο προπόνησης με υψηλή δυναμική επιβάρυνσης (16 εβδομάδες μετά την πρώτη αιμοληψία) και ένα τέσσερις εβδομάδες αργότερα, κατά την ολοκλήρωση του φορμαρίσματος για τη συμμετοχή τους στον αγώνα-στόχο. Προσδιορίστηκαν η ανηγμένη γλουταθειόνη (GSH), η οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG), η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAC), η καταλάση και οι ενώσεις που αντιδρούν με θειοβαρβιτουρικό οξύ (TBARS). Επιπλέον έγινε γενική ανάλυση αίματος και προσδιορισμός σιδήρου ορού, φερριτίνης, ολικής σιδηροδεσμευτικής ικανότητας (TIBC), κορεσμού τρανσφερίνης, κρεατινικής κινάσης (CK), κορτιζόλης και τεστοστερόνης. Αντίστοιχα με κάθε αιμοληψία πραγματοποιούνταν από τους εξεταζόμενους τριήμερη καταγραφή διατροφής και λήψης συμπληρωμάτων. Σημαντική επίδραση του χρόνου βρέθηκε στη συγκέντρωση της GSSG ($p < 0,001$), η οποία μειώθηκε από μέτρηση σε μέτρηση, στο λόγο GSH/GSSG ($p < 0,001$), που αυξήθηκε με την πάροδο του χρόνου, στη συγκέντρωση της ολικής γλουταθειόνης, η οποία παρουσίασε σημαντική μείωση κατά το φορμάρισμα ($p < 0,001$) και στη συγκέντρωση των TBARS ($p < 0,001$), οι οποίες

παρουσίασαν αύξηση από μέτρηση σε μέτρηση. Αντιθέτως, δε βρέθηκαν σημαντικές μεταβολές στη συγκέντρωση της GSH, στην TAC και στη συγκέντρωση της καταλάσης. Επιπλέον, σημαντικές μεταβολές μεταξύ των προπονητικών φάσεων βρέθηκαν σε μια σειρά αιματολογικών και βιοχημικών παραμέτρων, με σημαντικότερες τον αιματοκρίτη ($p < 0,001$), την αιμοσφαιρίνη ($p < 0,001$), και τον αριθμό ερυθροκυττάρων ($p < 0,001$), που αυξήθηκαν στη δεύτερη μέτρηση, καθώς και στη CK ($p < 0,01$), η οποία αυξομειώθηκε ανάλογα με την επιβάρυνση. Αρκετές σημαντικές συσχετίσεις βρέθηκαν μεταξύ των μετρούμενων παραμέτρων, αλλά είτε στερούνταν φυσιολογικής σημασίας, είτε δεν υπήρχαν και στις τρεις μετρήσεις. Συμπερασματικά, εξάμηνος προπονητικός μακρόκυκλος επέφερε αλλαγές στους δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας και οξειδωτικού στρες στον οργανισμό των κολυμβητών. Από τις αλλαγές αυτές, η πτώση της συγκέντρωσης της GSSG και η αύξηση του λόγου GSH/GSSG υποδεικνύουν μετριασμό του οξειδωτικού στρες, ενώ η αύξηση των TBARS ως δείκτη οξειδωτικού στρες χαρακτηρίζεται ως μη ευνοϊκή αλλαγή. Ιδιαίτερη έρευνα απαιτείται για το μηχανισμό μείωσης της ολικής γλουταθειόνης, που οφείλεται στη μείωση της GSSG.

Εισαγωγή

Στις μέρες μας, η άθληση κατέχει εξέχουσα θέση αναφορικά με την προάσπιση της υγείας του ανθρώπου. Είναι γεγονός ότι η άσκηση βοηθά στην πρόληψη και θεραπεία διάφορων παθολογικών καταστάσεων. Ως απόρροια των παραπάνω, όλο και περισσότεροι άνθρωποι ασχολούνται με τον αθλητισμό. Η κολύμβηση αποτελεί ένα από τα πιο δημοφιλή αθλήματα λόγω των πολλαπλών ωφελειών που αποφέρει στην υγεία.

Η κολύμβηση είναι ένα άκρως απαιτητικό άθλημα, το οποίο επιβάλλει καθημερινή προπόνηση με υψηλή δυναμική επιβάρυνσης. Η επιβάρυνση φτάνει στα ανώτερα επίπεδα της σε έφηβους και ενήλικες αθλητές. Ως φυσική δραστηριότητα, η κολύμβηση ενεργοποιεί όλους τους μηχανισμούς παραγωγής ενέργειας, αυτός όμως που κυριαρχεί τόσο κατά τη διάρκεια αγώνων όσο κυρίως και κατά τη διάρκεια της προπόνησης είναι ο αερόβιος (Mougiotis, 2006).

Παρά τα γνωστά οφέλη της αερόβιας άσκησης στην υγεία, συμβαίνει κάτι παράδοξο. Η αερόβια άσκηση προκαλεί αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών, γεγονός που οδηγεί τον οργανισμό σε μια κατάσταση ανισορροπίας μεταξύ των οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών μηχανισμών υπέρ των πρώτων που αποκαλείται οξειδωτικό στρες. Παράλληλα, όμως, η τακτική άσκηση φαίνεται να βελτιώνει το αντιοξειδωτικό σύστημα του οργανισμού στην προσπάθειά του να προσαρμοστεί στο οξειδωτικό στρες (Møller et al., 1996).

Οι ελεύθερες ρίζες είναι χημικές ουσίες που περιέχουν ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια, παράγονται σε όλα τα ζώντα κύτταρα και είναι ικανές για ανεξάρτητη ύπαρξη. Οι περισσότερες ελεύθερες ρίζες που υπάρχουν *in vivo* είναι ή προέρχονται από δραστικά είδη οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS) ή δραστικά είδη αζώτου. Τα ROS περιλαμβάνουν ελεύθερες ρίζες βασισμένες στο οξυγόνο, όπως

του υπεροξειδίου ($O_2^{\bullet-}$), του υδροξυλίου (OH^{\bullet}), του αλκοξυλίου (RO^{\bullet}), του υπεροξιλίου (ROO^{\bullet}) και του υδροξυυπεροξιλίου ($ROOH^{\bullet}$). Άλλα ROS (π.χ. το υπεροξίδιο του υδρογόνου και τα υπεροξίδια των λιπιδίων) μπορούν να μετατραπούν σε ελεύθερες ρίζες μέσω μετάλλων μετάπτωσης που είναι είτε ελεύθερα στο κύτταρο ή δεσμευμένα σε πρωτεΐνες (Cooper et al., 2002).

Τα ROS συμμετέχουν σε ορισμένες χρήσιμες φυσιολογικές λειτουργίες, όπως στην αντίδραση του ανοσοποιητικού συστήματος του οργανισμού, στη ρύθμιση της μεταγραφής γονιδίων και στην ενεργοποίηση ενδοκυτταρικών σηματοδοτικών μονοπατιών (Vollaard et al., 2005). Όμως, υπερβολική και/ή παρατεταμένη αύξηση στην παραγωγή ROS έχει ενοχοποιηθεί για την παθογένεση του καρκίνου, του διαβήτη, της αθηροσκλήρωσης, νευροεκφυλιστικών παθήσεων, της ρευματοειδούς αρθρίτιδας και ισχαιμικών κακώσεων. Επιπλέον, οι ελεύθερες ρίζες έχουν ενοχοποιηθεί για το μηχανισμό της γήρανσης (Dröge, 2002). Σύμφωνα με το Niess (2005), ο πιο σημαντικός βιολογικά στόχος οξειδωτικής βλάβης είναι το DNA. Η βλάβη που προκαλείται στο DNA από το οξειδωτικό στρες θεωρείται και δυνητικός παθοφυσιολογικός παράγοντας για την ανάπτυξη καρκίνου. Με το οξειδωτικό στρες έχει αναφερθεί ότι σχετίζεται και η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (Abuja and Alebrtini, 2001).

Καθώς είναι αδύνατον να προληφθεί ολοκληρωτικά η παραγωγή ελευθέρων ριζών *in vivo*, έχει αναπτυχθεί ένας μεγάλος αριθμός αντιοξειδωτικών μηχανισμών στον οργανισμό (Cooper et al., 2002). Η γλουταθειόνη (GSH) εκπληρώνει αρκετούς ρόλους στο κυτταρικό αντιοξειδωτικό σύστημα άμυνας. Πρώτα, απευθείας «καθαρίζει» ένα εύρος ελευθέρων ριζών, προσφέροντας ένα άτομο υδρογόνου. Μια δεύτερη σημαντική αντιοξειδωτική λειτουργία της γλουταθειόνης είναι ότι «καθαρίζει» υδροϋπεροξίδια και λιποϋπεροξίδια μέσω μιας αντίδρασης που

καταλύεται από το ένζυμο υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (glutathione peroxidase, GPX). Σε αυτή την αντίδραση δύο μόρια γλουταθειόνης προσφέρουν ένα ζεύγος ατόμων υδρογόνου και οξειδώνονται για να σχηματίσουν την οξειδωμένη μορφή της γλουταθειόνης, τη δισουλφιδική γλουταθειόνη (GSSG). Ακόμη, η γλουταθειόνη έχει βρεθεί να εμπλέκεται στην αναγωγή ή «ανακύκλωση» αντιοξειδωτικών στο κύτταρο (Powers et al., 2004).

Άλλα αντιοξειδωτικά ένζυμα είναι η δισμουτάση του υπεροξειδίου (superoxide dismutase, SOD), η οποία λειτουργεί ως η άμεση αντιοξειδωτική άμυνα στις ελεύθερες ρίζες και πιο συγκεκριμένα στα υπεροξίδια (Urso and Clarkson, 2003), καταλύοντας την αντίδραση μετατροπής τους σε H_2O_2 και O_2 , και η καταλάση, που διασπά το H_2O_2 σε H_2O και O_2 (Niess, 2005). Στους μηχανισμούς αντιοξειδωτικής άμυνας περιλαμβάνονται και διατροφικά αντιοξειδωτικά, όπως η βιταμίνη C, η βιταμίνη E, τα καροτενοειδή, το α-λιποϊκό οξύ, το συνένζυμο Q_{10} και τα φλαβονοειδή (Packer, 1997, Powers, 2004). Επίσης, τα ιχνοστοιχεία χαλκός, ψευδάργυρος, σίδηρος, σελήνιο και μαγγάνιο εμπλέκονται σε αντιοξειδωτικές λειτουργίες ως συνεργιστικοί παράγοντες των αντιοξειδωτικών ενζύμων (Powers, 2004).

Αν και η οξεία επίδραση της άσκησης στους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς έχει μελετηθεί επαρκώς, δε συμβαίνει το ίδιο και για την μακρόχρονη επίδρασή της. Περιορισμένες είναι οι μελέτες στις οποίες μελετάται η προσαρμογή του αντιοξειδωτικού συστήματος του οργανισμού σε συστηματική μακρόχρονη άσκηση. Στη βάση των παραπάνω, παρουσιάζει ενδιαφέρον η μελέτη της επίδρασης μακρόχρονης συστηματικής άσκησης στον αντιοξειδωτικό μηχανισμό του οργανισμού και κατ' επέκταση στην υγεία των αθλητών.

Βιβλιογραφική ανασκόπηση

Δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας και οξειδωτικού στρες στο αίμα

Για τη μελέτη των επιπέδων αντιοξειδωτικής ικανότητας και οξειδωτικού στρες στον οργανισμό έχουν προταθεί και χρησιμοποιούνται συγκεκριμένοι δείκτες, οι οποίοι μπορούν να προσδιοριστούν μέσω αιμοληψίας σε δείγμα ολικού αίματος ή ορού. Η GSH χρησιμοποιείται ως δείκτης της αντιοξειδωτικής ικανότητας (Pastore et al., 2003), ενώ η GSSG ως δείκτης οξειδωτικού στρες (Abuja and Albertini, 2001). Έναν ακόμη δείκτη οξειδωτικού στρες αποτελούν οι ουσίες που αντιδρούν με θειοβαρβιτουρικό οξύ (thiobarbituric acid reactive substances, TBARS), από τις οποίες κυριότερη είναι η μηλονική διαλδεύδη (malondialdehyde, MDA), που αποτελεί παράγωγο της υπεροξείδωσης των λιπιδίων (Jenkins, 2000).

Ως δείκτης της αντιοξειδωτικής ικανότητας χρησιμοποιείται και η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (total antioxidant capacity, TAC), με την οποία μετράται η ικανότητα του ορού να ανθίσταται στο οξειδωτικό στρες. Επιπλέον, ως δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας χρησιμοποιούνται οι καταλυτικές συγκεντρώσεις των αντιοξειδωτικών ενζύμων, δηλαδή της καταλάσης, της GPX και της SOD (Urso and Clarkson, 2003).

Υπάρχουν και άλλοι δείκτες που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό του οξειδωτικού στρες και της αντιοξειδωτικής ικανότητας, σε μικρότερο όμως βαθμό. Έτσι, για τη μελέτη του οξειδωτικού στρες προσδιορίζονται τα συζυγή διένια, το υδροϋπεροξίδιο των λιπιδίων, τα F₂ ισοπροστάνια, τα πρωτεϊνικά καρβονύλια και το νουκλεοτίδιο 8-υδροξυ-2'-δεοξυγουανοσίνη. Για τη μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας προσδιορίζονται επίσης οι βιταμίνες A, C και E (Finaud et al., 2006a).

Σύμφωνα με τους Prior και Cao (1999), κανένας μεμονωμένος δείκτης της αντιοξειδωτικής ικανότητας και του οξειδωτικού στρες δεν είναι αρκετός. Αντίθετα

απαιτείται η μέτρηση αρκετών δεικτών, ώστε να προσδιοριστούν επαρκώς τα επίπεδα της αντιοξειδωτικής ικανότητας και του οξειδωτικού στρες.

Αυξημένη παραγωγή ROS κατά την άσκηση

Στη βιβλιογραφία υπάρχουν αρκετές αναφορές σχετικά με τους μηχανισμούς παραγωγής ROS που ενισχύονται κατά την άσκηση. Σύμφωνα με αυτές, τα ROS μπορούν να παραχθούν μέσω διαφορετικών κυτταρικών πηγών. Κάποιες πηγές μπορεί να είναι σημαντικότερες από άλλες σε κάποιο συγκεκριμένο όργανο, σε κάποια συγκεκριμένη στιγμή ή σε κάποιο συγκεκριμένο τύπο άσκησης. Παρόλα αυτά, αυτές οι πηγές δεν είναι αλληλοαποκλειόμενες και μπορούν να ενεργοποιηθούν ταυτόχρονα (Ji, 1999).

Ο μεταβολικός ρυθμός στους ασκούμενους σκελετικούς μύες αυξάνει μέχρι και 100 φορές σε σχέση με τα επίπεδα ηρεμίας, οδηγώντας έτσι σε μια αξιοσημείωτη αύξηση στην κατανάλωση οξυγόνου. Αυτή η αύξηση, αποτέλεσμα της αυξημένης ροής ηλεκτρονίων στην αναπνευστική αλυσίδα στα μιτοχόνδρια, έχει ως αποτέλεσμα τον αυξημένο σχηματισμό $O_2^{\bullet-}$ (Niess, 2005). Υπάρχουν ωστόσο δεδομένα που δείχνουν ότι η αυξημένη παραγωγή ROS κατά την άσκηση δεν έχει ως αποκλειστική ή κύρια πηγή την αναπνευστική αλυσίδα (Ji, 1999, Niess, 2005).

Μία άλλη πηγή αυξημένης παραγωγής ROS κατά την άσκηση είναι η οξείδωση της ξανθίνης. Σε ιδιαίτερες συνθήκες, όπως το μεταβολικό στρες που συμβαίνει στους μύες κατά την άσκηση, η αφυδρογονάση της ξανθίνης μπορεί να μετατραπεί σε οξείδωση της ξανθίνης, η οποία χρησιμοποιεί μοριακό οξυγόνο ως αποδέκτη ηλεκτρονίων και επομένως παράγει ROS (Hellsten et al., 1996b). Αναφέρεται πως η οξείδωση της ξανθίνης μπορεί να είναι πιο σημαντική πηγή ROS κατά την άσκηση σε σύγκριση με τα μιτοχόνδρια (Cooper et al., 2002). Επίσης, αυξημένη παραγωγή ROS

συμβαίνει κατά τη φλεγμονώδη αντίδραση που συνοδεύει την έντονη άσκηση, όπου και αυξάνεται ο αριθμός των ουδετερόφιλων και των μονοπύρηνων, από τα οποία ελευθερώνονται ROS (Ji, 1999, Knez et al., 2006). Επιπλέον, η καταστροφή μυϊκού ιστού που προκαλείται κατά την άσκηση έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση μυοσφαιρίνης από μυϊκές ίνες και αιμοσφαιρίνης από ερυθροκύτταρα, ευνοώντας την αποδέσμευση σιδήρου από αυτές τις πρωτεΐνες. Αυτή η διαδικασία ενισχύει την παραγωγή ROS (Cooper et al., 2002, Niess, 2005).

Οξεία επίδραση της άσκησης

Αρκετές έρευνες έχουν επικεντρώσει το ενδιαφέρον τους στην οξεία επίδραση της άσκησης στο οξειδωτικό στρες και στην αντιοξειδωτική ικανότητα. Αύξηση του οξειδωτικού στρες έχει βρεθεί μετά από υπομέγιστη άσκηση με αντιστάσεις (Ramel et al., 2004a), τρέξιμο διάρκειας 20 min (Özbay and Dülger, 2002), τρέξιμο απόστασης μισού μαραθωνίου (Child et al., 1998), ακραία άσκηση αντοχής (Mastaloudis et al., 2001), τεστ αυξανόμενης έντασης για τον προσδιορισμό της VO_{2max} (Jammes et al., 2004), άσκηση αυξανόμενης έντασης στο εργοποδήλατο (Koška et al., 2000) αλλά και το δαπεδοεργόμετρο (Sastre et al., 1992), αερόβια προσπάθεια μέχρι την εξάντληση (Alessio et al., 2000), ισομετρική άσκηση (Alessio et al., 2000), ποδηλασία 171 km (Aguiló et al., 2005), άσκηση ποδηλασίας μέχρι την εξάντληση και μέγιστες στατικές ασκήσεις (Steinberg et al., 2006). Σε έρευνα των Groussard και συν. (2003) βρέθηκε ότι σύντομη (30 s) υπερμέγιστη προσπάθεια αύξησε την παραγωγή ROS, όχι όμως και τις TBARS. Ακόμη, σε μελέτη των Ilhan και συν. (2004) το οξειδωτικό στρες αυξήθηκε περισσότερο μετά από συνδυασμένη αερόβια και αναερόβια άσκηση από ό,τι μετά από ασκήσεις μόνο αερόβιες ή μόνο αναερόβιες. Αντίθετα, σε έρευνα των Lee και συν. (2002), έκκεντρη άσκηση υψηλής έντασης δεν

επέφερε μεταβολές στο οξειδωτικό στρες. Επίσης, από τους Bloomer και συν. (2006) αναφέρεται πως ταχυδυναμικές ασκήσεις δεν προκαλούν αύξηση του οξειδωτικού στρες σε προπονημένους αθλητές. Από τους Margaritis και συν. (1997) μελετήθηκε η επίδραση ενός αγώνα τριάθλου σε πολύ προπονημένους αθλητές και βρέθηκε πως αυτός δεν προκάλεσε σημαντικές μεταβολές στις παραμέτρους του οξειδωτικού στρες. Από τους συγγραφείς δόθηκε η εξήγηση πως, εξαιτίας του υψηλού προπονητικού τους επιπέδου, οι αθλητές δεν παρουσίασαν υψηλότερο οξειδωτικό στρες μετά τον απαιτητικό αγώνα.

Όσον αφορά στην αντιοξειδωτική ικανότητα, παρουσίασε βελτίωση στις προαναφερθείσες μελέτες των Ramel και συν. (2004a) και Alessio και συν. (2000), καθώς και στη μελέτη των Inal και συν. (2001a), όπου προσδιορίστηκε ύστερα από μέγιστες κολυμβητικές προσπάθειες 100 και 800 m. Η εξήγηση που κυρίως δίνεται για αυτήν την αύξηση είναι ότι οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί ενισχύονται για να αντιμετωπίσουν το αυξημένο οξειδωτικό στρες. Αύξηση στη δραστικότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων βρέθηκε και στην έρευνα των Kořka και συν. (2000). Βέβαια στη μελέτη των Child και συν. (1998) αναφέρεται πως η αύξηση που παρατηρήθηκε στην ολική αντιοξειδωτική ικανότητα δεν ήταν αρκετή για να εμποδίσει την υπεροξείδωση των λιπιδίων. Αντίθετα, στη μελέτη των Mastaloudis και συν. (2001) παρουσιάστηκε μείωση στη συγκέντρωση των αντιοξειδωτικών. Αυτή ερμηνεύτηκε ως το αποτέλεσμα της χρησιμοποίησης των αντιοξειδωτικών μηχανισμών για την αντιμετώπιση του αυξημένου οξειδωτικού στρες.

Οι παράμετροι της αντιοξειδωτικής ικανότητας δεν έχουν πάντα όμοια συμπεριφορά μετά από άσκηση. Για παράδειγμα, στην έρευνα των Aguiló και συν. (2005) η καταλάση και η GPX αυξήθηκαν, ενώ η SOD δε μεταβλήθηκε. Στη μελέτη των Steinberg και συν. (2006), όπου η GSH και το ασκορβικό οξύ παρουσίασαν

μείωση τόσο μετά την άσκηση ποδηλασίας μέχρι την εξάντληση όσο και μετά από μέγιστης έντασης στατικές ασκήσεις, η TAC μειώθηκε μόνο μετά την πρώτη άσκηση. Επιπλέον, σε μελέτη των Tauler και συν. (2004) ασκήσεις μέγιστης και υπομέγιστης έντασης προκάλεσαν μείωση στη GPX, ενώ δεν επέφεραν μεταβολή στην καταλάση και τη SOD. Στη μελέτη των Groussard και συν. (2003) ακόμη, οι συγκεντρώσεις των GSH και SOD μειώθηκαν, ενώ της GPX δε μεταβλήθηκε σημαντικά.

Μεσοπρόθεσμη επίδραση της άσκησης

Περνώντας σε μελέτες που ερεύνησαν τη μεσοπρόθεσμη επίδραση της άσκησης στο οξειδωτικό στρες και στην αντιοξειδωτική ικανότητα, διαπιστώνεται πως υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα σχετικά με αθλητές για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Σε έρευνα των Schipfinger και συν. (2002) παρακολούθηθηκε μικρός αριθμός επαγγελματιών αθλητών (8) κατά τη διάρκεια μιας αγωνιστικής περιόδου πέντε μηνών. Το αρχικό δείγμα λήφθηκε σε κατάσταση ηρεμίας και τα υπόλοιπα τρία μετά από αγώνες, ανά ένα μήνα. Βρέθηκε πως η συνολική συγκέντρωση υπεροξειδίων αυξήθηκε κατά τη διάρκεια της περιόδου σε μεταγωνιστική κατάσταση. Αυτή η αύξηση οφειλόταν στους μισούς αθλητές, όπου παρουσιάστηκαν πολλαπλάσιες τιμές, ενώ στους υπόλοιπους δεν παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη μεταβολή. Επιπλέον, η μελέτη της αντιοξειδωτικής ικανότητας περιλάμβανε μόνο αποσπασματικές μετρήσεις αντιοξειδωτικών βιταμινών. Σε μελέτη των Dernbach και συν. (1993), από την άλλη πλευρά, βρέθηκε πως προπόνηση τεσσάρων εβδομάδων δεν επέφερε αύξηση στο οξειδωτικό στρες σε προπονημένους αθλητές. Έχει βρεθεί επίσης ότι υπερφορτωμένη προπόνηση διάρκειας ενός μήνα σε τριαθλητές δεν επέφερε σημαντικές μεταβολές στα επίπεδα οξειδωτικού στρες σε κατάσταση ηρεμίας, ενώ, όσον αφορά στους αντιοξειδωτικούς δείκτες, τα ευρήματα ήταν αντικρουόμενα, με τις συγκεντρώσεις της

GSH στο αίμα, της SOD στο πλάσμα και της GPX στο πλάσμα να παραμένουν αμετάβλητες, την TAC στο πλάσμα να μειώνεται και την GPX στο πλάσμα να αυξάνεται (Palazzeti et al., 2003). Στη μελέτη των Liu και συν. (2005) όμως, βρέθηκε πως μία εβδομάδα εντατικής προπόνησης με βάρη αύξησε τα επίπεδα οξειδωτικού στρες και μείωσε τα επίπεδα των αντιοξειδωτικών στον οργανισμό αθλητριών άρσης βαρών.

Όσον αφορά σε απροπόνητα άτομα, σε μελέτη των Elosua και συν. (2003) βρέθηκε ότι πρόγραμμα αερόβιας άσκησης 16 εβδομάδων αύξησε την αντιοξειδωτική ικανότητα στην ηρεμία και δε μετέβαλε την οξειδωτική ανταπόκριση του οργανισμού μετά από άσκηση. Ακόμη, βρέθηκε στη μελέτη των Hellsten και συν. (1996a) ότι διαλειμματική προπόνηση ταχύτητας ενισχύει την αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού. Ομοίως σε έρευνα των Miyazaki και συν. (2001) βρέθηκε πως εντατική προπόνηση αντοχής 12 εβδομάδων ενίσχυσε την αντιοξειδωτική άμυνα του οργανισμού και μείωσε τα επίπεδα του οξειδωτικού στρες μετά από άσκηση μέχρι την εξάντληση. Οι Evelo και συν. (1992) συμπέραναν πως η προπόνηση αντοχής, σε απροπόνητους, έχει σημαντικές επιδράσεις στους μηχανισμούς άμυνας που σχετίζονται με τη γλουταθειόνη στα ερυθροκύτταρα. Οι μεταβολές αυτές όμως αναιρέθηκαν μετά από δύο μέρες ξεκούρασης. Σε μελέτη των Ookowara και συν. (2003) βρέθηκε πως προπόνηση αντοχής (τρέξιμο ή κολύμβηση) τριών μηνών μείωσε την εξωκυτταρική SOD χωρίς να μεταβάλλει τα ισοένζυμα CuZn-SOD και Mn-SOD, την υπεροξείδωση των λιπιδίων, αλλά και την παραγωγή $O_2^{\bullet -}$ στα ουδετερόφιλα σε κατάσταση ηρεμίας, ενώ μετά τους τρεις μήνες και ύστερα από εξαντλητική άσκηση η εξωκυτταρική SOD, η Mn-SOD και η υπεροξείδωση λιπιδίων παρουσίασαν αύξηση τη στιγμή που η παραγωγή $O_2^{\bullet -}$ στα ουδετερόφιλα μειώθηκε. Επίσης, στην έρευνα των Özbay και Dülger (2002) άσκηση για πέντε εβδομάδες επέφερε αύξηση τόσο

στην MDA όσο και στις SOD και GPX. Καμία σημαντική μεταβολή δε βρέθηκε, από την άλλη πλευρά, στην αντιοξειδωτική ικανότητα ανδρών και γυναικών μετά από 8 εβδομάδες αερόβιας άσκησης (35 min, 3 φορές την εβδομάδα) σε έρευνα των Tiidus και συν. (1996).

Σε πρόσφατη ανασκόπηση των Finaud και συν. (2006a) αναφέρεται ότι τόσο η αερόβια όσο και η αναερόβια προπόνηση οδηγούν σε μείωση του οξειδωτικού στρες, γεγονός που αποδίδεται στην ενίσχυση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών. Βέβαια για να επιτευχθεί αυτό θα πρέπει, σύμφωνα με τους συγγραφείς, η προπόνηση να έχει διάρκεια και ένταση ικανές να προκαλέσουν αυτές τις προσαρμογές, ενώ επιπλέον αναφέρεται ότι οι προσαρμογές είναι μεγαλύτερες στα λιγότερα προπονημένα άτομα.

Διαφορές προπονημένων και απροπόνητων

Σχετικά με τις πιθανές διαφορές προπονημένων και μη προπονημένων ατόμων ή, διαφορετικά, αθλητών και μη αθλητών, σε μελέτη των Ramel και συν. (2004b), όπου συγκρίθηκαν άτομα προπονημένα με βάρη και μη προπονημένα άτομα, βρέθηκε ότι δε διέφερε η αντιοξειδωτική τους ικανότητα στην ηρεμία, αλλά κατά τη διάρκεια άσκησης οι προπονημένοι ήταν εν μέρει καλύτερα προστατευμένοι από το οξειδωτικό στρες. Σε έρευνες των Brites και συν. (1999) και Cazzola και συν. (2003) βρέθηκε επιπλέον πως ποδοσφαιριστές είχαν συνολικά καλύτερα επίπεδα αντιοξειδωτικής ικανότητας στην ηρεμία από ομάδες ελέγχου, όπως επίσης και παίκτες του ράγκμπι από μη αθλητές (Evelson et al., 2002). Επίσης έχει βρεθεί ότι ποδηλάτες υψηλού επιπέδου παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικών ενζύμων από ερασιτέχνες και από μη αθλητές, με τη διαφορά αυτή να αποδίδεται στην εντατικότερη προπόνηση αντοχής που ακολουθούσαν (Mena et al., 1991). Σε μελέτη των Watson και συν. (2005) βρέθηκε ακόμη πως αθλητές διάφορων αγωνισμάτων

στίβου είχαν υψηλότερες συγκεντρώσεις α-τοκοφερόλης και β-καροτενίου στο πλάσμα από μη αθλητές, χωρίς να έχουν διαφορετικές προσλήψεις, χωρίς όμως διαφορές σε άλλους αντιοξειδωτικούς δείκτες, όπως αντιοξειδωτικά ένζυμα και TAC. Από την άλλη πλευρά όμως, σε μελέτη των Balakrishnan και Anuradha (1998) βρέθηκε ότι αθλητές είχαν υψηλότερες συγκεντρώσεις TBARS και χαμηλότερες συγκεντρώσεις γλουταθειόνης, παρά το γεγονός ότι είχαν υψηλότερες συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικών ενζύμων από μη αθλητές. Σε μελέτη των Pittaluga και συν. (2006) βρέθηκε ακόμη πως αθλητές δεν παρουσίασαν διαφορά στην αντιοξειδωτική ικανότητα σε σχέση με μη αθλητές, παρουσίασαν όμως αυξημένο οξειδωτικό στρες στην ηρεμία.

Επίδραση της διατροφής

Αρκετές έρευνες έχουν επικεντρωθεί στην επίδραση διατροφικών χειρισμών στην αντιοξειδωτική ικανότητα αλλά και τη σχέση του οξειδωτικού στρες με την πρόσληψη διατροφικών στοιχείων. Ερευνητικό ενδιαφέρον έχει συγκεντρώσει η επίδραση αντιοξειδωτικών συμπληρωμάτων διατροφής (βιταμινών A, C, E, σεληνίου, α-λιποϊκού οξέος, συνενζύμου Q, N-ακετυλο-κυστεΐνης κ.ά.) στην αντιοξειδωτική ικανότητα αθλούμενων και αθλητών σε ηρεμία ή μετά από άσκηση. Έχει βρεθεί λοιπόν ότι αγωγή με κάποιο από τα παραπάνω αντιοξειδωτικά ή με συνδυασμό κάποιων από αυτά, είτε βελτίωσε επί μέρους δείκτες της αντιοξειδωτικής άμυνας του οργανισμού ή ακόμη και τη γενικότερη εικόνα της, ή μείωσε παραμέτρους του οξειδωτικού στρες (Goldfarb et al., 2005, Hartmann et al., 1995, Margaritis et al., 2003, Palazzetti et al., 2004). Σε έρευνα των Rousseau και συν. (2004), όπου δεν υπήρξε διατροφική παρέμβαση, παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ της πρόσληψης καροτενοειδών και των TBARS σε άνδρες αθλητές, δείχνοντας τον

πιθανό ρόλο των διατροφικών αυτών στοιχείων στην αντιμετώπιση του οξειδωτικού στρες στους αθλητές. Βέβαια, υπάρχουν και μελέτες που δε βρήκαν βελτίωση στην αντιοξειδωτική ικανότητα μετά από χορήγηση αντιοξειδωτικών (Davison et al., 2005). Σε ανασκόπηση σχετική με το ρόλο της βιταμίνης C αναφέρεται πως, αν και τα αποτελέσματα σχετικών ερευνών είναι αντικρουόμενα, η βιταμίνη C φαίνεται να περιορίζει το οξειδωτικό στρες (Peake, 2003). Αναλόγως, σε ανασκόπηση σχετική με το ρόλο της βιταμίνης E, αναφέρεται πως, αν και υπάρχουν σοβαρές ενδείξεις για την αντιοξειδωτική δράση της βιταμίνης E, αποτελέσματα ερευνών που μελέτησαν την επίδρασή της παραμένουν αντικρουόμενα (Sacheck and Blumberg, 2001). Επίσης, από τις Clarkson και Thompson (2000) αναφέρεται ότι τα αντιοξειδωτικά συμπληρώματα φαίνεται να περιορίζουν το οξειδωτικό στρες σε αθλούμενους, αλλά χρειάζεται περισσότερη έρευνα για να προσδιοριστεί επαρκώς η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια της χρήσης τους. Ανάλογη αναφορά γίνεται και από τον Kanter (1998). Γενικότερα, όσον αφορά τη διατροφική παρέμβαση με αντιοξειδωτικά, αν και υποστηρίζεται ότι το πιθανότερο είναι να μειώνει το οξειδωτικό στρες (Packer, 1997, Powers et al., 2004, Sen, 2001), υπογραμμίζεται ότι δε φαίνεται ικανή να προλάβει την αύξηση των τιμών των παραμέτρων του οξειδωτικού στρες (Powers et al., 2004). Από τους Margaritis και συν. (2003) σημειώνεται ότι η διατήρηση καλής διατροφικής κατάστασης, όσον αφορά στις προσλήψεις αντιοξειδωτικών, παίζει σημαντικό ρόλο στις αντιοξειδωτικές προσαρμογές κατά τη διάρκεια της προπόνησης.

Όσον αφορά σε άλλους διατροφικούς χειρισμούς, σε μελέτη των Rankin και συν. (2006) βρέθηκε ότι σύντομος περιορισμός της προσλαμβανόμενης ενέργειας επέφερε βελτίωση της αντιοξειδωτικής ικανότητας σε προπονημένους αθλητές, είχε όμως και αρνητικά αποτελέσματα στην απόδοση. Ακόμη, σε έρευνα των Svensson

και συν. (2002), δε βρέθηκε επίδραση του ποσοστού προσλαμβανόμενων υδατανθράκων στη διακύμανση της GSH.

Επίδραση άλλων παραγόντων

Έχουν μελετηθεί από ερευνητές και άλλοι πιθανοί παράγοντες που μπορεί να επηρεάζουν το οξειδωτικό στρες και την αντιοξειδωτική ικανότητα σε αθλητικούς πληθυσμούς. Έτσι, έχει αναφερθεί ότι και ο τύπος προπόνησης μπορεί να προκαλέσει διαφορετικές προσαρμογές στην αντιοξειδωτική ικανότητα. Στη μελέτη των Koury και συν. (2004) βρέθηκε ότι τριαθλητές και δρομείς μεγάλων αποστάσεων είχαν καλύτερη αντιοξειδωτική άμυνα από κολυμβητές μικρών αποστάσεων, ενώ ακόμη και δρομείς μικρών αποστάσεων παρουσίασαν καλύτερη εικόνα στην αντιοξειδωτική άμυνα από τους κολυμβητές μικρών αποστάσεων. Επίσης, και τα ευρήματα μελέτης των Dékány και συν. (2006) έδειξαν πως οι μεταβολές των ενζυμικών αντιοξειδωτικών μηχανισμών αθλητών εξαρτώνται από το είδος του αθλήματος.

Επιπλέον, και το περιβάλλον της άσκησης μπορεί να επηρεάσει την αντιοξειδωτική ικανότητα των αθλουμένων. Οι Siems και συν. (1999) απέδωσαν την ενισχυμένη αντιοξειδωτική άμυνα που παρατήρησαν σε χειμερινούς κολυμβητές στην προσαρμογή του οργανισμού στο επαναλαμβανόμενο οξειδωτικό στρες που προκαλείται από την κολύμβηση σε κρύο νερό. Επίσης, υπάρχει και μία μεμονωμένη αναφορά που υποστηρίζει ότι έκθεση σε κλειστές χλωριωμένες πισίνες συνδέεται με παραγωγή ROS σε κολυμβητές (Varraso et al., 2002).

Ακόμη και ο τύπος των μυϊκών ινών έχει βρεθεί να επηρεάζει τη διακύμανση της GSH μετά από άσκηση, με ασκούμενος που έχουν μεγαλύτερο ποσοστό μυϊκών ινών βραδείας συστολής να παρουσιάζουν μεγαλύτερη μείωση στη συγκέντρωσή της στο μυϊκό ιστό και τους ερευνητές να συμπεραίνουν πως άτομα χαμηλής φυσικής

κατάστασης και με σχετικά μεγαλύτερο ποσοστό μυϊκών ινών βραδείας συστολής δεν έχουν την ίδια ικανότητα διατήρησης της συγκέντρωσης της GSH από προπονημένα άτομα και από άτομα με σχετικά μεγαλύτερο ποσοστό μυϊκών ινών ταχείας συστολής (Svensson et al., 2002).

Φλεγμονή, ανοσοποιητικό σύστημα και οξειδωτικό στρες

Η φλεγμονή επηρεάζει το ανοσοποιητικό σύστημα και μπορεί να προέλθει από ασκησιογενείς μεταβολές και βλάβες ιστών. Είναι γεγονός ότι έντονη άσκηση έχει ως αποτέλεσμα αυξήσεις των αριθμών ουδετερόφιλων και μονοπύρηνων, οι οποίες με τη σειρά τους προκαλούν οξειδωτικό στρες. Επομένως, σειρά προπονητικών και/ή αγωνιστικών συνεδριών μπορεί να επιφέρουν ενισχυμένη φλεγμονώδη αντίδραση στον οργανισμό, η οποία συνοδεύεται από κυτταρική βλάβη και μεταβολή στην αντιοξειδωτική ικανότητα, όπως παρατηρείται σε καταστάσεις οξειδωτικού στρες (Finaud et al., 2006b). Από την άλλη πλευρά, η παραγωγή ROS κατά την άσκηση μπορεί να αποτελέσει ανασταλτικό παράγοντα για τις λειτουργίες του ανοσοποιητικού συστήματος. Τα ROS φθείρουν τη λειτουργία των ουδετερόφιλων και μονοπύρηνων αναστέλλοντας μικροβιολογικές λειτουργίες μέσω της απενεργοποίησης οξειδωτικών ενζύμων. Τα ουδετερόφιλα είναι φαγοκύτταρα και αποτελούν μια από τις πρώτες γραμμές άμυνας του ενδογενούς ανοσοποιητικού συστήματος. Η ασκησιογενής πτώση που παρατηρείται στη δραστηριότητα των φαγοκυττάρων μπορεί να προκαλείται, τουλάχιστον εν μέρει, από το αυξημένο οξειδωτικό στρες στα κύτταρα αυτά (Robson et al., 2003).

Επίδραση οξειδωτικού στρες στην απόδοση

Αν και από πολλούς γίνεται η υπόθεση ότι το οξειδωτικό στρες έχει αρνητική επίδραση στην αθλητική απόδοση, αυτό ερευνητικά δεν έχει στηριχθεί επαρκώς. Κύρια ένδειξη κατά αυτής της υπόθεσης αποτελεί το ότι, από τη στιγμή που το οξειδωτικό στρες επιδρά αρνητικά στην απόδοση, η αγωγή με συμπληρώματα αντιοξειδωτικών, εκτός από την ενίσχυση της αντιοξειδωτικής άμυνας, θα έπρεπε να έχει και εργογόνο δράση, κάτι όμως που δεν έχει βρεθεί σε αντίστοιχες μελέτες (Cooper et al., 2002, Powers et al., 2004, Vollaard et al., 2005). Υπάρχουν όμως και αναφορές που συνδέουν την παραγωγή ROS με τη μυϊκή κόπωση και τη δυσκολία μυϊκής συστολής (Finaud et al., 2006a, Vollaard et al., 2005).

Οξειδωτικό στρες στο φορμάρισμα

Οι αθλητές υψηλού επιπέδου βρίσκονται κάτω από την πίεση του να διατηρήσουν ένα υψηλό επίπεδο απόδοσης για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Παρόλα αυτά, σε ατομικά αθλήματα η βέλτιστη απόδοση απαιτείται μόνο σε περιορισμένο αριθμό αγώνων-στόχων. Η μείωση της δυναμικής της προπονητικής επιβάρυνσης (φορμάρισμα) πριν από τους αγώνες-στόχους έχει προταθεί ως ένας αποτελεσματικός τρόπος βελτίωσης της απόδοσης, με την προϋπόθεση ότι έχει προηγηθεί περίοδος προπόνησης με υψηλή δυναμική επιβάρυνσης (Banister et al., 2002, Costill et al., 1985, Kubukeli et al., 2002, Zarkadas et al., 1995). Μέχρι σήμερα, έχουν μελετηθεί πολλές στρατηγικές φορμαρίσματος, με αρκετές από αυτές να αποδεικνύονται, σε εργαστηριακές συνθήκες, ευεργετικές για την απόδοση (Banister et al., 2002, Costill et al., 1985, Houmard et al., 1994, Margaritis et al., 2003, Mujica et al., 1996, Zarkadas et al., 1995). Επιπλέον, υπάρχουν ερευνητικά δεδομένα που υποδεικνύουν την ιδανική μείωση της συχνότητας, του όγκου, και της έντασης της προπόνησης

κατά τη διάρκεια του φορμαρίσματος, καθώς επίσης και την ευνοϊκότερη διάρκεια φορμαρίσματος (Mujica and Padilla, 2003). Αντίθετα, δεν έχουν αποσαφηνιστεί οι μηχανισμοί βελτίωσης της απόδοσης με το φορμάρισμα. Πιθανοί μηχανισμοί είναι η πλήρωση των αποθηκών γλυκογόνου (Neary et al., 1992, Riggs et al., 1983, Sherpley et al., 1992), μεταβολές σε αιματολογικές παραμέτρους (Mujica et al., 2000), νευρομυϊκές μεταβολές (Costill et al., 1985, Trappe et al., 2001) και ψυχολογικές μεταβολές (Hooper et al., 1999, Mujica et al., 2004).

Πρόσφατα, προτάθηκε ότι η βελτίωση των αντιοξειδωτικών μηχανισμών του οργανισμού ή η μείωση της οξειδωτικής βλάβης που προκλήθηκε από την προπόνηση με υψηλή δυναμική επιβάρυνσης, μπορεί να συμβάλλουν στη βελτίωση της απόδοσης με το φορμάρισμα (Child et al., 2000, Margaritis et al., 2003). Παρόλο που υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα σχετικά με την επίδραση των οξειδωτικών αλλαγών στην απόδοση, είναι υπαρκτό το ενδεχόμενο η οξειδωτική βλάβη που προκαλείται από προπόνηση με υψηλή δυναμική επιβάρυνσης και/ή η βλάβη που προκαλείται κατά τη διάρκεια της άσκησης να επηρεάζουν την απόδοση. Αν συμβαίνει κάτι τέτοιο, υπάρχουν δύο εφαρμογές για τους αθλητές που προσπαθούν να βελτιστοποιήσουν την απόδοσή τους. Πρώτον, φαίνεται αναπόφευκτη η εμφάνιση σοβαρού οξειδωτικού στρες κατά τη διάρκεια της άσκησης. Το γεγονός αυτό δε πρέπει να εμποδίζει τους αθλητές να πραγματοποιούν προπόνηση με υψηλή δυναμική επιβάρυνσης (η οποία είναι απαραίτητη για τη βελτίωση των φυσικών τους ικανοτήτων). Όμως, θα πρέπει να μειωθεί το προαγωνιστικό οξειδωτικό στρες για να αποφευχθεί πιθανή φθοροποιός δράση του στην απόδοση. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με την πραγματοποίηση περιόδου φορμαρίσματος, κατά την οποία γίνεται η απαραίτητη αποκατάσταση του οργανισμού από την οξειδωτική βλάβη. Δεύτερον, το οξειδωτικό στρες που δημιουργείται κατά τη διάρκεια του αγώνα μπορεί από μόνο του να επηρεάσει

αρνητικά την απόδοση, ακόμα και αν δεν υπάρχει οξειδωτικό στρες κατά το ξεκίνημα της άσκησης. Αν όντως είναι έτσι, το φορμάρισμα μπορεί να αποδειχθεί ευεργετικό, καθώς επιτρέπει στον οργανισμό να επαναφέρει σε φυσιολογικά επίπεδα τον αντιοξειδωτικό του μηχανισμό πριν από τον αγώνα, ώστε να μειωθεί η βλάβη που θα προκαλέσουν οι ασκησιογενείς ελεύθερες ρίζες. Συμπερασματικά, το φορμάρισμα μπορεί να αποδειχθεί ευεργετικό για την απόδοση μέσω της μείωσης της οξειδωτικής βλάβης στον οργανισμό (Vollaard et al., 2006).

Μέχρι σήμερα, μόνο τρεις μελέτες έχουν εξετάσει δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας και οξειδωτικού στρες κατά το φορμάρισμα. Στην πιο πρόσφατη, οι Vollaard και συν. (2006) εξέτασαν την επίδραση επταήμερου φορμαρίσματος σε δείκτες της αντιοξειδωτικής ικανότητας και του οξειδωτικού στρες. Συγκεκριμένα, 10 τριαθλητές υποβλήθηκαν σε προπόνηση με μέτρια δυναμική επιβάρυνσης για 2 εβδομάδες και εν συνεχεία πραγματοποίησαν μία εβδομάδα με υψηλή δυναμική επιβάρυνσης. Κατόπιν, πραγματοποίησαν στρατηγική φορμαρίσματος, με τη δυναμική της επιβάρυνσης να μειώνεται κατά 60% σε σύγκριση με την προηγούμενη εβδομάδα. Δεν παρατηρήθηκε μεταβολή στους δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας και οξειδωτικού στρες, παρόλο που η απόδοση στο κυκλοεργόμετρο αυξήθηκε κατά 5% μετά το φορμάρισμα. Σε ανάλογα συμπεράσματα κατέληξαν και οι Child και συν. (2000), καθώς μετά από φορμάρισμα διάρκειας επτά ημερών, στο οποίο υπήρξε μείωση της δυναμικής της επιβάρυνσης κατά 85%, δε βρέθηκε μεταβολή στους δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας και οξειδωτικού στρες. Ωστόσο, στη μελέτη αυτή, η προπόνηση ελέγχθηκε μόνο μία εβδομάδα πριν από το φορμάρισμα. Εκτός αυτού, το πρωτόκολλο του φορμαρίσματος απέτυχε να βελτιώσει την απόδοση σε ημιμαραθώνιο. Ενδεχομένως η δυναμική της επιβάρυνσης κατά τις εβδομάδες πριν από το φορμάρισμα να ήταν ανεπαρκής για να έχει το φορμάρισμα ευεργετικές

συνέπειες στην απόδοση και στην αντιοξειδωτική ικανότητα. Αντιθέτως, σε έρευνα των Margaritis και συν. (2003), τέσσερις εβδομάδες εντατικής προπόνησης ακολουθούμενες από δύο εβδομάδες φορμαρίσματος με μείωση της δυναμικής της επιβάρυνσης κατά 32% βελτίωσαν την αντιοξειδωτική ικανότητα τριαθλητών. Παρόλο που στη μελέτη αυτή η μείωση της δυναμικής της επιβάρυνσης κατά το φορμάρισμα ήταν μικρότερη από αυτή που συνήθως συνιστάται, η απόδοση στο διάθλο βελτιώθηκε σημαντικά.

Στη βάση των παραπάνω στοιχείων, είναι εμφανές ότι υπάρχει σημαντική έλλειψη ερευνών σχετικών με την επίδραση της εντατικής προπόνησης και/ή του φορμαρίσματος στους δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας και οξειδωτικού στρες σε αθλητές. Επιπροσθέτως, υπάρχει παντελής έλλειψη αναφορών για την επίδραση εντατικής κολυμβητικής προπόνησης στους δείκτες αυτούς.

Σκοπός της έρευνας

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να εξετάσει τις μεταβολές σε δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας και οξειδωτικού στρες σε κολυμβητές κατά τη διάρκεια εξάμηνου προπονητικού μακρόκυκλου που περιλάμβανε διαφορετικές φάσεις προπόνησης με μεταβολές στη δυναμική της επιβάρυνσης. Επιπροσθέτως, σκοπός της μελέτης ήταν να εξετασθούν πιθανές συσχετίσεις των παραμέτρων της αντιοξειδωτικής ικανότητας και του οξειδωτικού στρες με μια σειρά αιματολογικών, βιοχημικών και διατροφικών παραμέτρων.

Σημασία της έρευνας

Η σημασία της έρευνας έγκειται στο γεγονός ότι απουσιάζουν από την βιβλιογραφία έρευνες, στις οποίες γίνεται παρακολούθηση αθλητών κατά τη διάρκεια ενός κύκλου προπόνησης. Με τη διεξαγωγή της έρευνας, εξετάσαμε πώς διακυμαίνονται οι δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας και οξειδωτικού στρες σε αθλητές καθώς εναλλάσσονται τα στοιχεία της επιβάρυνσης. Η εξέταση των δεικτών αυτών, σε συνδυασμό με την παρακολούθηση του αιματολογικού, βιοχημικού, και διατροφικού προφίλ των κολυμβητών, μας έδωσε τη δυνατότητα να έχουμε πλήρη εικόνα των προσαρμογών που υφίστανται οι αθλητές σε κάθε προπονητική φάση. Αυτή η ολοκληρωμένη εξέταση μπορεί να μας επιτρέψει να προτείνουμε μηχανισμούς, οι οποίοι ευθύνονται για τις ανταποκρίσεις του οργανισμού στη συστηματική άσκηση.

Μεθοδολογία

Δείγμα

Στη μελέτη έλαβαν μέρος 18 άρρενες κολυμβητές ηλικίας $18,2 \pm 1,3$ ετών (μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση) και οι οποίοι πραγματοποιούσαν τουλάχιστον έξι προπονητικές μονάδες την εβδομάδα και είχαν επιτύχει τα όρια για τη συμμετοχή στο Πανελλήνιο Πρωτάθλημα. Καπνιστές δε συμπεριλήφθηκαν στην έρευνα, ενώ συστήθηκε στους αθλητές να μη λάβουν κανένα συμπλήρωμα διατροφής. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις οδηγίες του Κώδικα Δεοντολογίας Ερευνών του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης.

Σχεδιασμός

Οι κολυμβητές έδωσαν τρία δείγματα αίματος σε κατάσταση ηρεμίας: ένα στην αρχή της προετοιμασίας, ένα κατά την περίοδο προπόνησης με υψηλή δυναμική επιβάρυνσης (16 εβδομάδες μετά την πρώτη αιμοληψία) και ένα τέσσερις εβδομάδες αργότερα, κατά την ολοκλήρωση του φορμαρίσματος για τη συμμετοχή τους στον αγώνα-στόχο (Πανελλήνιο Πρωτάθλημα). Για την αποφυγή πιθανής επίδρασης της τελευταίας προπονητικής μονάδας στον οργανισμό των αθλητών, μεσολαβούσε διάστημα 48 ωρών μεταξύ της τελευταίας προπόνησης και της αιμοληψίας. Αντίστοιχα με κάθε αιμοληψία πραγματοποιήθηκε από τους εξεταζόμενους τριήμερη καταγραφή διατροφής και λήψης συμπληρωμάτων σε ειδικά έντυπα. Η καταγραφή αφορούσε δύο καθημερινές μέρες και μία από το Σαββατοκύριακο, που προηγούνταν της αιμοληψίας. Για τη συμπλήρωση των εντύπων διατροφής δόθηκαν αναλυτικές οδηγίες στους αθλητές προκειμένου να εξασφαλιστεί η κατά το δυνατόν ακριβέστερη καταγραφή της διατροφής τους (υπόδειγμα του εντύπου στο παράρτημα Α). Επιπροσθέτως, σε ειδικές φόρμες καταγράφηκε από τους προπονητές των αθλητών

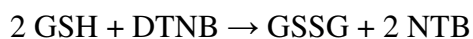
ποσοτικά και ποιοτικά τόσο η κολυμβητική (σύμφωνα με τον Maglisch, 2003) όσο και η ξηρή (σύμφωνα με τον Olbrecht, 2000) προπόνηση των κολυμβητών κατά τη διάρκεια της μελέτης (υπόδειγμα του εντύπου στο παράρτημα Β). Σε κάθε αιμοληψία πραγματοποιήθηκαν σωματομετρήσεις.

Χειρισμός δειγμάτων αίματος

Κατά τις αιμοληψίες λάβαμε συνολικά 8,5 mL φλεβικού αίματος από φλέβα του βραχίονα. Από αυτά, τα 2 mL τοποθετήθηκαν σε δοκιμαστικό σωλήνα με αντιπηκτικό (EDTA) για τη μέτρηση των αιματολογικών παραμέτρων. Από τα υπόλοιπα, αναμίξαμε 1,5 mL με ίση ποσότητα διαλύματος τριχλωροξικού οξέος (TCA) 5% (w/v) και φυγοκεντρήσαμε το μίγμα που προέκυψε στα 4000 g για 20 min στους 5°C. Μοιράσαμε το υπερκείμενο υγρό σε δύο φιαλίδια erpendorf και, στο καθένα, προσθέσαμε ποσότητα διαλύματος TCA ίση με το 30% του υπερκειμένου που περιείχε το φιαλίδιο. Φυγοκεντρήσαμε στα 28620 g για 5 min στους 5°C, μεταφέραμε το υπερκείμενο που προέκυψε σε καθαρά φιαλίδια erpendorf και το αποθηκεύσαμε στους -80°C για να το χρησιμοποιήσουμε για τους προσδιορισμούς της GSH και της GSSG. Τα υπόλοιπα 5 mL αίματος αφέθηκαν να πήξουν και φυγοκεντρήθηκαν στα 1500 g για 5 min. Ο ορός που προέκυψε μοιράστηκε σε τέσσερα μέρη και αποθηκεύθηκε στους -80°C για τους προσδιορισμούς των TAC, καταλάσης, TBARS, σιδήρου, ολικής σιδηροδεσμευτικής ικανότητας (TIBC), φερριτίνης, κρεατινικής κινάσης (CK), κορτιζόλης και τεστοστερόνης.

Προσδιορισμός GSH

Ο προσδιορισμός της GSH έγινε σύμφωνα με τους Reddy και συν. (2004). Η σουλφυδρυλομάδα (-SH) της GSH αντιδρά με το 5,5'-διθειοδισ(2-νιτροβενζοϊκό οξύ) (DTNB) και δίνει το έγχρωμο προϊόν 2-νιτρο-5-θειοβενζοϊκό οξύ (NTB) σύμφωνα με την αντίδραση:



Το NTB απορροφά στα 412 nm και η απορρόφηση είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της GSH.

Για την εκτέλεση του προσδιορισμού αναμίξαμε σε φιαλίδιο erpendorf 20 μL από το υπερκείμενο που είχε προκύψει από την επεξεργασία των αιμολυμάτων, με 660 μL ρυθμιστικού διαλύματος $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 67 mmol/L και pH 7,95 και με 330 μL διαλύματος DTNB 1 mmol/L σε διάλυμα κιτρικού νατρίου 1% (w/v). Για την παρασκευή του τυφλού, αντικαταστήσαμε το υπερκείμενο με νερό. Κάθε δείγμα προσδιορίστηκε εις διπλούν. Μετά από καλή ανακίνηση και επώαση για 15 min σε θερμοκρασία δωματίου στο σκοτάδι, μετρήσαμε την απορρόφηση των μιγμάτων στα 412 nm. Για κάθε δείγμα υπολογίσαμε το μέσο όρο των δύο απορροφήσεων που βρήκαμε και στη συνέχεια υπολογίσαμε τη συγκέντρωση C της GSH σε $\mu\text{mol/L}$ σύμφωνα με τον τύπο:

$$C = (A_{\text{δείγματος}} - A_{\text{τυφλού}}) / 13,6 \times 131,3 \times 1000$$

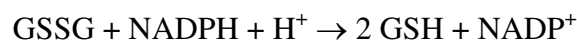
όπου:

- $A_{\text{δείγματος}}$ και $A_{\text{τυφλού}}$ οι απορροφήσεις του δείγματος και του τυφλού αντίστοιχα,
- 13,6 ο συντελεστής γραμμομοριακής απορροφητικότητας του NTB σε L/mmol/cm,

- 131,3 ο συντελεστής αραίωσης που προκύπτει από τη διαίρεση του τελικού όγκου (1010 μL) προς τον όγκο του αιμολύματος (20 μL), από τον πολλαπλασιασμό επί 2, ώστε να ληφθεί υπόψη η αρχική αραίωση του αιμολύματος με το διάλυμα TCA, και από τον πολλαπλασιασμό επί 1,3, ώστε να ληφθεί υπόψη η δεύτερη αραίωση με το διάλυμα TCA, και
- 1000 ο συντελεστής μετατροπής των mmol/L σε $\mu\text{mol/L}$.

Προσδιορισμός GSSG

Ο προσδιορισμός της GSSG έγινε σύμφωνα με τον Tietze (1969). Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, η GSSG ανάγεται σε GSH χρησιμοποιώντας την αναγωγική ισχύ του NADPH και το ένζυμο αναγωγάση της γλουταθειόνης σύμφωνα με την αντίδραση:



Η συγκέντρωση της GSH που προκύπτει προσδιορίζεται με βάση την αρχή που περιγράφεται στην προηγούμενη ενότητα, αφού πρώτα η υπάρχουσα GSH δεσμευθεί από 2-βινυλοπυριδίνη.

Για την εκτέλεση του προσδιορισμού προσθέσαμε στο υπερκείμενο που είχε προκύψει από την επεξεργασία των αιμολυμάτων κατάλληλη ποσότητα διαλύματος NaOH 1 mmol/L , ώστε το διάλυμα που θα προέκυπτε να έχει pH 7,0-7,5 (το pH μετρούνταν με τη βοήθεια πεχαμετρικού χαρτιού). Στη συνέχεια προσθέσαμε ποσότητα 2-βινυλοπυριδίνης ίση με το 1,54% του όγκου του αιμολύματος που διαθέταμε και αφήσαμε τα δείγματα για 2 h. Στη συνέχεια αναμίξαμε: α) 600 μL ρυθμιστικού διαλύματος $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 143 mmol/L , 6,3 mmol/L EDTA, pH 7,5, β) 100 μL διαλύματος NADPH 3 mmol/L , γ) 100 μL διαλύματος DTNB 10 mmol/L , δ) 194 μL αποσταγμένου νερού, και ε) 5 μL αιμολύματος. Για την

παρασκευή του τυφλού αντικαταστήσαμε το αιμόλυμα με νερό. Για την παρασκευή του προτύπου αντικαταστήσαμε τα 194 μL αποσταγμένου νερού και 5 μL αιμόλυματος με 124 μL αποσταγμένου νερού και 75 μL διαλύματος GSSG 10 $\mu\text{mol/L}$. Αφού αναδεύσαμε, αφήσαμε τα δείγματα για 10 min σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια προσθέσαμε 1 μL εναιωρήματος αναγωγάσης της γλουταθειόνης, ανακινήσαμε έντονα και μετρήσαμε την απορρόφηση στα 412 nm δύο φορές με διαφορά 1 min. Κάθε δείγμα το μετρήσαμε εις τριπλούν. Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης C της GSSG σε $\mu\text{mol/L}$ έγινε σύμφωνα με το τύπο:

$$C = (\Delta A_{\text{δειγμ}} - \Delta A_{\text{τυφλ}}) / (\Delta A_{\text{προτ}} - \Delta A_{\text{τυφλ}}) \times 2 \times (O_{\text{τελ}} + \alpha + \beta) / O_{\text{αρχ}} \times 150$$

όπου:

- $\Delta A_{\text{δειγμ}}$, $\Delta A_{\text{τυφλ}}$, $\Delta A_{\text{προτ}}$, ο μέσος όρος των μεταβολών των απορροφήσεων των δειγμάτων, του τυφλού και του προτύπου αντίστοιχα σε 1 min,
- 2 ο συντελεστής της αρχικής αραίωσης των αιμολυμάτων με διάλυμα TCA,
- $O_{\text{αρχ}}$ και $O_{\text{τελ}}$ οι όγκοι του αιμόλυματος στο φιαλίδιο πριν και μετά τη δεύτερη προσθήκη διαλύματος TCA,
- α ο όγκος του διαλύματος NaOH που είχαμε προσθέσει αρχικά,
- β ο όγκος της 2-βινυλοπυριδίνης που προσθέσαμε, και
- 150 ο συντελεστής που προκύπτει από τον πολλαπλασιασμό της συγκέντρωσης του προτύπου (0,75 nmol/mL) επί το κλάσμα 1000/5 που εκφράζει την ποσότητα του συνολικού μίγματος προς αυτήν του αιμόλυματος.

Προσδιορισμός TAC

Ο προσδιορισμός της TAC έγινε σύμφωνα με τους Janaszewska και Bartosz (2002). Με τη συγκεκριμένη μέθοδο προσδιορίζεται η ικανότητα του ορού να ανάγει

την ελεύθερη ρίζα 2,2-διφαινυλο-1-πικρυλυδραζύλιο (DPPH). Η μείωση της απορρόφησης στα 520 nm είναι ανάλογη της TAC.

Για την εκτέλεση του προσδιορισμού προσθέσαμε σε φιαλίδια erpendorf: α) 480 μL ρυθμιστικού διαλύματος $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 10 mmol/L, pH 7,4, β) 500 μL DPPH 0,1 mmol/L, και γ) 20 μL ορού. Για την παρασκευή του τυφλού αναμίξαμε 500 μL του παραπάνω ρυθμιστικού διαλύματος και 500 μL DPPH 0,1 mmol/L. Για την παρασκευή δείγματος ελέγχου αναμίξαμε 495 μL του παραπάνω ρυθμιστικού διαλύματος, 500 μL DPPH 0,1 mmol/L και 5 μL ασκορβικού οξέος 10 mmol/L. Μετά από καλή ανακίνηση και παραμονή για 30 min στο σκοτάδι φυγοκεντρήσαμε τα δείγματα για 3 min στα 20000 g και στους 25°C. Έπειτα, μεταφέραμε το υπερκείμενο σε πλαστικές κυψελίδες και μετρήσαμε την απορρόφηση στα 520 nm. Για τον υπολογισμό της TAC σε μmol DPPH που ανάχθηκαν ανά mL ορού χρησιμοποιήσαμε τον παρακάτω τύπο:

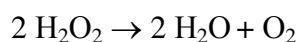
$$\text{TAC} = (A_{\text{τυφλού}} - A_{\text{δείγματος}}) / A_{\text{τυφλού}} \times 50 \times 50 / 1000$$

όπου:

- $A_{\text{τυφλού}}$ και $A_{\text{δείγματος}}$ οι απορροφήσεις του τυφλού και του δείγματος αντίστοιχα,
- 50 η συγκέντρωση του DPPH στις κυψελίδες σε μmol/L,
- 50 ο συντελεστής αραίωσης του ορού στις κυψελίδες, και
- 1000 ο συντελεστής μετατροπής των L ορού σε mL ορού.

Προσδιορισμός καταλάσης

Ο προσδιορισμός της καταλάσης έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο του Aebi (1984), σύμφωνα με την οποία μετράται η μείωση της απορρόφησης του H_2O_2 στα 240 nm με δεδομένο ότι η καταλάση καταλύει την αντίδραση:



Για την εκτέλεση του προσδιορισμού προσθέσαμε σε δοκιμαστικούς σωλήνες 2975 μL ρυθμιστικού διαλύματος $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 67 mmol/L, pH 7,4, και 20 μL ορού. Μετά από καλή ανακίνηση και επώαση 10 min στους 37°C, και αμέσως μετά την προσθήκη 5 μL διαλύματος H_2O_2 30% (w/v), μετρήσαμε την απορρόφηση κάθε δείγματος σε κυψελίδες χαλαζία στα 240 nm δύο φορές με διαφορά 3 min. Υπολογίσαμε την καταλυτική συγκέντρωση C της καταλάσης σε $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}$ σύμφωνα με τον τύπο:

$$C = (\Delta A_{\text{δείγματος}} - \Delta A_{\text{τυφλού}}) / 62,4 \times 150 \times 1000$$

όπου:

- $\Delta A_{\text{δείγματος}}$ και $\Delta A_{\text{τυφλού}}$ η μεταβολή της απορρόφησης του δείγματος και του τυφλού αντίστοιχα ανά min,
- 62,4 ο συντελεστής γραμμομοριακής απορροφητικότητας του H_2O_2 σε L/mmol/cm,
- 150 ο συντελεστής αραίωσης που προέρχεται από τη διαίρεση του τελικού όγκου (3000 μL) προς τον όγκο του ορού (20 μL), και
- 1000 ο συντελεστής μετατροπής των mmol/mL σε $\mu\text{mol}/\text{mL}$.

Προσδιορισμός TBARS

Ο προσδιορισμός των TBARS έγινε σύμφωνα με τους Keles και συν. (2001). Στη μέθοδο αυτή τα προϊόντα της λιπιδικής υπεροξείδωσης αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ και δίνουν έγχρωμο προϊόν, του οποίου η απορρόφηση είναι ανάλογη της συγκέντρωσής τους.

Για την εκτέλεση του προσδιορισμού προσθέσαμε σε σωλήνες falcon: α) 100 μL ορού (ή αποσταγμένου νερού για το τυφλό), β) 500 μL διαλύματος TCA 35%

(w/v), και γ) 500 μ L διαλύματος Tris-HCl 200 mmol/L, pH 7,4. Μετά από καλή ανάδευση και παραμονή 10 min σε θερμοκρασία δωματίου, προσθέσαμε 1 mL διαλύματος Na_2SO_4 2 mol/L και θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA) 55 mmol/L και θερμάναμε τα δείγματα στους 95°C για 45 min σε υδατόλουτρο. Μετά το πέρας της επώασης, μεταφέραμε τους σωλήνες σε πάγο για 5 min, προσθέσαμε 1 mL διαλύματος TCA 70% (w/v) και αναδεύσαμε καλά. Ύστερα, μεταφέραμε 1 mL από κάθε μίγμα σε φιαλίδια erpendorf, φυγοκεντρήσαμε στα 11180 g για 3 min στους 25°C και, αφού λάβαμε το υπερκείμενο, μετρήσαμε την απορρόφησή του στα 530 nm σε πλαστικές κυψελίδες. Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης C των TBARS σε $\mu\text{mol/L}$ έγινε σύμφωνα με τον τύπο:

$$C = (A_{\text{δείγματος}} - A_{\text{τυφλού}}) / 156 \times 31 \times 1000$$

όπου:

- $A_{\text{δείγματος}}$ και $A_{\text{τυφλού}}$ η απορρόφηση του δείγματος και του τυφλού αντίστοιχα,
- 156 ο συντελεστής γραμμομοριακής απορροφητικότητας του TBA σε L/mmol/cm,
- 31 ο συντελεστής αραίωσης που προκύπτει από τη διαίρεση του τελικού όγκου του μίγματος (3100 μL) με τον όγκο του ορού (100 μL), και
- 1000 ο συντελεστής μετατροπής των mmol/L σε $\mu\text{mol/L}$.

Προσδιορισμός αιματολογικών παραμέτρων

Οι προσδιορισμοί των αιματολογικών παραμέτρων έγιναν σε αυτόματο αναλυτή Coulter Microdiff (Miami, FL). Προσδιορίστηκαν ο αιματοκρίτης, η αιμοσφαιρίνη, ο αριθμός ερυθροκυττάρων, ο μέσος όγκος ερυθροκυττάρων (mean corpuscular volume, MCV), η μέση περιεκτικότητα αιμοσφαιρίνης στα ερυθροκύτταρα (mean cell hemaoglobin, MCH), η μέση συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης

στα ερυθροκύτταρα (mean cell hemoglobin concentration, MCHC), ο αριθμός λευκοκυττάρων, οι αριθμοί των υποπληθυσμών τους (ηωσινόφιλων, βασεόφιλων, ουδετερόφιλων, λεμφοκυττάρων και μονοπύρηνων) και ο αριθμός αιμοπεταλίων.

Προσδιορισμός βιοχημικών παραμέτρων

Ο προσδιορισμός του σιδήρου έγινε φασματοφωτομετρικά σύμφωνα με τις οδηγίες ενός συνόλου αντιδραστηρίων της Biosis (Αθήνα, Ελλάδα).

Ο προσδιορισμός της TIBC έγινε φασματοφωτομετρικά σύμφωνα με τις οδηγίες ενός συνόλου αντιδραστηρίων της Elitech (Sees, Γαλλία).

Οι προσδιορισμοί της φεριτίνης, της κορτιζόλης και της τεστοστερόνης έγιναν με ενζυμικό ανοσοπροσδιορισμό σύμφωνα με τις οδηγίες συνόλων αντιδραστηρίων της DRG (Marburg, Γερμανία).

Ο προσδιορισμός της CK έγινε φασματοφωτομετρικά σύμφωνα με τις οδηγίες ενός συνόλου αντιδραστηρίων της Dialab (Vienna, Αυστρία).

Οι φασματοφωτομετρικοί προσδιορισμοί έγιναν σε φασματοφωτόμετρο Hitachi U1100 (Tokyo, Ιαπωνία) και οι ενζυμικοί ανοσοπροσδιορισμοί σε φωτόμετρο Anthos 2001 (Salzburg, Αυστρία). Για τις φυγοκεντρήσεις χρησιμοποιήθηκε υπερφυγόκεντρος Hettich Mikro 22 R (Tuttlingen, Γερμανία).

Ανάλυση διατροφής

Η ανάλυση της διατροφής των κολυμβητών και των κολυμβητριών έγινε με τη χρήση βάσης δεδομένων τροφίμων του εργαστηρίου μας που έχει δημιουργηθεί σε περιβάλλον Microsoft® Access σύμφωνα με δημοσιευμένα δεδομένα της Food Standards Agency (2002).

Στατιστική επεξεργασία

Για την διερεύνηση ύπαρξης ομαλής κατανομής στις παραμέτρους που εξετάστηκαν πραγματοποιήθηκε δοκιμασία Shapiro-Wilk. Για την ανάλυση των δεδομένων στα οποία υπήρχε ομαλή κατανομή χρησιμοποιήθηκε απλή ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις. Όπου βρέθηκε σημαντική επίδραση του χρόνου, ακολούθησαν ζευγαρωτές συγκρίσεις με ανάλυση απλών κύριων επιδράσεων. Για την ανάλυση των δεδομένων στα οποία δεν υπήρχε ομαλή κατανομή πραγματοποιήθηκε δοκιμασία Friedman. Επίσης, χρησιμοποιήθηκαν οι αναλύσεις συσχέτισης κατά Pearson και κατά Spearman για τις παραμέτρους που είχαν ομαλή κατανομή και για αυτές που δεν είχαν, αντιστοίχως. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας για όλες τις δοκιμασίες ορίστηκε στο $\alpha = 0,05$. Η στατιστική επεξεργασία έγινε με το πρόγραμμα SPSS 12.0 (SPSS, Chicago, IL).

Αποτελέσματα

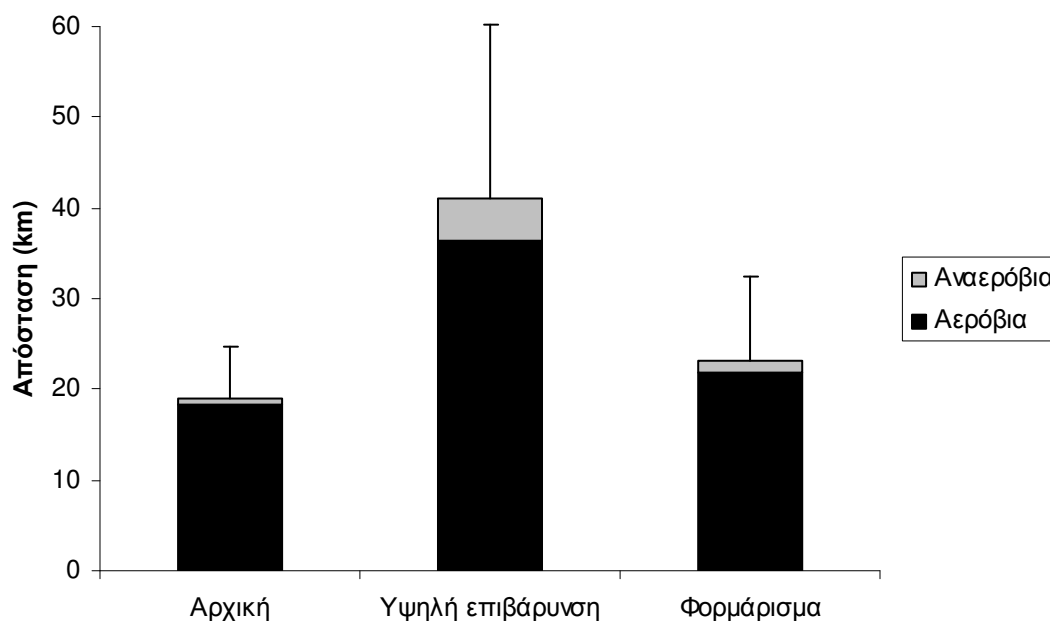
Στον πίνακα 1 παρουσιάζονται τα σωματομετρικά χαρακτηριστικά των κολυμβητών που συμμετείχαν στην παρούσα μελέτη. Στις σωματομετρικές παραμέτρους δε βρέθηκε σημαντική επίδραση του χρόνου.

Πίνακας 1. Σωματομετρικά χαρακτηριστικά των κολυμβητών (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)

Παράμετρος	Αρχική μέτρηση	Υψηλή επιβάρυνση	Φορμάρισμα
Βάρος (kg)	70,3 ± 5,0	70,6 ± 4,6	70,6 ± 4,6
Ύψος (m)	1,81 ± 0,05	1,81 ± 0,06	1,81 ± 0,06
BMI (kg/m ²)	21,4 ± 1,5	21,5 ± 1,5	21,5 ± 1,5

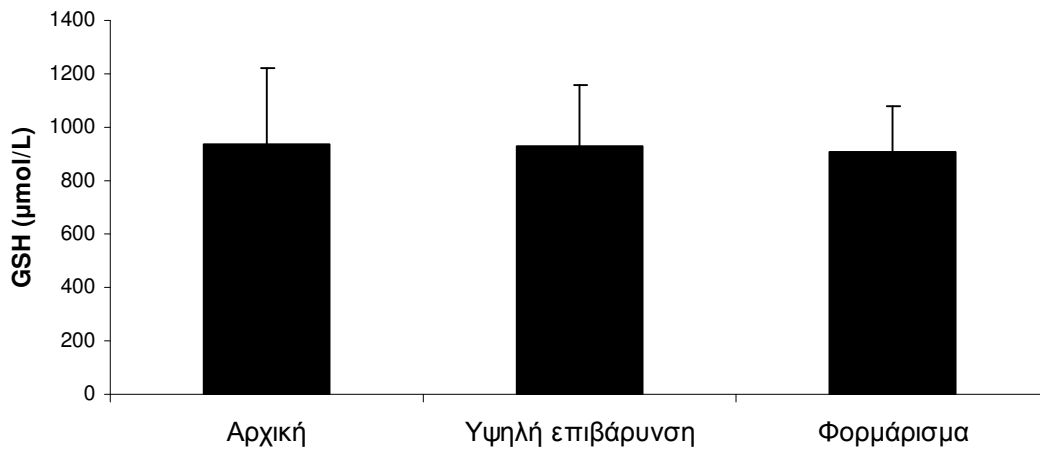
BMI: δείκτης μάζας σώματος

Οι εξεταζόμενοι ακολουθούσαν εντατικό προπονητικό πρόγραμμα, το οποίο αποτυπώνεται ποσοτικά και ποιοτικά στο σχήμα 1. Σημαντική επίδραση του χρόνου βρέθηκε στην απόσταση που κάλυπταν οι κολυμβητές εβδομαδιαίως, καθώς αυτή υπερδιπλασιάστηκε από την πρώτη στη δεύτερη μέτρηση και κατόπιν μειώθηκε κατά 45% στην περίοδο του φορμαρίσματος.

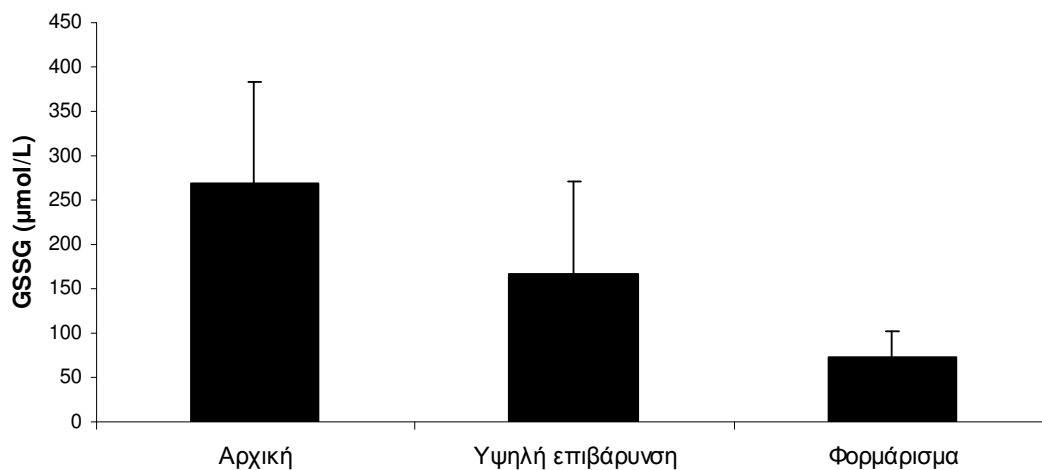


Σχήμα 1. Σύσταση της εβδομαδιαίας κολυμβητικής προπόνησης των συμμετεχόντων στις τρεις μετρήσεις. Οι γραμμές σφάλματος δηλώνουν τυπική απόκλιση της συνολικής απόστασης.

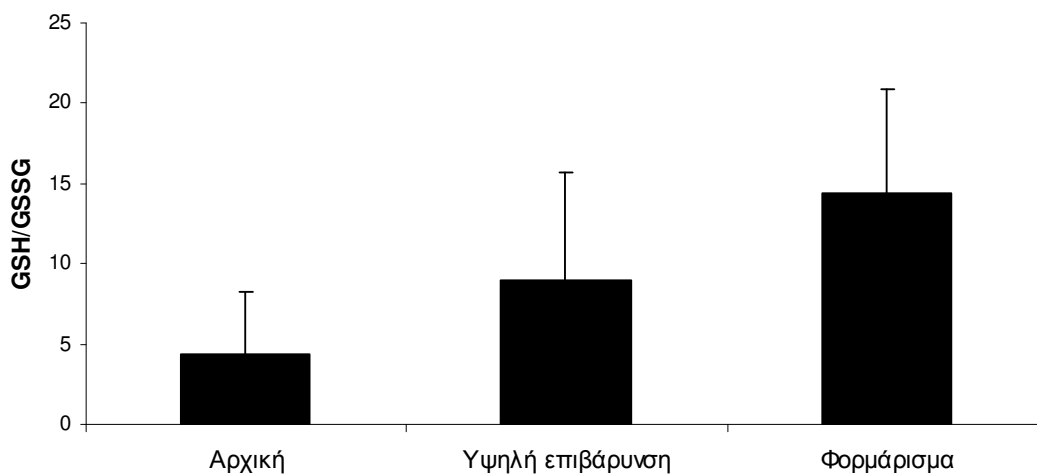
Τα αποτελέσματα των παραμέτρων της αντιοξειδωτικής ικανότητας και του οξειδωτικού στρες παρουσιάζονται στα σχήματα 2-8. Σημαντική επίδραση του χρόνου βρέθηκε στη συγκέντρωση της GSSG ($p < 0,001$), η οποία μειώθηκε σημαντικά από μέτρηση σε μέτρηση, στο λόγο GSH/GSSG ($p < 0,001$), που αυξήθηκε με την πάροδο του χρόνου, στη συγκέντρωση της ολικής γλουταθειόνης (total glutathione, tG), η οποία παρουσίασε σημαντική μείωση στο φορμάρισμα ($p < 0,001$), και στη συγκέντρωση των TBARS ($p < 0,001$), οι οποίες παρουσίασαν αύξηση από μέτρηση σε μέτρηση (κυρίως από την πρώτη στη δεύτερη μέτρηση). Αντιθέτως, δε βρέθηκαν σημαντικές μεταβολές μεταξύ των μετρήσεων στη συγκέντρωση της GSH, στην TAC και στην καταλυτική συγκέντρωση της καταλάσης.



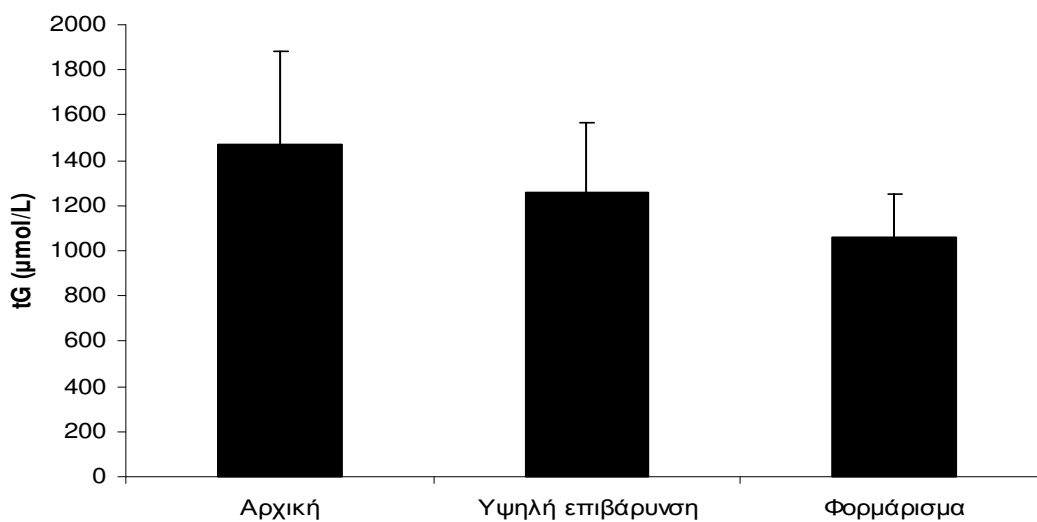
Σχήμα 2. Συγκέντρωση της GSH στο αίμα κολυμβητών στις τρεις μετρήσεις. Οι γραμμές σφάλματος δηλώνουν τυπική απόκλιση.



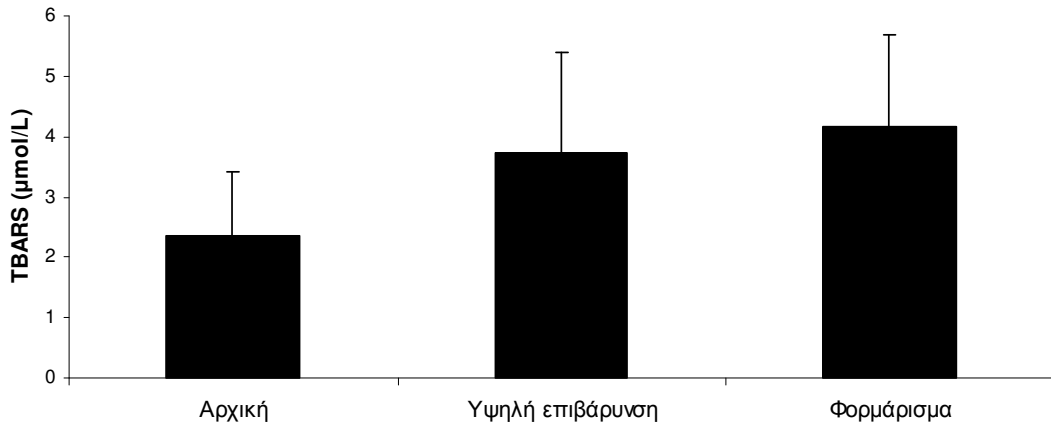
Σχήμα 3. Συγκέντρωση της GSSG στο αίμα κολυμβητών στις τρεις μετρήσεις. Οι γραμμές σφάλματος δηλώνουν τυπική απόκλιση. Η τιμή στο φορμάρισμα ήταν σημαντικά χαμηλότερη από τις άλλες τιμές ($p < 0,001$).



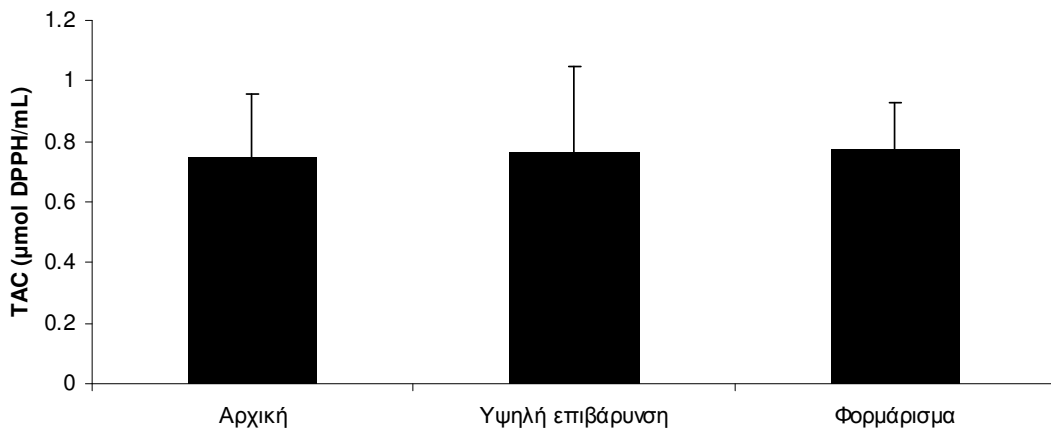
Σχήμα 4. Λόγος GSH/GSSG στο αίμα κολυμβητών στις τρεις μετρήσεις. Οι γραμμές σφάλματος δηλώνουν τυπική απόκλιση. Υπήρξε σημαντική μεταβολή ως προς το χρόνο ($p < 0,001$).



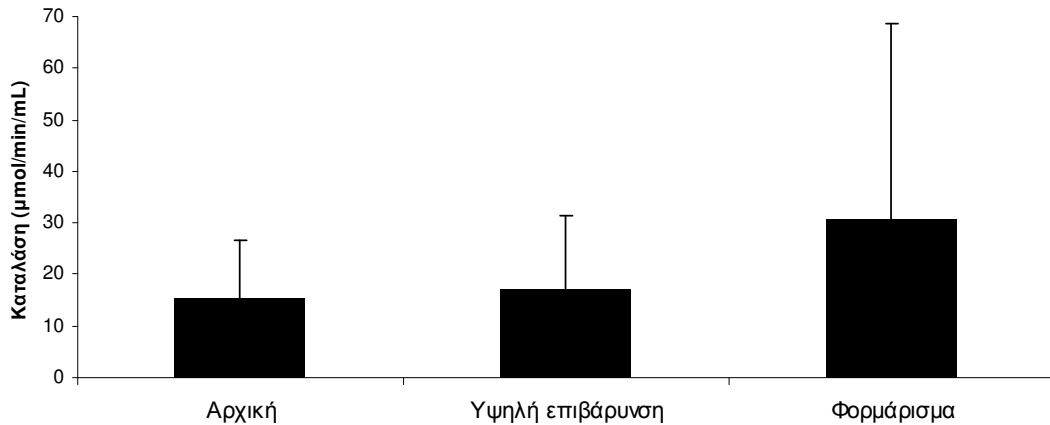
Σχήμα 5. Συγκέντρωση της ολικής γλουταθειόνης στο αίμα κολυμβητών στις τρεις μετρήσεις. Οι γραμμές σφάλματος δηλώνουν τυπική απόκλιση. Η τιμή στο φορμάρισμα ήταν σημαντικά χαμηλότερη από τις άλλες τιμές ($p < 0,001$).



Σχήμα 6. Συγκέντρωση των TBARS στον ορό κολυμβητών στις τρεις μετρήσεις. Οι γραμμές σφάλματος δηλώνουν τυπική απόκλιση. Υπήρξε σημαντική αύξηση μετά την περίοδο υψηλής επιβάρυνσης ($p < 0,001$).



Σχήμα 7. Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα στον ορό κολυμβητών στις τρεις μετρήσεις. Οι γραμμές σφάλματος δηλώνουν τυπική απόκλιση.



Σχήμα 8. Καταλυτική συγκέντρωση της καταλάσης στον ορό κολυμβητών στις τρεις μετρήσεις. Οι γραμμές σφάλματος δηλώνουν τυπική απόκλιση.

Οι τιμές των αιματολογικών και βιοχημικών παραμέτρων παρουσιάζονται στους πίνακες 2 και 3 αντιστοίχως. Σημαντική επίδραση του χρόνου βρέθηκε στον αιματοκρίτη ($p < 0,001$), στην αιμοσφαιρίνη ($p < 0,001$), στον αριθμό ερυθροκυττάρων ($p < 0,001$), στην MCH ($p < 0,05$), στην MCHC ($p < 0,001$), στον αριθμό βασεόφιλων ($p < 0,05$), στη φεριτίνη ($p < 0,05$), στην TIBC ($p < 0,001$), στη CK ($p < 0,01$) και στην τεστοστερόνη ($p < 0,05$).

Πίνακας 2. Τιμές αιματολογικών παραμέτρων των κολυμβητών (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)

Παράμετρος	Αρχική μέτρηση	Υψηλή επιβάρυνση	Φορμάρισμα
Hct (%)	43,8 ± 2,9	45,5 ± 2,6	45,5 ± 2,9
Hb (g/dL)	14,6 ± 1,0	15,0 ± 0,9	15,0 ± 1,0
RBC (M/μL)	5,04 ± 0,30	5,22 ± 0,33	5,24 ± 0,34
MCV (fL)	86,9 ± 5,7	84,7 ± 15,9	87,1 ± 5,7
MCH (pg)	29,0 ± 2,0	28,8 ± 2,1	28,7 ± 2,1
MCHC (g/dL)	33,3 ± 0,3	32,9 ± 0,4	32,9 ± 0,4
WBC (k/μL)	7,44 ± 1,32	7,91 ± 1,73	7,67 ± 2,59
Ηωσινόφιλα (k/μL)	0,19 ± 0,13	0,22 ± 0,18	0,19 ± 0,14
Βασεόφιλα (k/μL)	0,07 ± 0,03	0,05 ± 0,02	0,06 ± 0,02
Ουδετερόφιλα (k/μL)	3,88 ± 1,10	4,33 ± 1,41	4,38 ± 2,23
Λεμφοκύτταρα (k/μL)	2,78 ± 0,38	2,79 ± 0,55	2,52 ± 0,52
Μονοπύρηννα (k/μL)	0,51 ± 0,11	0,53 ± 0,14	0,52 ± 0,13
Plt (k/μL)	238 ± 60	256 ± 63	242 ± 61

Hct: αιματοκρίτης, Hb: αιμοσφαιρίνη, RBC: αριθμός ερυθροκυττάρων, MCV: μέσος όγκος ερυθροκυττάρων, MCH: μέση περιεκτικότητα αιμοσφαιρίνης, MCHC: μέση πυκνότητα αιμοσφαιρίνης, WBC: αριθμός λευκοκυττάρων, Plt: αριθμός αιμοπεταλίων.

Πίνακας 3. Τιμές βιοχημικών παραμέτρων των κολυμβητών (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)

Παράμετρος	Αρχική μέτρηση	Υψηλή επιβάρυνση	Φορμάρισμα
Σίδηρος (μg/dL)	104 ± 37	126 ± 35	103 ± 58
Φεριτίνη (ng/mL)	59 ± 34	51 ± 24	67 ± 38
TIBC (μg/dL)	306 ± 36	387 ± 48	319 ± 42
Κορεσμός τρανσφερίνης (%)	34 ± 10	33 ± 10	32 ± 15
CK (U/L, 37°C)	281 ± 154	632 ± 957	225 ± 101
Κορτιζόλη (ng/mL)	95 ± 46	97 ± 60	113 ± 66
Τεστοστερόνη (ng/mL)	3,8 ± 1,0	4,2 ± 0,9	4,5 ± 1,3
Κορτιζόλη/ Τεστοστερόνη (ng/mL)	26,6 ± 15,9	24,5 ± 16,9	24,6 ± 11,7

Όσον αφορά στη διατροφή των κολυμβητών, οι προσλήψεις των σημαντικότερων διατροφικών στοιχείων ανά ημέρα, έτσι όπως προέκυψαν από την ανάλυση της διατροφής, παρουσιάζονται στον πίνακα 4. Η πλήρης ανάλυση της διατροφής των συμμετεχόντων παρουσιάζεται στο παράρτημα Γ. Παρόλο που είχε συσταθεί στους συμμετέχοντες να μη λάβουν κάποιο συμπλήρωμα διατροφής κατά τη διάρκεια της μελέτης, αυτό δεν κατέστη εφικτό, καθώς μειοψηφία των κολυμβητών έλαβε συμπληρώματα. Τα άτομα αυτά συμπεριλήφθηκαν κανονικά στη μελέτη, καθόσον οι προσλήψεις θρεπτικών συστατικών από αυτούς δεν υπερέβαιναν το μέγιστο των προσλήψεων από τους υπόλοιπους. Από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων, σημαντική επίδραση του χρόνου βρέθηκε μόνο στην πρόσληψη σιδήρου ($p < 0,05$).

Πίνακας 4. Διατροφικά στοιχεία των κολυμβητών ανά ημέρα στις τρεις μετρήσεις (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)

Παράμετρος	Αρχική μέτρηση	Υψηλή επιβάρυνση	Φορμάρισμα
Ενέργεια (kcal)	2744 ± 567	3029 ± 595	2492 ± 682
Βιταμίνη C (mg)	122 ± 89	169 ± 102	118 ± 58
Βιταμίνη E (mg)	14,1 ± 9,1	15,2 ± 6,7	13,4 ± 8,9
Βιταμίνη A (RE*)	893 ± 593	1040 ± 556	733 ± 427
Σίδηρος (mg)	20 ± 14	32 ± 28	23 ± 25
Σελήνιο (μg)	80 ± 44	82 ± 38	66 ± 25

*RE, retinol equivalents: η βιταμίνη A εκφράζεται σε ισοδύναμα ρετινόλης που αντιστοιχούν στο άθροισμα των μg ρετινόλης και του 1/6 των μg καροτενίου.

Σχετικά με τα αποτελέσματα των αναλύσεων συσχέτισης, βρέθηκαν αρκετές σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των μετρούμενων παραμέτρων, αλλά είτε στερούνταν φυσιολογικής σημασίας είτε δεν εμφανίστηκαν και στις τρεις μετρήσεις.

Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε η διακύμανση δεικτών αντιοξειδωτικής ικανότητας και οξειδωτικού στρες σε κολυμβητές κατά τη διάρκεια εξαμήνου προπονητικού μακρόκυκλου που περιλάμβανε διαφορετικές προπονητικές φάσεις με μεταβολές στη δυναμική της επιβάρυνσης. Επιπρόσθετα, εξετάστηκε η ύπαρξη συσχετίσεων των παραμέτρων της αντιοξειδωτικής ικανότητας και του οξειδωτικού στρες με μια σειρά αιματολογικών, βιοχημικών και διατροφικών παραμέτρων.

Τα κυριότερα ευρήματα της παρούσας μελέτης ήταν οι σημαντικές επιδράσεις του χρόνου σε τέσσερις παραμέτρους αντιοξειδωτικής ικανότητας και οξειδωτικού στρες. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε μείωση στη συγκέντρωση της GSSG τόσο από την πρώτη στη δεύτερη όσο και από τη δεύτερη στην τρίτη μέτρηση, αύξηση από μέτρηση σε μέτρηση του λόγου GSH/GSSG, μείωση της συγκέντρωσης της ολικής γλουταθειόνης στο φορμάρισμα και αύξηση της συγκέντρωσης των TBARS με την πάροδο του χρόνου, ειδικά από την πρώτη στη δεύτερη μέτρηση. Τα ευρήματα αυτά παρουσιάζουν ασυνέπεια, καθότι υποδεικνύουν ταυτόχρονα ευνοϊκές (μείωση της GSSG, αύξηση του λόγου GSH/GSSG) και δυσμενείς (αύξηση των TBARS) προσαρμογές με την πάροδο του χρόνου. Ο μηχανισμός που ευθύνεται για τη μείωση της ολικής γλουταθειόνης που οφείλεται στη μείωση της GSSG παραμένει αδιευκρίνιστος. Επιπλέον, οι υπόλοιποι μετρούμενοι δείκτες δε μεταβλήθηκαν σημαντικά από μέτρηση σε μέτρηση. Πιθανή αιτία της ανομοιομορφίας αυτής των αποτελεσμάτων είναι η πολυπλοκότητα των μηχανισμών στους οποίους συμμετέχουν οι μετρούμενοι δείκτες. Μια άλλη ενδεχόμενη εξήγηση είναι η συστηματική άσκηση να επιφέρει στοχευμένες προσαρμογές στον αντιοξειδωτικό μηχανισμό του οργανισμού. Ανάλογη ανομοιομορφία αποτελεσμάτων παρατηρήθηκε και στη μελέτη των Palazzeti και συν. (2003), στην οποία εξετάστηκε η επίδραση υπερφορτωμένης

προπόνησης τεσσάρων εβδομάδων σε δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας και οξειδωτικού στρες σε τριαθλητές. Συγκεκριμένα, η υπερφορτωμένη προπόνηση δεν επέφερε σημαντικές μεταβολές στο οξειδωτικό στρες σε κατάσταση ηρεμίας, ενώ, όσον αφορά στους αντιοξειδωτικούς δείκτες, η συγκέντρωση της GSH στο αίμα, της SOD και της GPX στο πλάσμα παρέμειναν αμετάβλητες, η TAC στο πλάσμα μειώθηκε και η συγκέντρωση της GPX στο πλάσμα αυξήθηκε.

Η επίδραση του φορμαρίσματος στους δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας και οξειδωτικού στρες που βρέθηκε στη παρούσα μελέτη, μπορεί μόνο να συγκριθεί με αυτήν που παρατηρήθηκε στις τρεις μέχρι σήμερα μελέτες, οι οποίες χρησιμοποίησαν στρατηγική με εναλλαγή των στοιχείων επιβάρυνσης (υπερφορτωμένη προπόνηση και φορμάρισμα). Στη μελέτη μας η συγκέντρωση των TBARS παρέμεινε αμετάβλητη κατά το φορμάρισμα. Το εύρημα αυτό έρχεται σε συμφωνία με τα ευρήματα των άλλων μελετών στις οποίες το φορμάρισμα δεν μετέβαλε σημαντικά τη συγκέντρωση των TBARS (Margaritis et al., 2003, Vollaard et al. 2006) και της μηλονικής διαλδεύδης (Child et al., 2000). Αντιθέτως, σε αυτές τις μελέτες δε βρέθηκε μεταβολή στη GSSG μετά το φορμάρισμα, ενώ στην έρευνά μας η GSSG παρουσίασε σημαντική μείωση. Επιπλέον, αντίθετη είναι η κινητική του λόγου GSH/GSSG στη μελέτη μας από εκείνη στη μελέτη των Margaritis και συν. (2003) (αύξηση έναντι μείωσης αντίστοιχα), ενώ οι Vollaard και συν. (2006) δεν ανέφεραν σημαντική μεταβολή στο λόγο ως ανταπόκριση στο φορμάρισμα. Η μη σημαντική μεταβολή στη συγκέντρωση της GSH, στην TAC και στη συγκέντρωση της καταλάσης που βρέθηκε στην έρευνά μας έρχεται σε συμφωνία με τα ευρήματα των Child και συν. (2000) και Vollaard και συν. (2006), οι οποίοι δεν ανέφεραν σημαντική επίδραση του φορμαρίσματος σε αυτούς τους δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας. Όμως, στη μελέτη των Margaritis και συν. (2003) βρέθηκε μικρή αλλά

σημαντική ενίσχυση σε δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας. Η αιτία της αντιφατικότητας αυτής μεταξύ των αποτελεσμάτων των μελετών παραμένει αδιευκρίνιστη. Παρόλα αυτά, μπορεί οι μεθοδολογικές διαφορές μεταξύ των ερευνών να ευθύνονται για την εξαγωγή αντικρουόμενων αποτελεσμάτων. Για παράδειγμα, το προπονητικό πρόγραμμα που ακολούθησαν οι εξεταζόμενοι διαφέρει αρκετά από μελέτη σε μελέτη. Στην έρευνά μας, οι αθλητές υποβλήθηκαν σε 16 εβδομάδες εντατικής προπόνησης ακολουθούμενες από 4 εβδομάδες φορμαρίσματος, ενώ στις έρευνες των Margaritis και συν. (2003) και Vollaard και συν. (2006) σε 4 εβδομάδες υπερφορτωμένης προπόνησης και 2 εβδομάδες φορμαρίσματος, και σε μία εβδομάδα προπόνησης με υψηλή δυναμική επιβάρυνσης και μία εβδομάδα φορμαρίσματος, αντιστοίχως. Επιπροσθέτως, στη μελέτη μας ακολουθήσαμε στρατηγική φορμαρίσματος με μείωση στη δυναμική της επιβάρυνσης κατά 45% έναντι 32% και 60% στις μελέτες των Margaritis και συν. (2003) και Vollaard και συν. (2006), αντιστοίχως. Τέλος, στην έρευνα των Child και συν. (2000) οι εξεταζόμενοι πραγματοποίησαν εντατική προπόνηση για μία εβδομάδα και κατόπιν ακολούθησαν στρατηγική φορμαρίσματος με 85% μείωση στη δυναμική της επιβάρυνσης.

Η αύξηση στη συγκέντρωση των TBARS που παρατηρήθηκε στη μελέτη μας μετά από περίοδο εντατικής προπόνησης 16 εβδομάδων δε συμφωνεί με τα δεδομένα της βιβλιογραφίας, σύμφωνα με τα οποία περίοδος εντατικής αερόβιας προπόνησης ή συνδυασμός αερόβιας-αναερόβιας προπόνησης δε μεταβάλλει (Dernbach et al., 1993, Palazzeti et al., 2003) ή μειώνει (Miyazaki et al., 2001) τη συγκέντρωση των TBARS σε κατάσταση ηρεμίας τόσο σε προπονημένους όσο και σε απροπόνητους εξεταζόμενους. Η διαφωνία αυτή οφείλεται πιθανώς στη διάρκεια της εντατικής προπόνησης που ακολούθησαν οι εξεταζόμενοι και/ή στη δυναμική της επιβάρυνσης του προπονητικού προγράμματος. Αυτή η πιθανότητα απορρέει από το γεγονός ότι

στη μελέτη μας τόσο η διάρκεια της περιόδου προπόνησης όσο και η δυναμική της επιβάρυνσης ήταν μεγαλύτερες από τις άλλες μελέτες. Επίσης, δεν υπάρχει συμφωνία μεταξύ της έρευνάς μας και αυτής των Palazzeti και συν. (2003), καθότι στην τελευταία δεν παρατηρήθηκε μεταβολή στη συγκέντρωση της GSSG και στο λόγο GSH/GSSG μετά από περίοδο υπερφορτωμένης προπόνησης 4 εβδομάδων σε τριαθλητές. Αυτή η ασυμφωνία μπορεί να αποδοθεί στις μεθοδολογικές διαφορές των δύο μελετών, καθώς η διάρκεια της περιόδου προπόνησης με υψηλή δυναμική επιβάρυνσης στη μελέτη μας ήταν τετραπλάσια από εκείνη στη μελέτη των Palazzeti και συν. (2003).

Στη μελέτη μας παρατηρήθηκε μη σημαντική επίδραση της προπόνησης με υψηλή δυναμική επιβάρυνσης στη συγκέντρωση της GSH, στην TAC, και στη συγκέντρωση της καταλάσης. Είναι γεγονός ότι τα δεδομένα αναφορικά με την επίδραση περιόδου εντατικής προπόνησης στους τρεις αυτούς δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας παραμένουν αντιφατικά. Υπάρχουν μελέτες που τα ευρήματά τους συμφωνούν με αυτά της μελέτης μας, καθόσον αναφέρουν μη σημαντική επίδραση περιόδου εντατικής προπόνησης στη συγκέντρωση της GSH (Ohno et al., 1988, Palazzeti et al., 2003) και της καταλάσης (Miyazaki et al., 2001). Παρόλα αυτά, υπάρχουν επιστημονικά δεδομένα, σύμφωνα με τα οποία περίοδος εντατικής προπόνησης προκάλεσε αύξηση στη συγκέντρωση της GSH (Elosua et al., 2003, Svensson et al., 2002), μείωση στην TAC (Palazzeti et al., 2003), και αύξηση στη συγκέντρωση της καταλάσης (Ohno et al., 1988).

Ως συμπέρασμα, όσον αφορά στην επίδραση των εναλλαγών των στοιχείων επιβάρυνσης του προπονητικού προγράμματος (περίοδος προπόνησης με υψηλή δυναμική επιβάρυνσης και φορμάρισμα) στους δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας και οξειδωτικού στρες, μπορούμε να πούμε ότι η εικόνα των δεδομένων που υπάρχουν

κάθε άλλο παρά ξεκάθαρη είναι. Σε αυτό συντελεί ο περιορισμένος αριθμός σχετικών μελετών και οι σημαντικές μεθοδολογικές διαφορές μεταξύ των. Ως εκ τούτου, κρίνεται αναγκαία η περαιτέρω διερεύνηση των μακροπρόθεσμων αποκρίσεων του οργανισμού στην εντατική προπόνηση.

Όσον αφορά στη διακύμανση των αιματολογικών και βιοχημικών παραμέτρων από μέτρηση σε μέτρηση, υπήρξαν αρκετά ενδιαφέροντα ευρήματα. Ξεκινώντας από τις παραμέτρους που σχετίζονται με την κατάσταση σιδήρου, παρατηρήσαμε σημαντικές αυξήσεις από την πρώτη στη δεύτερη μέτρηση του αιματοκρίτη, της αιμοσφαιρίνης, της MCH, της MCHC, και της TIBC, ενώ η συγκέντρωση της φεριτίνης μειώθηκε στη δεύτερη μέτρηση και αυξήθηκε στην τρίτη. Τα ερευνητικά δεδομένα σχετικά με τη διακύμανση του αιματοκρίτη κατά τη διάρκεια προπονητικής περιόδου είναι αντικρουόμενα, καθώς έχουν αναφερθεί σημαντικές (Tsalis, 2004) και μη σημαντικές (Mujika et al., 1997, Pizza et al., 1997) μεταβολές. Η αύξηση της αιμοσφαιρίνης που παρατηρήθηκε μετά την περίοδο προπόνησης 16 εβδομάδων συμφωνεί με τα αποτελέσματα των μελετών των Mujika και συν. (1997) και Tsalis και συν. (2004), στις οποίες παρατηρήθηκε αύξηση μετά από 3 μήνες κολυμβητικής προπόνησης. Αντίθετα, η μελέτη των Pizza και συν. (1997) ανέφερε μείωση της αιμοσφαιρίνης μετά από περίοδο προπόνησης. Σε συμφωνία με την έρευνα των Tsalis και συν. (2004) είναι και η αύξηση που παρατηρήθηκε στα ερυθροκύτταρα μετά από περίοδο εντατικής προπόνησης. Αντίθετα, οι Pizza και συν. (1997) δεν παρατήρησαν σημαντική μεταβολή μετά από περίοδο προπόνησης. Είναι γεγονός ότι δεν είναι ξεκάθαρο το κατά πόσο οι ευνοϊκές αυτές μεταβολές που παρατηρήσαμε στον αιματοκρίτη, στην αιμοσφαιρίνη, στην MCH, στην MCHC και στον αριθμό ερυθροκυττάρων μετά από περίοδο εντατικής προπόνησης συνδέονται αιτιολογικά με την τελευταία. Η αύξηση που παρατηρήσαμε

στην TIBC μετά από την περίοδο προπόνησης με υψηλή δυναμική επιβάρυνσης συμφωνεί με τα ευρήματα των Tsalis και συν. (2004). Συνεπώς, μπορούμε να υποθέσουμε ότι η αύξηση αυτή στην TIBC οφείλεται σε απώλεια σιδήρου από την επίπονη προπόνηση. Η υπόθεση αυτή ισχυροποιείται από το γεγονός ότι στην ίδια περίοδο που η TIBC αυξήθηκε, η συγκέντρωση της φεριτίνης μειώθηκε.

Οι υπόλοιπες αιματολογικές και βιοχημικές παράμετροι που παρουσίασαν σημαντική διακύμανση ήταν ο αριθμός βασεόφιλων, η τεστοστερόνη και η CK. Η πρώτη παράμετρος μειώθηκε από την πρώτη στη δεύτερη μέτρηση, η δεύτερη αυξήθηκε με την πάροδο του χρόνου, ενώ η τρίτη αυξομειώθηκε ανάλογα με την προπονητική επιβάρυνση. Η μείωση του αριθμού των βασεόφιλων μετά την περίοδο προπόνησης με υψηλή δυναμική επιβάρυνσης μάλλον στερείται φυσιολογικής σημασίας. Αξίζει να τονίσουμε ότι δε μεταβλήθηκαν κατά τη διάρκεια της μελέτης ούτε ο αριθμός των λευκοκυττάρων ούτε εκείνοι των ουδετερόφιλων και των μονοπύρηνων, που παράγουν μεγάλες ποσότητες ROS κατά τη διαδικασία αντιμετώπισης παθογόνων ουσιών. Επίσης δε μεταβλήθηκε ο αριθμός των λεμφοκυττάρων, τα οποία επιστρατεύονται και δραστηριοποιούν μηχανισμούς προστασίας ενάντια στα ROS (Dröge, 2002).

Στη μελέτη μας βρήκαμε ότι η συγκέντρωση της τεστοστερόνης αυξήθηκε. Αντιθέτως, σε αρκετές μελέτες παρατηρήθηκε μείωση της συγκέντρωσης τεστοστερόνης μετά από περίοδο εντατικής προπόνησης (Flynn et al., 1994, Costill et al., 1991). Η διαφορά αυτή μεταξύ των αποτελεσμάτων μπορεί να οφείλεται στο διαφορετικό σχεδιασμό της παρούσας μελέτης, όπως η μεγάλη διάρκεια της περιόδου προπόνησης με υψηλή δυναμική επιβάρυνσης. Τέλος, η αύξηση που παρατηρήσαμε στη CK του ορού (δείκτη μυϊκής βλάβης) μετά από περίοδο επίπονης εντατικής

προπόνησης και η μείωση της μετά το φορμάρισμα συμφωνεί με τα ευρήματα των περισσότερων μελετών (Flynn et al., 1994, Costill et al., 1991).

Η διατροφή των κολυμβητών δεν παρουσίασε σημαντικές διακυμάνσεις στις τρεις μετρήσεις. Οι προσλήψεις μικροθρεπτικών συστατικών που σχετίζονται με αντιοξειδωτική δράση ήταν επαρκείς, καθώς υπερέβαιναν τη συνιστώμενη ημερήσια δόση (ΣΗΔ) σύμφωνα με τον Williams (2002). Το γεγονός αυτό μπορεί να συνεισέφερε στην προάσπιση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του οργανισμού των κολυμβητών. Σημαντική επίδραση του χρόνου βρέθηκε μόνο στην πρόσληψη σιδήρου, η οποία αυξήθηκε στη δεύτερη μέτρηση. Παρόλο που οι αθλητές αύξησαν σημαντικά την ημερήσια πρόσληψη σιδήρου κατά την περίοδο με υψηλή δυναμική επιβάρυνσης, η συγκέντρωση του σιδήρου ορού παρέμεινε αμετάβλητη, ενώ η φεριτίνη μειώθηκε. Φαίνεται λοιπόν ότι κατά την περίοδο της υπεροφρωμένης προπόνησης υπήρξε αυξημένη απώλεια σιδήρου.

Συμπεράσματα-προτάσεις

Συνοψίζοντας, εξάμηνος προπονητικός μακρόκυκλος με εναλλαγές των στοιχείων επιβάρυνσης επέφερε αλλαγές στους δείκτες αντιοξειδωτικής ικανότητας και οξειδωτικού στρες στο αίμα κολυμβητών. Από τις αλλαγές αυτές, η πτώση της συγκέντρωσης της GSSG και η αύξηση του λόγου GSH/GSSG υποδεικνύουν μετρίαση του οξειδωτικού στρες. Αντίθετα, η αύξηση των TBARS ως δείκτη οξειδωτικού στρες χαρακτηρίζεται ως μη ευνοϊκή αλλαγή. Επιπροσθέτως, παρατηρήθηκαν σημαντικές διακυμάνσεις σε αιματολογικές και βιοχημικές παραμέτρους, με σημαντικότερες τη συγκέντρωση της CK στον ορό, η οποία αυξομειώθηκε ανάλογα με τη δυναμική της επιβάρυνσης σε κάθε προπονητική φάση.

Περαιτέρω έρευνα απαιτείται για την αποσαφήνιση των μακροπρόθεσμων προσαρμογών της αντιοξειδωτικής ικανότητας του οργανισμού στην εντατική προπόνηση. Επιπροσθέτως, αξίζει να ερευνηθεί κατά πόσο το φορμάρισμα επιδρά θετικά στην αντιοξειδωτική ικανότητα του οργανισμού και κατά πόσο η τελευταία ενισχύει με τη σειρά της την απόδοση.

Βιβλιογραφία

1. Abuja, P.M., and Albertini, R. (2001). Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta*, 306, 1-17.
2. Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
3. Aguiló, A., Tauler, P., Fuentespina, E., Tur, J.A., Córdova, A., and Pons, A. (2005). Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise. *Physiology and Behavior*, 84, 1-7.
4. Alessio, H.M., Hagerman, A.E., Fulkerson, B.K., Ambrose, J., Rice, R.E., and Wiley, R.L. (2000). Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 32, 1576-1581.
5. Balakrishnan, S.D., and Anuradha, C.V. (1998). Exercise, depletion of antioxidants and antioxidant manipulation. *Cell Biochemistry and Function*, 16, 269-275.
6. Banister, E.W., Carter, J.B., and Zarkadas P.C. (1999). Training theory and taper: validation in triathlon athletes. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 79, 182-191.
7. Bloomer, R.J., Falvo, M.J., Fry, A.C., Schilling, B.K., Smith, W.A., and Moore, C.A. (2006). Oxidative stress response in trained men following repeated squats or sprints. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 38, 1436-1442.

8. Brites, F.D., Evelson, P.A., Christiansen, M.G., Nicol, M.F., Basílico, M.J., Wikinski, R.W., and Llesuy, S.F. (1999). Soccer players under regular training show oxidative stress but an improved antioxidant status. *Clinical Science*, 96, 381-385.
9. Cazzola, R., Russo-Volpe, S., Cervato, G., and Cestaro, B. (2003). Biochemical assessments of oxidative stress, erythrocyte membrane fluidity and antioxidant status in professional soccer players and sedentary controls. *European Journal of Clinical Investigation*, 33, 324-930.
10. Child, R.B., Wilkinson, D.M., and Fallowfield, J.L. (2000). Effects of training taper on tissue damage indices, serum antioxidant capacity and half-marathon running performance. *International Journal of Sports Medicine*, 21, 325-331.
11. Child, R.B., Wilkinson, D.M., Fallowfield, J.L., and Donnelly, A.E. (1998). Elevated serum antioxidant capacity and plasma malondialdehyde concentration in response to a stimulated half-marathon run. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 30, 1603-1607.
12. Clarkson, P.M., and Thompson, H.S., (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *American Journal of Clinical Nutrition*, 72(suppl), 637S-646S.
13. Cooper, C.E., Vollaard, N.B.J., Choueiri, T., and Wilson, M.T. (2002). Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 30, 280-285.
14. Costill, D.L., Thomas, R., Robergs, R.A., Pascoe, D., Lambert, C., Barr, S., and Fink, W.J. (1991). Adaptations to swimming training: influence of training volume. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 23, 371-377.

15. Costill, D.L., King, D.S., Thomas, R., and Hargreaves M. (1985). Effects of reduced training on muscular power in swimmers. *The Physician and Sportsmedicine*, 13, 94-101.
16. Davison, G.W., Hughes, C.M., and Bell, R.A. (2005). Exercise and mononuclear cell DNA damage: The effects of antioxidant supplementation. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 15, 480-492.
17. Dékány, M, Nemeskéri, V., Györe, I., Harbula, I., Malomsoki, J., and Pucsok, J. (2006). Antioxidant status of interval-trained athletes in various sports. *International Journal of Sports Medicine*, 27, 112-116.
18. Dernbach, A.R., Sherman, W.M., Simonsen, J.C., Flowers, K.M., and Lamb, D.R. (1993). No evidence of oxidant stress during high-intensity rowing training. *Journal of Applied Physiology*, 74, 2140-2145.
19. Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82, 47-95.
20. Elosua, R., Molina, L., Fito, M., Arquer, A., Sanchez-Quesada, J.L., Covas, M.I., Ordoñez-Llanos, J., and Marrugat, J. (2003). Response of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program, and to acute physical activity, in healthy young men and women. *Atherosclerosis*, 167, 327-334.
21. Evelo, C.T.A., Palmen, N.G.M., Artur, Y., and Janssen, G.M.E. (1992). Changes in blood glutathione concentrations, and in erythrocyte glutathione reductase and glutathione S-transferase after running training and after participation in contests. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 64, 354-358.

22. Evelson, P. Gambino, G, Travacio, M., Jaita, G., Verona, J., Maroncelli, C., Wikinski, R., Llesuy, S., and Brites, F. (2002). Higher antioxidant defences in plasma and low density lipoproteins from rugby players. *European Journal of Clinical Investigation*, 32, 818-825.
23. Finaud, J., Lac, G., and Filaire, E. (2006a). Oxidative stress: Relationship with exercise and training. *Sports Medicine*, 36, 327-358.
24. Finaud, J., Scislowski, V., Lac, G., Durand, D., Vidalin, H., Robert, A., and Filaire, E. (2006b). Antioxidant status and oxidative stress in professional rugby players: evolution throughout a season. *International Journal of Sports Medicine*, 27, 87-93.
25. Flynn, M.G. Pizza, F.X., Boone Jr, J.B., Andres, F.F., Michaud, T.A., and Rodriguez-Zayas, J.R. (1994). Indices of training stress during competitive running and swimming seasons. *International Journal of Sports Medicine*, 15, 21-26.
26. Food Standards Agency (2002). *McCance and Widdowson's the Composition of Foods*. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry.
27. Goldfarb, A.H., Patrick, S.W., Bryer, S., and You, T. (2005). Vitamin C supplementation affects oxidative-stress blood markers in response to a 30-minute run at 75% VO_{2max} . *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 15, 279-290.
28. Groussard, C., Rannou-Bekono, F., Machefer, G., Chevanne, M., Vincent, S., Sergent, O., Cillard, J., and Gratas-Delamarche, A. (2003). Changes in blood lipid peroxidation and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 89, 14-20.

29. Hartmann, A., Nieß, A.M., Grünert-Fuchs, M., Poch, B., and Speit, G. (1995). Vitamin E prevents exercise-induced DNA damage. *Mutation Research*, 346, 195-202.
30. Hellsten, Y., Apple, F.S., and Sjödin, B. (1996a). Effect of sprint cycle training on activities of antioxidant enzymes in human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 81, 1484-1487.
31. Hellsten, Y., Hansson, H.A., Johnson, L., Frandsen, U., and Sjödin, B. (1996b). Increased expression of xanthine oxidase and insulin-like growth factor I (IGF-I) immunoreactivity in skeletal muscle after strenuous exercise in humans. *Acta Physiologica Scandinavica*, 157, 191-197.
32. Hooper, S.L., Mackinnon, L.T., and Howard, A. (1999). Physiological and psychometric variables form monitoring recovery during tapering for major competition. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 31, 1205-1210.
33. Houmard, J.A., Scott, B.K., Justice, C.L., and Chenier, T.C. (1994). The effects of taper on performance in distance runners. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 26, 624-631.
34. Ilhan, N., Kamanli, A., Ozmerdivenli, R., and Ilhan, N. (2004). Variable effects of exercise intensity on reduced glutathione, thiobarbituric acid reactive substance levels, and glucose concentration. *Archives of Medical Research*, 35, 294-300.
35. Inal, M., Akyüz, F., Turgut, A., Getsfrid, W.M. (2001). Effect of aerobic and anaerobic metabolism on free radical swimmers. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 33, 564-567.

36. Jammes, Y., Steinberg, J.G., Brégeon, F., and Delliaux, S. (2004). The oxidative stress in response to routine incremental cycling exercise in healthy sedentary subjects. *Respiratory Physiology and Neurobiology*, 144, 81-90.
37. Janaszewska, A., and Bartosz, G. (2002). Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 62, 231-236.
38. Jenkins, R.R. (2000). Exercise and oxidative stress methodology: a critique. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72(suppl), 670S-674S.
39. Ji, L.L. (1999). Antioxidants and oxidative stress in exercise. *P.S.E.B.M.*, 222, 283-292.
40. Kanter, M. (1998). Free radicals, exercise and antioxidant supplementation. *Proceedings of the Nutrition Society*, 57, 9-13.
41. Keles, M.S., Taysi, S., Sen, N., Aksoy, H., and Akcay, F. (2001). Effect of corticosteroid therapy on serum and CSF malondialdehyde and antioxidant proteins in multiple sclerosis. *Canadian Journal of Neurological Sciences*, 28, 141-143.
42. Knez, W.L., Coombes, J.S., and Jenkins, D.G. (2006). Ultra-endurance exercise and oxidative damage: Implications for cardiovascular health. *Sports Medicine*, 36, 429-441.
43. Koška, J., Blažíček, P., Marko, M., Grňa, J.D., Kvetňanský, R., and Vigaš, M. (2000). Insulin, catecholamines, glucose and antioxidant enzymes in oxidative damage during different loads in healthy humans. *Physiological Research*, 49(Suppl. 1), S95-S100.
44. Koury, J.C., de Oliveira Jr., A.V., Portella, E.S., de Oliveira, C.F., Lopes, G.C., and Donangelo, C.M. (2004). Zinc and copper biochemical indices of

- antioxidant status in elite of different modalities. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 14, 358-372.
45. Kubukeli, Z.N., Noakes, T.D., and Dennis, S.C. (2002). Training techniques to improve endurance exercise performances. *Sports Medicine*, 32, 489-509.
46. Lee, J., Goldfarb, A.H., Rescino, M.H., Hegde, S., Patrick, S., and Apperson, K. (2002). Eccentric exercise effect on blood oxidative-stress markers and delayed onset of muscle soreness. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 34, 443-448.
47. Liu, J.-F., Chang, W.-Y., Chan, K.-H., Tsai, W.-Y., Lin, C.-L., and Hsu, M.-C. (2005). Blood lipid peroxides and muscle damage increased following intensive resistance training of female weightlifters. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1042, 255-261.
48. Maglischo, E.R. (2003). *Swimming Fastest*. Champaign, IL: Human Kinetics.
49. Margaritis, I., Palazzetti, S., Rousseau, A.-S., Richard, M.J., and Favier, A. (2003). Antioxidant supplementation and tapering exercise improve exercise-induced antioxidant response. *Journal of the American College of Nutrition*, 22, 147-156.
50. Margaritis, I., Tessier, F., Richard, M.J. and Marconnet, P. (1997). No evidence of oxidative stress after a triathlon race in highly trained competitors. *International Journal of Sports Medicine*, 18, 186-190.
51. Mastaloudis, A., Leonard, S.W., and Traber, M.G. (2001). Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Radical Biology and Medicine*, 31, 911-922.
52. Mena, P., Maynar, M., Gutierrez, J.M., Maynar, J., Timon, J., and Campillo, J.E. (1991). Erythrocyte free radical scavenger enzymes in bicycle

- professional racers. Adaptation to training. *International Journal of Sports Medicine*, 12, 563-566.
53. Miyazaki, H., Oh-ishi, S., Ookowara, T., Kizaki, T., Toshinai, K., Ha, S., Haga, S., Ji, L.L., Ohno, H. (2001). Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 84, 1-6.
54. Møller, P., Wallin, H., and Knudsen, L.E. (1996). Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors. *Chemico – Biological Interactions*, 102, 17-36.
55. Mougios, V. (2006). *Exercise Biochemistry*. Champaign, IL: Human Kinetics.
56. Mujica, I., Padilla, S., Pyne, D., and Busso, T. (2004). Physiological changes associated with the pre-event taper in athletes. *Sports Medicine*, 34, 891-927.
57. Mujica, I, and Padilla S. (2003). Scientific bases for precompetition tapering strategies. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 35, 1182-1187.
58. Mujica, I., Goya, A., Padilla, S., Grijalba, A., Gorostiaga, E., and Ibanez, J. (2000). Physiological responses to a 6-d taper in middle-distance runners: influence of training intensity and volume. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 32, 511-517.
59. Mujika, I., Padilla, S., Geysant, A., and Chatard, J.C. (1997). Hematological responses to training and taper in competitive swimmers: relationships with performance. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 105, 379-385.
60. Mujica, I., Busso, T., Lacoste, L., Barale, F., Geysant, A., and Chatard J.C. (1996). Modeled responses to training and taper in competitive swimmers. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 28, 251-258.

61. Neary, J.P., Martin, T.P., Reid, D.C., Burnham, R., and Quinney, H.A. (1992). The effects of a reduced exercise duration taper programme on performance and muscle enzymes of endurance cyclists. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 65, 30-36.
62. Niess, A. (2005). Generation and disposal of reactive oxygen and nitrogen species, in F.C. Mooren and K. Völker (Eds.) *Molecular and Cellular Exercise Physiology*, pp. 179-197. Champaign, IL: Human Kinetics.
63. Ohno, H., Yahata, T., Sato, Y., Yamamura, K., and Taniguchi, N. (1988). Physical training and fasting erythrocyte activities of free radical scavenging enzyme systems in sedentary men. *European Journal of Applied Physiology*, 57, 173-176.
64. Olbrecht, J. (2000). *The Science of Winning*. Luton: Swimshop.
65. Ookowara, T., Haga, S., Ha, S., Oh-ishi, S., Toshinai, K., Kizaki, T., Ji, L.L., Suzuki, K., and Ohno, H. (2003). Effects of endurance training on three superoxide dismutase isoenzymes in human plasma. *Free Radical Research*, 37, 713-719.
66. Özbay, B., and Dülger, H. (2002). Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in Turkish population: relation to age, gender, exercise, and smoking. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 197, 119-124.
67. Packer, L. (1997). Oxidants, antioxidant nutrients and the athlete. *Journal of Sports Sciences*, 15, 353-363.
68. Palazzetti, S., Rousseau, A.-S., Richard, M.-J., Favier, A., and Margaritis, I. (2004). Antioxidant supplementation preserves antioxidant response in physical training and low antioxidant intake. *British Journal of Nutrition*, 91, 91-100.

69. Palazzeti, S., Richard, M-J., Favier, A., and Margaritis, I. (2003). Overloaded training increases exercise-induced oxidative stress and damage. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 28, 588-604.
70. Pastore, A., Federici, G., Bertini, E., and Piemonte, F. (2003). Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clinica Chimica Acta*, 333, 19-39.
71. Peake, J.M. (2003) Vitamin C: Effects of exercise and requirements with training. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 13, 125-151.
72. Pittaluga, M., Parisi, P., Sabatini, S., Ceci, R., Caparossi, D., Catani, M.V., Savini, I., and Avigliano, L. (2006). Cellular and biochemical parameters of exercise-induced oxidative stress: Relationship with training levels. *Free Radical Research*, 40, 607-614.
73. Pizza, F.X., Flynn, M.G., Boone, J.B., Rodriguez-Zayas, J.R., and Andres, F.F. (1997). Serum haptoglobin and ferritin during a competitive running and swimming season. *International Journal of Sports Medicine*, 18, 233-237.
74. Powers, S.K., Deruisseau, K.C., Quindry, J., and Hamilton, K.L. (2004). Dietary antioxidants and exercise. *Journal of Sports Sciences*, 22, 81-94.
75. Prior, R.L., and Cao, G. (1999). In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology and Medicine*, 27, 1173-1181.
76. Ramel, A., Wagner, K-H., and Elmadfa, I. (2004a). Correlations between plasma noradrenaline concentrations, antioxidants, and neutrophil counts after submaximal resistance exercise in men. *British Journal of Sports Medicine*, 38, 22-24.

77. Ramel, A., Wagner, K-H., and Elmadfa, I. (2004b). Plasma antioxidants and lipid oxidation after submaximal resistance exercise in men. *European Journal of Nutrition*, 43, 2-6.
78. Rankin, J.W., Shute, M., Heffron, S.P., and Saker, K.E. (2006). Energy restriction but not protein source affects antioxidant capacity in athletes. *Free Radical Biology and Medicine*, 41, 1001-1009.
79. Reddy, Y.N., Murthy, S.V., Krishna, D.R., and Prabhakar, M.C. (2004). Role of free radicals and antioxidants in tuberculosis patients. *Indian Journal of Tuberculosis*, 51, 213-218.
80. Riggs, C.E., Kilgour, R.D., and Belowich, D. (1983). Muscle glycogen storage and the effects of tapering training. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 23, 131-135.
81. Robson, P.J., Bouic, P.J.D., and Myburgh, K.H. (2003). Antioxidant supplementation enhances neutrophil oxidative burst in trained runners following prolonged exercise. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 13, 369-381.
82. Rousseau, A.-S., Hiniger, I., Palazzetti, S., Faure, H., Roussel, A.-M., and Margaritis, I. (2004). Antioxidant vitamin status in high exposure to oxidative stress in competitive athletes. *British Journal of Nutrition*, 92, 461-468.
83. Satchek, J.M., and Blumberg, J.B. (2001). Role of vitamin E and oxidative stress in exercise. *Nutrition*, 17, 809-814.
84. Sastre, J., Asensi, M., Gascó, E., Pallardó, F.V., Ferrero, J.A., Furukawa, T., and Viña, J. (1992). Exhaustive physical exercise causes oxidation of glutathione status in blood: prevention by antioxidant administration. *American Journal of Physiology*, 263, R992-R995.

85. Schippinger, G., Wonisch, W., Abuja, P.M., Fankhauser, F., Winklhofer-Roob, B.M., and Halwachs, G. (2002). Lipid peroxidation and antioxidant status in professional American football players during competition. *European Journal of Clinical Investigation*, 32, 686-692.
86. Sen, C.K. (2001). Antioxidants in exercise nutrition. *Sports Medicine*, 31, 891-908.
87. Sherpley, B., MacDougall, J.D., Cipriano, N., Sutton, J.R., Tarnopolsky, M.A., and Coates, G. (1992). Physiological effects of tapering in highly trained athletes. *Journal of Applied Physiology*, 72, 706-711.
88. Siems, W.G., Brenke, R., Sommerburg, O., and Grune, T. (1999). Improved antioxidant protection in winter swimmers. *Quarterly Journal of Medicine*, 92, 193-198.
89. Steinberg, J.G., Delliaux, S., and Jammes, Y. (2006). Reliability of different blood indices to explore the oxidative stress in response to maximal cycling and static exercises. *Clinical Physiology and Functional Imaging*, 26, 106-112.
90. Svensson, M.B., Ekblom, B., Cotgreave, I.A., Norman, B., Sjöberg, B., Ekblom, Ö., Sjödin, B., and Sjödin, A. (2002). Adaptive stress response of glutathione and uric acid metabolism in man following controlled exercise and diet. *Acta Physiologica Scandinavica*, 176, 43-56.
91. Tauler, P., Aguiló, A., Gimeno, I., Guix, P., Tur, J.A., and Pons, A. (2004). Different effects of exercise tests on the antioxidant enzyme activities in lymphocytes and neutrophils. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 15, 479-484.

92. Tietze, F. (1969). Enzymatic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Analytical Biochemistry*, 27, 502-522.
93. Tiidus, P.M., Pushkarenko, J., and Houston, M.E. (1996). Lack of antioxidant adaptation to short-term aerobic training in human muscle. *American Journal of Physiology*, 271, R832-R836.
94. Trappe, S., Costill, D., and Thomas, R. (2001). Effect of swim taper on whole muscle and single muscle fiber contractile properties. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 33, 48-56.
95. Tsalis, G., Nikolaidis, M.G., and Mougios, V. (2004). Effects of iron intake through food or supplement on iron status and performance of healthy adolescent swimmers during a training season. *International Journal of Sports Medicine*, 25, 306-313.
96. Urso, M.L., and Clarkson, P.M. (2003). Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*, 189, 41-54.
97. Varraso, R., Massin, N., Hery, M., Fradier-Dusch, M., Michaely, J.-P., Fournier, M., Hubert, G., Biette, P., Rieger, B., Berthelin, A., Hecht, G., and Nadif, R. (2002). Not only training but exposure to chlorinated compounds generates a response to oxidative stimuli in swimmers. *Toxicology and Industrial Health*, 18, 269-278.
98. Vollaard, N.B.J., Cooper, C.E., and Shearman, J.P. (2006). Exercise-induced oxidative stress in overload training and tapering. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 38, 1335-1341.

99. Volllaard, N.B.J., Shearman, J.P., and Cooper, C.E. (2005). Exercise-induced oxidative stress: Myths, realities and physiological relevance. *Sports Medicine*, 35, 1045-1062.
100. Watson, T.A., MacDonald-Wicks, L.K., and Garg, M.L. (2005). Oxidative stress and antioxidants in athletes undertaking regular exercise training. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 15, 131-146.
101. Williams, M.H. (2002). *Nutrition for Health, Fitness and Sport*. Boston, MA: WCB/McGraw-Hill.
102. Zarkadas, P.C., Carter, J.B., and Banister, E.W. (1995). Modelling the effect of taper on performance, maximal oxygen uptake, and the anaerobic threshold in endurance triathletes. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 393, 179-186.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΥΓΙΕΙΝΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΑΘΛΟΥΜΕΝΩΝ

ΤΡΙΗΜΕΡΟ ΔΕΛΤΙΟ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΚΟΛΥΜΒΗΤΩΝ/-ΡΙΩΝ

Γενικές οδηγίες

Παρακαλώ να σημειώνετε τη διατροφή σας το συντομότερο δυνατό από τη στιγμή που τρώτε. Θα πρέπει να καταγράφετε όλα τα τρόφιμα που καταναλώνετε με ειλικρίνεια. Θα καταγράψετε τη διατροφή σας δύο καθημερινών και μίας ημέρας μέσα στο Σαββατοκύριακο.

Να περιγράφετε με τη μεγαλύτερη ακρίβεια την τροφή που καταναλώνετε. Η περιγραφή θα είναι για το είδος τροφίμου ή του φαγητού ή του ποτού και την ποσότητά του. Π.χ. ένα μήλο, μια φέτα ψωμί, ένα ρηχό πιάτο μακαρόνια σκέτα, ενάμισι πιάτο μακαρόνια με κιμά, τρεις μέτριες πιπεριές γεμιστές με ρύζι και κιμά, ένα κανονικό ποτήρι γάλα με κακάο, μια φέτα ψωμί με ένα κουταλάκι βούτυρο και ένα κουταλάκι μέλι, ένα σάντουιτς με δύο φέτες κασέρι, μισό πιάτο αγγουροντομάτα με μια κουταλιά ελαιόλαδο.

Τυπικές ποσότητες τροφής σε γραμμάρια: Κέικ 50 γρ., πάστα 70 γρ., κρέας γενικά 120 γρ., κεφτέδες χωρίς σάλτσα 140 γρ., ένα πιάτο μακαρόνια ή ρύζι 230 γρ., παστίτσιο 200 γρ., ένα πιάτο πατάτες φούρνου ή βραστές ή γιαχνί 250 γρ., ένα πιάτο αρακά ή φασολάκια 170 γρ., δύο μεγάλα ή τρία μέτρια γεμιστά 220 γρ., ένα πιάτο πατάτες ή κολοκυθάκια τηγανητά 150 γρ., ένα βαθύ πιάτο φασολάδα ή φακές 350 γρ., τυρόπιτα ή σπανακόπιτα 140 γρ., ένα πιάτο σαλάτα βραστή ή αγγουροντομάτα 200 γρ., ένα πιάτο σαλάτα μαρούλι ή λάχανο 140 γρ., ένα πιάτο σπανακόρυζο (ένα φλιτζάνι μεγάλο) 300 γρ., τυρί φέτα 60 γρ., ψωμί φέτα 30 γρ.

Αν υπάρχει ζυγαριά τροφίμων στο σπίτι θα μας διευκολύνετε εάν ζυγίζετε τα τρόφιμα που καταναλώνετε.

Αν λαμβάνετε κάποια συμπληρώματα διατροφής αυτά θα πρέπει να καταγραφούν στον αντίστοιχο πίνακα.

Μην ξεχάσετε να γράψετε τις ακριβείς ημερομηνίες καταγραφής της διατροφής καθώς και τα προσωπικά στοιχεία που ζητούνται. Στις περιπτώσεις παιδιών προεφηβικής ηλικίας κρίνεται απαραίτητη η συνδρομή των γονέων.

Η ακριβής παρακολούθηση της διατροφής σας θα αναδείξει τα πλεονεκτήματα ή τα προβλήματα του τρόπου που διατρέφεστε και, από τα αποτελέσματα που θα σας κοινοποιηθούν, θα σας δοθεί η δυνατότητα μέσα από την καθημερινή διατροφή, να κερδίσετε την απαιτούμενη ενέργεια και τα απαραίτητα συστατικά για τη βελτίωση της υγείας σας και της απόδοσής σας.

Ευχαριστούμε

Όνοματεπώνυμο:	
-----------------------	--

Ημερομηνία	ΤΡΟΦΙΜΟ / ΠΟΤΟ	σε
ΠΡΩΙ		
ΕΝΔΙΑΜΕΣΑ		
ΜΕΣΗΜΕΡΙ		
ΕΝΔΙΑΜΕΣΑ		
ΒΡΑΔΥ		
ΠΡΙΝ ΤΟΝ ΥΠΝΟ		

Ημερομηνία	ΤΡΟΦΙΜΟ / ΠΟΤΟ	σε
ΠΡΩΙ		
ΕΝΔΙΑΜΕΣΑ		
ΜΕΣΗΜΕΡΙ		
ΕΝΔΙΑΜΕΣΑ		
ΒΡΑΔΥ		
ΠΡΙΝ ΤΟΝ ΥΠΝΟ		

Ημερομηνία	ΤΡΟΦΙΜΟ / ΠΟΤΟ	σε
ΠΡΩΙ		
ΕΝΔΙΑΜΕΣΑ		
ΜΕΣΗΜΕΡΙ		
ΕΝΔΙΑΜΕΣΑ		
ΒΡΑΔΥ		
ΠΡΙΝ ΤΟΝ ΥΠΝΟ		

ΚΑΡΤΕΛΑ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΩΝ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΣΚΕΥΑΣΜΑ	ΜΟΡΦΗ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΟΣ	ΔΟΣΟΛΟΓΙΑ	ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΛΗΨΗΣ

Όνοματεπώνυμο:	
Ημερομηνία γέννησης:	
Τηλέφωνο οικίας:	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β

ΑΡΧΕΙΟ ΚΟΛΥΜΒΗΤΙΚΗΣ ΠΡΟΠΟΝΗΣΗΣ

Όνοματεπώνυμο προπονητή:	
Όνοματεπώνυμο κολυμβητή:	

Εβδομάδα	Προπονητικές μονάδες	Χιλιόμετρα	Χιλιόμετρα για κάθε είδος προπόνησης		
			REC:	EN3:	SP3:
			EN1:	SP1:	
			EN2:	SP2:	
			REC:	EN3:	SP3:
			EN1:	SP1:	
			EN2:	SP2:	
			REC:	EN3:	SP3:
			EN1:	SP1:	
			EN2:	SP2:	
			REC:	EN3:	SP3:
			EN1:	SP1:	
			EN2:	SP2:	
			REC:	EN3:	SP3:
			EN1:	SP1:	
			EN2:	SP2:	

Επεξήγηση (σύμφωνα με Maglischo, 2003)

	Είδος προπόνησης	Ενεργειακό σύστημα	Καρδιακή συχνότητα (bpm)	Συγκέντρωση γαλακτικού οξέος mmol/L
REC	Προθέρμανση-Αποθεραπεία	Αερόβιο	90-120	*
EN1	Αερόβια βασική	Αερόβιο	120-150	1-3
EN2	Αναερόβιο κατώφλι	Αερόβιο	160-190	3-5
EN3	Υπερφορτωμένη αερόβια	Αερόβιο	Μέγιστη	> 6
SP1	Γαλακτική ανοχή	Αναερόβιο γαλακτικό	*	*
SP2	Γαλακτική παραγωγή	Αναερόβιο γαλακτικό	*	*
SP3	Σπριντ (10-25m)	Αναερόβιο αγαλακτικό	*	*

* μη ενδεικτικές τιμές

ΚΑΡΤΕΛΑ ΓΥΜΝΑΣΤΗΡΙΟΥ

Όνοματεπώνυμο προπονητή:	
Όνοματεπώνυμο κολυμβητή:	

Εβδομάδα	Προπονητικές μονάδες	Μέση διάρκεια προπονητικής μονάδας	Μορφή δύναμης που αναπτύσσεται*

*ΜΟΡΦΕΣ ΔΥΝΑΜΗΣ (σύμφωνα με Olbrecht, 2000):

- Μέγιστη δύναμη
- Εκρηκτική δύναμη
- Αντοχή στη δύναμη

Σημειώστε τη μορφή δύναμης που αναπτύχθηκε κατά την αντίστοιχη περίοδο.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Γ

Πίνακας Γ1. Δεδομένα ημερήσιας πρόσληψης μακροθρεπτικών συστατικών των κολυμβητών (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)

Παράμετρος	Αρχική μέτρηση	Υψηλή επιβάρυνση	Φορμάρισμα
Ενέργεια (kcal/kg bw)	39 ± 6	43 ± 8	35 ± 9
Υδατάνθρακες (g)	293 ± 65	319 ± 78	260 ± 61
Υδατάνθρακες (g/kg bw)	4,15 ± 0,74	4,52 ± 1,07	3,67 ± 0,79
Υδατάνθρακες (%)	43 ± 5	43 ± 5	43 ± 6
Λίπη (g)	121 ± 27	131 ± 27	110 ± 39
Λίπη (g/kg bw)	1,71 ± 0,34	1,86 ± 0,35	1,56 ± 0,53
Λίπη (%)	40 ± 4	40 ± 4	39 ± 5
Πρωτεΐνες (g)	117 ± 36	139 ± 37	112 ± 35
Πρωτεΐνες (g/kg bw)	1,64 ± 0,43	1,96 ± 0,46	1,58 ± 0,47
Πρωτεΐνες (%)	17 ± 2	18 ± 3	18 ± 2
Κορεσμένα λιπαρά οξέα (g)	45 ± 10	47 ± 16	42 ± 16
Ακόρεστα λιπαρά οξέα (g)	46 ± 13	52 ± 12	43 ± 17
Πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (g)	18 ± 8	18 ± 8	15 ± 7
Χοληστερόλη (mg)	363 ± 144	380 ± 176	336 ± 163

Πίνακας Γ2. Δεδομένα ημερήσιας πρόσληψης βιταμινών των κολυμβητών (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση)

Παράμετρος	Αρχική μέτρηση	Υψηλή επιβάρυνση	Φορμάρισμα
Βιταμίνη D (μg)	5,1 ± 4,4	8,1 ± 6,6	6,2 ± 5,7
Βιταμίνη B₁ (mg)	2,5 ± 1,2	4,5 ± 5,5	2,2 ± 1,6
Βιταμίνη B₂ (mg)	2,7 ± 1,0	5,0 ± 6,7	2,6 ± 1,8
Βιταμίνη B₆ (mg)	3,0 ± 1,4	5,8 ± 8,0	2,7 ± 2,0
Βιταμίνη B₁₂ (μg)	9,1 ± 3,1	16,3 ± 22,3	9,3 ± 3,6
Φυλλικό οξύ (μg)	698 ± 1227	777 ± 858	398 ± 289
Βιοτίνη (μg)	63 ± 107	274 ± 601	70 ± 147
Νιασίνη (mg)	29 ± 17	39 ± 23	26 ± 16
Ρετινόλη (μg)	426 ± 161	510 ± 363	450 ± 273
Καροτένιο (μg)	4063 ± 7487	4828 ± 4178	2811 ± 3134

Πίνακας Γ3. Δεδομένα ημερήσιας πρόσληψης ανόργανων συστατικών των
κολυμβητών (μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση)

Παράμετρος	Αρχική μέτρηση	Υψηλή επιβάρυνση	Φορμάρισμα
Ασβέστιο (mg)	1565 \pm 489	1657 \pm 659	1312 \pm 640
Μαγνήσιο (mg)	372 \pm 148	578 \pm 437	346 \pm 162
Φωσφόρος (mg)	2027 \pm 835	2095 \pm 576	1643 \pm 498
Χαλκός (mg)	1,8 \pm 1,2	2,5 \pm 1,6	1,8 \pm 1,2
Ψευδάργυρος (mg)	18,1 \pm 8,6	27,8 \pm 25,0	18,2 \pm 11,2
Μαγγάνιο (mg)	3,6 \pm 1,5	4,7 \pm 1,6	3,2 \pm 1,3
Ιώδιο (μ g)	247 \pm 111	287 \pm 174	209 \pm 149
Νάτριο (mg)	3312 \pm 888	3582 \pm 1306	3081 \pm 943
Κάλιο (mg)	3517 \pm 1101	4025 \pm 1288	3202 \pm 1114
Χλώριο (mg)	5078 \pm 1771	5314 \pm 1910	4855 \pm 1822