

# Άσκηση και παραγωγή ελευθέρων ριζών. Αντιοξειδωτικό σύστημα

Θανάσης Τζιαμούρτας, Ph.D.

Καθηγητής Βιοχημείας της Άσκησης

## Ο James Bond αντιμετωπίζει τις ελεύθερες ρίζες

**M :** "To many free radicals that's your problem"

**James Bond :** "Free radicals sir?"

**M :** "Yes the toxins that destroy the body and the brain. Caused by eating too much red meat and white bread, and too many dry martini's"

**James Bond :** Then I shall cut out the white bread sir!"

**Money Penny :** Have you got an assignment James

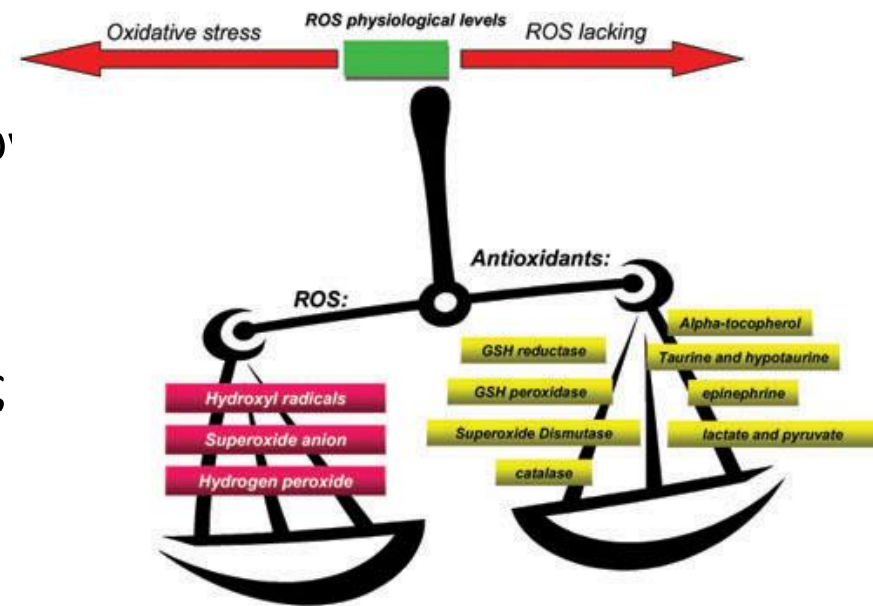
**James Bond :** Yes, yes Money Penny. I'm to eliminate all free radicals"

**Money Penny :** Oh! Do be careful!"

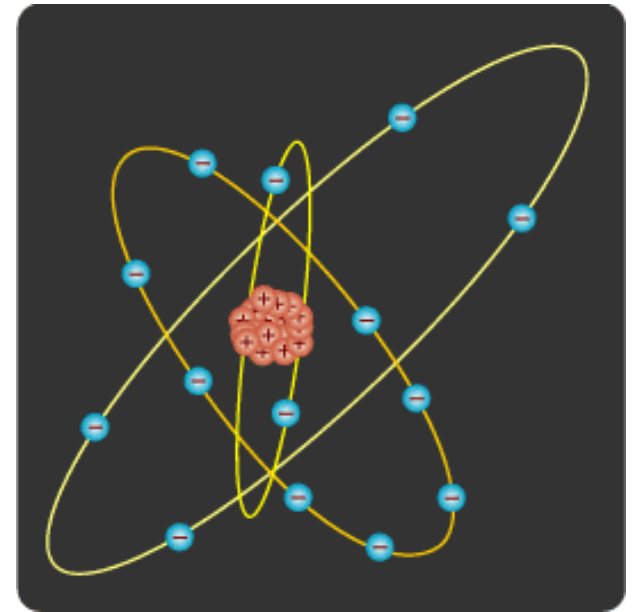


# Οξειδωτικό στρες

- Γενικός όρος ο οποίος αναφέρεται στην ανισορροπία μεταξύ της δημιουργίας δραστικών ειδών οξυγόνου και αζώτου και της απομάκρυνσης αυτών διαμέσου του αντιοξειδωτικού συστήματος
- Τα δραστικά είδη οξυγόνου και αζώτου είναι γνωστά και ως ελεύθερες ρίζες



- Είναι γνωστό από τη φυσική ότι το άτομο κάθε στοιχείου αποτελείται από τον πυρήνα και τα αρνητικά φορτισμένα ηλεκτρόνια που περιστρέφονται σε συγκεκριμένες τροχιές γύρω από αυτόν.
- Πυρήνας = πρωτόνια (+) και ηλεκτρόνια (-)



# Τι είναι ελεύθερες ρίζες;

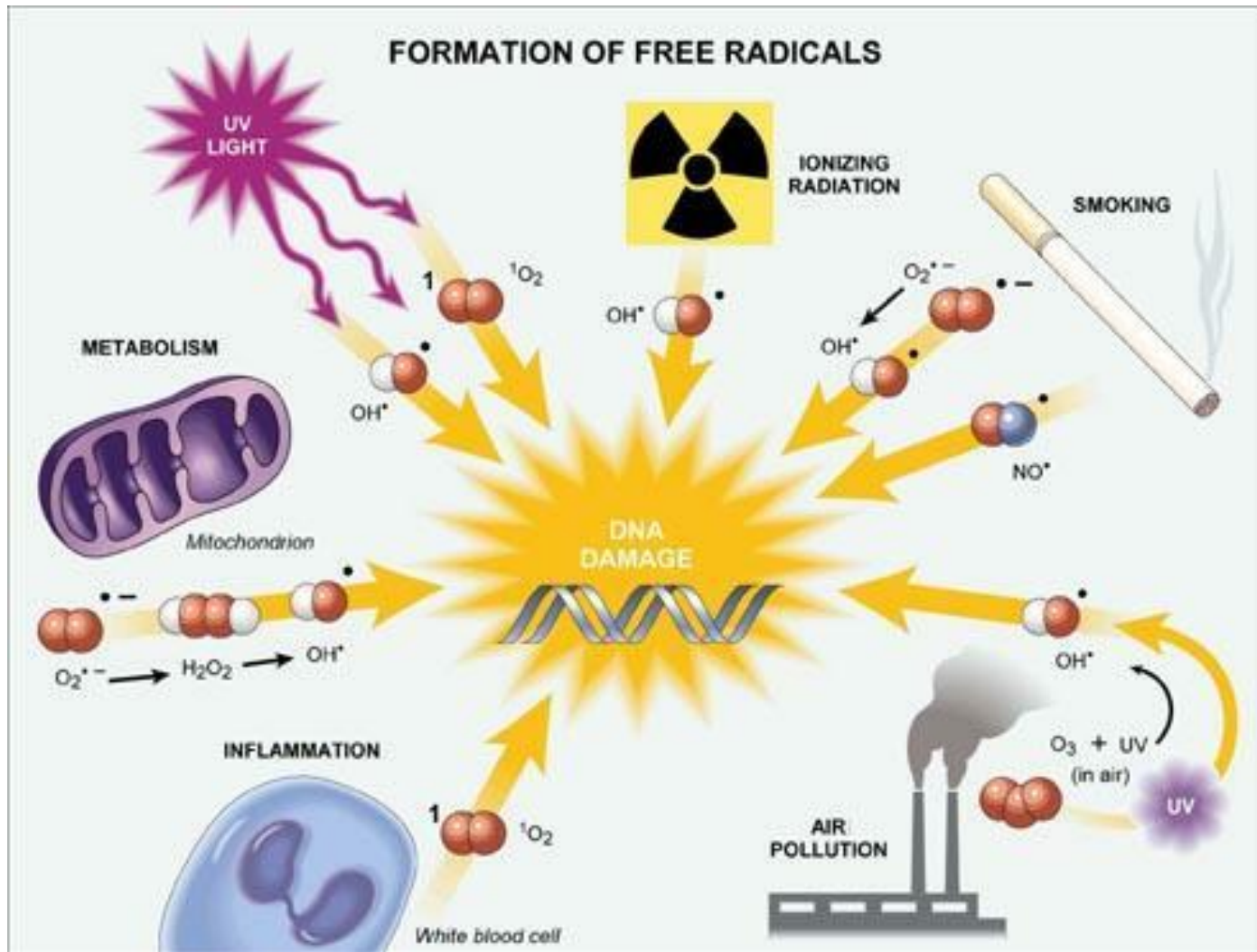
- Ουσίες οι οποίες έχουν ένα **αζευγάρωτο ηλεκτρόνιο** στην εξωτερική τους στιβάδα.
- Τα αζευγάρωτα ηλεκτρόνια είναι πολύ ασταθή και αντιδρούν πολύ εύκολα με άλλα άτομα ή μόρια. Είναι πολύ επικίνδυνα για ουσίες του σώματος, όπως τα **λιπίδια, οι πρωτεΐνες, οι υδατάνθρακες και το DNA.**



# Ελεύθερες Ρίζες

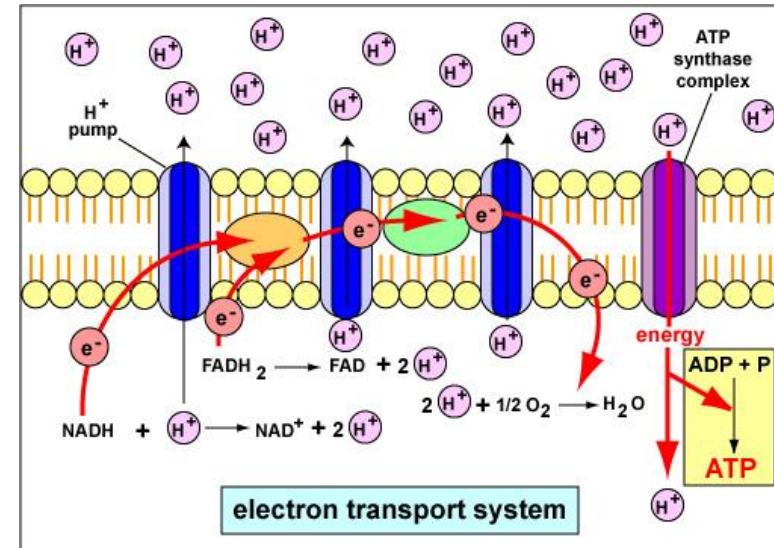
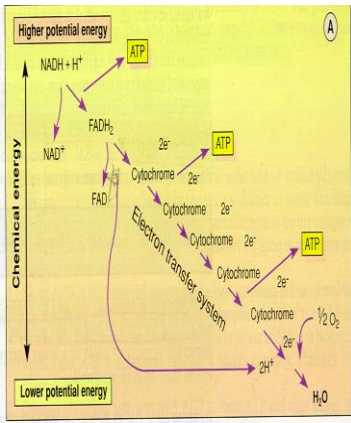
- **Ανιόν υπεροξειδίου** ή superoxide radical ( $O_2^-$ ).
- **Υπεροξείδιο του υδρογόνου** ή hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), το οποίο παράγεται από το ανιόν του υπεροξειδίου.
- **Ρίζες υδροξυλίου** ή hydroxyl radical ( $OH^*$ ). Δημιουργείται από τη διάσπαση του  $H_2O_2$ , το οποίο αν διασπαστεί στη μέση δίνει δύο ρίζες υδροξυλίου.
- **Ρίζες νιτρικού οξέος** ή nitric oxide ( $NO^*$ ) (J. Karlsson, 1997).

# Παράγοντες δημιουργίας ελευθέρων ριζών

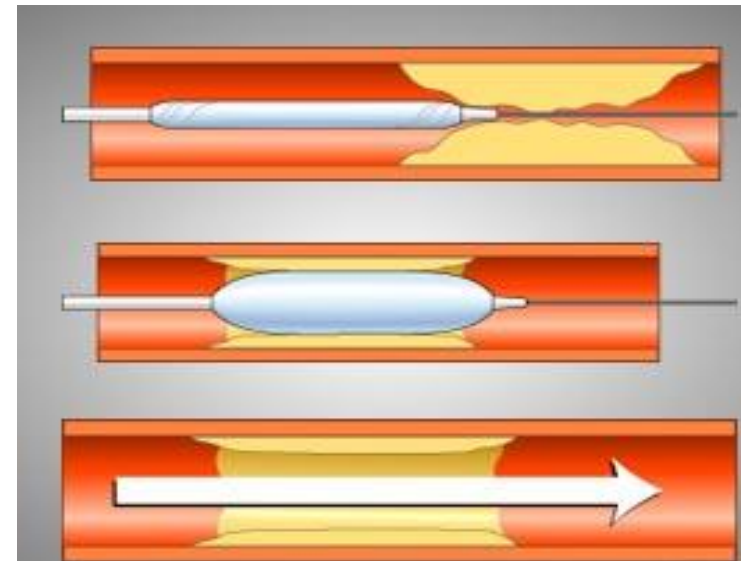


# Η αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών με την άσκηση πραγματοποιείται διαμέσου διαφορετικών τρόπων

1. Αποβολή των ηλεκτρονίων της αναπνευστικής αλυσίδας στο επίπεδο των κυτοχρωμάτων. Μία ποσότητα 2-5% του  $O_2$  το οποίο προσλαμβάνουμε δεν ανάγεται σε νερό αλλά δημιουργεί ελεύθερες ρίζες. Κυττοχρώματα



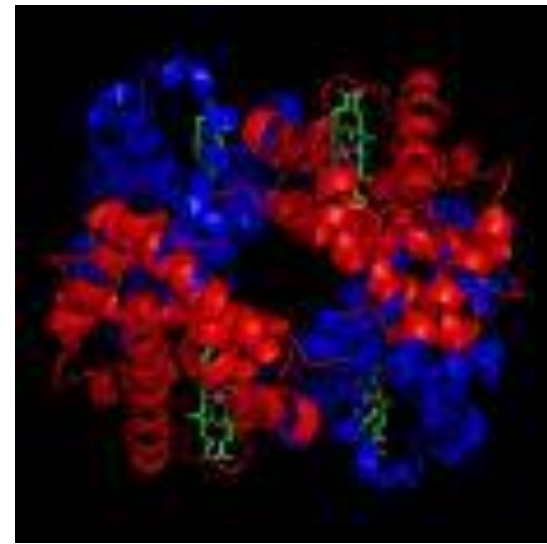
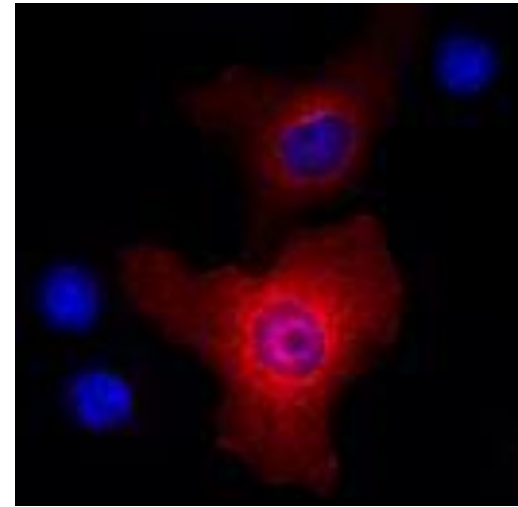
2. Μεταβολή στην αιματική ροή των μυών και στην απελευθέρωση O<sub>2</sub>, (underperfusion - reperfusion). Εμφράγματα



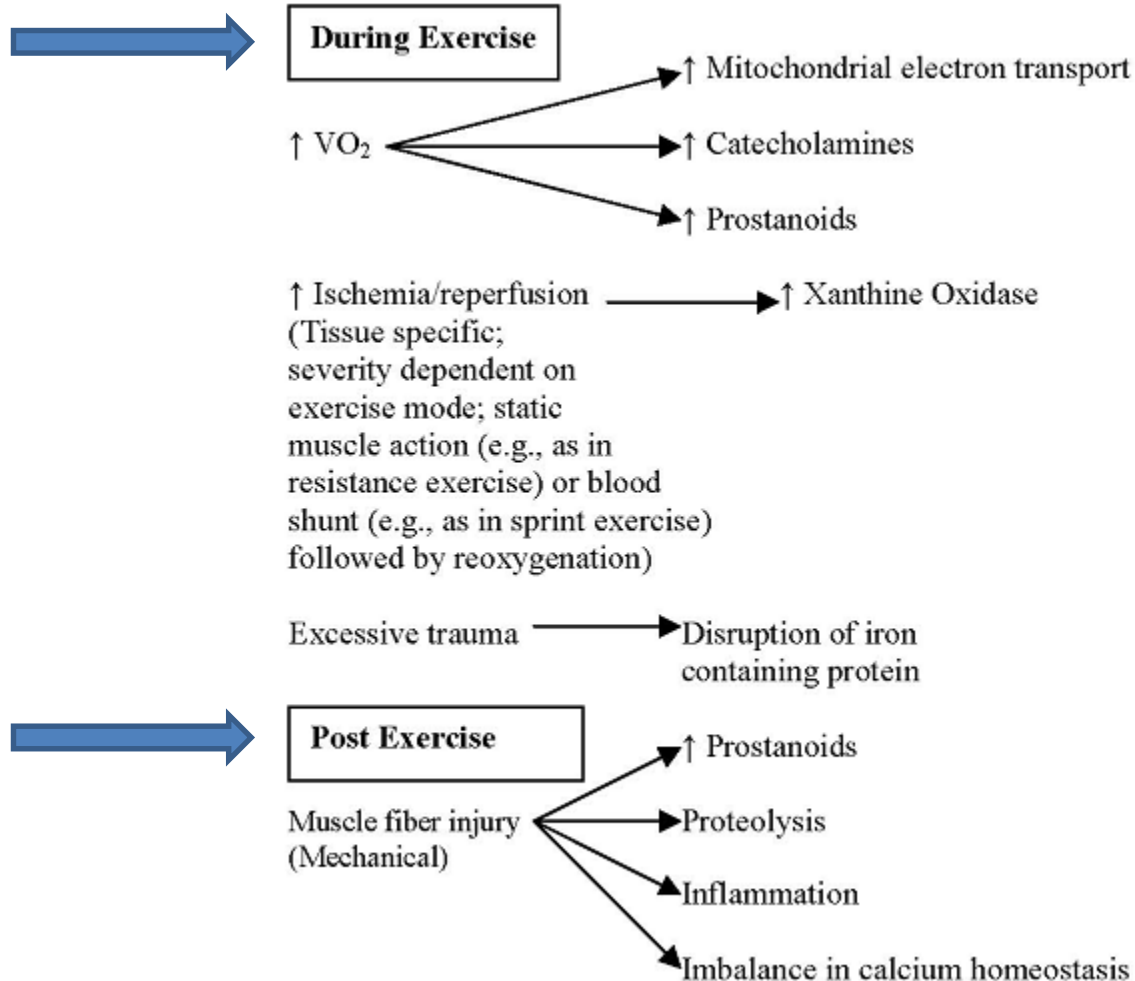


Η αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών με την άσκηση πραγματοποιείται διαμέσου διαφορετικών τρόπων

3. Ουδετερόφιλα και μακροφάγα κατά την καταστροφή «βλαβερών» ουσιών του οργανισμού (oxidative burst).
4. Οξείδωση αιμοσφαιρίνης, μυοσφαιρίνης και κατεχολαμινών

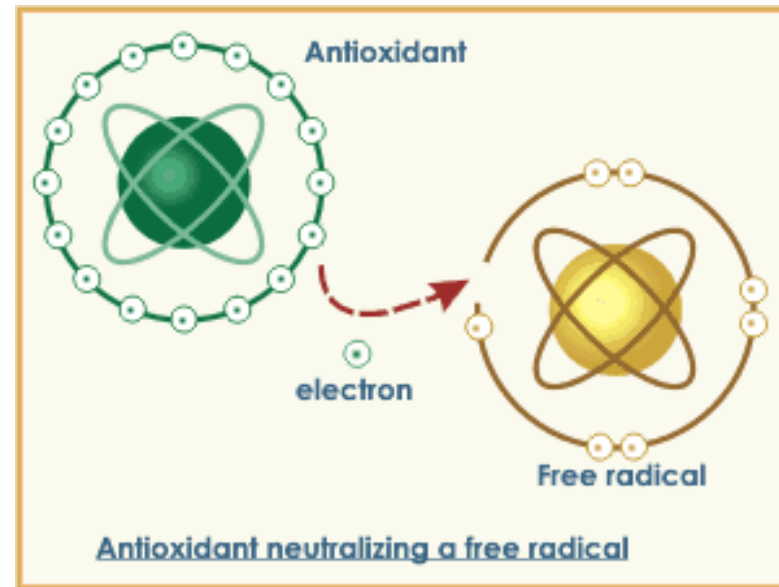


# Η αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών πραγματοποιείται διαμέσου διαφορετικών τρόπων (αναερόβια άσκηση)



# Αντιοξειδωτικές ουσίες

- Μηχανισμός για την αντιμετώπιση των ελευθέρων ριζών
- Ενζυμικό σύστημα και μη-ενζυμικό σύστημα



# Ενζυμικό Αντιοξειδωτικό Σύστημα

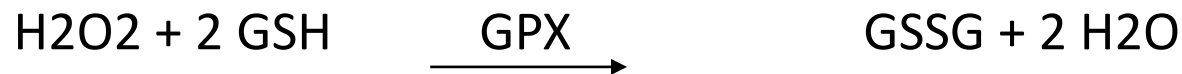
- Δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD)



- Καταλάση

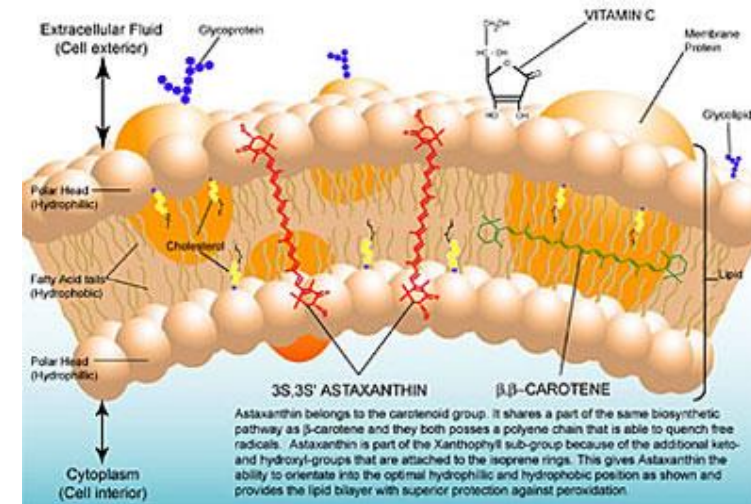
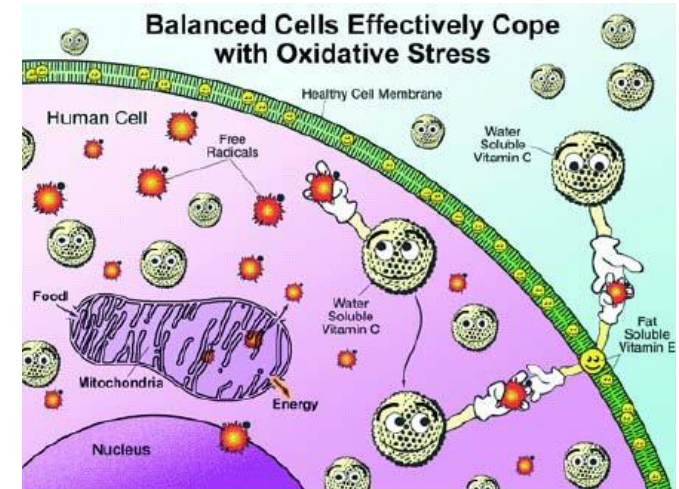


- Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης (GPX)

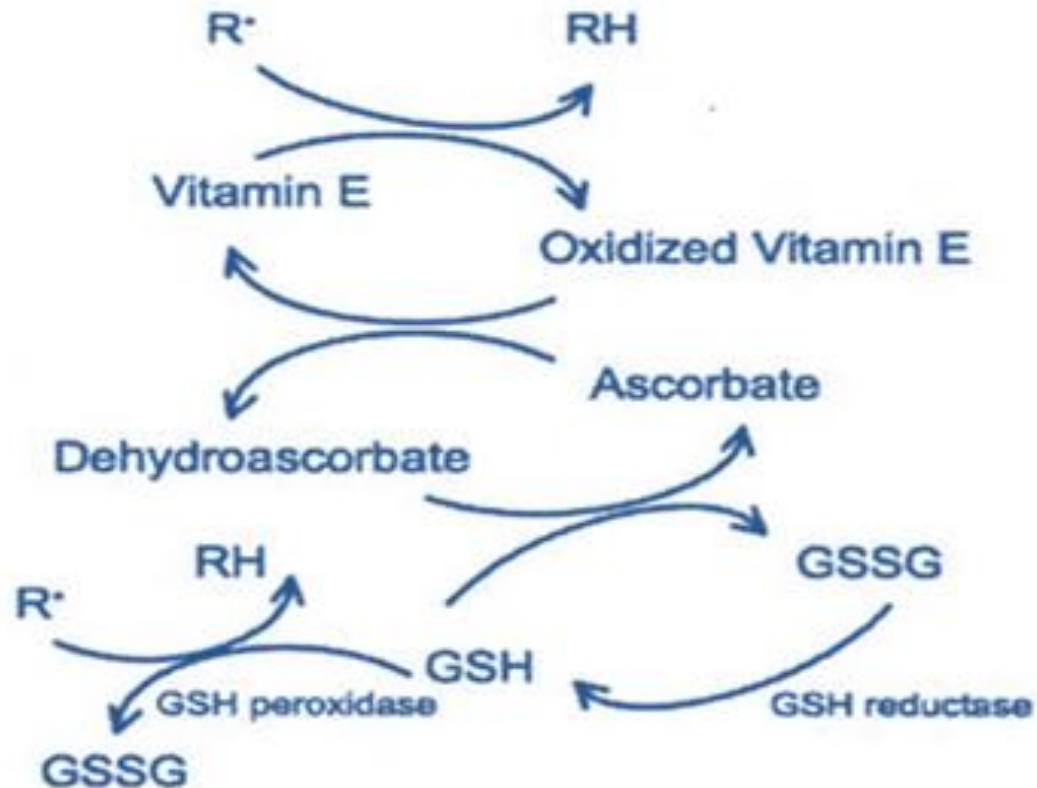


# Μη Ενζυμικό Αντιοξειδωτικό Σύστημα

- Βιταμίνη E
- Βιταμίνη C
- Βιταμίνη A ή ρετινόλη
- Συνένζυμο Q10
- Πρωτεΐνες θερμικού σοκ
- Φεριτίνη
- Αλβουμίνη
- Χολερυθρίνη
- Σερουλοπλασμίνη
- Φλαβινοειδή
- Ουρικό οξύ
- Θειόλες (γλουταθειόνη)



# Συνεργετική δράση αντιοξειδωτικών



## Μέθοδοι εκτίμησης του οξειδωτικού στρες

1. Εκπνεόμενο πεντάνιο
2. Μαλονδιαλδεΐδη (TBARS)
3. Υδροϋπεροξείδιο λιπιδίων
4. Ισοπροστάνια
5. Συζευγμένα διένια
6. Πρωτεϊνικά καρβονύλια
7. Ανηγμένη γλουταθειόνη (GSH)
8. Οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG)
9. Λόγος GSH/GSSG
10. Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα του ορού
11. Ουρικό οξύ
12. Χολερυθρίνη
13. Electron Spin Resonance (ESR)
14. Βιταμίνη C
15. Βιταμίνη E

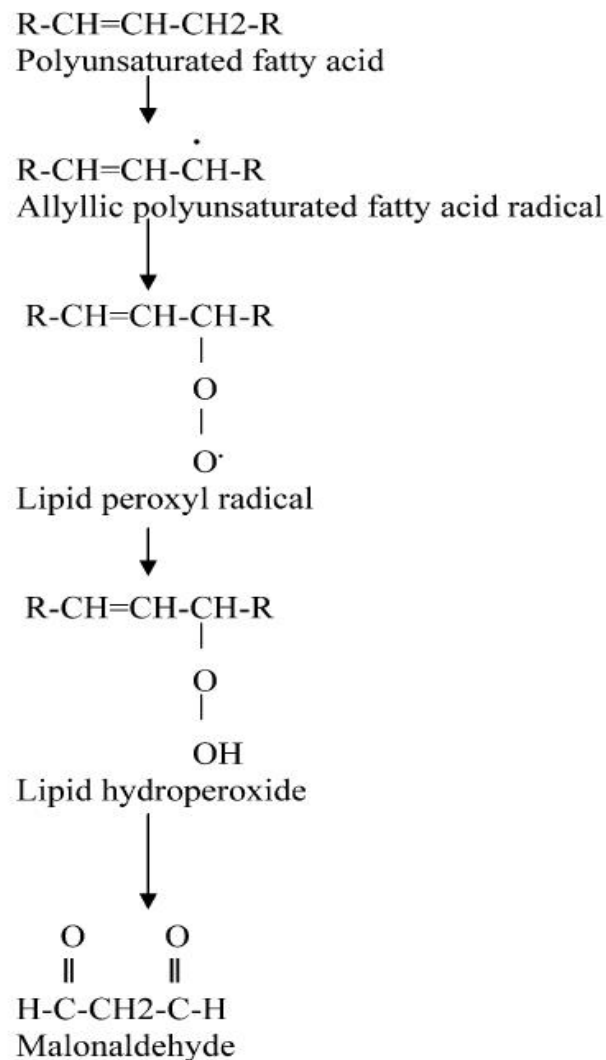
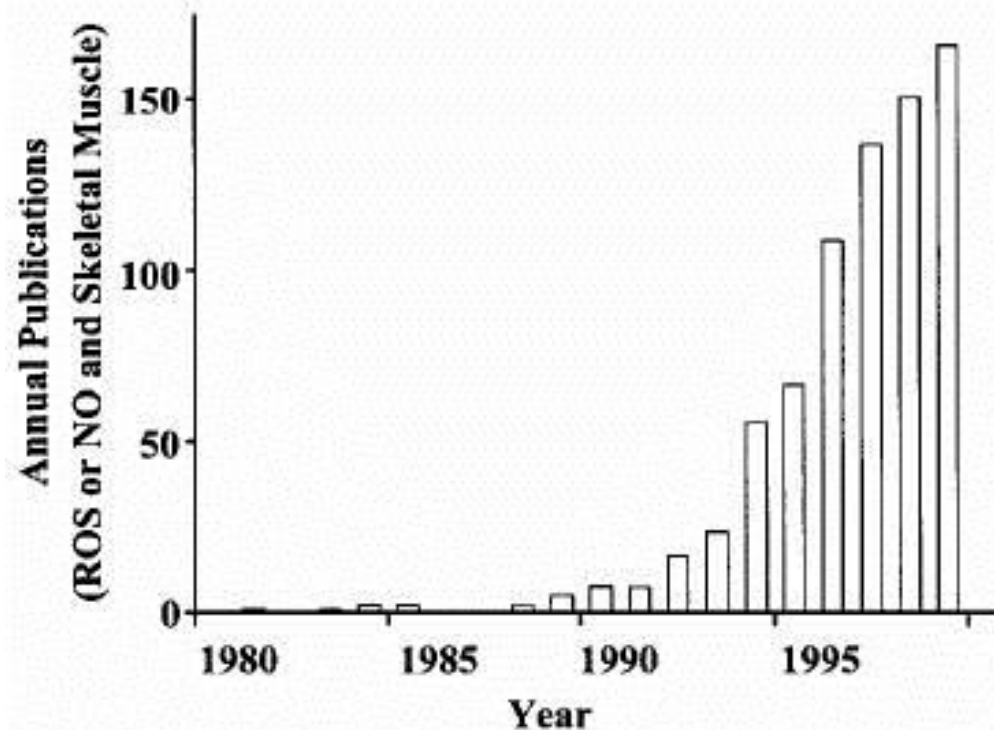


Fig. 1. Steps of lipid peroxidation (Alessio, 2000).

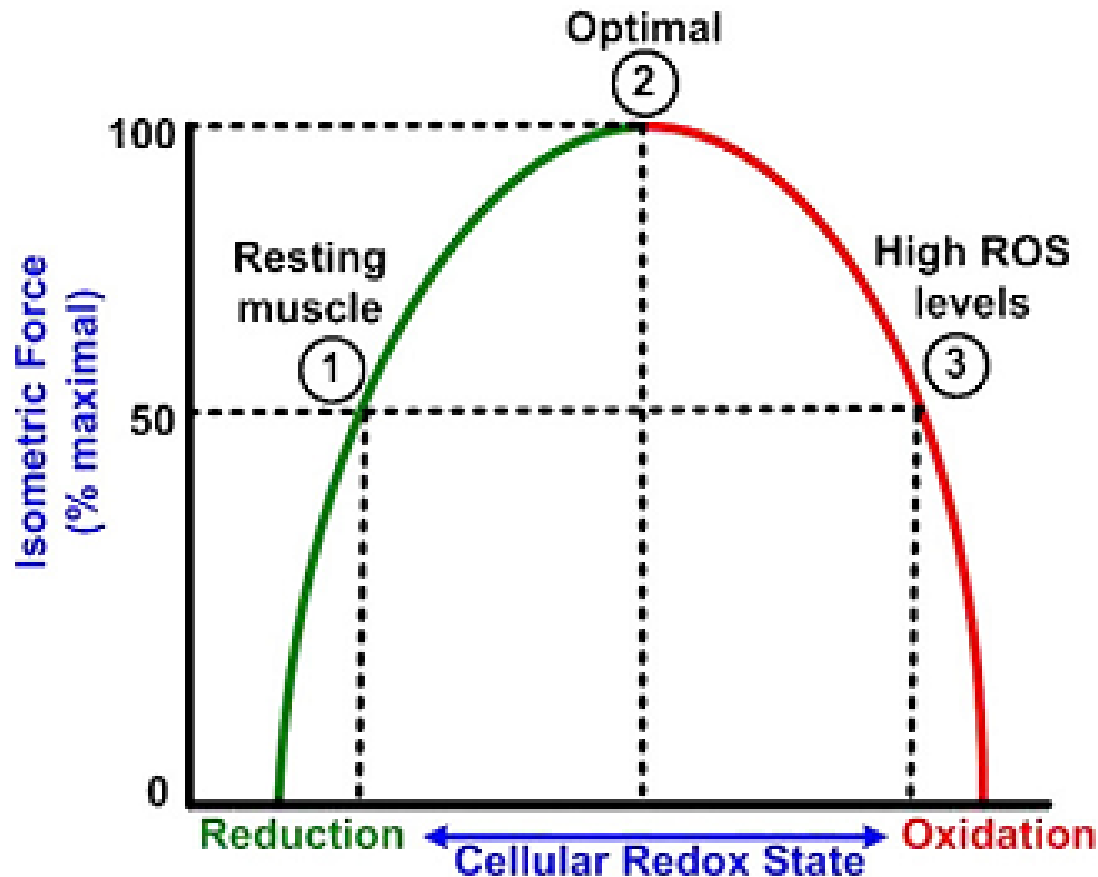
# Ελεύθερες ρίζες και άσκηση

- Το 1978 αναφέρθηκε για πρώτη φορά ότι ελεύθερες ρίζες εμφανίζονται κατά τη διάρκεια της άσκησης (Dillard et al. 1978)

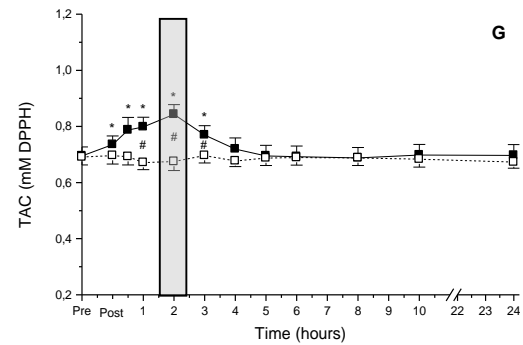
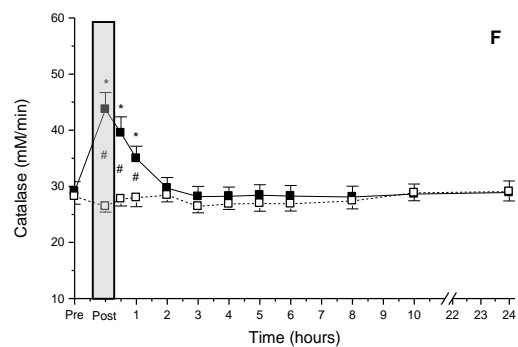
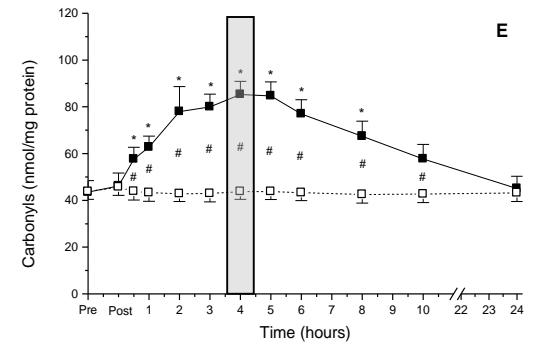
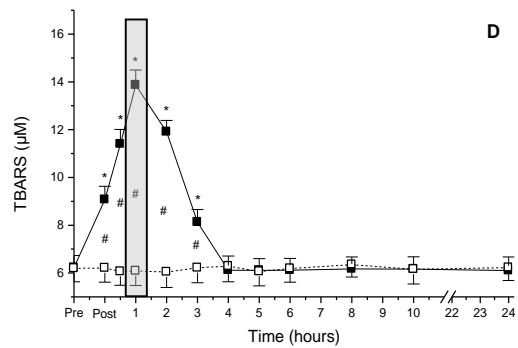
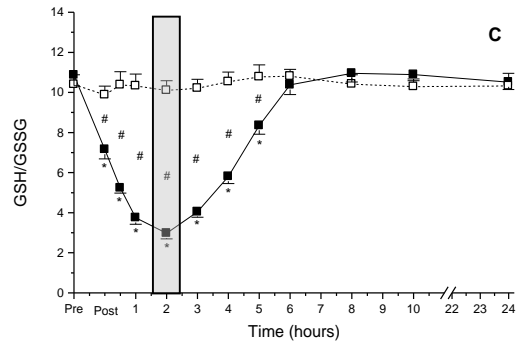
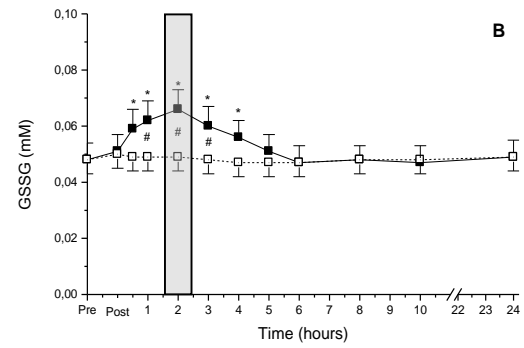
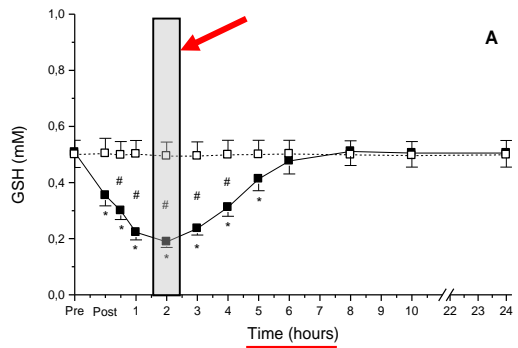




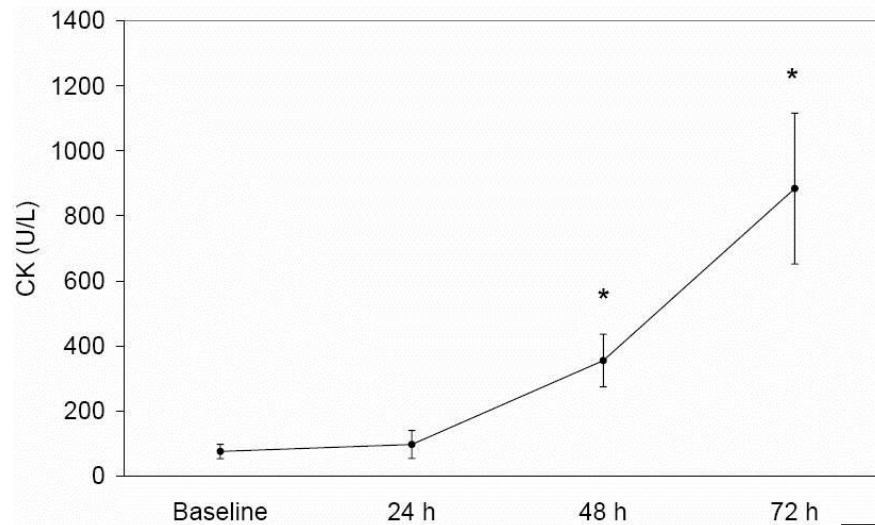
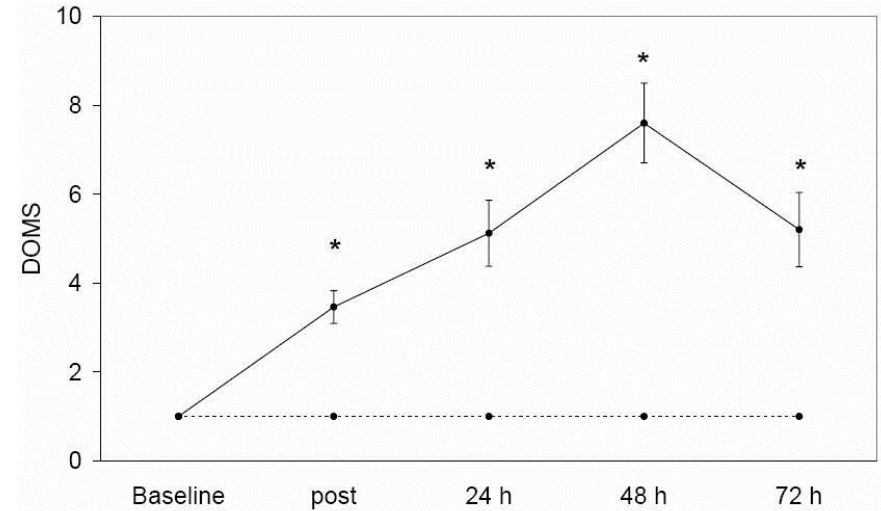
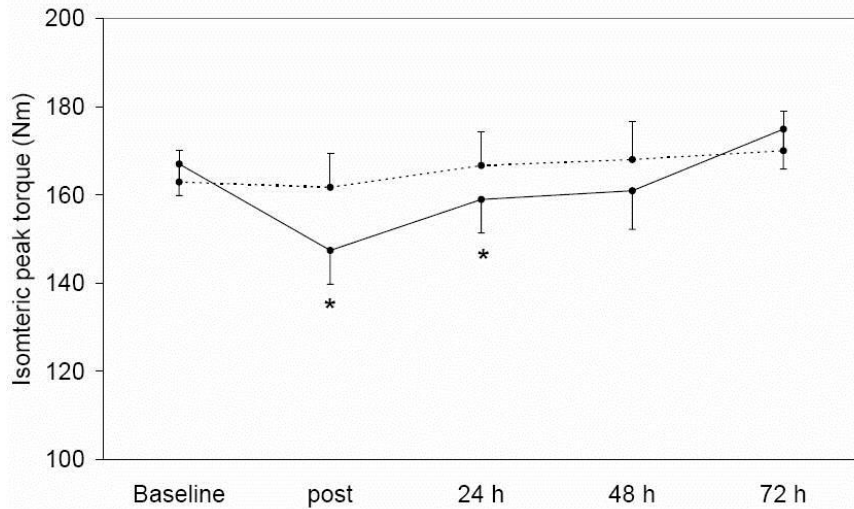
# Διφασική επίδραση του Οξειδωτικού στρες στη μυϊκή απόδοση

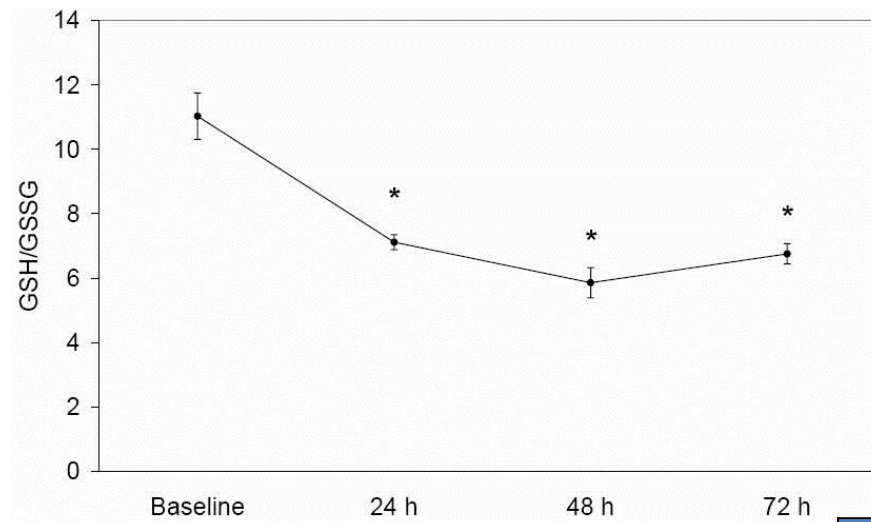
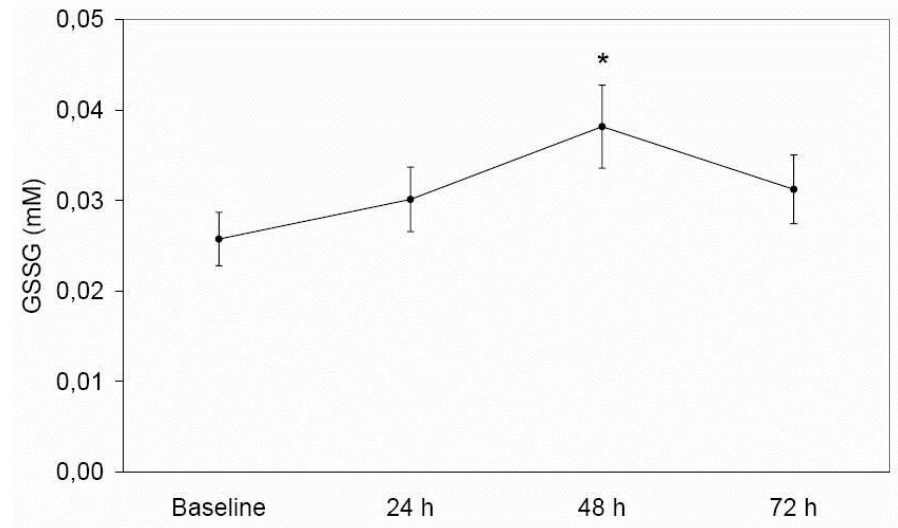
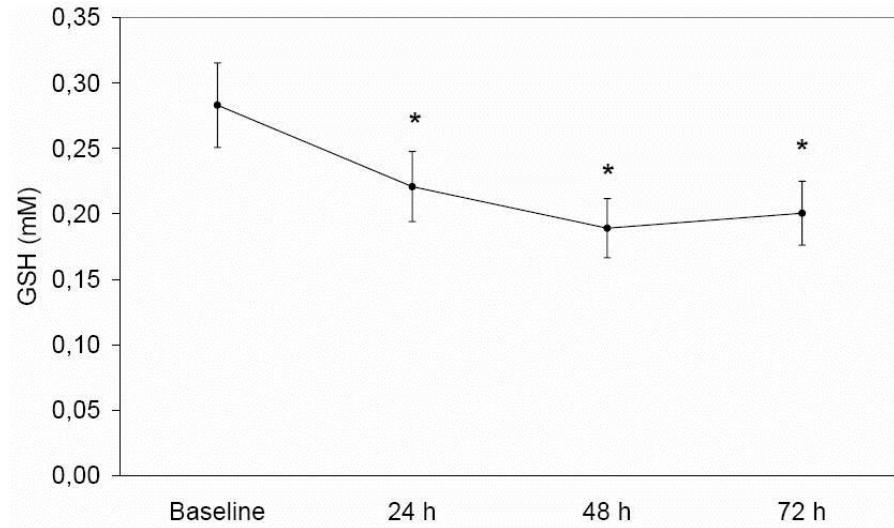


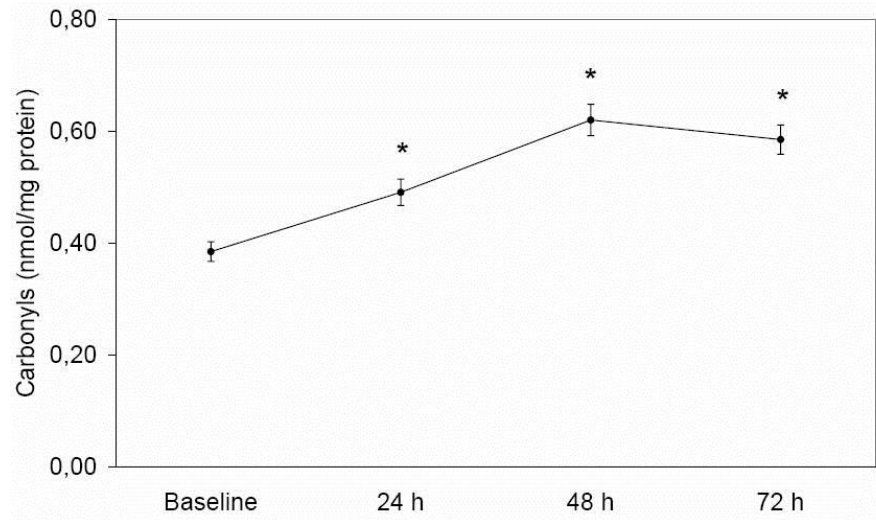
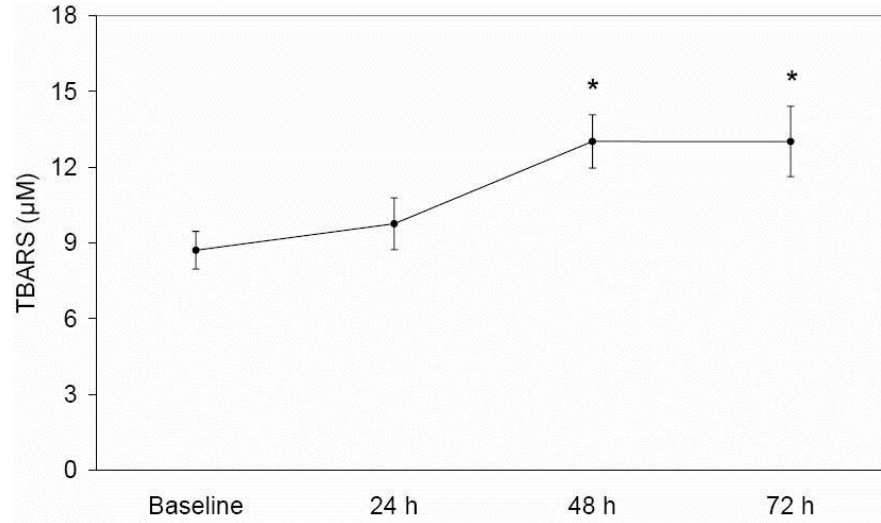
**Κινητική δεικτών οξειδωτικού στρες μετά από αερόβια άσκηση: ποιος είναι ο καταλληλότερος **χρόνος** για αιμοληψία**



# Ομοιόμορφες και παρατεταμένες μεταβολές σε δείκτες οξειδωτικού στρες μετά από **έκκεντρη** άσκηση







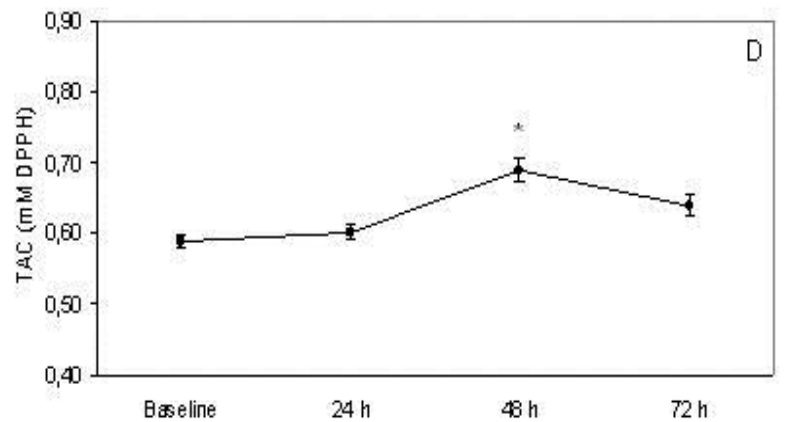
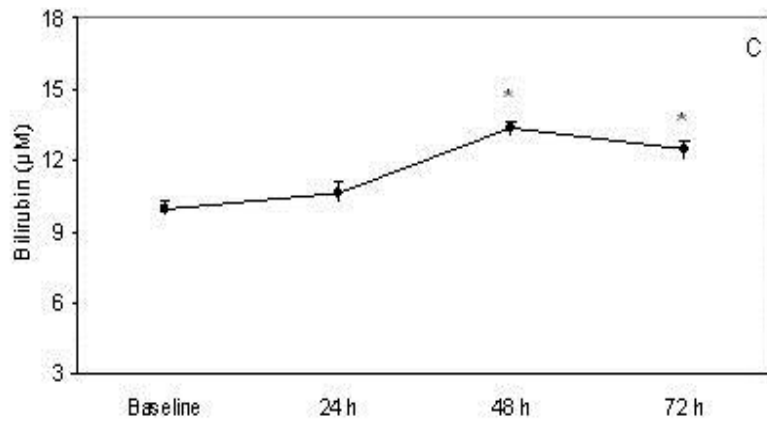
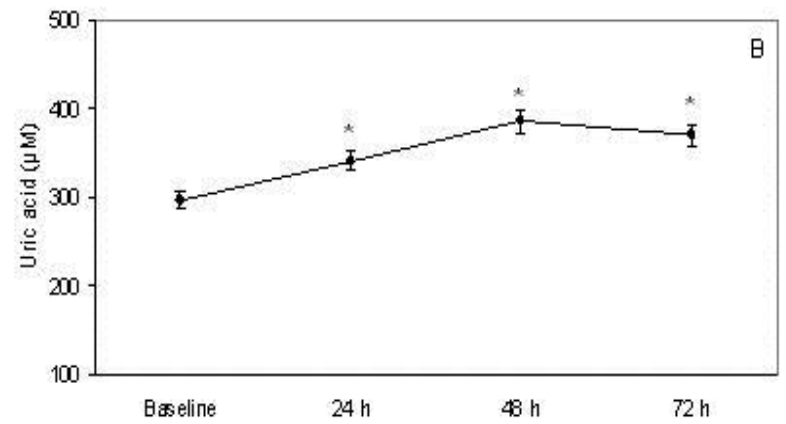
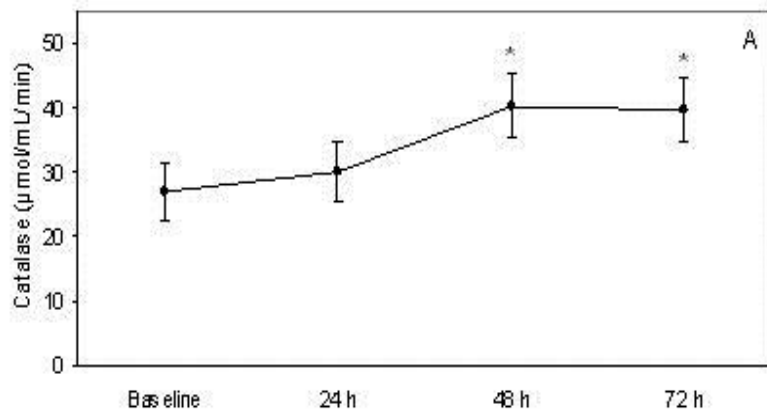
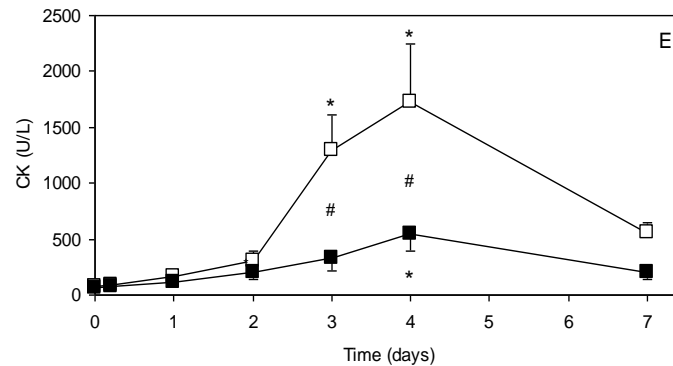
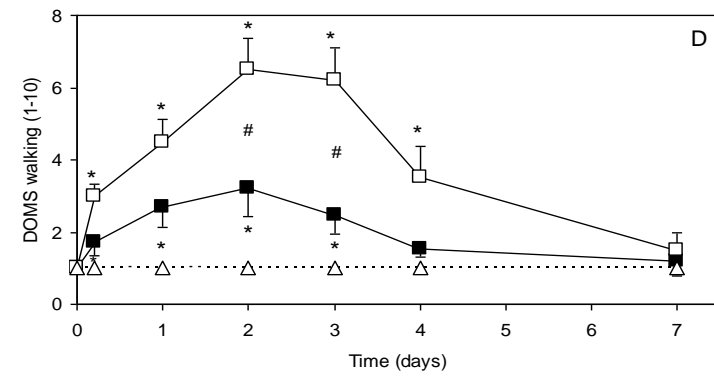
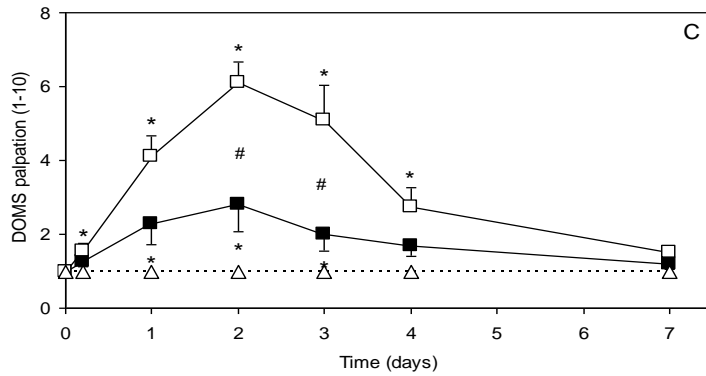
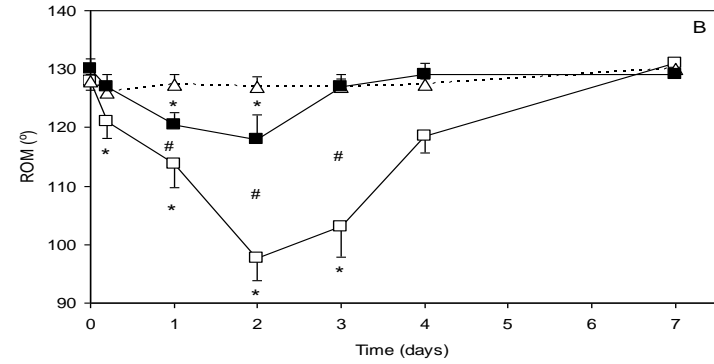
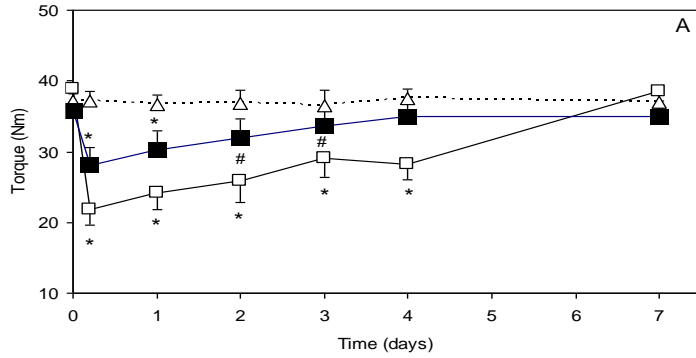
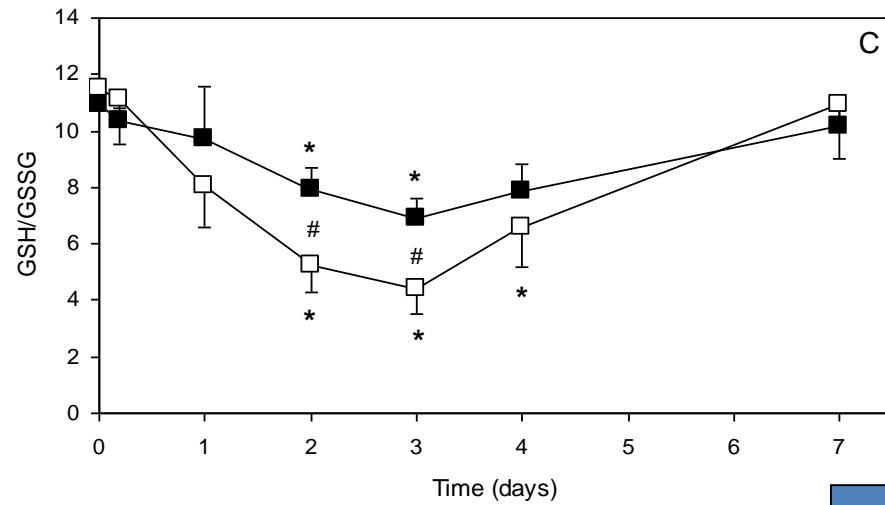
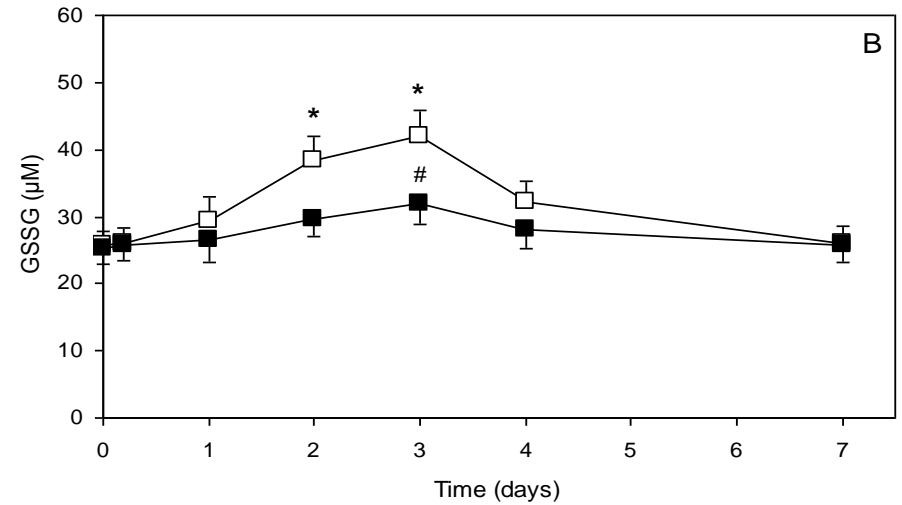
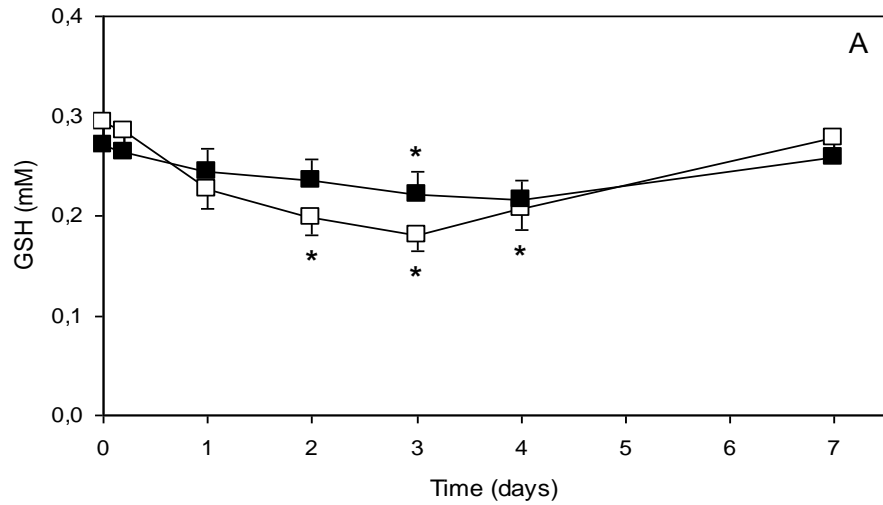


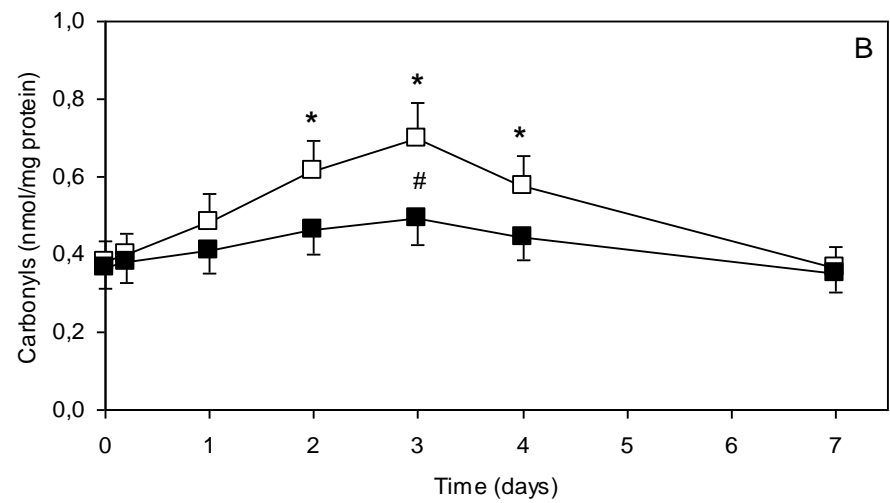
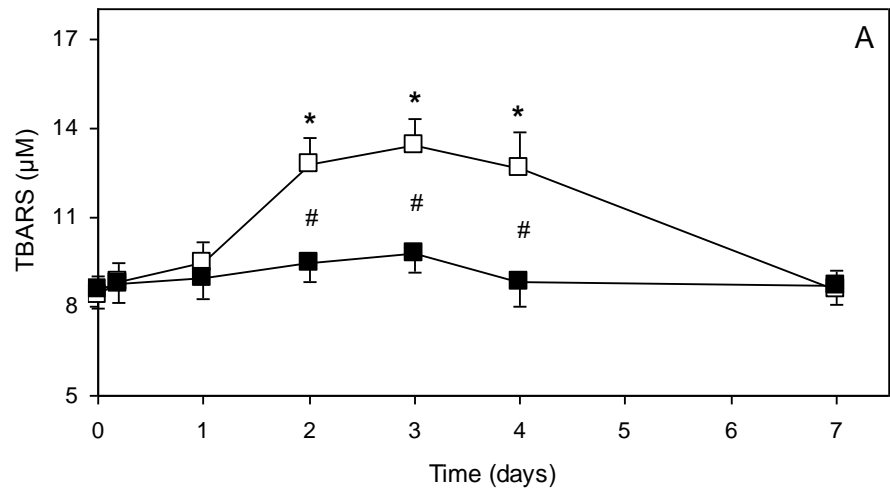
Fig. 4

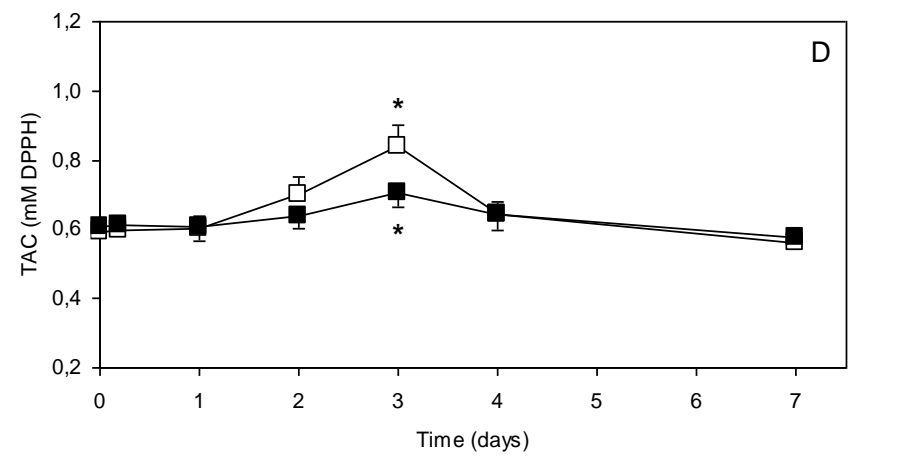
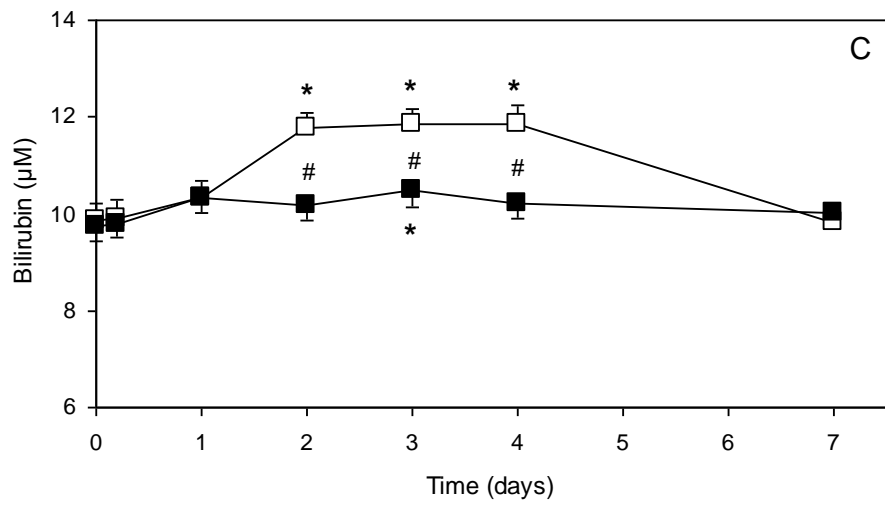
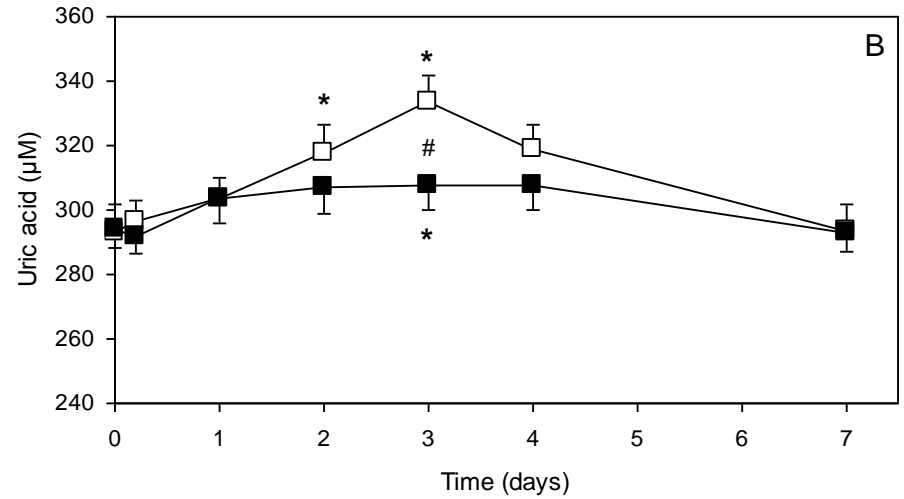
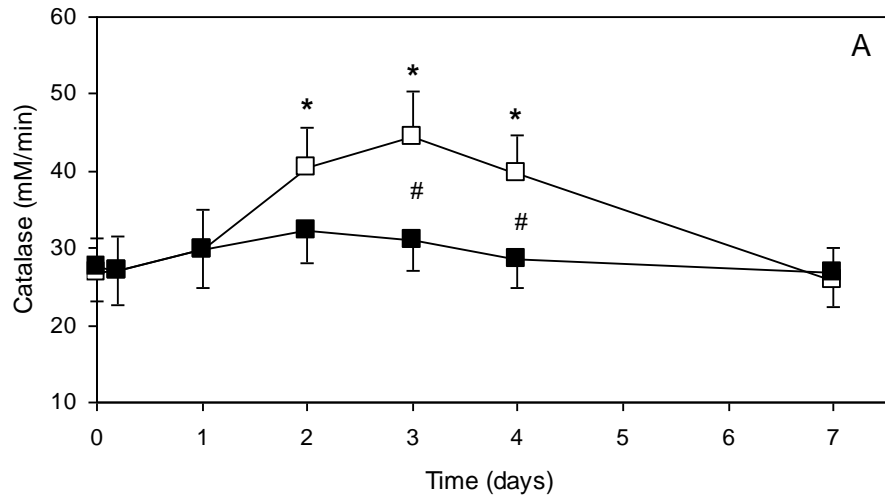
# Μειωμένο οξειδωτικό στρες μετά από επαναλαμβανόμενη έκκεντρη άσκηση











# Συμπερασματικά

- Η έντονη και ασυνήθης άσκηση οδηγεί στη δημιουργία ελευθέρων ριζών.
- Η μυϊκή βλάβη συνδέεται με αυξημένη παρουσία οξειδωτικού στρες
- Υπάρχει ένα σύστημα υδατοδιαλυτών, λιποδιαλυτών αντιοξειδωτικών ουσιών και ενζύμων το οποίο μπορεί να απομονώσει τις ελεύθερες ρίζες.
- Η προπόνηση επάγει τη λειτουργία του αντιοξειδωτικού συστήματος.

**Προκαλούμενο από την άσκηση οξειδωτικό στρες σε  
άτομα  
με έλλειψη του ενζύμου G6PD**

- Έλλειψη ενζύμου G6PD είναι η πιο συχνή ενζυμοπάθεια στον κόσμο.
- 400 εκ. άτομα παρουσιάζουν την έλλειψη
- A-, Med, Canton

# Γλουταθειόνη

- Τριπεπτίδιο το οποίο θεωρείται ενδογενές αντιοξειδωτικό. Βοηθάει στην απομόνωση  $H_2O_2$  όταν οξειδώνεται και μετατρέπεται από ανηγμένη γλουταθειόνη (GSH) σε οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG).
- Η ανακύκλωση της απαιτεί την παρουσία υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης (GPX) αναγωγάσης της γλουταθειόνης (GR), NADPH και σεληνίου.

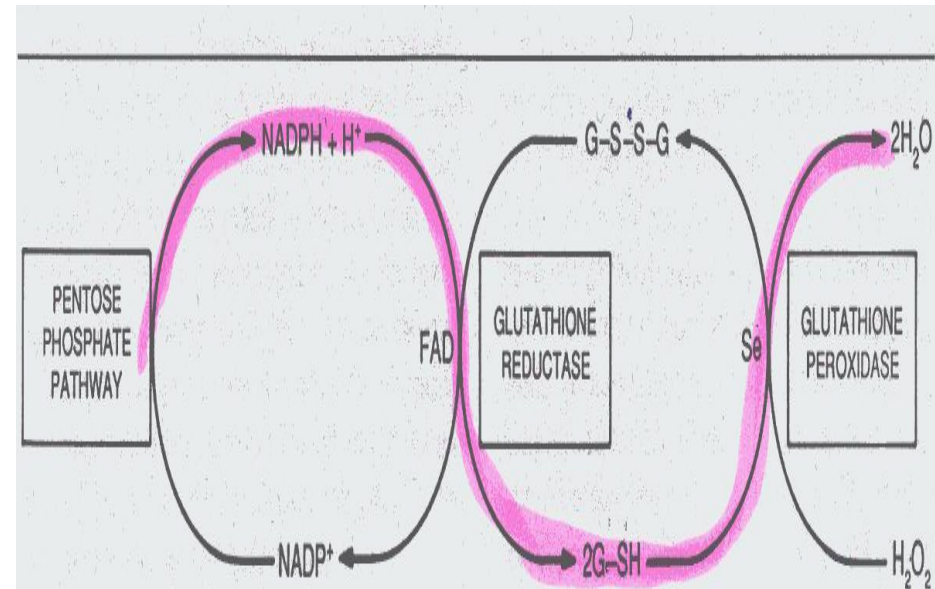


Figure 22-3. Role of the pentose phosphate pathway in the glutathione peroxidase reaction of erythrocytes. G-S-S-G, oxidized glutathione; G-SH, reduced glutathione; Se, selenium cofactor.

- Άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD μπορεί να παρουσιάζουν μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα;

Mutations in the gene for G6PD



Decreased activity of G6PD



Decreased levels of NADPH



Decreased regeneration of GSH from GSSG by glutathione reductase (which uses NADPH)



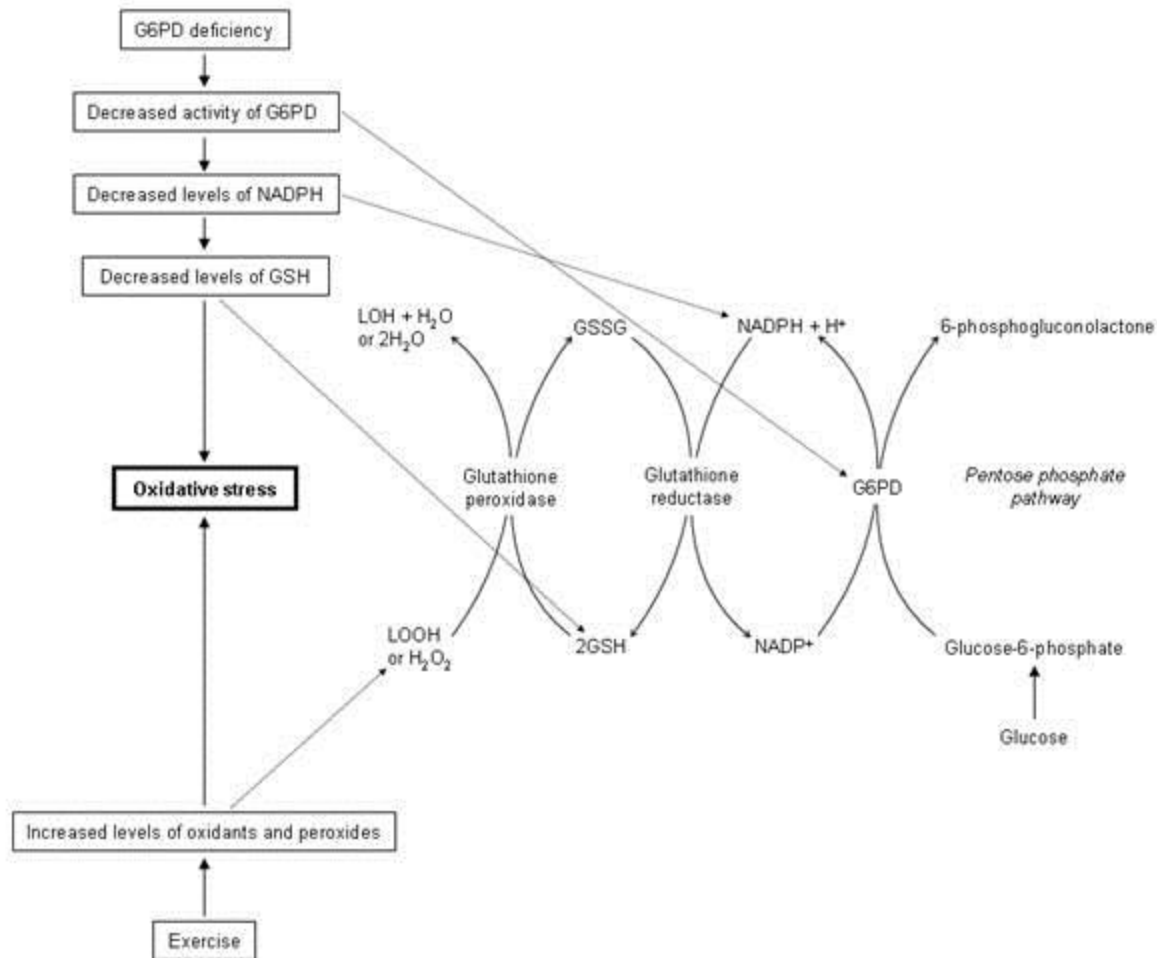
Oxidation, due to decreased levels of GSH and increased levels of intracellular oxidants (eg,  $O_2^-$ ), of SH groups of Hb (forming Heinz bodies) and of membrane proteins, altering membrane structure and increasing susceptibility to ingestion by macrophages (peroxidative damage to lipids in the membrane also possible)



Hemolysis

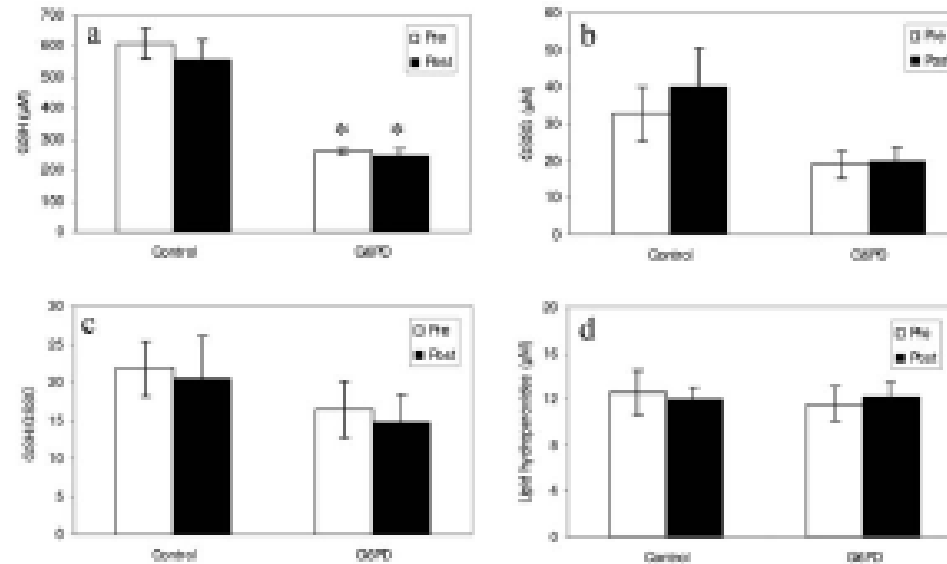
**Figure 60–2.** Summary of probable events causing hemolytic anemia due to deficiency of the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase (GPD).

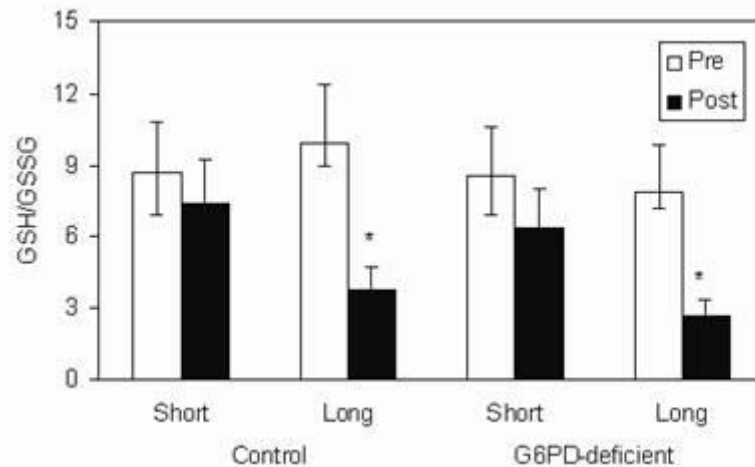
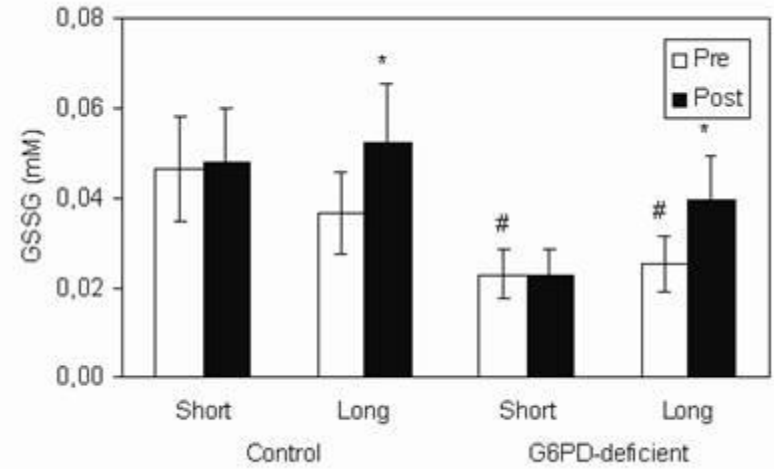
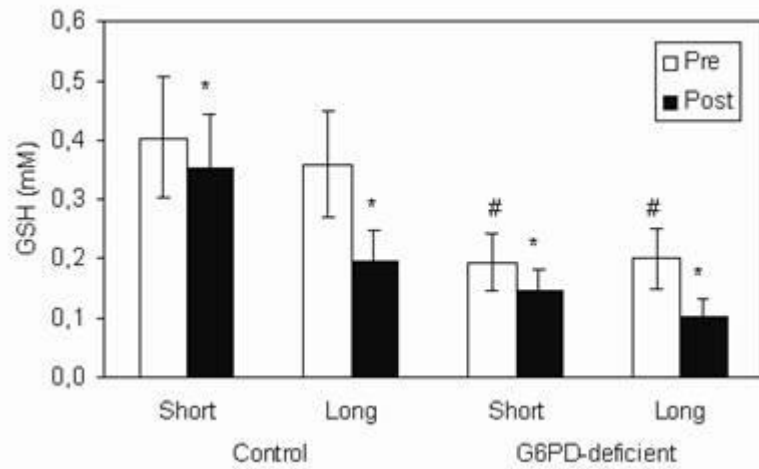
## Προκαλούμενο από την άσκηση οξειδωτικό στρες σε άτομα με έλλειψη του ενζύμου G6PD

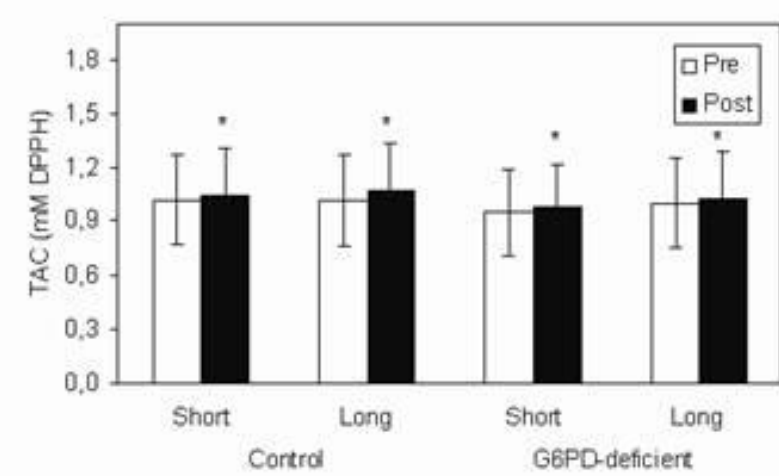
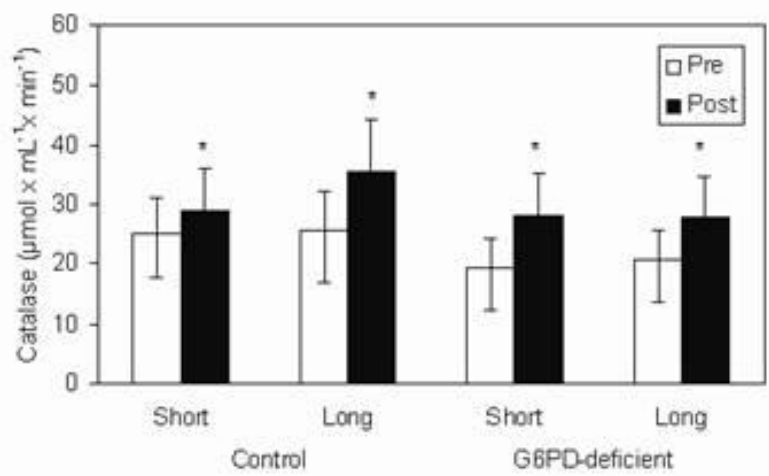
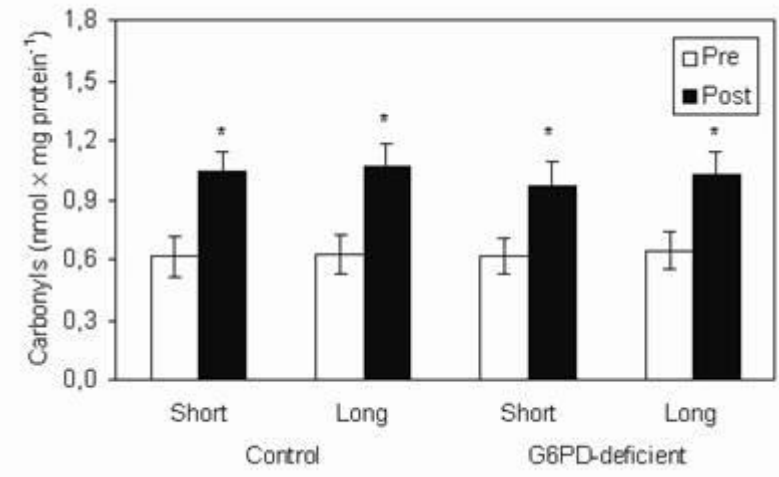
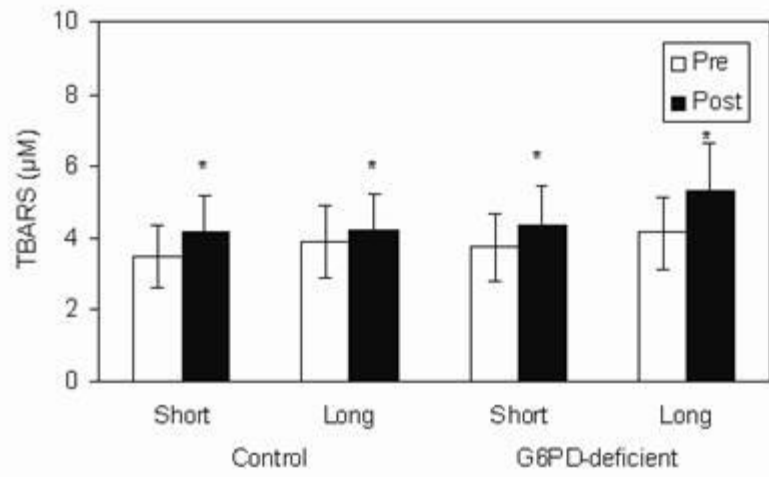




# Effect of Exercise on Oxidative Stress in Individuals with Glucose-6-phosphate Dehydrogenase Deficiency



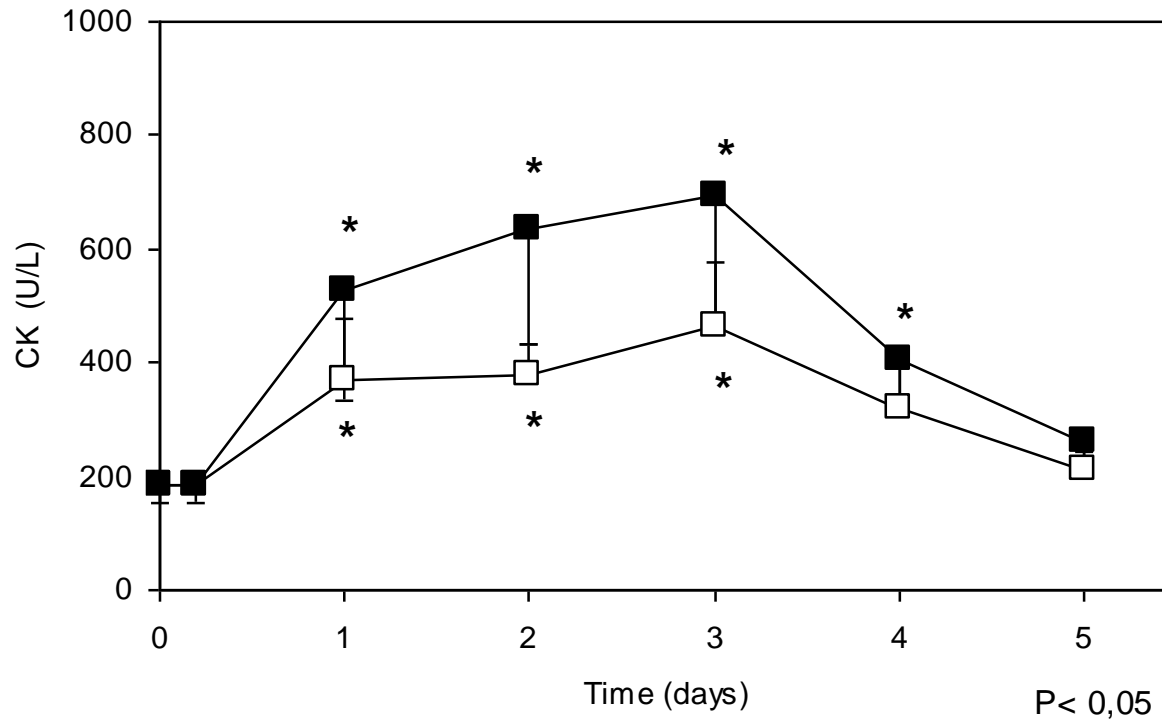




Επίδραση χρόνου  $p < 0.05$

Επίδραση ομάδας  $p < 0.05$

# Κρεατινική Κινάση



G6PDN



G6PDD

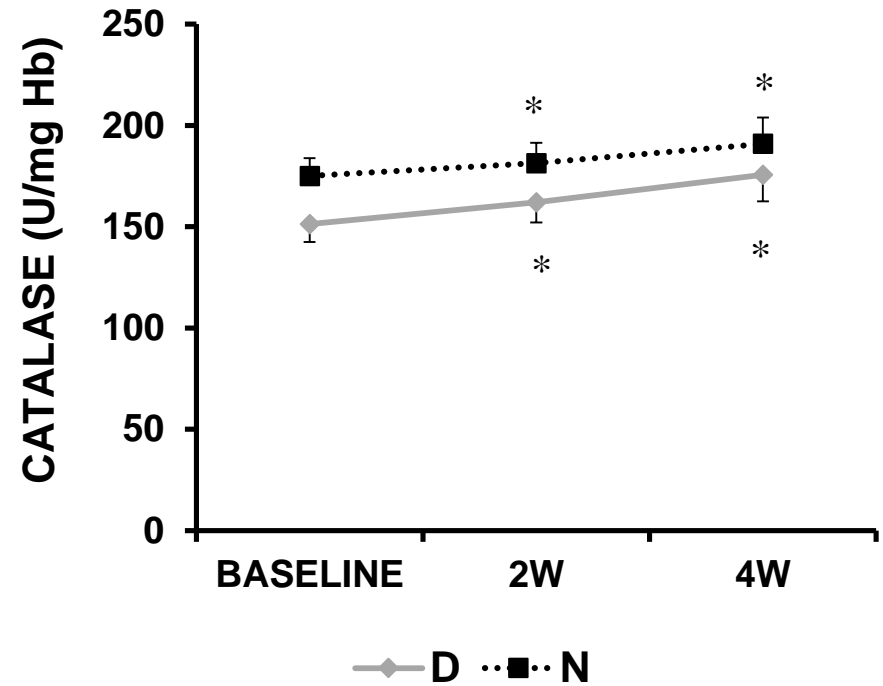
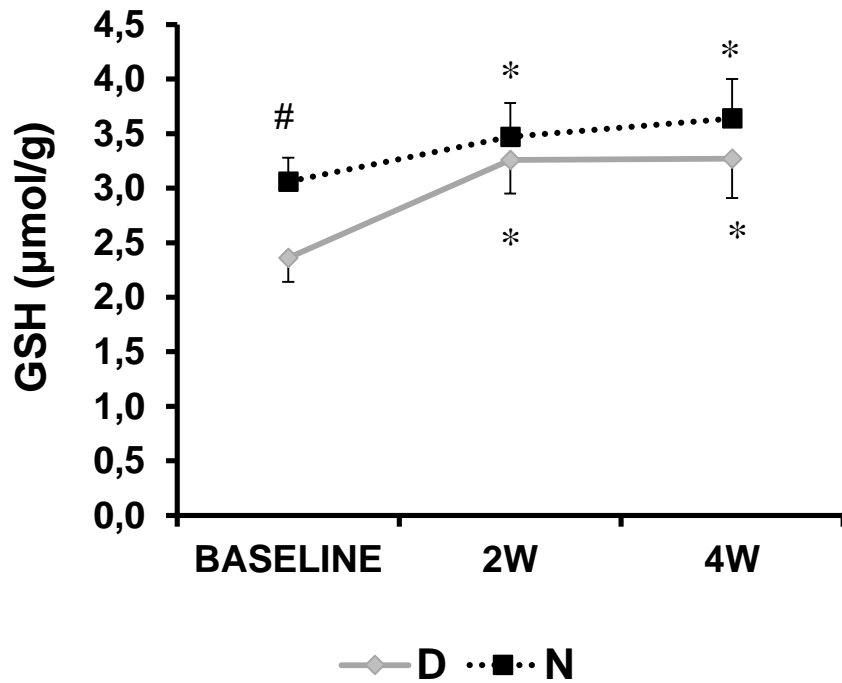
---

# **$\alpha$ -Lipoic Acid Supplementation Up-Regulates Antioxidant Capacity In Adults With G6PD Deficiency**

**Καλλιόπη Γεωργακούλη, Χαρίκλεια Κ. Δελή, Αθανάσιος Ζαλαβράς, Ιωάννης Γ. Φατούρος, Δημήτριος Κουρέτας, Γιάννης Κουτεντάκης, Αθανάσιος Ζ. Τζιαμούρτας**

---

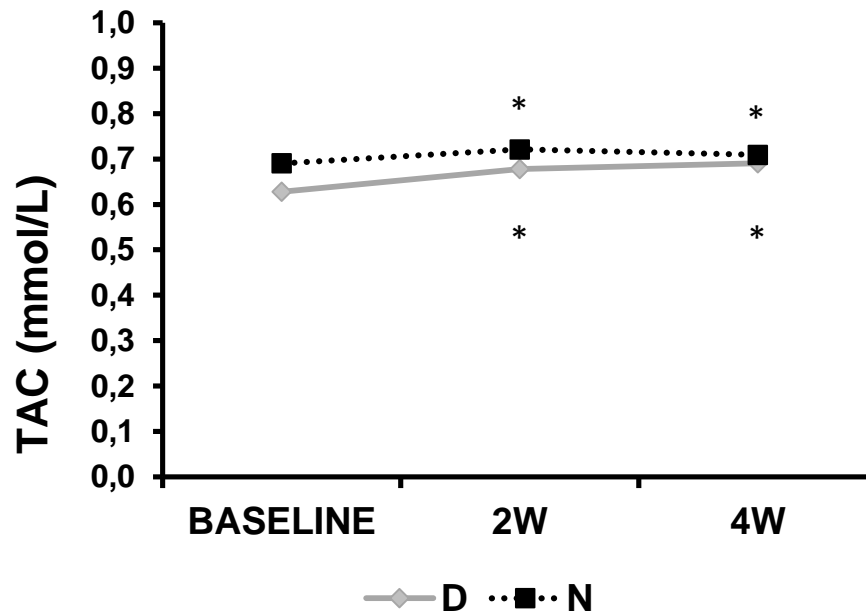
# ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ



# Σημαντική διαφορά σε σχέση με την D

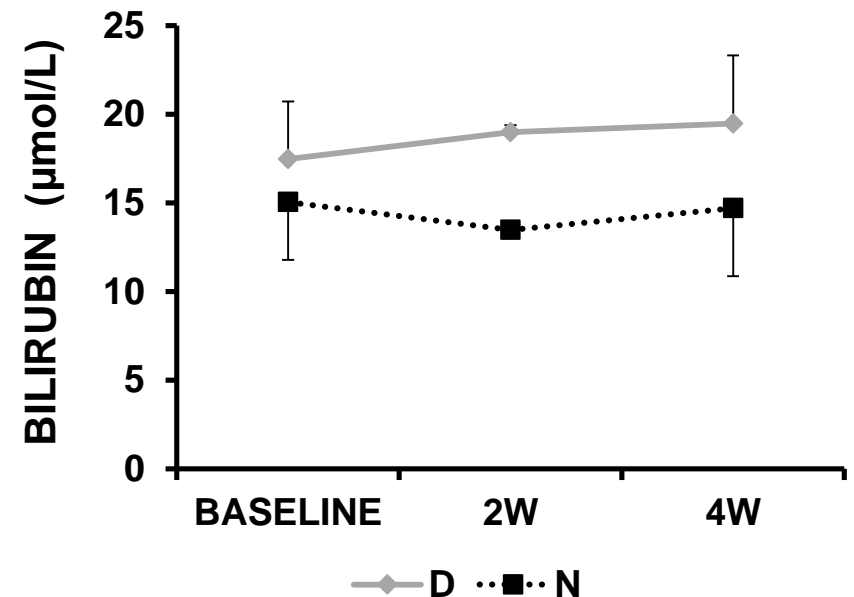
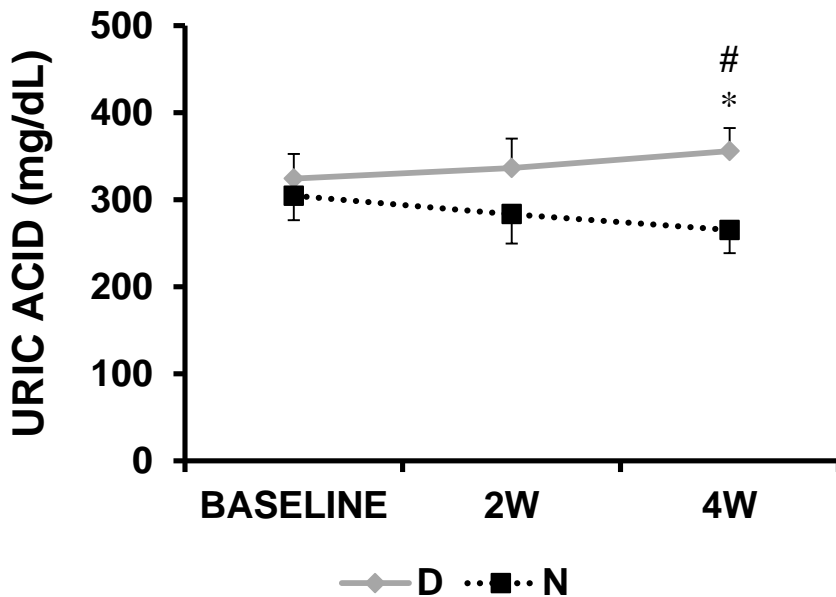
\* Σημαντική διαφορά σε σχέση με την αρχική κατάσταση

# ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ



\* Σημαντική διαφορά σε σχέση με την αρχική κατάσταση

# ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

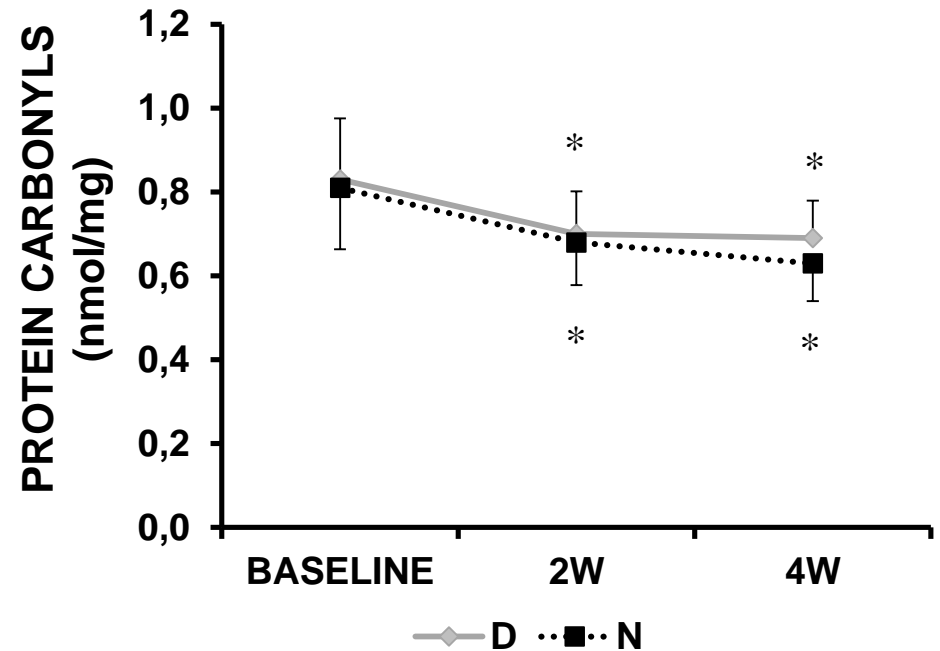
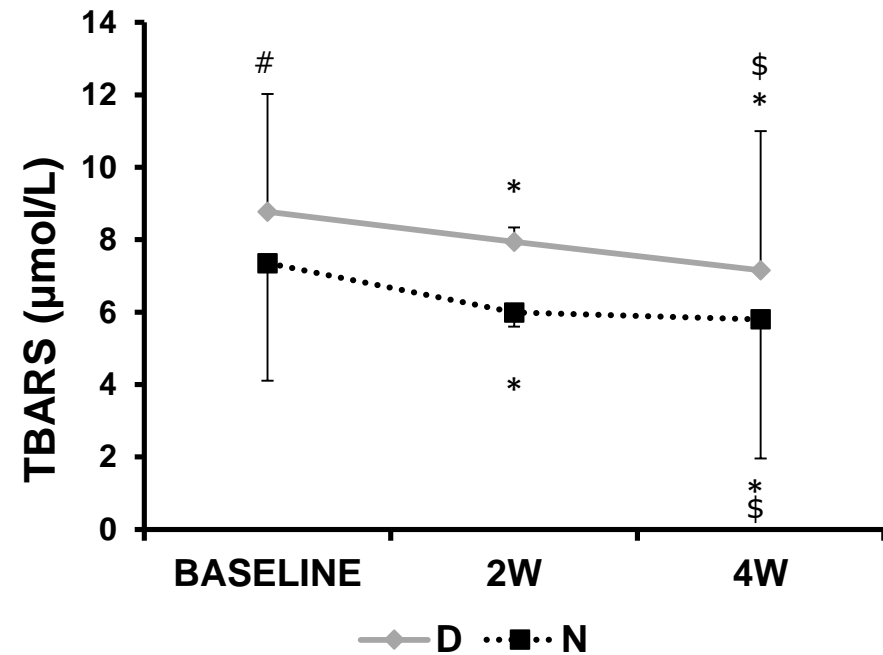


# Σημαντική διαφορά σε σχέση με την D

\* Σημαντική διαφορά σε σχέση με την αρχική κατάσταση



# ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

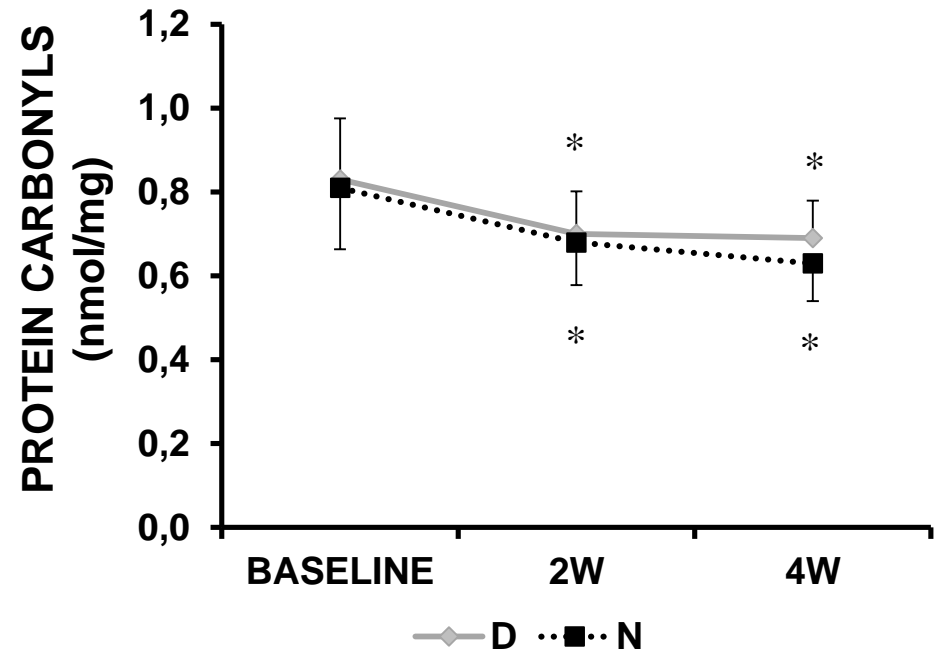
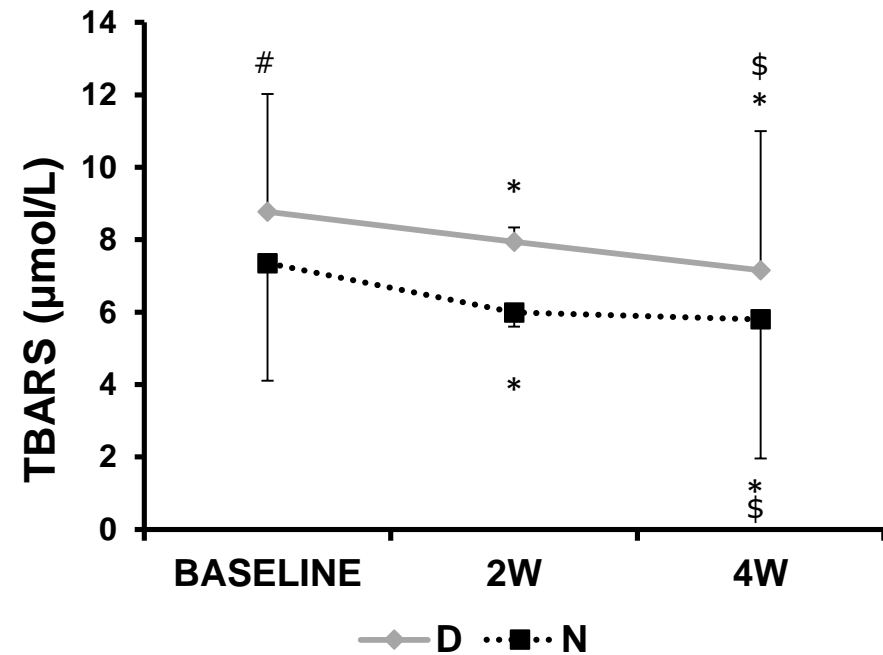


# Σημαντική διαφορά σε σχέση με την D

\* Σημαντική διαφορά σε σχέση με την αρχική κατάσταση

\$ Σημαντική διαφορά σε σχέση με την 2W

# ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ



# Σημαντική διαφορά σε σχέση με την D

\* Σημαντική διαφορά σε σχέση με την αρχική κατάσταση

§ Σημαντική διαφορά σε σχέση με την 2W

Πρέπει τα άτομα που προπονούνται να λαμβάνουν μεγαλύτερες ποσότητες αντιοξειδωτικών;

- Είναι παραδεκτό πως η προπόνηση βελτιώνει το αντιοξειδωτικό σύστημα του οργανισμού.
- Από τις αντιοξειδωτικές ουσίες που έχουν χρησιμοποιηθεί η βιταμίνη E αποτελεί ίσως τον πιο αποτελεσματικό αντιοξειδωτικό παράγοντα (Goldfarb 1993; Goldfarb et al. 1994).

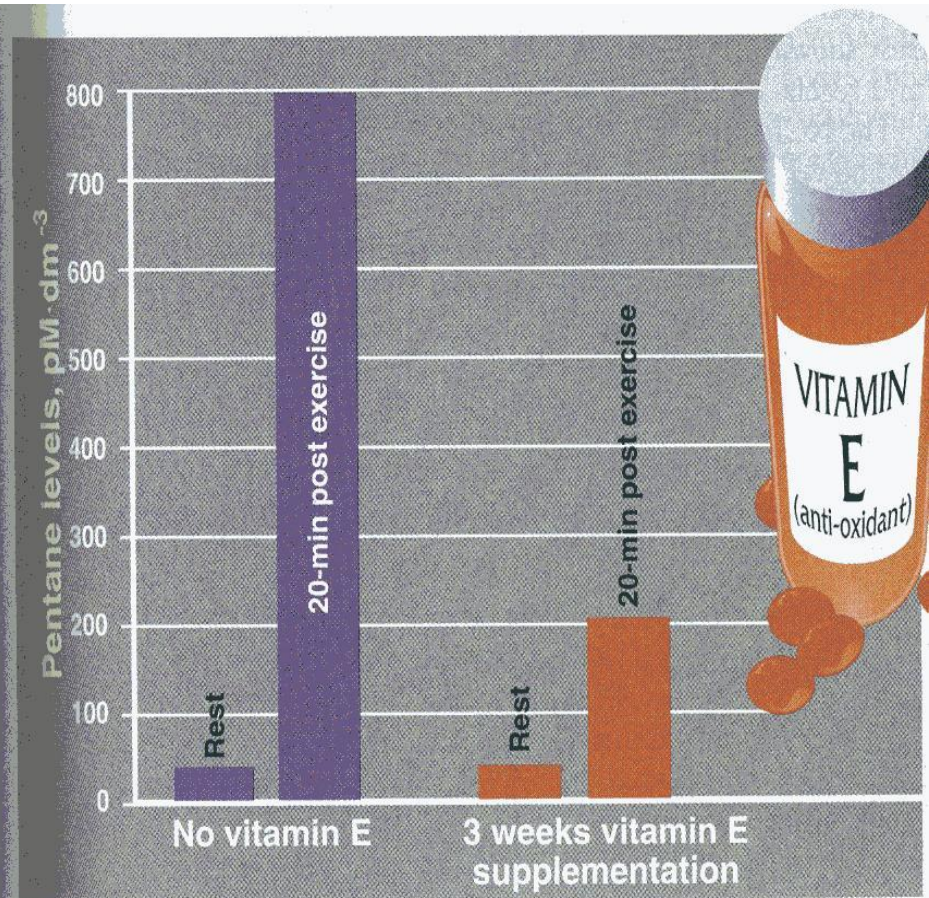
# Βιταμίνη Ε και άσκηση

- Η βιταμίνη Ε βρίσκεται σε αρνητική συσχέτιση με τις μυϊκές ίνες τύπου Ι υποδεικνύοντας πως τα άτομα τα οποία έχουν αυξημένο % μυϊκών ινών τύπου Ι μπορεί να έχουν και μεγαλύτερη ανάγκη για βιταμίνη Ε.

# Βιταμίνη Ε και άσκηση

- Φαίνεται πως η συμπληρωματική λήψη βιταμίνης Ε αυξάνει την αντίσταση των ιστών ως προς την επαγόμενη υπεροξειδωση των λιπιδίων από την άσκηση.
- 200-300 mg/ημέρα μείωσαν τη συγκέντρωση της MDA και δεικτών μυϊκής καταστροφής (Rokitzki et al. 1994; Sumida et al. 1989).
- 60 ημέρες λήψης εξαφάνισαν τις ενδείξεις παραγωγής ελευθέρων ριζών και υπεροξειδωσης των λιπιδίων στο μυοκάρδιο αρουραίων (Kumar et al. 1992).

- Η συμπληρωματική λήψη βιταμίνης E βοηθάει στη μειωμένη παραγωγή ελευθέρων ριζών.



**Figure 7.7**

Pentane levels before and after 20 minutes of exercise at 100%  $\dot{V}O_2$  max with and without vitamin E supplementation. (Adapted from Pincemail, J., et al.: Pentane measurement in man as an index of lipid peroxidation. *Bioelectronchem. Bioenerg.*, 18:117, 1987.

# Βιταμίνη Ε και άσκηση

- Συμπληρωματική λήψη 250 IU για πέντε εβδομάδες συνετέλεσε στη μικρότερη συγκέντρωση TBARS και υπεροξειδίων των λιπιδίων τόσο στο πλάσμα όσο και στους μύες μετά από 1 ώρα άσκησης (Goldfarb et al. 1994).
- Συμπληρωματική λήψη για αρκετές ημέρες μετά το τέλος της άσκησης οδηγεί σε μειωμένη παραγωγή ελευθέρων ριζών (Meydani & Evans 1993).

# Βιταμίνη Ε και άσκηση

- Η συμπληρωματική λήψη βιταμίνης Ε δεν βοηθά στην καλύτερη απόδοση (Kanter 1995; Clarkson & Thompson 2000).
- Φαίνεται πως η βιταμίνη Ε βοηθάει στην ακεραιότητα των ιστών (π.χ. μυϊκός ιστός, καρδιακός ιστός κ.λ.π.) χωρίς υποχρεωτικά να βελτιώνει την απόδοση.
- Προοξειδωτικές ιδιότητες της βιταμίνης Ε



# Βιταμίνη C και άσκηση

- Οι Jakeman & Maxwell (1993) έδειξαν πως τα επίπεδα δύναμης δε μειώνονται στον ίδιο βαθμό μετά από συμπληρωματική λήψη βιταμίνης C (400 mg ημερησίως για 3 βδομάδες).
- Οι Kaminski & Boal (1992) βρήκαν πως η συμπληρωματική λήψη βιταμίνης C (200 mg ημερησίως για 30 ημέρες) μείωσαν τα επίπεδα καθυστερημένου μυϊκού πόνου κατά 33%.
- Οι Ashton et al. (1999) έδειξαν πως η συμπληρωματική λήψη βιταμίνης C προλαμβάνει την παραγωγή ελευθέρων ριζών μετά από έντονη άσκηση μέχρι εξάντλησης.

# Βιταμίνη C και άσκηση

- Οξεία χορήγηση βιταμίνης C (2 ώρες πριν από την άσκηση) δεν επηρεάζει τα επίπεδα δεικτών μυϊκής καταστροφής, καθυστερημένου μυϊκού πόνου, και υπεροξειδωσης των λιπιδίων (Thompson et al. 2001).
- Η συμπληρωματική λήψη βιταμίνης C μπορεί να μειώσει τα επίπεδα καθυστερημένου μυϊκού πόνου (Clarkson & Thompson 2000) και την αποκατάσταση μετά από αερόβια άσκηση (90 λεπτά) (Thompson et al. 2001).
- Αποτελέσματα αρκετών ερευνών συγκλίνουν στην άποψη πως η συμπληρωματική λήψη βιταμίνης C δεν αυξάνει την απόδοση.

# Συνδυασμός αντιοξειδωτικών

- Πολλές έρευνες που έχουν γίνει εξέτασαν την επίδραση που έχει μία μεμονωμένη αντιοξειδωτική ουσία στην παραγωγή ελευθέρων ριζών και προστασία στην ακεραιότητα του μυϊκού ιστού.
- Τελευταία γίνεται προσπάθεια να εξεταστεί ποια είναι η επίδραση του συνδυασμού αντιοξειδωτικών ουσιών στην πρόληψη δημιουργίας ελευθέρων ριζών και προστασίας του μυός.

# Συνδυασμός αντιοξειδωτικών

- Οι Jeng et al. (1996) βρήκαν πως η ταυτόχρονη λήψη βιταμίνης E και C οδήγησαν σε μειωμένα επίπεδα κυτταροκινών μετά από άσκηση που επέφερε μυϊκή καταστροφή, κάτι που υποδεικνύει πως υπήρξε προσαρμογή.
- Ο ίδιος συνδυασμός αντιοξειδωτικών συντέλεσε σε μικρότερη αύξηση της MDA και CK τόσο μετά το τέλος ενός μαραθωνίου όσο και 24 ώρες μετά το πέρας αυτού (Rokitzki et al. 1994).
- Συνδυασμός βιταμίνης E, C, β-καροτίνης μείωσε τα επίπεδα υπεροξειδωσης των λιπιδίων και καταστροφής μυϊκού ιστού (LDH) 24 ώρες μετά από άσκηση σε επαγγελματίες καλαθοσφαιριστές.

# No effect of antioxidant supplementation on muscle performance and blood redox status adaptations to eccentric training<sup>1-3</sup>

Anastasios A Theodorou, Michalis G Nikolaidis, Vassilis Paschalis, Stilianos Koutsias, George Panayiotou, Ioannis G Fatouros, Yiannis Koutedakis, and Athanasios Z Jamurtas

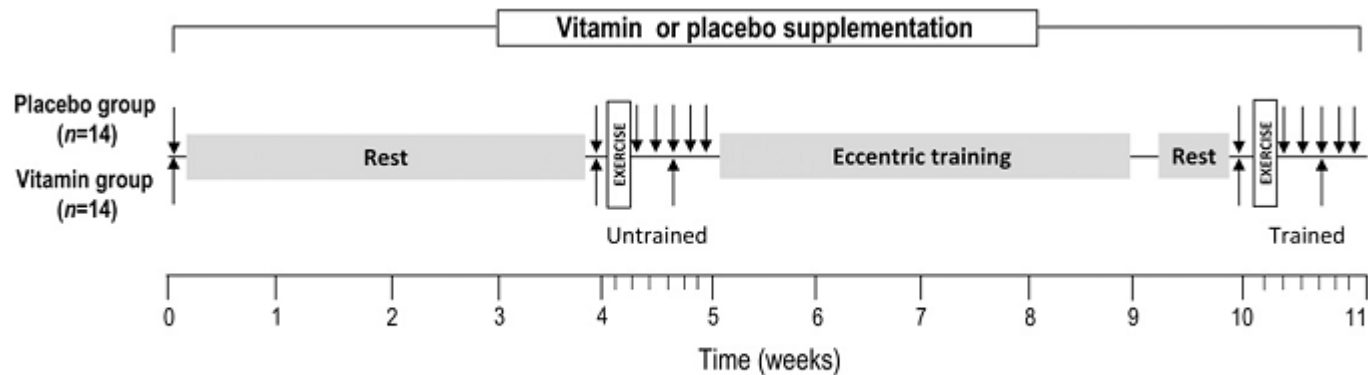
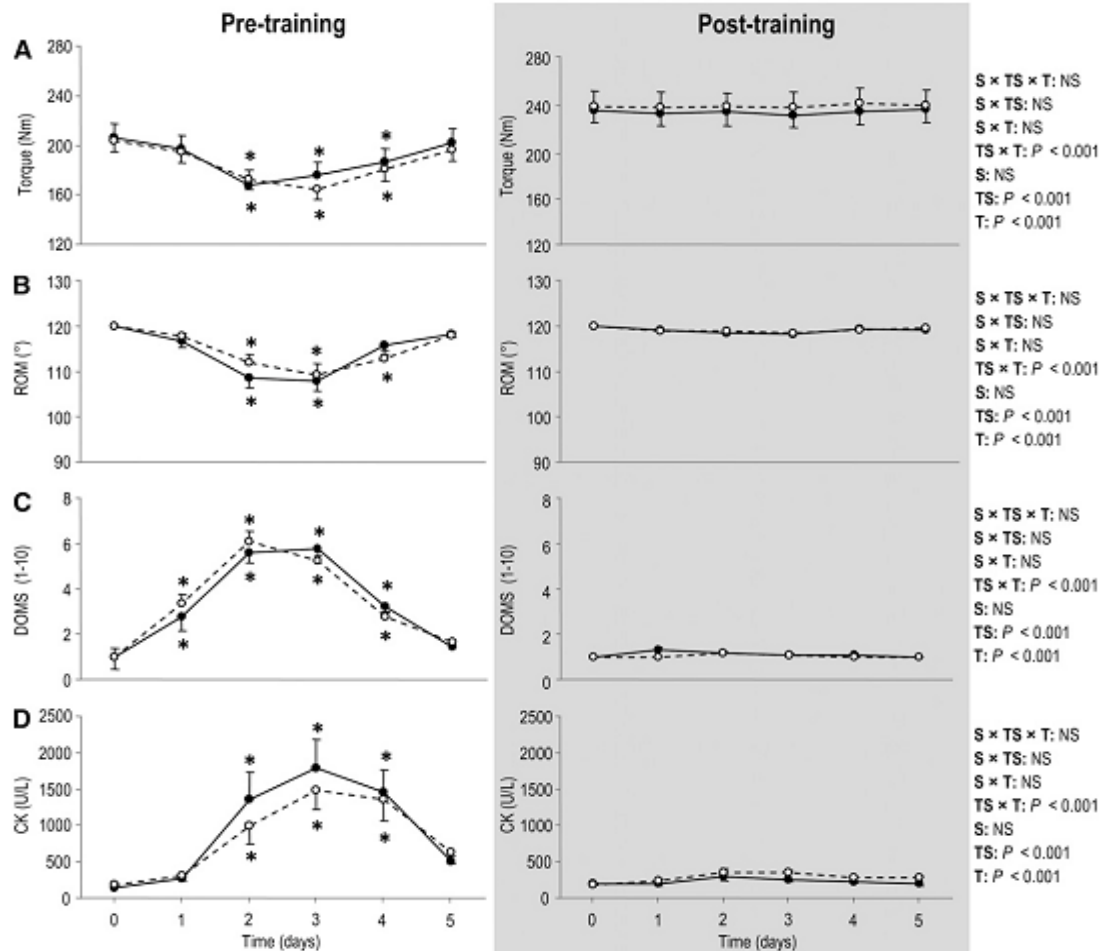


FIGURE 1. Study design. Downward arrows indicate the time of blood sampling, and upward arrows indicate the time of muscle biopsy collection.

# Δείκτες Απόδοσης

ANTIOXIDANTS AND ECCENTRIC TRAINING

1377

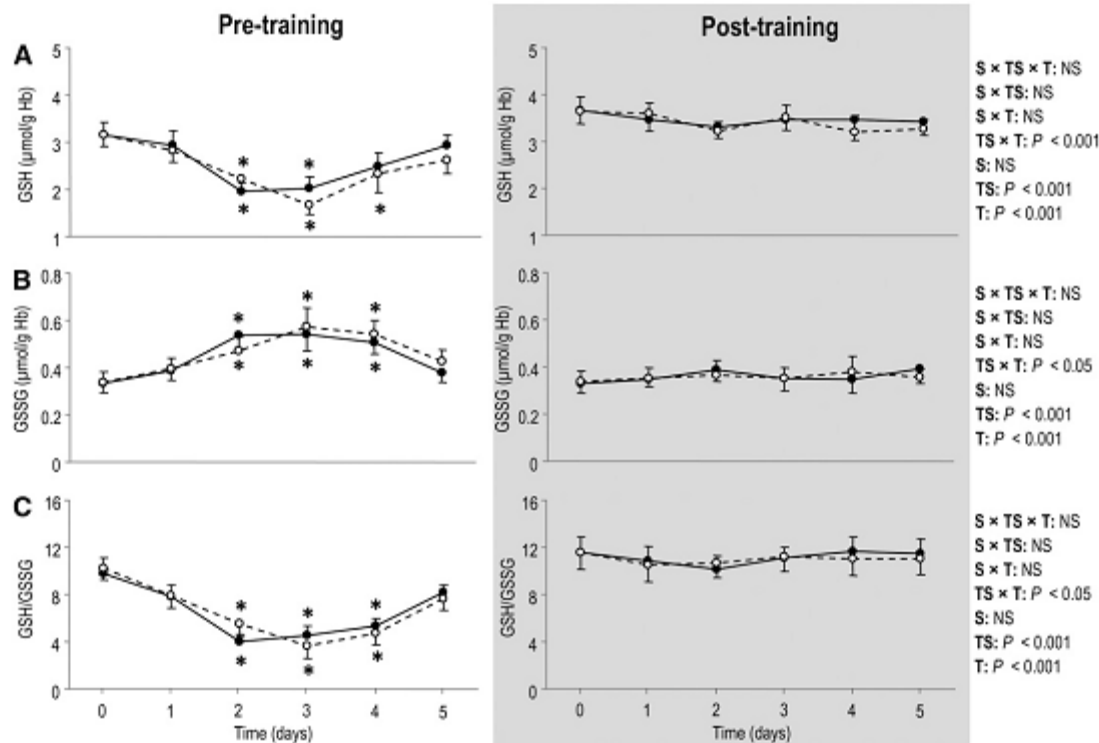


**FIGURE 3.** Mean ( $\pm$ SEM) isometric peak torque (A), range of motion (ROM; B), delayed onset muscle soreness (DOMS; C), and creatinine kinase (CK; D) in placebo ( $n = 14$ ; ●) and vitamin ( $n = 14$ ; ○) groups in the untrained and trained states. No significant differences were observed between the placebo and vitamin groups at any time point in either the untrained or trained state. Three-factor ANOVAs with repeated measurements on time and post hoc pairwise comparisons through the Sidak test were used. S, main effect of supplement; TS, main effect of training state; T, main effect of time; Nm, Newton meter. Interactions are shown. \*Significantly different from the pre-exercise value in the same group,  $P < 0.05$ .

# Βιοχημικοί Δείκτες

1378

THEODOROU ET AL



**FIGURE 4.** Mean ( $\pm$ SEM) concentrations of reduced glutathione (GSH; A) and oxidized glutathione (GSSG; B) and the GSH/GSSG ratio (C) in the placebo ( $n = 14$ ; ●) and vitamin ( $n = 14$ ; ○) groups in the untrained and trained states. No significant differences were observed between the placebo and vitamin groups at any time point in either the untrained or the trained state. Three-factor ANOVAs with repeated measures on time and post hoc pairwise comparisons through the Sidak test were used. S, main effect of supplement; TS, main effect of training state; T, main effect of time; Hb, hemoglobin. \*Significantly different from the pre-exercise value in the same group,  $P < 0.05$ .

# Συμπερασματικά

- Η έντονη και ασυνήθης άσκηση οδηγεί στη δημιουργία ελευθέρων ριζών.
- Υπάρχει ένα σύστημα υδατοδιαλυτών, λιποδιαλυτών αντιοξειδωτικών ουσιών και ενζύμων το οποίο μπορεί να απομονώσει τις ελεύθερες ρίζες.
- Η προπόνηση επάγει τη λειτουργία του αντιοξειδωτικού συστήματος.



# Συμπερασματικά

- Η συμπληρωματική λήψη αντιοξειδωτικών ουσιών μπορεί να μειώσει τη δημιουργία ελευθέρων ριζών μετά από άσκηση που προκαλεί μυϊκή βλάβη . Ωστόσο, δεν είναι ξεκάθαρο εάν αυτό αποτελεί σωστή πρακτική εξαιτίας των προσαρμογών που μπορεί να επέλθουν από την παρουσία του οξειδωτικού στρες.
- Η συμπληρωματική αντιοξειδωτικών ουσιών δε βελτιώνει την απόδοση.

# Προσαρμογές του αντιοξειδωτικού μηχανισμού με την προπόνηση

**Table 2** Erythrocyte antioxidant enzyme activities following exhausting exercise before and after running training ( $n = 9$ ). *SOD* Superoxide dismutase, *GPX* glutathione peroxidase, *CAT* catalase, *Hb* haemoglobin

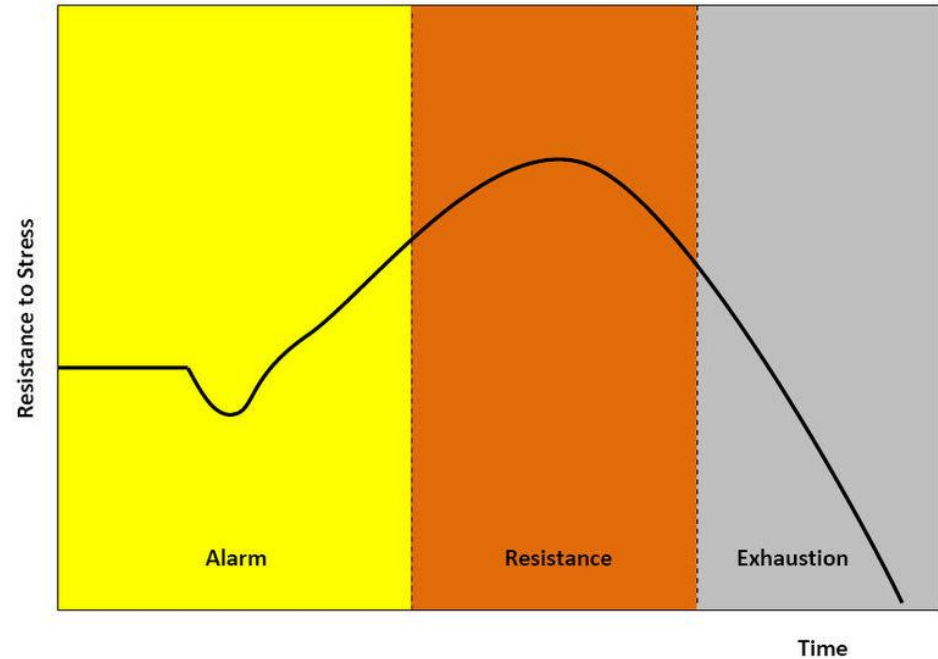
	Before				After			
	Rest		Exhaustion		Rest		Exhaustion	
	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM
SOD (U g Hb <sup>-1</sup> )	1,518	41	1,606	29	1,778*	70	1,791	38
GPX (U g Hb <sup>-1</sup> )	31.7	0.4	32.7	1.1	35.3*	1.1	34.0	0.8
CAT (K g Hb <sup>-1</sup> )	31.8	0.4	31.2	0.2	31.4	0.2	31.3	0.3

\*:  $P < 0.05$  Compared to Before

*Miyazaki et al.*  
2001

# General Adaptation Syndrome (GAS)

- **Φάση συναγερμού:**  
απόκριση του μεταβολισμού σαν αντίδραση κάποιου στρεσογόνου παράγοντα.
- **Φάση αντίστασης:**  
επιδιορθώσεις από τον οργανισμό.
- **Φάση της εξάντλησης:**  
οι επιδιορθώσεις δεν είναι αρκετές και εμφανίζονται συμπτώματα ασθένειας.



- Τι γίνεται στην περίπτωση που υπερτερεί ο προοξειδωτικός μηχανισμός;
- Μεταβάλλονται οι δείκτες οξειδωτικού στρες με την υπερβολική προπόνηση;

# Μεταβολές οξειδωτικού στρες σε μια προπονητική περίοδο

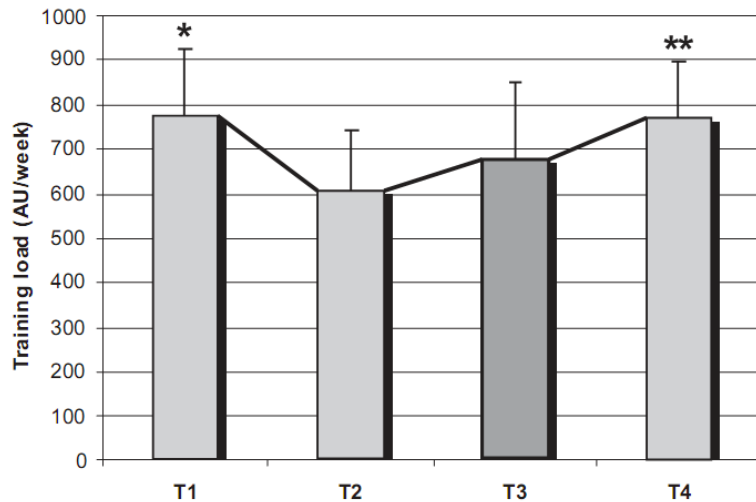


Fig. 1 Evolution of the training load from T1 to T4. T3 represents the reference time. Values are given as arbitrary units per week. \* difference with T3 (\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ).

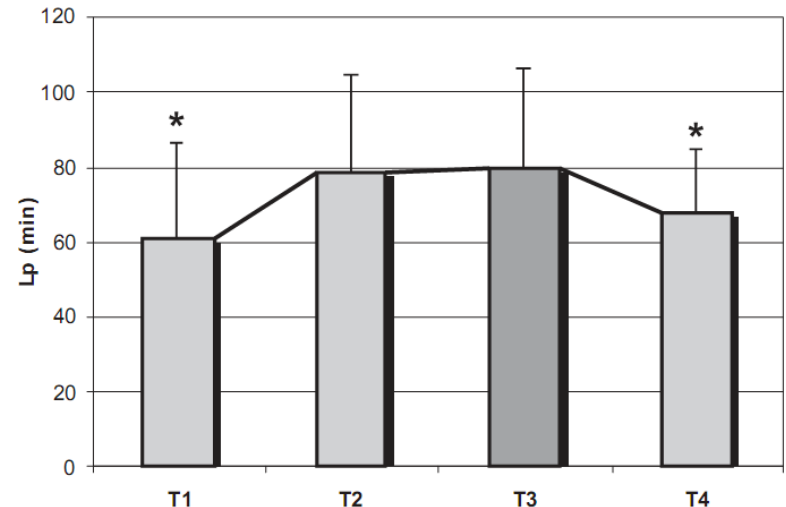


Fig. 3 Evolution of the lag phase (Lp) from T1 to T4. T3 represents the reference time. \* difference with T3 (\*  $p < 0.05$ ).

Original Contribution

## Oxidative stress biomarkers responses to physical overtraining: Implications for diagnosis

Konstantinos Margonis<sup>a</sup>, Ioannis G. Fatouros<sup>a,b,\*</sup>, Athanasios Z. Jamurtas<sup>b,c</sup>,  
Michalis G. Nikolaidis<sup>b,c,d</sup>, Ioannis Douroudos<sup>a</sup>, Athanasios Chatzinikolaou<sup>a</sup>, Asimina Mitrakou<sup>e</sup>,  
George Mastorakos<sup>f</sup>, Ioannis Papassotiriou<sup>g</sup>, Kiriakos Taxildaris<sup>a</sup>, Dimitrios Kouretas<sup>d,h</sup>

<sup>a</sup> Department of Physical Education and Sports Science, Democritus University of Thrace, Komotini 69100, Greece

<sup>b</sup> Institute of Human Performance and Rehabilitation, Centre for Research and Technology-Thessaly, Trikala, 42100, Greece

<sup>c</sup> Department of Physical Education and Sports Sciences, University of Thessaly, Trikala 42100, Greece

<sup>d</sup> Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, 41221, Larissa, Greece

<sup>e</sup> Department of Internal Medicine, Hery Danant Hospital, Athens 11527, Greece

<sup>f</sup> Endocrine Unit, Second Department of Obstetrics and Gynecology, "Aretoleon" Hospital, Athens University Medical School, Athens 11526, Greece

<sup>g</sup> Department of Clinical Biochemistry, "Aghia Sophia" Children's Hospital, Athens 11527, Greece

Received 30 January 2007; revised 7 May 2007; accepted 17 May 2007

Available online 23 May 2007

### Abstract

Overtraining syndrome is characterized by declining performance and transient inflammation following periods of severe training with major health implications for the athletes. Currently, there is no single diagnostic marker for overtraining. The present investigation examined the responses of oxidative stress biomarkers to a resistance training protocol of progressively increased and decreased volume/intensity. Twelve males (21.3 ± 2.3 years) participated in a 12-week resistance training consisting of five 3-week periods (T1, 2 tones/week; T2, 8 tones/week; T3, 14 tones/week; T4, 2 tones/week), followed by a 3-week period of complete rest. Blood/urine samples were collected at baseline and 96 h following the last training session of each period. Performance (strength, power, jumping ability) increased after T2 and declined thereafter, indicating an overtraining response. Overtraining (T3) induced sustained leukocytosis, an increase of urinary isoprostanes (7-fold), TBARS (56%), protein carbonyls (73%), catalase (96%), glutathione peroxidase, and oxidized glutathione (GSSG) (25%) and a decline of reduced glutathione (GSH) (31%), GSH/GSSG (56%), and total antioxidant capacity. Isoprostanes and GSH/GSSG were highly ( $r=0.764-0.911$ ) correlated with performance drop and training volume increase. In conclusion, overtraining induces a marked response of oxidative stress biomarkers which, in some cases, was proportional to training load, suggesting that they may serve as a tool for overtraining diagnosis.

© 2007 Elsevier Inc. All rights reserved.

**Keywords:** Overtraining; Resistance exercise; Antioxidant status; Oxidative stress biomarkers

**Abbreviations:** OHS, overtraining syndrome; RT, resistance training; ROS, reactive oxygen species; TBARS, thiobarbituric acid-reactive substances; F2-isoprostanes; PC, protein carbonyls; CAT, catalase; TAC, total antioxidant capacity; GPX, glutathione peroxidase; GSH, reduced glutathione; GSSG, oxidized glutathione; 1RM, one repetition maximal; AP, average power output; DOMS, delayed onset of muscle soreness; KRM, knee joint range of motion.

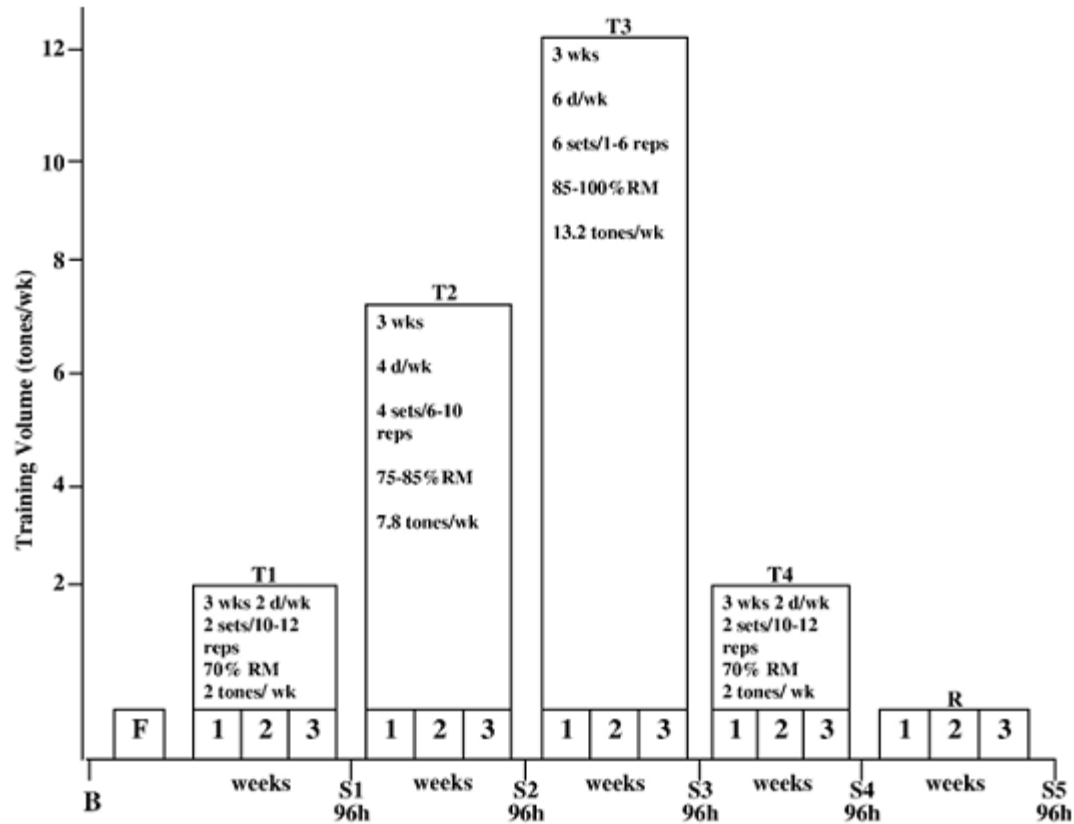
\* Corresponding author. I.G. Fatouros is to be contacted at Department of Physical Education and Sports Sciences, Ektenepol, Politechniou Str., Parodos 3, Bldg. 1, 69100 Komotini, Greece. Fax: +30 25310 39623. D. Kouretas, Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, 41221, Larissa, Greece. Fax: +30 2410 562290.

E-mail addresses: [ifatouros@phyed.duth.gr](mailto:ifatouros@phyed.duth.gr) (I.G. Fatouros), [dkouret@duth.gr](mailto:dkouret@duth.gr) (D. Kouretas).

### Introduction

Regular physical training is associated with a mild tissue trauma followed by recovery [1]. When adequate recovery is allowed, there is an adaptation and athletic performance improves, a process often called "adaptive microtrauma" [1]. However, when exercise volume and/or intensity are increased, usually abruptly, and the athlete is not sufficiently recovered, a mild trauma could develop into a more chronic, severe form of tissue trauma. Athletes often develop a transient inflammation-like reaction following very intense acute exercise [2] or a

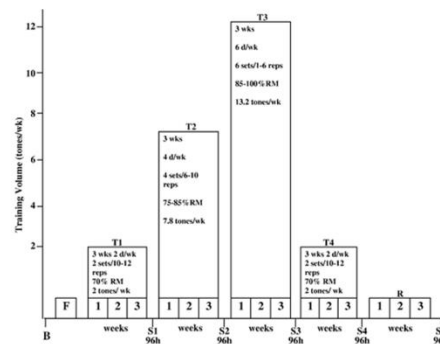
# Προπονητικός Όγκος



# Μεταβολές σε παραμέτρους απόδοσης

Table 1  
Training volume and performance changes at baseline (B), and following low- (T1 and T4), high- (T2), and very-high-volume (T3) resistance training as well as the recovery period (R)

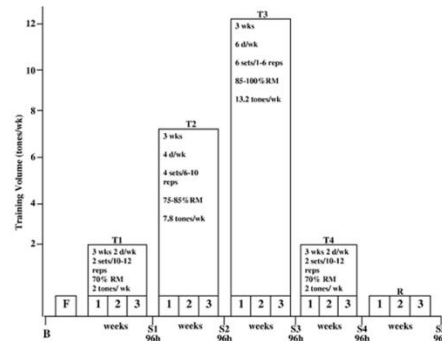
	B	T1	T2	T3	T4	R
Mean training volume (tonnage/week) <sup>1</sup>	N/A	2.1±0.4	7.6±0.9 <sup>b,c</sup>	14.2±1.2 <sup>c,e</sup>	1.8±0.2 <sup>d</sup>	N/A
Maximal strength (kg) <sup>2</sup>	70.2±10.4	74.9±9.5 <sup>a</sup>	83.2±8.6 <sup>a,b</sup>	77.8±9.6 <sup>a,b,c</sup>	78.3±8.8 <sup>a,b,c</sup>	73.9±10.0 <sup>a,c,d,e</sup>
Jumping ability (cm)	40.6±3.8	41.0±3.6	42.6±3.3 <sup>a,b</sup>	38.5±4.2 <sup>c</sup>	40.0±3.8 <sup>c</sup>	40.5±3.6 <sup>c</sup>
Anaerobic power (Watt/kg)	9.3±0.7	9.5±0.7 <sup>a</sup>	10.1±1.1 <sup>a,b</sup>	9.8±0.9 <sup>a,b,c</sup>	9.7±0.8 <sup>a,b,c</sup>	9.5±1.0 <sup>a,b,c,d,e</sup>
DOMS	0.0±0.0	0.5±0.5	2.3±1.4 <sup>a,b</sup>	7.2±1.6 <sup>a,b,c,d,e</sup>	3.8±1.7 <sup>a,b,d</sup>	1.1±0.4 <sup>c</sup>
Knee range of motion (degrees)	141.3±7.7	140.1±8.9	38.3±6.4 <sup>a,b</sup>	135.4±9.6 <sup>a,b,c</sup>	137.7±10.2 <sup>a,b,d</sup>	140.2±12.2 <sup>d,e</sup>



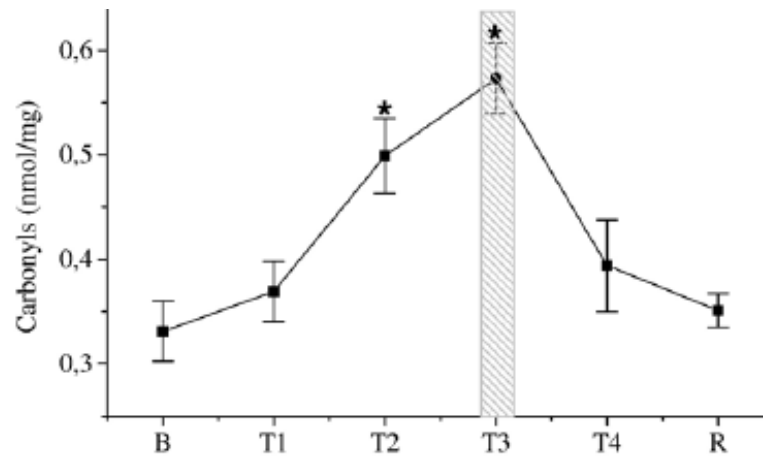
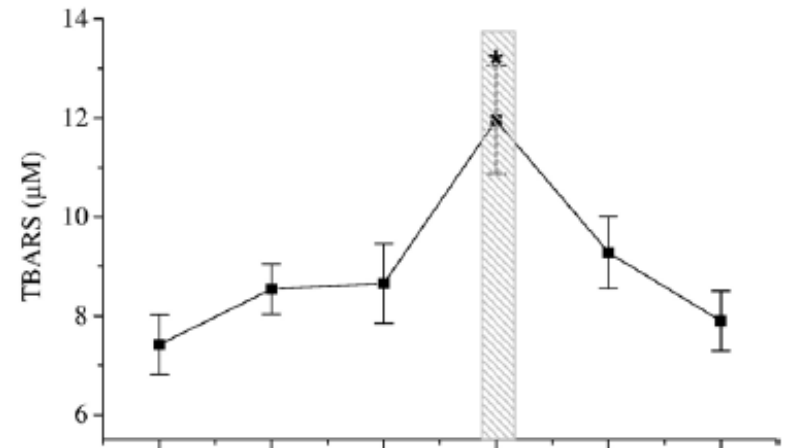
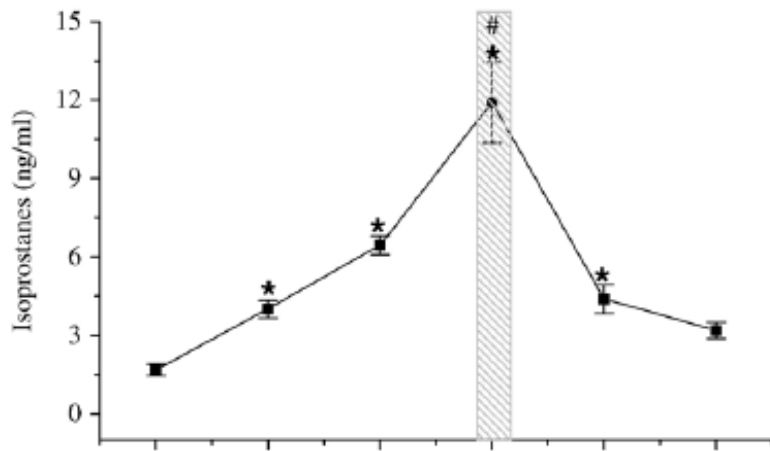


# Μεταβολές στην ανηγμένη (GSH) και οξειδωμένη γλουταθειόνη (GSSG)

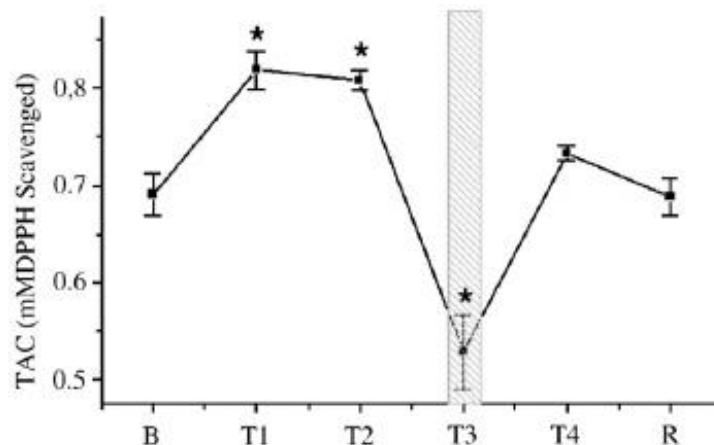
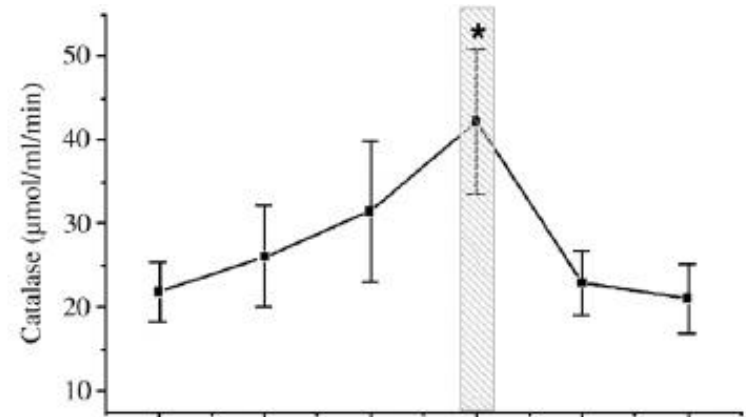
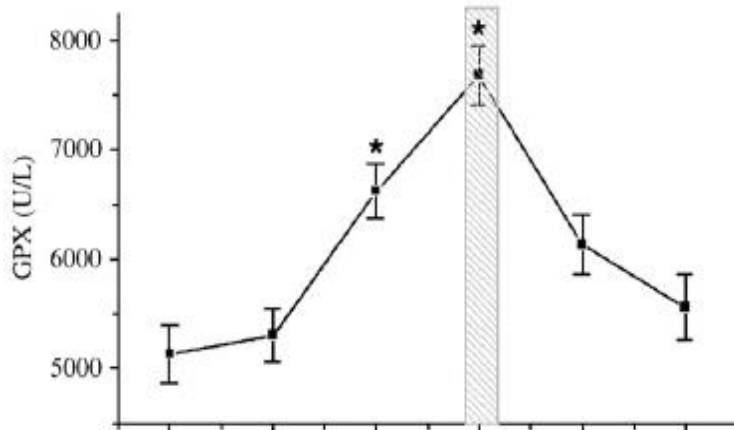
- Μείωση κατά 31% της GSH
- Αύξηση κατά 25% GSSG
- Μείωση κατά 56% του λόγου GSH/GSSG



# Μεταβολές στα ισοπροστάνια, TBARS και πρωτεϊνικά καρβονύλια



# Μεταβολές στην υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, καταλάση και ολική αντιοξειδωτική ικανότητα



# Συσχετίσεις μεταξύ μεταβολών στην απόδοση και δεικτών οξειδωτικού στρες

Table 2

Correlation coefficients of oxidative stress biomarkers with the magnitude of change in exercise volume during overtraining, and the magnitude of decline in each performance variable following overtraining (compared to T2)

	TBARS	F <sub>2</sub> -IsoP	PC	GSH	GSSG	GSH/GSSG	TAC	CAT	GPX
Exercise volume (tonnage lifted/week)	$r=0.391$ $P<0.298$	$r=0.812^*$ $P<0.026$	$r=0.236$ $P<0.573$	$r=0.060$ $P<0.899$	$r=-0.743$ $P<0.071$	$r=-0.809^*$ $P<0.026$	$r=0.318$ $P<0.487$	$r=-0.208$ $P<0.592$	$r=0.233$ $P<0.546$
CMJ drop	$r=-0.612$ $P<0.180$	$r=0.786^*$ $P<0.036$	$r=0.374$ $P<0.361$	$r=-0.103$ $P<0.826$	$r=0.808^*$ $P<0.028$	$r=0.911^*$ $P<0.004$	$r=-0.577^*$ $P<0.134$	$r=-0.156$ $P<0.688$	$r=0.062$ $P<0.856$
MP drop	$r=-0.428$ $P<0.250$	$r=0.773^*$ $P<0.041$	$r=-0.482$ $P<0.227$	$r=0.092$ $P<0.844$	$r=-0.710$ $P<0.074$	$r=0.856^*$ $P<0.014$	$r=-0.670$ $P<0.069$	$r=-0.035$ $P<0.929$	$r=0.015$ $P<0.966$
Chest Press 1RM	$r=-0.469$ $P<0.203$	$r=0.568$ $P<0.184$	$r=-0.602$ $P<0.114$	$r=-0.227$ $P<0.624$	$r=-0.705$ $P<0.077$	$r=0.764^*$ $P<0.046$	$r=-0.406^*$ $P<0.312$	$r=0.073$ $P<0.853$	$r=0.006$ $P<0.986$
Power clean 1RM	$r=-0.250$ $P<0.516$	$r=0.928^*$ $P<0.003$	$r=-0.639$ $P<0.088$	$r=0.050$ $P<0.916$	$r=-0.665$ $P<0.103$	$r=0.894^*$ $P<0.007$	$r=-0.686$ $P<0.081$	$r=-0.175$ $P<0.652$	$r=-0.022$ $P<0.949$

# Σύνδρομο Χρόνιας Κόπωσης και Πρωτεϊνικά καρβονύλια

*Table 1.* Protein carbonyl levels in the sera of chronic fatigue syndrome patients and controls

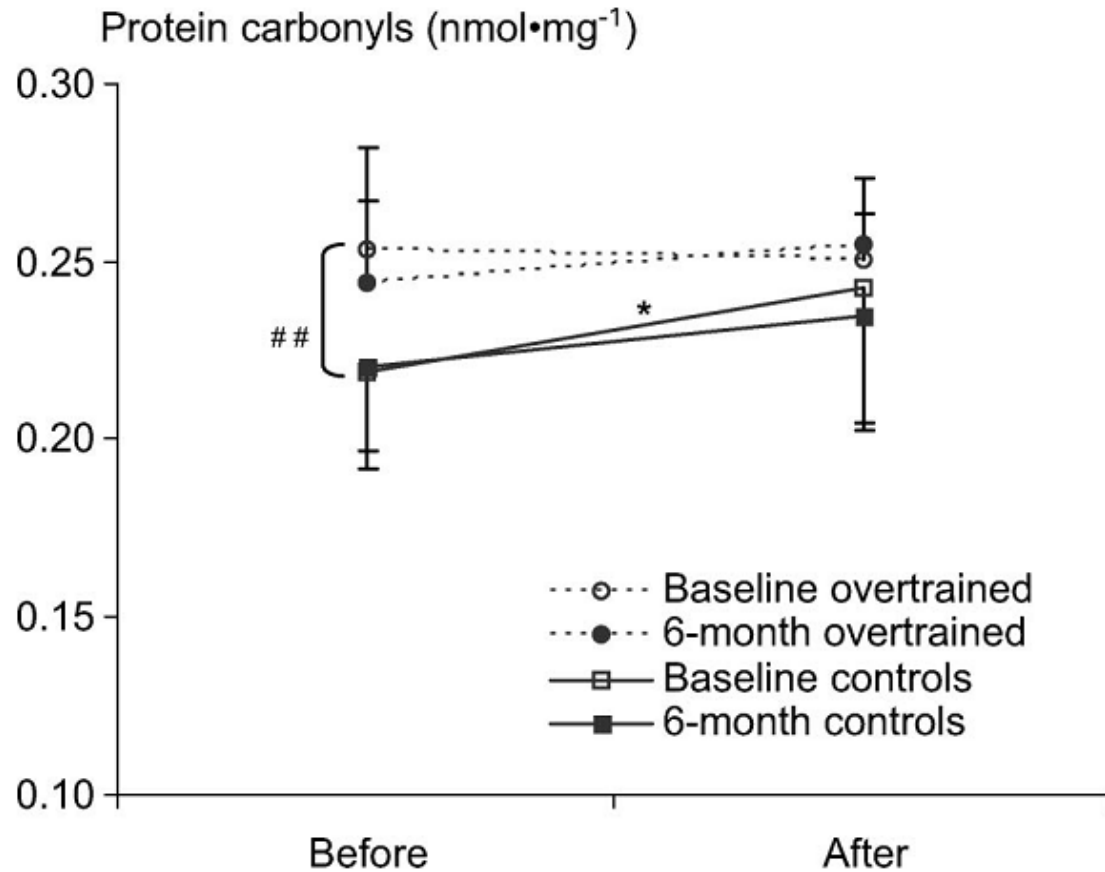
	CFS patients	Controls
Number of serum samples	36	16
Protein carbonyl levels (nmoles/ml of serum)	16.79 ± 2.69	13.88 ± 2.18
Serum protein (mg/ml of serum)	34.11 ± 1.66	34.34 ± 2.98
Protein carbonyl levels (nmoles/mg protein)	0.492 ± 0.0747	0.409 ± 0.800

- Οξειδωτικό στρες και υπερπροπόνηση

# Σύνδρομο υπερπροπόνησης

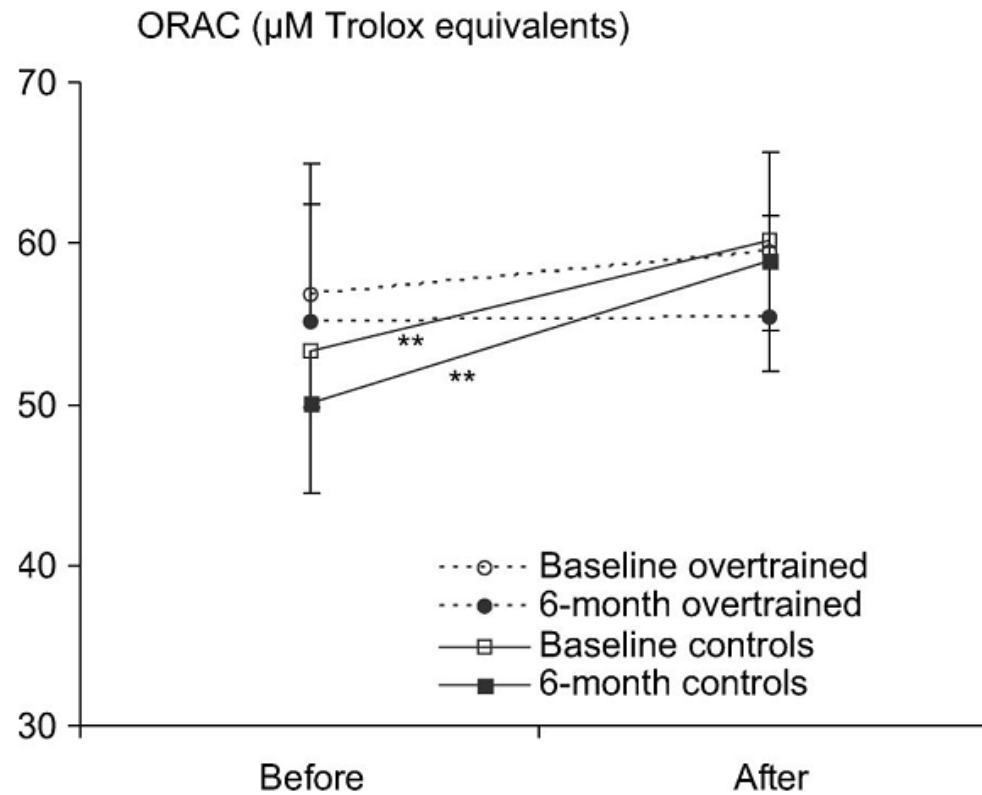
- Λιγότερο από 0.1% του γενικού πληθυσμού αναπτύσσουν συμπτώματα συνδρόμου υπερπροπόνησης αλλά πάνω από 37% των ελίτ αθλητών σε κάποια φάση της καριέρας τους θα αναπτύξουν συμπτώματα που σχετίζονται με αυτό το σύνδρομο

# Πρωτεϊνικά καρβονύλια και υπερπροπόνηση





# Αντιοξειδωτική ικανότητα και υπερπροπόνηση



# Συμπεράσματα

- Η άσκηση προκαλεί οξειδωτικό στρες το οποίο είναι απαραίτητο για προπονητικές προσαρμογές
- Η συστηματική προπόνηση επάγει το αντιοξειδωτικό σύστημα
- Η υπερβολική προπόνηση σε συνδυασμό με την πλημμελή αποκατάσταση μεταβάλλουν δείκτες του οξειδωτικού στρες

# Συμπεράσματα

- Φαίνεται πως δείκτες που σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες και το αντιοξειδωτικό σύστημα είναι ευαίσθητοι:
  - Για να μπορέσουν να αποκαλύψουν φαινόμενα συνδρόμου υπερπροπόνησης
  - Για να καθορίσουν την ανάγκη για ορθολογική αποκατάσταση
- Συχνή και προγραμματισμένη αξιολόγηση καθ' όλη τη διάρκεια της προπονητικής χρονιάς