

ass. mr Ljiljana M. Popović¹

prof. dr Dijana Mirić²

Medicinski fakultet Priština (sa sedištem u Kosovskoj Mitrovici)

¹Institut za kliničku fiziologiju, ² Institut za kliničku biohemiju

UTICAJ INTENZIVNE FIZIČKE AKTIVNOSTI NA PROCES LIPIDNE PEROKSIDACIJE I ANTIOKSIDANTNO DEJSTVO ASKORBINSKE KISELINE

1. UVOD

Kiseonik, hemijski element neophodan za očuvanje celokupnog aerobnog sveta, pojavio se u slobodnom stanju u atmosferi pre oko 2×10^5 godina. U to vreme nastao je verovatno kao posledica evolucije fotosintetičkih organizama, pri čemu je njegovo oslobađanje predstavljalo neizbežan sporedni toksični produkt fotosintetičkog procesa. Pozitivan efekat kiseonika na ljudsko zdravlje nije se dovedio u pitanje sve do otkrića slobodnih radikala i procesa lipidne peroksidacije.

Slobodni radikali nastaju univalentnim transferom elektrona na molekularni kiseonik. Zbog svoje biohemijske prirode i niske energije aktivacije sposobni su da reaguju sa biomolekulama svih ćelijskih struktura, vršeći pri tome njihovu hemijsku i fiziološku modifikaciju. Najveću osetljivost na dejstvo slobodnih radikala pokazuju nezasićene masne kiseline u biomembranama, nukleinske kiseline i SH grupe proteina.

U fiziološkim uslovima formiranje slobodnih radikala predstavlja kontrolisan proces i to delovanjem neenzimskih i enzimskih komponenti antioksidativne zaštite. Ovi antioksidansi svojim mehanizmima omogućavaju prevenciju, limitiranje i ukoliko je došlo do oštećenja, njegovu reparaciju. Antioksidantno dejstvo vitamina C bazirano je na njegovoj sposobnosti da neutrališe mnoge intermedijere i produkte slobodno radikalnih procesa, pri čemu iz ovih intermedijera nastaju stabilni produkti. Prisustvo vitamina C u plazmi efikasno sprečava oksidaciju lipida plazme, pri čemu su antioksidantni efekti ovog vitamina i brzina njegove reakcije sa peroksi radikalom veći u odnosu na druge antioksidante.

Sve veći broj informacija ukazuje na značajnu ulogu slobodnih radikala kao medijatora u procesu zapaljenja i oštećenja skeletnih mišića, nastalog nakon intenzivnog fizičkog napora.

1978 godine Dillard i sar. [1] su bili prvi koji su povezali fizičku aktivnost sa stanjem povećane lipidne peroksidacije. Od tada se uvećava broj dokaza koji po-

državaju hipotezu da fizička aktivnost može da intenzivira stvaranje slobodnih radikala i vodi ka nastanku oksidativnog stresa.

2. MATERIJAL I METODE

Polazeći od gore navedenih podataka postavljeni cilj ovog istraživanja bio je da se ispita povezanost intenzivnog fizičkog opterećenja sa procesom lipidne peroksidacije, kao i ponašanje askorbinske kiseline u datim okolnostima. Ovim bi se otvorila mogućnost razmatranja korisnog efekta askorbinske kiseline u prevenciji oštećenja nastalih intenzivnom fizičkom aktivnošću.

2.1. Učesnici u ispitivanju

Ispitivanje je izvedeno na 30 studenata medicine i stomatologije medicinskog fakulteta u Prištini, od čega je 21 bio muškog pola (70%), a 9 (30%) ženskog pola. Prosečna starost grupe iznosila je 22,5 godina i kretala se u rasponu od 22 do 24 godine. Prosečna visina ispitanika iznosila je 175,6 cm, a prosečna težina 70,6 kg. Na osnovu anamnestičkih podataka i fizikalnog nalaza isključeno je prisustvo akutnih i hroničnih oboljenja. Ispitanici su negirali upotrebu lekova, droga, alkohola i dodatnog unosa vitaminskih preparata.

2.2. Eksperimentalni protokol

Pre početka testa opterećenja na tredmilu ispitanicima je venepunkcijom kubitale vene uzimana venska krv i određivana bazalna vrednost MDA i askorbinske kiseline. Za određivanje opterećenja na tredmilu korišćen je Bruce Treadmill Protocol [2]. Pet minuta nakon završetka fizičkog opterećenja ponavljana je procedura uzimanja venske krvi i određivanje traženih parametara.

2.3. Biohemijske analize

Biohemijska ispitivanja obavljena su na Institutu za biohemiju medicinskog fakulteta u Prištini. Tom prilikom određivana je koncentracija MDA u serumu i status askorbinske kiseline (askorbinska kiselina, askorbat - Asc, dehidroaskorbat - DHA i odnos DHA/Asc)

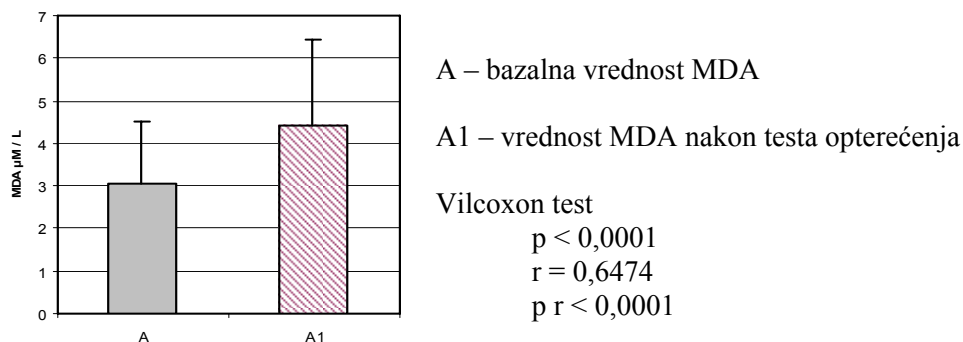
2.4. Statističke metode

Statistička obrada podataka izvršena je korišćenjem SPSS/PC softverskog paketa (ver. 10.0). Od parametara deskriptivne statistike određivani su: srednja vrednost (\bar{x}) i standardna devijacija (SD), a od komparativnih statističkih metoda korišćen je Studentov T-test i Vilcoxon-ov test (kada distribucija nije odgovarala Gausovom tipu). Kao statistički značajne uzimane su vrednosti sa $p < 0,05$.

3. REZULTATI I DISKUSIJA

Korisni efekti redovne i umerene fizičke aktivnosti poznati su od davnina. Vežbanjem se, između ostalog, poboljšava lipidni status plazme, povećava gustina kostiju, a takođe pomaže i u regulisanju telesne težine. Nasuprot ovome, intenzivna i neredovna fizička aktivnost ima negativan uticaj na zdravlje ljudi. Aktivnost ove vrste dovodi do pojave oksidativnog stresa koji se karakteriše povećanom koncentracijom aktivnih kiseoničkih jedinjenja (O_2^- , H_2O_2 i HO^{\cdot}), poznatih i kao slobodni radikali. Postoje tri glavna izvora odgovorna za produkciju slobodnih radikala tokom vežbanja. To su : elektronski transportni lanac u mitohondrijama, ishemijsko-reperfuziono oštećenje i aktivirani fagociti na mestu ćelijskog i tkivnog oštećenja. Novija istraživanja su ovim mehanizmima pridodala i autooksidaciju kateholamina kao i konverziju slabog superoksida u jači hidroksil radikal uz pomoć mlečne kiseline [3]. Pri tome je poznato da je intenzivna fizička aktivnost posledično praćena laktat acidozom u krvi i mišićima, a takođe i značajnim povećanjem nivoa kateholamina u plazmi [4].

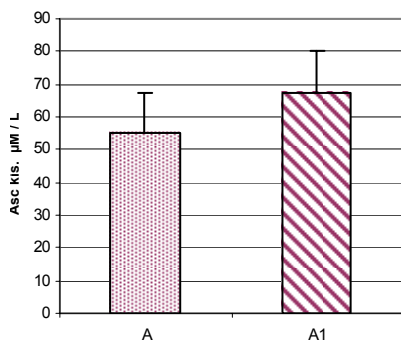
Promena nivoa MDA u krvi ili ispitivanim tkivima, nakon akutne ili redovne fizičke aktivnosti, primećena je kako kod ljudi, tako i na životinjskim modelima. U nekoliko studija primećeno je da akutna fizička aktivnost dovodi do povećanja nivoa MDA u serumu [5, 6]. Marzatico i sar. [7] utvrdili su povećani nivo MDA u plazmi sprintera čak i 48 časova nakon takmičenja, a kod maratonaca neposredno nakon završetka trke. U istraživanjima koja su izvršili Kanter i sar. [8] nivo MDA u plazmi trkača je porastao čak za 70% nakon završetka trke. Ovo povećanje bilo je u pozitivnoj korelaciji sa rastom nivoa kreatinkinaze (CK) i laktatdehidrogenaze (LDH) u plazmi, a oba enzima predstavljaju markere fizičkog oštećenja mišića. Child i sar. [9] su proučavajući nivo MDA u plazmi maratonaca nakon takmičenja utvrdili da on raste približno za 40%.



Grafikon 1.: Usporedni odnos koncentracije malondialdehida (MDA) u serumu pre i nakon testa fizičkog opterećenja

Vrednost MDA u plazmi studenata pre izvođenja testa fizičkog opterećenja (bazalna vrednost) iznosila je 3,037 $\mu\text{M/L}$. Nakon testa akutnog fizičkog opterećenja na tredmilu došlo je do značajnog povećanja nivoa MDA u krvi (4,397 $\mu\text{M/L}$) i taj porast je bio statistički izuzetno značajan ($p < 0,0001$). Povećanje nivoa ovog markera u krvi ukazuje na intenziviranje procesa lipidne peroksidacije kao odgovor na pojačanu fizičku aktivnost. L-askorbinska kiselina (vitamin C) predstavlja najefikasniji hidrosolubilni antioksidant. Dve hidroksilne grupe (vezane za C-2 i C-3 molekul askorbinske kiseline) sposobne su da otpuštaju i primaju vodonikove atome, čime omogućavaju askorbinskoj kiselini ulogu snažnog redoks sistema. U prisustvu kiseonika i drugih oksidativnih agenasa, L-askorbinska kiselina brzo se oksidiše prelazeći u dehidroaskorbinsku kiselinu, koja zatim može ponovo da se redukuje u enolski oblik L-askorbinske kiseline. Ova reverzibilna reakcija nalazi se u osnovi redoks sistema vitamina C. Koncentracija vitamina C u plazmi pokazuje karakteristične promene tokom i nakon stresnih stanja indukovanih pojačanom fizičkom aktivnošću. Glesson i sar. su objavili da koncentracija askorbinske kiseline u plazmi raste od bazalnih 52,7 $\mu\text{M/L}$ na 67,0 $\mu\text{M/L}$ neposredno nakon završetka trke dugačke 21 km. 24 sata nakon završetka trke koncentracija askorbinske kiseline bila je za 20% niža u odnosu na bazalnu vrednost i ostajala tako niska narednih 48 sati. Gleeson i sar. [10] su takođe utvrdili da je koncentracija askorbinske kiseline u plazmi povećana neposredno nakon završetka maratona, ali se vrednost vraćala na normalnu za 24 sata. Povećan nivo vitamina C u plazmi nakon treninga primećen je i kod profesionalnih fudbalera, a da pri tome oni nisu dodatno unosili ovaj vitamin. Primećen povišeni nivo je verovatno rezultat prelaska askorbinske kiseline iz tkiva u krv kao posledica vežbanja [11]. Slične promene koncentracije vitamina C u plazmi tokom i nakon fizičkih opterećenja, različitih intenziteta i trajanja, primetili su i mnogi drugi istraživači u različitim laboratorijama [12,13].

U prezentovanom radu takođe je primećena izvesna promena u koncentraciji askorbinske kiseline u plazmi.



A – bazalna vrednost koncentracije askorbinske kiseline

A1 – vrednost koncentracije askorbinske kiseline nakon testa opterećenja

Studentov t-test

$p < 0,0001$

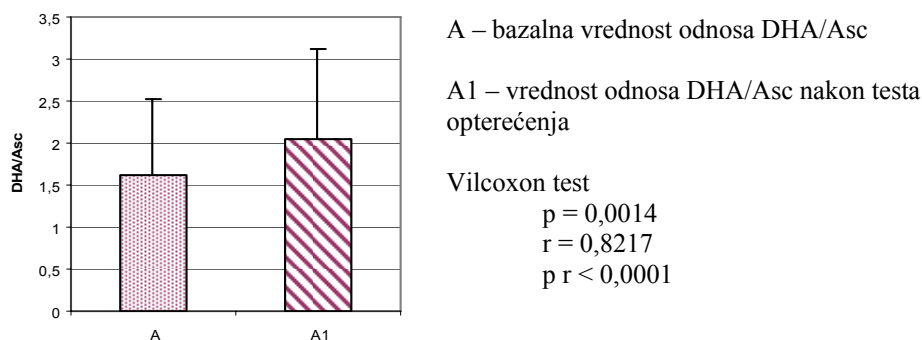
$r = 0,7129$

$p r < 0,0001$

Grafikon 2.: Uporedni odnos koncentracije askorbinske kiseline u serumu pre i nakon testa fizičkog opterećenja

Bazalna vrednost askorbinske kiseline u plazmi ispitanika iznosila je 54,4 $\mu\text{M/L}$. Pet minuta nakon završetka testa intenzivnog fizičkog opterećenja na tredmilu koncentracija askorbinske kiseline u plazmi je porasla na 67,37 $\mu\text{M/L}$ i ta promena je pokazivala statistički izuzetnu značajnost ($p < 0,0001$). Kao zaključak nameće se činjenica da akutni stres fizičkog opterećenja dovodi do mobilizacije ovog vitamina i rasta njegove koncentracije u krvi.

Kada se želi procena antioksidantne uloge askorbinske kiseline, najčešće korišćena varijabla u tu svrhu je odnos dehidroaskorbat/askorbat u tkivima i telesnim tečnostima [14]. Iz tog razloga je i u prezentovanom radu određivan ovaj odnos.



Grafikon 3.: Upoređivanje odnosa DHA/Asc u serumu pre i nakon testa fizičkog opterećenja

Na početku ispitivanja taj odnos je iznosio 1,62, da bi nakon testa porastao na 2,0451 ($p=0,0014$). Ovo značajno povećanje odnosa DHA/askorbat nakon završetka testa pokazatelj je uključivanja redoks–kapaciteta askorbinske kiseline u proces lipidne peroksidacije sa ciljem sprečavanja delovanja novonastalih slobodnih radikala tokom intenzivnog fizičkog napora (oksidativni stres).

4. ZAKLJUČAK

Na osnovu dobijenih rezultata mogu se izvesti sledeći zaključci:

- Intenzivna jednokratna fizička aktivnost dovodi do pojave oksidativnog stresa čije se delovanje ogleda u intenziviranju procesa lipidne peroksidacije i posledičnog oštećenja ćelija
- Tokom oksidativnog stresa izazvanog intenzivnom fizičkom aktivnošću dolazi do mobilizacije askorbinske kiseline iz tkiva i njenog ubacivanja u plazmu
- Askorbinska kiselina pokazuje izrazito antioksidantno (protektivno) dejstvo tokom procesa oksidativnog stresa izazvanog intenzivnom fizičkom aktivnošću

5. LITERATURA

1. Dillard CJ, et al (1978), *Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation*, J Appl Physiol 45:927-932
2. *American College of Sports Medicine's Guidelines for Exercise Testing and Prescription*. 6th ed. Philadelphia, Pa: Lippincott Williams & Wilkins; 1995.
3. Ramel A, Wagner KH and Elmadfa I, (2004), *Plasma antioxidants and lipid oxidation after submaximal resistance exercise in men*, European Journal of Nutrition, 43(1):2–6
4. Groussard C, et al (2003), *Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise*, Eur J Appl Physiol, 89(1):14 - 20
5. Miyazaki H, et al (2001), *Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise*, Eur J Appl Physiol. 84(1-2):1-6.
6. Koska J, et al (2000), *Insulin, catecholamines, glucose and antioxidant enzymes in oxidative damage during different loads in healthy humans*, Physiol Res.49 Suppl 1:S95-100
7. Marzatico F, et al (1997), *Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes*, J Sports Med Phys Fitness. 37(4):235-9
8. Kanter MM, et al (1988), *Serum creatine kinase and lactate dehydrogenase changes following an eighty kilometer race. Relationship to lipid peroxidation*, Eur J Appl Physiol, 57(1):60- 63
9. Child RB, Wilkinson DM, Fallowfield JL, (2000), *Effects of a Training Taper on Tissue Damage Indices, Serum Antioxidant Capacity and Half-Marathon Running Performance*, Int J Sports Med, 21: 325-331
10. Gleeson M, Robertson JD, Maughan RJ, (1987), *Influence of exercise on ascorbic acid status in man*, Clinical Science 73: 501–505
11. Brites FD, et al (1999), *Soccer players under regular training show oxidative stress but an improved plasma antioxidant status*, Clinical Science 96:381–385
12. Groussard C, et al (2003), *Physical fitness and plasma non-enzymatic antioxidant status at rest and after a wingate test*, Can J Appl Physiol., 28(1):79-92
13. Mastaloudis A, Leonard SW, Traber MG, (2001), *Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise*, Free Radical Biology and Medicine 31(7):911-922
14. Chevion S, et al (2003), *Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise*, PNAS 100(9):5119-5123.

EFFECT OF PHYSICAL EXERCISE ON LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT ASCORBIC ACID DEFENSE

Strenuous exercises greatly increase oxygen consumption in the whole body, especially in skeletal muscles. Large part of oxygen consumption is reduced to H₂O and ATP, but smaller part (2-5%) results in an increased leakage of electrons from the mitochondrial respiratory chain, forming various reactive oxygen species — ROS (O₂^{•-}, H₂O₂ i OH[•]). These free radicals are capable of triggering a chain of damaging biochemical and physio-

logical reactions (oxidative stress, lipid peroxidation), as a base for skeletal muscles damage after exercise. MDA (malondialdehyde) is a marker of exercise induced lipid peroxidation process. L-ascorbic acid is a major aqueous-phase antioxidant. To estimate antioxidant role of ascorbic acid we use rate between dehydroascorbate and ascorbate.

In this paper those markers were determined in 30 students, in rest and after treadmill running protocol (Bruce Treadmill Protocol). It was found that after the treadmill test, plasma MDA level had increased from 3,04 to 4,39 $\mu\text{M/L}$. Plasma ascorbic acid was also found to be higher after the treadmill test comparing to rest level (from 55,4 to 67,6 $\mu\text{M/L}$). DHA/A level in rest was 1,62 and after treadmill test it increased to 2,05. These results suggest that strenuous exercise increased process of lipid peroxidation, but in the same time increased ascorbic acid level in plasma and DHA/A rate indicates stronger antioxidant defense system.

Key words: exercise, oxidative stress, free radicals, lipid peroxidation, ascorbic acid

„Politika”, 02. februar 2006.

МЕЂУНАРОДНА КОНФЕРЕНЦИЈА ЦРНОГОРСКЕ СПОРТСКЕ АКАДЕМИЈЕ

О методологији рада у спорту

Теме су још „Друштвено-економски односи”
и „Нове технологије” у спорту

НИКШИЋ – Црногорска спортска академија од 6. до 9. априла организује Други конгрес и Трећу међународну научну конференцију у Будви. Подсетимо Прва научна конференција одржана је у Бару и на њој је било 87 учесника са 57 презентованих радова, прошле године у Котору одржан је Први конгрес и Друга научна конференција са 160 учесника и 108 радова.

На следећем конгресу теме су разврстане у три целине: Методологија рада у спорту; Нове технологије у спорту и Друштвено-економски односи у спорту. У оквиру последње целине су три подтематска подручја: Спорт у функцији превенције социопатолошких појава; Физичко васпитање у функцији деце и омладине и Менаџмент у спорту. Рок за

учешће и пријаве на конгресу био је 1. фебруар, а до јуче је примљено преко 70 наслова.

Међу ауторима смо приметили имена професора др Павла Опавског, Момчила Савића, Зорана Ђирковића, Славка Обадова, Патрике Дрида, Миливоја Донсаја... добро познатих широјој спортској јавности. На конгресу ће бити присутан Том Шустер, директор Агенције „Глобал спортнет” из Хамбурга који ће презентирати могуће релације са ТВ кућама, спонзорима и маркетингом у спорту.

– После Бара и Котора у Будви очекујемо да квалитетом презентованих радова превазиђемо два претходна веома успешна научна скупа, – казао је др Душко Бјелица, председник Црногорске спортске академије.

Б. Ђукановић