



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Предраг Лазаревић, проф. физичког васпитања

ЕВАЛУАЦИЈА ПРОМЕНА ИНФЛАМАТОРНИХ
МЕДИЈАТОРА И РЕДОКС РАВНОТЕЖЕ
ИЗАЗВАНЕ ШЕСТОМЕСЕЧНИМ ТРЕНИНГОМ

Докторска дисертација



КРАГУЈЕВАЦ, 2013.

ЗАХВАЛНИЦА

Овом приликом се захваљујем свом ментору, Проф. др Владимиру Јаковљевићу и Доц. др Дејану Чубрилу, на иницијативи коју су показали код избора теме, као и на активном учешћу у извођењу истраживања. Својим несебичним стручним саветима су помогли у уобличавању ове докторске дисертације.

Истичем захвалност и лаборантима физиолошке лабораторије на институту Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу и Владимиру Живковићу на обављеним биохемијским анализама потребним за реализацију ове докторске тезе, Доц. др Марији Мацури и Драгани Копривици на уступању техничких помагала неопходних за прикупљање података за израду ове докторске дисертације.

Такође се захваљујем свом драгом пријатељу Доц. др Срђану Стефановићу на неизмерној и несебичној стручној и моралној подршци.

Посебно се захваљујем ФК Партизан из Београда као и тренеру тестиране генерације Дарку Тешовићу на сарадњи и учешћу у овом истраживању.

Огромну захвалност дугујем својој породици, родитељима, родбини и пријатељима на безрезервној подршци и разумевању током израде ове докторске дисертације.

Предраг Лазаревић, проф. физичког васпитања

I. Аутор

Име и презиме	Предраг Лазаревић
Датум и место рођења	18.05.1972. Крагујевац, Република Србија
Садашње запошлење	Незапослен

II. Докторска дисертација

Наслов:	Евалуација промена инфламаторних медијатора и редокс равнотеже изазване шестомесечним тренингом
Број страница:	192
Број слика:	/
Број табела:	34
Број шема	15
Број графикона:	32
Број библиографских података	342
Установа и место где је рад израђен:	Катедра за физиологију, Факултет медицинских наука, Крагујевац; Методолошко-истраживачка лабораторија Факултета за спорт и физичко васпитање, Београд
Научна област (УДК)	Медицина (Физиологија)
Ментор:	Проф. др Владимир Љ. Јаковљевић

III. Оцена и одбрана

Датум пријаве тезе:	02.09.2010.
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације:	2093/9 22.12.2010.

Комисија за оцену подобности теме и кандидата:

	Проф. др Небојша Арсенијевић, председник Проф. др Владимир Љ. Јаковљевић, члан Проф. др Душан Митровић, члан
--	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Комисија за оцену докторске дисертације

	Проф. др Гвозден Росић, председник Проф. др Драган Ђурић, члан Доц. др Дејан Чубрило, члан
--	--------------------------------------------------------------------------------------------------

Комисија за одбрану докторске дисертације

	Проф. др Гвозден Росић, председник Проф. др Драган Ђурић, члан Доц. др Дејан Чубрило, члан
--	--------------------------------------------------------------------------------------------------

Датум одбране докторске дисертације	
-------------------------------------	--

САДРЖАЈ

I УВОД	9
1.1. ФИЗИЧКА АКТИВНОСТ И ЗДРАВЉЕ	10
1.2. ИЗДРЖЉИВОСТ У СПОРТУ	11
1.3. КАРАКТЕРИСТИКЕ ФУДБАЛА КАО СПОРТА	13
1.4. КОНЦЕПТ "ТИХЕ" ИНФЛАМАЦИЈЕ У СПОРТУ	14
1.4.1. Цитокини и физичка активност	15
1.4.1.1. Про-инфламаторни цитокини и физичка активност	17
1.5. ЛИПИДИ	18
1.5.1. Масне киселине	19
1.5.2. Арахидонска киселина (20:4 n-6)	23
1.5.2.1. Циклооксигеназни пут	24
1.5.2.2. Липоксигеназни пут	25
1.5.2.3. Цитохром П-450	27
1.5.3. Еикосапентаеноична киселина (EPA, 20:5 n-3)	28
1.5.4. Дихомогама линолеична киселина (DGLA)	31
1.6. РЕДОКС РАВНОТЕЖА	33
1.6.1. Слободни радикали	34
1.6.2. Реактивне кисеоничне врсте (ROS)	35
1.6.2.1. Настанак и особине појединих ROS	36
1.6.2.2. Порекло	36
1.6.2.2.1. Супероксид анјон радикал $O_2^{\bullet-}$	38
1.6.2.2.2. Водоник пероксид (H_2O_2)	40
1.6.2.2.3. Хидроксил радикал ($\bullet HO$)	41
1.6.2.2.4. Синглет кисеоник (1O_2)	42
1.6.2.2.5. Остале реактивне кисеоничне врсте	43
1.6.3. Липидна пероксидација	43
1.6.4. Реактивне азотне врсте (RNS)	45
1.6.4.1. Азот моноксид ($\bullet NO$)	46
1.6.5. Антиоксидативни заштитни систем	47
1.6.5.1. Ензимске компоненте антиоксидационог заштитног система	50
1.6.5.1.1. Супероксид дисмутаза (SOD)	50
1.6.5.1.2. Каталаза (CAT)	52

1.6.5.1.3. Ензими глутатионског редокс циклуса (GSH-PX, GST, GR).....	53
1.6.5.1.3.1. Глутатион пероксидаза GSH-Px.....	53
1.6.5.1.3.2. Глутатион трансфераза (GST).....	54
1.6.5.1.3.3. Глутатион редуктаза (GR).....	54
1.6.5.2. Неензимске компоненте антиоксидационог заштитног система.....	55
1.6.5.2.1. Глутатион.....	55
1.6.5.2.2. Витамин С.....	57
1.6.5.2.3. Витамин Е (α -токоферол, ТОК).....	58
1.6.5.2.4. Коензим Q.....	59
1.6.5.2.5. β каротен и витамин А.....	60
1.6.5.2.6. Флавоноиди.....	60
1.6.5.2.7. Мокраћна киселина.....	60
1.6.5.2.8. Феритин, церулоплазмин, билирубин, албумин.....	61
1.7. ОКСИДАТИВНИ СТРЕС ИЗАЗВАН ФИЗИЧКИМ ВЕЖБАЊЕМ.....	61
1.7.1. Методе процене оксидативног стреса у биолошким системима.....	61
1.7.2. Оксидативни стрес и његова повезаност са тренажним оптерећењима..	63
II ЦИЉЕВИ.....	65
III МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ.....	67
3.1. ИСПИТИВАНЕ ГРУПЕ.....	68
3.2. ПРОТОКОЛ.....	69
3.2.1. Тренажни процес (микро–циклус, субота–субота).....	69
3.2.2. Протокол испитивања морфофункционалних карактеристика.....	80
3.2.2.1. Телесна висина.....	80
3.2.2.2. Телесни састав.....	80
3.2.3. Протокол испитивања функционалних способности.....	81
3.2.3.1. Аеробна моћ.....	81
3.2.4. Биохемиске анализе.....	82
3.2.4.1. Одређивање индекса липидне пероксидације (TBARS).....	83
3.2.4.2. Одређивање концентрације водоник пероксида (H_2O_2).....	84
3.2.4.3. Одређивање концентрације супероксид анион радикала ($O_2^{\cdot-}$).....	85
3.2.4.4. Одређивање концентрације азот монооксида (NO).....	86
3.2.4.5. Одређивање активности супероксид дисмутаза (SOD).....	87
3.2.4.6. Одређивање активности каталазе (CAT).....	88

3.2.4.7. Одређивање активности глутатиона (GSH).....	89
3.3. МЕРЕЊЕ СЕРУМСКЕ КОНЦЕНТРАЦИЈЕ ЦИТОКИНА.....	90
3.4. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА.....	91
IV РЕЗУЛТАТИ.....	93
4.1. МОРФО – ФУНКЦИОНАЛНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ	
ИСПИТАНИКА.....	94
4.1.1. Антропометријске и морфолошке карактеристике спортиста и неспортиста.....	94
4.1.2. Антропометријске и морфолошке карактеристике спортиста пре и након шестомесечног програмираног физичког оптерећења.....	97
4.1.3. Функционалне карактеристике испитаника спортиста пре и након шестомесечне програмиране физичке активности.....	100
4.1.4. Корелације морфолошких, функционалних параметара код спортиста пре и након спроведеног програма обуке у трајању од шест месеци.....	102
4.2. АНАЛИЗА РРО/АНТИОКСИДАТИВНИХ КОМПОНЕНТИ РЕДОКС	
РАВНОТЕЖЕ У БАЗАЛНИМ УСЛОВИМА И НАКОН	
ШЕСТОМЕСЕЧНОГ ПРОГРАМИРАНОГ ФИЗИЧКОГ	
ОПТЕРЕЋЕЊА.....	105
4.2.1. Промене параметара редокс равнотеже у крви испитаника, спортиста и неспортиста у базалним условима пре спроведеног програма.....	105
4.2.2. Промене параметара редокс равнотеже у крви испитаника, спортиста и неспортиста у базалним условима након спроведеног програма.....	110
4.2.3. Промене параметара редокс равнотеже у крви испитаника спортиста у првом мерењу, пре и после прогресивног растућег теста оптерећења.....	114
4.2.4. Промене параметара редокс равнотеже у крви испитаника спортиста у другом мерењу, пре и после прогресивног растућег теста оптерећења.....	115
4.2.5. Промене параметара редокс равнотеже у крви испитаника спортиста пре и након шестомесечног програмираног физичког оптерећења у базалним условима.....	116
4.3. ПРОМЕНА СВИХ ПАРАМЕТАРА РЕДОКС РАВНОТЕЖЕ НАКОН	
ТЕСТА ОПТЕРЕЋЕЊА У ПРОЦЕНТИМА ПРЕ И НАКОН	
ПРОГРАМИРАНОГ ШЕСТОМЕСЕЧНОГ ФИЗИЧКОГ	
ОПТЕРЕЋЕЊА.....	120

4.3.1. Корелација параметара редокс равнотеже у базалним условима пре спровођења програма и процентуалних промена пре и након програма.....	121
4.4. АНАЛИЗА НИВОА ПРО И АНТИ ИНФЛАМАТОРНИХ МЕДИЈАТОРА У БАЗАЛНИМ И УСЛОВИМА НАКОН ПРОГРАМИРАНОГ ШЕСТОМЕСЕЧНОГ ФИЗИЧКОГ ОПТЕРЕЋЕЊА.....	123
4.4.1. Промене параметара про и анти инфламаторних цитокина у крви испитаника, спортиста и неспортиста у базалним условима пре и после спроведеног програма.....	123
4.4.2. Промене параметара про и анти инфламаторних цитокина у крви испитаника спортиста, пре и након шестомесечног програмираног физичког оптерећења у базалним условима и у условима након прогресивног растућег теста оптерећења.....	125
4.4.3. Промене параметара про и анти инфламаторних цитокина у крви испитаника спортиста пре и после спроведеног програма обуке, а пре и после прогресивног растућег теста оптерећења.....	127
4.4.4. Разлике процентуалних вредности праћених параметара про и анти инфламаторних цитокина, пре и након шестомесечног програмираног физичког оптерећења.....	129
4.4.5. Корелација праћених параметара оксидативног стреса са параметрима инфламаторних медијатора у базалним условима као и корелација про и анти инфламаторних цитокина након шестомесечног програма обуке.....	131
4.4.6. Корелација морфофункционалних параметара са параметрима инфламаторних медијатора у базалним условима и условима након спроведеног шестомесечног програма обуке.....	132
V ДИСКУСИЈА.....	137
5.1. МОРФОФУНКЦИОНАЛНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ИСПИТАНИКА. 138	
5.2. РЕДОКС СТАТУС ИСПИТАНИКА СПОРТИСТА И НЕСПОРТИСТА У БАЗАЛНИМ УСЛОВИМА.....	141
5.2.1. Промене редокс статуса испитаника спортиста и неспортиста пре спроведеног програма.....	141
5.2.2. Промене редокс статуса испитаника спортиста и неспортиста након шестомесечног тренажног програма.....	144

5.3. ПРОМЕНЕ РЕДОКС СТАТУСА КОД ИСПИТАНИКА СПОРТИСТА ИЗАЗВАНЕ ШЕСТОМЕСЕЧНОМ ПРОГРАМИРАНОМ ФИЗИЧКОМ АКТИВНОШЋУ.....	145
5.4. ИНФЛАМАТОРНИ МЕДИЈАТОРИ ИСПИТАНИКА У БАЗАЛНИМ УСЛОВИМА ПРЕ И НАКОН СПРОВЕДЕНОГ ПРОГРАМА.....	148
5.4.1. Промене вредности инфламаторних медијатора код спортиста под утицајем спроведеног програма.....	149
5.4.2. Промене параметара про и анти инфламаторних цитокина у крви спортиста пре и после спроведеног програма обуке, а пре и после прогресивног растућег теста оптерећења.....	150
5.4.3. Разлике процентуалних вредности праћених параметара про и анти инфламаторних цитокина, пре и након шестомесечног програмираног физичког оптерећења.....	151
5.4.4. Корелација вредности морфофункционалних параметара, нивоа активности ензима оксидативног стреса и нивоа инфламаторних цитокина након шестомесечног програма обуке.....	151
VI ЗАКЉУЧЦИ.....	153
VII ЛИТЕРАТУРА.....	158
VIII СПИСАК СКРАЋЕНИЦА.....	188
IX ПРИЛОГ И БИОГРАФИЈА АУТОРА СА БИБЛИОГРАФИЈОМ.....	193

I УВОД

1.1. ФИЗИЧКА АКТИВНОСТ И ЗДРАВЉЕ

Физичка активност је од давнина представљала једну од најзначајних карика функционисања различитих цивилизација и друштава. Физичка доминација била је од огромног значаја како у мирнодопско, тако и у доба тешких и дуготрајних ратова. Разумевање морфологије, физиологије и специфичних функционалних способности спортиста, почиње са развојем базичних наука, које је пратио експлозиван развој технике и технологије. Уочавање специфичних и суптилних структуралних и функционалних промена на нивоу кардиоваскуларног система утренираних спортиста и евидентних разлика у односу на општу популацију, почиње почетком прошлог века (Rost, 1992).

Умерена физичка активност прија свима без обзира на старосну доб, пол, професију, климатске услове у којима неко живи, или тренутно здравствено стање. Чак и код најтежих болести препоручује се неки вид дозирање физичке активности. Када говоримо о здравим особама углавном се очекује да су оне и у доброј физичкој кондицији. Нажалост, савремени начин живота, техничка достигнућа и навике које нам она намећу не иду у прилог нашем здрављу. Људи се данас све мање крећу, не користе своје физичке потенцијале у пуној мери и то доводи до стања које лако може да пређе у болест. Болести које могу бити повезане са седантерним начином живота су: повишен крвни притисак, спондилоза, укљештење нерава, гојазност, остеопороза, итд.

Користи умерене физичке активности су вишеструке. Оптерећење које трпе кости при вежбању утиче на њихову повећану густину (Pei-Yang Liu, 2011) што је од великог значаја због опасности од прелома услед остеопорозе, нарочито у менопаузи. Редовним вежбањем мишићи постају снажнији, троше неопходну количину шећера из крви при раду, при чему се смањује ризик од дијабетеса и побољшава већ постојећа болест (Church *et al*, 2010). Такође се смањује ниво LDL холестерола (Martins *et al*, 2010) у крви и повишава HDL холестерол (Henning *et al*, 2010). Како у току интензивног вежбања шећер из крви бива потрошен, тело почиње да користи залихе масти, и временом се мишићна маса повећава на рачун масти. Зато се за ефикасно мршављење препоручује дуготрајно вежбање са мањим напором. Редовним вежбањем тело лакше троши масти и мање их гомила што ће спречити појаву гојазности. После

три до шест недеља вежбања у континуитету срце боље ради, обавља исти рад са мање откуцаја у минути јер се побољшава проток крви у артеријама и сви органи добијају више кисеоника што умањује ризик од инфаркта срца и možданог удара. Када се крвни судови шире и срце боље ради са мање напора нормализује се и повишени крвни притисак (Guyton and Hall, 1999).

Умерена физичка активност је одлична антистрес терапија. У стресној ситуацији надбубрежне жлезде производе "хормоне стреса" адреналин и кортизол, пулс се убрзава и крвни притисак расте. Такође, у току вежбања производе се ендорфини (Cunha, 2008) хормони који изазивају осећај задовољства. Зато се након вежбања осећамо добро, опуштено и задовољно. Препорука је да би свака особа требало зарад физичког, психичког и менталног здравља посветити себи и свом телу барем један сат током дана.

Физичка активност има велику улогу у балансу организма детета. Квалитетно испланиран програм вежби значајно побољшава дечије физичке, психомоторне и интелектуалне способности. Здравље умногоме зависи од физичке активности, чиме се побољшава уравнотежен развој деце (Shephard, 1984). У последње две ипо деценије, учешће у такмичарским спортским приредбама постало је основана карактеристика детињства у западним земљама (Davidson and Taunton, 1987).

1.2. ИЗДРЖЉИВОСТ У СПОРТУ

Максимална потрошња кисеоника (VO_{2max}) је један од најчешће мерених параметара у изучавању физиологије напора. Максимална аеробна моћ (VO_{2max}) је највећа количина кисеоника, коју организам може да искористи у току напорних вежби (Astrand and Rodahl, 1986). Прихваћена је као општа мера за најбољу процену функционалне границе кардиоваскуларног система (Rowell, 1974).

У оквиру даљег развоја дисајног система, мењају се и његове функције. Витални капацитет плућа повећава се, а крајем узраста 14-15 година достиже вредност око 3500 cm^3 . Вредност максималне плућне вентилације, се брже повећава код девојчица, док се код дечака то креће спорије, а износи око

75 lit/min. Максимална потрошња кисеоника код дечака износи нешто мање од 2,5 lit/min (Стојановић, 1977).

Први концепт о појављивању ограниченог степена транспорта кисеоника из окружења до митохондрија, са циљем да се обезбеди оксидативна продукција АТП-а за потребе започетог физичког рада, започео је са радовима А. V. Hill (Hill and Lupton, 1923). Резултати ових истраживања и низа промена, коришћени су у најразличитијим сферама клинике и науке, као главни фактор толеранције физичког оптерећења (Levine and Stray-Gundersen, 1997; Hoppeler and Weibel, 2000; diPrampetro, 2003), као показатељ нивоа физичке спремности, као и степена прогресије кардиоваскуларних обољења (Blair *et al*, 1996; LaMonte *et al*, 2006).

Ниво аеробног метаболизма који се може у континуитету одржавати у току неког такмичења, као изузетно значајна компонента аеробне издржљивости, била је предмет истраживања неколико концепата (Coyle, 1995; Bassett and Howley, 2000). Горњи ниво аеробног метаболизма представља максималну потрошњу кисеоника (VO_{2max}). Вредност која изражава горњи ниво аеробног метаболизма, се постиже учешћем великих мишићних група и она интегрише велики број органиских система, као што су срце–централни орган кардиоваскуларног система, хемореолошки систем–за контролу укупне количине хемоглобина, адекватног протока кроз мишиће као и кисеоничке екстракције на периферији, удружене са сталном оксигенацијом крви на нивоу плућа (Kanstrup and Ekblom, 1984; Dempsey, 1986; Saltin and Strange, 1992; Bassett and Howley, 2000).

Прва мерења максималне потрошње кисеоника која су објављена, су из 1930. године. Тада су високе вредности овог параметра које су добијене тестирањем код спортиста, приказивана и интерпретирана као висок степен функционалних способности (Robinson *et al*, 1937). Анализирањем VO_{2max} код врхунских спортиста, укључених у тренинге издржљивости, уочене су вредности од 70-85 ml/kg/min, са у просеку 10% нижим вредностима код жена, због ниже концентрације хемоглобина и виших нивоа телесних масти (Saltin and Astrand, 1967; Pollock, 1977; Durstine *et al*, 1987; Pate *et al*, 1987; Jensen *et al*, 2001). Најупечатљивије адаптације на тренажни процес које омогућавају достизање 50-100% већих вредности VO_{2max} у популацији врхунских спортиста

у поређењу са здравим младим испитаницима укључују на првом месту повећање ударног волумена, повећање густине капилара, као и густине митохондрија у тренираним мишићима (Costill et al, 1976). Најдоминантнији адаптабилни фактор код спортиста представља висок ударни волумен (Ekblom and Hermansen, 1968; Coyle et al, 1984; Martin et al, 1986).

Истраживања са циљем идентификације специфичних гена, нису показала убедљиве научне доказе о генском наслеђивању ове варијабле. На основу низа одређених истраживања намеће се закључак да би одређена количина постигнуте VO_{2max} могла имати наследну основу (Bouchard et al, 1998; Hagberg et al, 2001). Идентификација великог броја врхунских спортиста типа издржљивости који не поседују специфичан генотип типа издржљивости, све више доводи у питање генску предиспонираност за развој VO_{2max} . (Tsianos et al, 2004; Lucia et al, 2005; Scott et al, 2005).

1.3. КАРАКТЕРИСТИКЕ ФУДБАЛА КАО СПОРТА

Савремена фудбалска игра захтева покрете и активности који се одликују изразито брзим, снажним и експлозивним способностима. Анализирањем такмичарске активности фудбалера, закључујемо да у фудбалу преовлађује интермитентна структура кретања са великим бројем акција са и без лопте, које су високоинтензивног карактера и између њих се јављају периоди нискоинтензивних активности (Svensson and Drust, 2005).

За успешно извођење техничко-тактичких радњи на утакмици, потребно је да играчи имају максимално развијене функционалне и моторичке способности. Када говоримо о фудбалу најчешће се мисли на аеробни и анаеробни капацитет, снагу, флексибилност и агилност (Svensson and Drust, 2005).

Поред компарације, мониторинга напретка у тренингу може да пружи реалну слику о тренутном статусу спортисте на почетку тренажног процеса, па ће наредна мерења пратити и показати остварени степен напретка. Код фудбалера, дијагностичке процедуре су најчешће усмерене на максималну потрошњу кисеоника, одређивање анаеробног прага и утврђивања снажних својстава (Svensson and Drust, 2005).

Бомпа (Вотра, 2005) је период од 6. до 18. године живота, које се узима као период спорта младих, поделио на три периода: Иницијација (6-10 година), обликовање (11-14) и специјализацију (15-18). Сваки од ових периода је специфичан по развојним карактеристикама деце, сензибилним фазама и законитостима које се јављају приликом реализације програма тренинга, и изузетно је битно придржавати се овог редоследа.

Развој и процена успешности младих фудбалера, у функцији дугорочне пројекције, је изузетно отежана а разлог су индивидуалне разлике у времену и темпу промена антропометријских карактеристика, функционалног капацитета и моторичких дисбаланса током пубертета и периода сазревања (Malina et al, 2004).

Процена ефикасности фудбалских полазника у пред пубертетском развојном добу, у коме не постоје изражене биолошке и морфолошке разлике, може да да прецизније информације о почетним адаптацијама на неке активности. Промене моторичких способности у развојном периоду деце, која се систематски баве фудбалом, није могуће посматрати изоловано од специфичности услова у којима се одвија фудбалска активност. Ефикасност у игри не може се објаснити независно од развоја општих моторичких способности фудбалера, као објективне основе за испољавање специфичних моторичких способности (Kukulj i sar, 2007).

1.4. КОНЦЕПТ "ТИХЕ" ИНФЛАМАЦИЈЕ У СПОРТУ

Излагање појединачном напорном и дуготрајном физичком оптерећењу има привремено депресивно дејство на активност имуног система. То је показано у неколико студија које су проучавале појаву запаљенске реакције код прилично екстремних физичких активности као што су маратон и ултрамаратон. Ова истраживања су дошла до закључка да појава инфламације код спортиста који учествују у овим дисциплинама може бити повезана са повећаном учесталашћу инфекција у периоду након оптерећења. Наиме, забележена је два до шест пута већа учесталост инфекција горњег респираторног тракта код спортиста након маратона у поређењу са контролним тркачима који нису учествовали у овим тркама (Nieman et al, 1990; Peters and Bateman, 1983; Peters

et al, 1993; Peters *et al*, 1996). Такође, акутни наступ физичке активности је праћен реакцијама организма које су по многим критеријумима веома слични онима које су изазване инфекцијом, сепсом или траумом (Northoff *et al*, 1998). То се пре свега огледа у постојању значајног пораста броја циркулишућих леукоцита, углавном лимфоцита и неутрофила, при чему је уочена директна пропорционалност између пораста њихових вредности и повећања интензитета и трајања вежбања. Поред тога забележено је и повећање плазма концентрација бројних супстанци за које се зна да модулишу функције леукоцита, укључујући инфламаторне цитокине као што су TNF- α , инфламаторни протеин-1 пореклом од макрофага, IL-1 β , анти-инфламаторни цитокини IL-6, IL-10, антагонист рецептора за IL-1 и C-реактивног протеина (CRP). Велики пораст концентрације IL-6 у плазми приметан током вежбања, на основу досадашњих знања, се једино може објаснити ослобађањем овог цитокина контракцијом мишићних влакана (Steensberg *et al*, 2000). Међутим, продукција IL-6 из моноцита (Starkie *et al*, 2001) као и IL-2 и IFN- γ (али не и IL-4) из T лимфоцита су инхибирани у току и за неколико сати након дужег физичког оптерећења (Lancaster *et al*, 2004; Northoff *et al*, 1998).

1.4.1. Цитокини и физичка активност

Цитокини су породица разноврсних међућелијских сигналних молекула који имају важну улогу у процесу хематопоезе (формирање уобличених елемената крви), у запаљенским и имунолошким реакцијама организма. На основу физиолошких ефеката, цитокини се генерално могу класификовати на "про" и "анти-инфламаторне" цитокине (Malm, 2002; Suzuki *et al*, 2002). Про-инфламаторним цитокинима припадају такође фактор некрозе тумора- α (TNF- α) и IL-1 β , за које се сматра да промовишу инфламаторне одговоре праћене оштећењем мишића (Ostrowski *et al*, 2001; Pedersen *et al*, 2001). Насупрот томе, антиинфламаторни цитокини као што су IL-4, IL-10 и антагониста рецептора за IL-1 (IL-1ra), инхибирају инфламаторне одговоре смањењем деловања про-инфламаторних цитокина (Malm, 2002; Suzuki *et al*, 2002). Са друге стране, IL-6 и фактор стимулације раста гранулоцита (G-CSF), могу деловати и као про и као анти-инфламаторни цитокини, у зависности од ситуације (Boneberg 2002;

Gorgen et al, 1992; Hartung et al, 1998; Hartung, 1999; Malm 2002; Pajkrt et al, 1997; Pedersen et al, 2001; Pedersen et al, 2001; Steensberg, 2003; Suzuki et al, 2002; Suzuki et al, 2003). Интензивно вежбање најпре изазива оштећења, а касније и запаљење мишића које се испољава у виду бола, отока, продуженог губитка мишићне функције, и последичним ослобађањем мишићних протеина у циркулацији као што су креатин киназа (СК) и миоглобин (Mb) (Nosaka et al, 2003; Sayers and Clarkson, 2003; Suzuki et al, 1999; Suzuki et al, 2000). Познато је да ексцентрично вежбање изазива већа оштећења и упалу мишића од концентричног, или изометријског вежбања (Nosaka et al, 2003). Извесно је да на концентрацију цитокина у плазми утиче начин вежбања (Brenner et al, 1999; Childs et al, 2001; Hellsten et al, 1997; Malm, 2000; Petersen et al, 2001; Suzuki et al, 1999; Suzuki et al, 2000; Suzuki et al, 2002; Suzuki et al, 2003; Suzuki et al, 2003; Toft et al, 2002; Tracey et al, 2003). Степен промене концентрације цитокина у плазми зависи од интензитета и дужине вежбања, као и од врсте мишићне контракције. Претходна истраживања су показала да у току и после дуготрајних и напорних спортских дисциплина долази до значајног повећања нивоа цитокина у плазми (Pedersen et al, 2001; Pedersen et al, 2001; Suzuki et al, 2002; Suzuki et al, 2003). Наиме, запажено је да се ниво TNF- α , IL-1 β , и IL-8 у плазми повећава два до три пута, док IL-6 расте чак сто пута након маратонске трке (Nieman et al, 2001; Pedersen et al, 2001; Pedersen et al, 2001; Suzuki et al, 2000; Suzuki et al, 2002; Suzuki et al, 2003; Suzuki et al, 2003). Занимљиво, ниво IL-1 α у плазми расте у истој мери, али и наставља да се повећава у року од неколико сати након вежбања (Suzuki et al, 2000; Tracey et al, 2003). Концентрација IL-10 у плазми се такође повећава за 30-60 пута после вежбања (Nieman et al, 2000; Nieman et al, 2002; Suzuki et al, 2003).

Током мишићног рада такође долази до повећане продукције реактивних кисеоничних врста (ROS). Главни извори ROS-а током вежбања су респираторни ланац у митохондријама, цитосолна и мембранска NADH оксидаза и ксантин оксидаза (Ji, 1999; Reid, 2001). ROS могу потенцирати развитак запаљенских реакција, јер посредују у настанку бројних про-инфламаторних цитокина, нарочито IL-6 (Kosmidou et al, 2002).

Сви наведени подаци указују да интензивно и дуготрајно вежбање изазива промену равнотеже између про и анти-инфламаторних цитокина унутар

системске циркулације, у смислу преваге анти-инфламаторних цитокина, што у крајњем узрокује запаљенску реакцију мишићног ткива која се негативно одражава на опоравак након тренинга и спортске перформансе.

1.4.1.1. Про-инфламаторни цитокини и физичка активност

Као што је већ истакнуто један од цитокина чија се повишена вредност најчешће доводи у везу са вежбањем је интерлеукин 6 (IL-6) (Ostrowski et al, 1999). Такође, током физичке активности значајан је пораст и осталих цитокина пре свега интерлеукина 1 (IL-1) и интерлеукина 10 (IL-10) (Ostrowski et al, 1999). Сви ови цитокини се могу класификовати као про-инфламаторни, обзиром на сличности са њиховим одговорима на трауме и инфекције. Ипак истраживања су показала да IL-6 поред про-инфламаторних може поседовати и анти-инфламаторна својства у смислу контроле интензитета инфламаторног одговора, што га генерално чини врло важном кариком у процесу инфламације.

Northoff и сарадници (Northoff, 1991) су указали да повишен ниво IL-6 може бити укључен у настанак акутне фазе запаљења након вежбања. Друге студије су показала да значајно повишен ниво IL-6 у току и након напорног тренинга, може да зависи од интензитета и природе мишићне контракције (Smith et al, 2000; Pedersen and Toft, 2000). Са друге стране Pedersen и коаутори (Pedersen and Toft, 2000) сугеришу да је, тзв. одложен почетак појаве бола у мишићима, у позитивној корелацији са количином продукованог IL-6. У даљим истраживања (Richards and Gaulder, 1998) је такође показано да одговор IL-6 након вежбања није користан, а ни неопходан за развој мишића. Овакав закључак је навео истраживаче да посвете већу пажњу испитивањима прекомерне продукције IL-6 и *ин vivo* и *ин vitro*.

Al-Shanti и сарадници (Al-Shanti et al, 2008) у *ин vitro* студији показују да IL-6 у комбинацији са TNF- α игра кључну улогу у стимулацији пролиферације ћелија миобласта (матичне ћелије из којих се развија мишићно ткиво). На тај начин, када је у питању регенерација мишића, IL-6 изгледа да има и позитивне и негативне ефекте. Остаје нејасно на ком нивоу IL-6 може постати штетан. Ако повишен ниво IL-6, као одговор на оштећења мишића, није од значаја за њихов развој, онда смањење нивоа IL-6 може позитивно утицати на

смањење времена опоравка од вежбања, док истовремено оптимизује прерформансе. Постоје подаци који указују да је продукција цитокина након оштећења мишића повезана са одложеним почетак појаве бола у мишићима (Smith et al, 2000; Richards and Gaulder, 1998; Northoff, 1991; Pedersen and Toft, 2000). У покушају да се редукује одговор цитокина као и оштећења мишићног ткива, користе се бројни терапијски модалитети као што су масажа, криотерапија, истезање или фармаколошка терапија (нибупрофен), међутим не постоји доказ који би говорио у корист неког од коришћених модалитета (Lenn et al, 2002).

1.5. ЛИПИДИ

Липиди (масти) су једињења различитог састава по правилу нерастворна у води, а растворна у органским растварачима (Clayden, 2001). Биолошки су веома значајна једињења. Они су основна компонента биолошких мембрана и утичу на њихову пропустљивост, учествују у предаји нервних импулса, стварају контакте међу ћелијама, чине енергетске резерве, штите организам од механичких повреда и формирају термоизолациони слој (Nelson and Cox, 2005). Због специфичне хемијске структуре, липиди се састоје од неполарног и поларног дела.

Прости липиди су супстанце чији се молекули састоје само од остатака масних киселина и алкохола (најчешће глицерола). Овде спадају масти и уља (триглицериди) и воскови (Koraćević i sar, 2006; Grupa autora, 2006).

Сложени липиди укључују деривате фосфорне киселине (фосфолипиди) и липиде који садрже остатке угљених хидрата (гликолипиди). Овде спадају и стероиди (Parker et al, 2006). Ако се животињска, или биљна ткива третирају органским растварачима, део ће се растворити. Компоненте раствора се називају липиди. Липидна фракција садржи супстанце различитих типова. Липиди су енергетска и градивна једињења, чијом разградњом се добија енергија потребна за различите животне процесе. Липиди се уносе храном, али се једним делом синтетишу и у организму. У крви се налази 4-10г липида, али су они не растворљиви у води па се у циркулацији налазе у облику липопротеинских молекула. Липопротеини имају централни део који се састоји од холестеролских

естара и триглицерида око којих се налази омотач од протеина (апопротеини), фосфолипида и мале количине холестерола. Липопротеини се међусобно разликују према количини појединих липида, апопротеина, величини и густини и према томе се деле на липопротеине веома мале густине VLDL (састоје се највећим делом из триглицерида), липопротеини интермедијалне густине IDL, липопротеина мале густине LDL (састоје се највећим делом из холестерола) и липопротеине велике густине HDL. Густина честица превасходно зависи од нивоа триглицерида. Највећи део липопротеина плазме чине LDL (50-60%) , HDL (20%-40%), а само 5%-10% чине VLDL (Clayden, 2001). Хиломикрони су главни преносиоци егзогених триглицерида, VLDL честице имају улогу у преношењу ендогених триглицерида, док су HDL честице преносиоци холестеролских естара и фосфолипида од периферних ткива ка јетри и зато се сматрају заштитним липопротеинима.

Физиолошке вредности липида (уз незнатне варијације) износе: укупни холестерол <5,2mmol/l, LDL холестерол <3,5mmol/l, HDL холестерол за мушкарце >1,3mmol/l, за жене >1,5mmol/l, триглицериди <1,7mmol/l (Nelson and Cox, 2005).

Од свих липопротеина најзаступљеније су LDL честице које представљају главне преносиоце холестерола ка периферним ткивима, и садрже око 70% укупног холестерола у плазми. Ове честице су склоне модификацијама као што је оксидација, гликолизација и ацетилација због чега су веома атерогене. 2/3 LDL честица се уклања преко LDL рецептора, а 1-3 преко рецептора чистача.

1.5.1. Масне киселине

Масне киселине спадају у алифатичне карбоксилне киселине. Из липида је изоловано више од 70 разних масних киселина. Масне киселине су од суштинске важности за исхрану људи и укључене су у разне биолошке функције. Енергетска улога масних киселина огледа се у томе што се њиховим разлагањем ослобађа велика количина енергије. Складиште се у ћелијама масног поткожног ткива (растресито везивно ткиво), одакле се према потреби организма могу користити. Под дејством хормона масне ћелије врше хидролизу (разлагање) масти у слободне масне киселине. Масне киселине прелазе у крв, а

затим у ћелије које их користе као извор енергије. Вишак шећера у крви се привремено складишти у облику гликогена, а затим се трајно чува у облику масти. Када се енергетске потребе организма не могу задовољити храном, прво долази до разлагања резерви гликогена, а затим се разлажу масти.

Градивна улога односи се на то што се део масти користи за изградњу и обнову ћелија и њених делова. Најпознатији структурни липиди су: фосфолипиди који граде ћелијске мембране;

- холестерол који припада стероидима (деривати масти) и такође гради ћелијске мембране (осим код бактерија);
- воскови који образују заштитни слој на кожи, крзну, перју или лишћу и плодовима биљака (најпознатији је пчелињи восак од кога пчеле праве саће).

Масне киселине су класификоване као засићене масне киселине које немају двоструку везу, или као незасићене масне киселине које имају двоструку, или троструку везу. У засићене масне киселине се убрајају: бутерна (4), капронска (6), каприлна (8), капринска (10), лауринска (12), миристинска (14), палмитинска (16), стеаринска (18), арахинска (20), бегенска (22), лигноцеринска (24). На основу броја присутних двоструких веза, незасићене масне киселине су даље подељене у мононезасићене масне киселине са само једном двоструком везом, и полинезасићене масне киселине (PUFAs) са две, или веште двоструких веза. PUFAs се даље групишу у следеће категорије: n-3 серије (прва двострука веза између C3 и C4 са метил групом на крају угљениковог ланца) масних киселина коју представљају линолеинска киселина (C18:3), еикосапентаеноична киселина (EPA, C20:5), и докосахексаеноична киселина (DHA, C22:6), и n-6 серије (прва двострука веза је између C6 и C7 са метил групом на крају угљениковог ланца) масних киселина које представљају линолеична киселина (C18:2), гама-линолеична киселина (C18:3), дихомогама-линолеична киселина (C20:3) и арахидонска киселина (C20:4) (Mankura and Kayama, 1995) (схема 1)

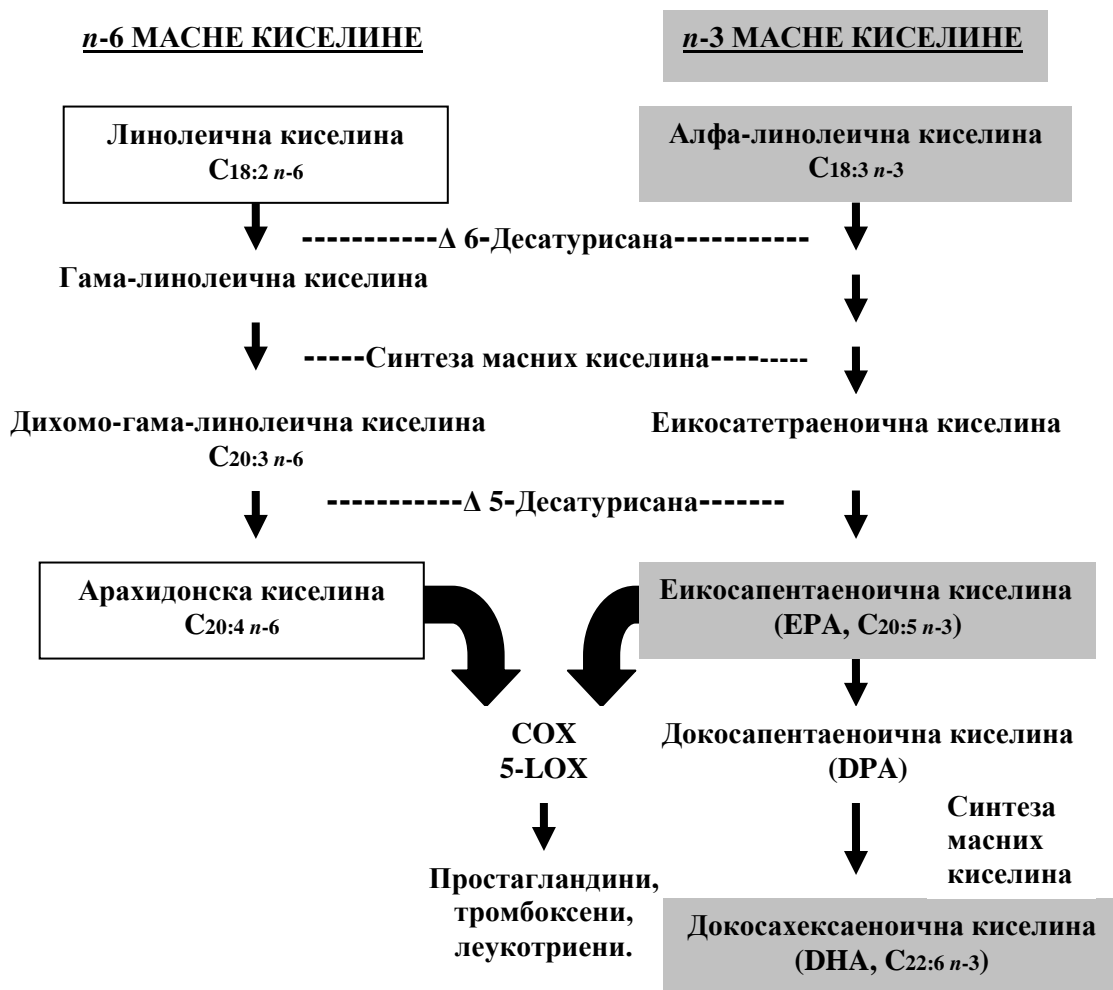


Схема 1. Биосинтеза главних полинезасићених масних киселина

У природи се незасићене масне киселине јављују само у "cis" форми. "Trans" облик искључиво настаје утицајем човека и његове намере да прерађује масноће (нпр. хидрогенизацијом). Хемијски процеси мењају природну "cis" структуру масних киселина у "trans" структуру која је неприродна и људски организам је не може искористити.

Засићене и мононезасићене масне киселине се користе као значајни извори енергије у организму, док су PUFAs прекурсори за фосфолипиде и простагландине. Дијететски недостатак у линолеичној и а-линолеичној киселини изазива низ здравствених проблема укључујући кожна обољења, неплодност и смањену активност имуног система (Sugano and Ikeda, 1991). Познате физиолошке функције n-3 PUFAs су антиоксидација (Saravanan et al, 2010), антиинфламација (Wall et al, 2010), кардио-протективно и неуро-протективно дејство (Lauritzen et al, 2000). Шта више, у клиничким студијама је

показан терапеутски ефекат n-3 PUFAs против ризика од болести кардиоваскуларног система (Richardson and Puri, 2002), Алцхајмерове болести (Jicha and Markesbery, 2010), депресије (Stoll et al, 1999; Logan, 2003) и других дегенеративних и неуролошких поремећаја (Palacios-Pelaez et al, 2010). Студије *ин витро* и *ин vivo* су показале, да се масне киселине разликују по својој брзини ослобађања из масног ткива. Процент ослобађања је обрнуто пропорционалан дужини ланца, а директно пропорционалан степену засићености масне киселине (Loh and Law, 1980; Bazan, 2007).

Људски организам може синтетизовати све масне киселине неопходне за своје потребе осим арахиндонске, линолне и линоленске киселине. Зато их називамо есенцијалним масним киселинама, јер су врло важне за наш организам и морамо их уносити путем хране (егзогено). На сву срећу, оне су широко распрострањене у биљној и животињској храни.

Есенцијалне масне киселине (EFA) су вишеструко незасићене масне киселине и од њих се у организму стварају низови омега-6 и омега-3 масних киселина. Људски организам може једноставно произвести засићене масне киселине, или једноструко незасићене масне киселине с двоструком везом на деветом атому угљеника, бројећи од краја молекуларног ланца (омега-9 киселине), али не може створити двоструку везу на шестом, или трећем атому угљеника због непостојања ензима који би томе припомогао.

Есенцијалне масне киселине имају улогу у регулацији протока крви и побољшавају функционисање имунолошког система (подстичу стварање простагландина). Неравнотежа у концентрацији између омега-3 и омега-6 масних киселина (данас се претпоставља да је њихов физиолошки однос 1 : 2) може имати улогу у патогенези многих болести као што су: депресија, поремећај понашања (укључујући насиље), дијабетес типа 2, артритис и малигнитети.

Трансмасне киселине су незасићене масне киселине које садрже транс двоструку везу између атома угљеника. Таква "trans" својства настају у процесу индустријске прераде који се назива хидрогенизација биљних уља.

Истраживања показују да управо трансмасне киселине у недостатку есенцијалних масних киселина могу да се укључе у виталне процесе организма

и узрокују болести кардиоваскуларног система пре свега артериосклерозу и болести срчаног мишића.

Масне киселине могу бити повезане са другим молекулама као што су триглицериди или фосфолипиди. Ако нису повезане, тада их називамо слободним масним киселинама. Слободне масне киселине настају кидањем триглицерида на почетне компоненте, масне киселине и глицерол.

Слободне масне киселине су важан извор енергије за многа ткива јер могу доставити релативно велике количине АТФ-а. Поред глукозае главни енергетски извор за ћелије су масне киселине. Већи број типова ћелије за енергију примарно користе масне киселине (ћелије срца, мишића). С друге стране, мозак не може користити масне киселине већ користи глукозу или кетонска тела (кетонска тијела се стварају у јетри кроз метаболизам масних киселина за време гладовања или за време ниског уноса угљених-хидрата).

1.5.2. Арахидонска киселина (20:4 n-6)

Арахидонска киселина (*AA*, *ARA*) спада у незасићене масне киселине и то у подгрупу тетраенских незасићених масних киселина, што значи да у својој структури садржи 4 двогубе везе, (назив по IUPAC номенклатури: all-cis-5,8,11,14-Еикосатетраенска киселина). За организам представља есенцијалну масну киселину заједно са линолном и α -линоленском киселином, а главни њен извор у природи је уље кикирикија. Представља саставни део фосфолипида ћелијске мембране, односно учествује у формирању њене структуре, па је самим тим њен унос неопходан, примарно због структурног ентитета ћелије. Присутна је у изобиљу у мозгу, мишићима, и јетри.

У организму ендогена слободна арахидонска киселина се ствара дејством два ензима на фосфолипиде ћелијске мембране и то: фосфолипазе A_2 и фосфолипазе C , при чему је дејство фосфолипазе A_2 доминантно. Тако створена слободна арахидонска киселина се интрацелуларно метаболише путем три метаболичка пута:

- 1) циклооксигеназним путем
- 2) липоксигеназним путем
- 3) епоксигеназним путем (цитохром P-450 зависним)

1.5.2.1. Циклооксигеназни пут

Први корак у метаболизму слободне арахидонске киселине овим путем је синтеза примарних простагландина (PG), путем ензима простагландин-ендопероксид синтазе (PES) (Samuellsen et al 1978), која поседује циклооксигеназну и пероксидазну активност (Samuellsen et al 1978, Pace-Asciak and Smith 1971). Циклооксигеназна активност PES подразумева формирање 15-хидроперокси-9,11-ендопероксида са супституисаним циклопентановим прстеном (PGG₂), док пероксидазна активност PES редукује PGG₂ у његов 15-хидрокси аналог – PGH₂. Циклооксигеназна активност се глобално може поделити на основу крајњих продуката метаболизма простагландин-ендопероксида на:

- 1) циклооксигеназну активност којом настаје тромбоксан A₂ (TxA₂) – у тромбоцитима (тромбоксан-синтаза),
- 2) циклооксигеназну активност којом настаје простациклин (PGI₂) – у васкуларном ендотелу (простациклин-синтаза).

Тромбоксан (TxA₂), главни метаболит простагландин-ендопероксида у тромбоцитима, представља најпотентнији вазоконстриктор у организму (око 50 пута јачи од ангиотензина II), а такође изазива агрегацију тромбоцита и ослобађање серотонина из тромбоцита у концентрацијама <20 nM. Интересантно да инхибитори тромбоксан-синтазе (имидазол, његови супституенти, деривати пиридина) супримирају његову продукцију, али не умањују агрегацију тромбоцита у одговору на арахидонат, што указује на чињеницу да TxA₂ и PGH₂ (његов прекурсор) делују преко истих рецептора (LeBreton et al, 1979).

Простациклин (PGI₂) настаје у ћелијама васкуларног ендотела конверзијом PGH₂ преко ензима простациклин-синтазе. Дејство PGI₂ се може сматрати супротним у односу TxA₂, другим речима, изазива вазодилатацију крвних судова и поседује антиагрегациона својства. Иначе глатке мишићне ћелије, како васкуларне, тако и невакуларне, продукују такође простациклин, али у знатно мањој мери од ендотелних ћелија, што је последица веће концентрације циклооксигеназе у ендотелним ћелијама него у глаткој мускулатури (DeWitt et al, 1983). За разлику од азот монооксида (NO), још једног

круцијалног молекула у контроли васкуларног тонуца, PGI₂ се ослобађа искључиво интралуминално, из чега проистичу разлике у механизмима њиховог дејства.

Са клиничког аспекта, управо ефекти TxA₂ и PGI₂ на организам имају највећи значај. PGI₂ се може окарактерисати као локални хормон, који ослобођен из ендотелних ћелија делује интра и аблуминално (Војић и Ђурић, 1997). Интралуминално, он делује антитромбоцитно и антиадхезивно, док аблуминално делује на релаксацију васкуларне глатке мускулатуре, односно утиче на миогени тонус крвних судова. Ова своја дејства простациклин остварује путем сигналног сиситема cAMP, тј. стимулацијом аденилатне циклазе, што директно и индиректно утиче на саме ендотелне ћелије (пролиферација, пермеабилитет и контрактилност глатке мускулатуре), а такође је овај сигнални механизам одговоран и за његово фибринолитичко и цитопротективно дејство. Простациклин такође повећава активност ензима који метаболишу холестеролске естре, инхибише акумулацију холестеролских естара у макрофагима и спречава ослобађање фактора раста који доводе до задебљања васкуларног зида у атеросклеротичним процесима. С друге стране, тромбоксан као главни цикооксигеназни продукт у тромбоцитима, има биолошки супротне улоге (физиолошки антагониста). Он, као што је већ наведено, доводи до стимулације адхезије и акумулације тромбоцита, а такође је најјачи биолошки вазоконстриктор (Мујовић et al 1989). У физиолошким условима постоји балансирана продукција између ова два мајоритетна цикооксигеназна продукта, која је благо померена на страну PGI₂ (2.5:1) (Мујовић et al, 1989), док је у разним патолошким стањима нарушена.

1.5.2.2. Липоксигеназни пут

Овај катаболички пут арахидонске киселине подразумева активност велике фамилије ензима, названим заједничким именом липоксигеназе. Према регионалној специфичности појединих липоксигеназа, заснованој на положају угљениковог атома у пентадиенском молекулу све липоксигеназе су подељене у три велике групе:

- 1) 12-липоксигеназа
- 2) 15-липоксигеназа
- 3) 5-липоксигеназа

12-липоксигеназа је првенствено тромбоцитни ензим, локализован у ћелијској мембрани и цитосолу. Он конвертује слободну арахидонску киселину у 12-S-хидропероксиеикоса-5,8,10,14-тетраноичну киселину (12-S-HPETE). Редукција 12-HPETE у његов хидрокси аналог 12-HEТЕ одвија се активношћу пероксидазног дела ензима 12-липоксигеназе, који у овој каталитичкој реакцији посредује са Se-глутатион пероксидазом (Bryant et al, 1982; Chang et al, 1982). Егзогено унет 12-HPETE инхибише колагеном индуковану агрегацију тромбоцита (2-6 μM), док више концентрације (15-25 μM) инхибишу тромбоцитну циклооксигеназу. Опсервације да 12-HPETE појачава акумулацију леукотријена LTB_4 посредованим од стране неутрофила, сугеришу да овај метаболит стимулише 5-липоксигеназу (Maclouf et al, 1982). Са друге стране 12-HEТЕ егзогено унет у мањим концентрацијама стимулише миграцију глатких мишићних ћелија *in vitro* (Nakao et al, 1982).

Ензим 15-липоксигеназа је први пут детектован у неутрофилима кунића (Naramiya et al, 1981) и претежно је цитосолни ензим. Овај ензим из арахидонске киселине равноправно ствара већ поменути 12-HPETE и 15-HPETE, који конвертује и у свој редуковани облик - 15-HEТЕ. У хуманим гранулоцитима 15-HPETE може бити дехидратисан у 14,15 LTA_4 , аналог леукотријена A_4 (Maas et al, 1981). 15-HEТЕ је, међутим доминантан метаболит арахидонске киселине у хуманим еозинофилима, док је напротив 5-HEТЕ доминантан метаболитички продукт хуманих неутрофила (Turk et al, 1982, Verhagen et al, 1984).

Примарни производ 5-липоксигеназе је велика фамилија биолошки активних молекула названих заједничким именом *леукотријени*. У највећем проценту настају у неутрофилима, еозинофилима, моноцитима, маст-ћелијама, кератиноцитима, а затим у плућима, слезини, мозгу и срцу (Evers et al, 1985). Биолошка дејства леукотријена су разноврсна. То се пре свега односи на њихову улогу у свим облицима имуног одговора, са узроковањем ексудације плазме и хемотаксе. Такође њихова улога је доказана у астми, интермедијарној хипертензији и инфаркту миокарда. Посебно су интересантна њихова дејства на

кардиоваскуларни систем у физиолошком опсегу. Наиме, врло брзо и тренутно изазивају контракцију васкуларних, респираторних и интестиналних глатких мишића. Контракција васкуларне глатке мускулатуре, изазвана овим биоактивним молекулима, доводи до артериоларне констрикције, дилатације венула и ескудације плазме. Такође, они су потентни коронарни вазоконстриктори, са негативним инотропним и аритмогеним ефектом на срце.

1.5.2.3. Цитохром П-450

Поред циклооксигеназног и липоксигеназног пута метаболизма арахидонске киселине, у последњој декади је интензивно проучаван и још један катаболички пут ове есенцијалне масне киселине, који подразумева систем цитохрома П-450. Слично као циклооксигеназни систем и овај систем је везан за ћелијску мембрану, што представља битну разлику у односу на липоксигеназни систем који је локализован у цитосолу. Ензими овог система продукују четири региоизомера епоксиеикосатриенске киселине (EETs), затим адекватне изомере виц-дихидрооксиеикосатетраенске киселине (DHETs), као и 19- и 20-хидроксиеикосатетраенску киселину (HETEс). Ензими цитохрома Р-450 који врше конверзију арахидонске киселине у EETs се називају заједничким именом "епоксигеназе", док су ензими одговорни за продукцију 19 и 20 HETE ω -1 и ω -хидроксилаза. Као што је већ напоменуто, доминантни метаболички продукт ω -хидроксилацијом арахидонске киселине јесте 20-HETE. Његова синтеза у васкуларном кориту је широко заступљена, при чему мајоритетну улогу остварује микроциркулација (Harder et al, 1995) у односу на крвне судове (Perreault et al, 1991). С обзиром на многобројне потврде оваквог његовог дејства на васкуларно корито, можемо рећи да 20-HETE остварује свој главни ефекат у микроциркулацији, при чему је импровизирана граница његовог израженог дејства промер крвних судова од 200 μ m. Другим речима, његово вазодилататорно дејство може се приписати делу овог биомолекула синтетисаног путем циклооксигеназе, пошто се ова дејства могу ефикасно блокирати индометацином. Са друге стране, његово вазоконстрикторно дејство (Ma et al, 1993) је последица синтезе путем ω -хидроксилације системом цитохрома П-450. То значи да своје дејство 20-HETE остварује у оним великим

артеријама у којима је ендотел интактан (Escalante et al, 1993), док је у артеријама са оштећеним ендотелом његов ефекат одсутан. Улога ендотела у овим артеријама се тумачи његовом одговорношћу за конверзију 20-НЕТЕ у реактивни ендопероксид, са врло потентним вазоконстрикторним дејством (Schwartzman et al, 1991). Други значајан метаболит арахидонске киселине који је катализован посредством овог ензимског система је епоксиеикосатриенска киселина (ЕЕТ). Сви изомери еикосатриенске киселине (ЕЕТs) су потентни вазодилататори у различитим деловима васкуларног корита (Gebremedhin et al, 1992). Иначе, улога метаболита арахидонске киселине који се стварају дејством цитохрома P-450 је испитивана у многим студијама. Тако, блокада стварања 20-НЕТЕ путем овог система доводи до инхибиције миогеног одговора изоловане реналне и церебралне артерије, порастом интрамуралног притиска, што указује на улогу овог метаболита у одржавању ауторегулације протока кроз ове артерије (Harder et al 1995). Механизам дејства ових метаболита још увек није довољно испитан тако да је подложен разним претпоставкама, укључујући све секундарне гласнике, као и директно дејство на ћелијску мембрану. Ово, тим пре, што за поједине метаболите постоје контраверзни подаци за њихово различито дејство. Тако се, на пример, претпоставља да је механизам дејства изомера ЕЕТ засновано на директном дејству на различите врсте јонских канала (Gebremedhin et al, 1992). Овакви не потврђени подаци нам ипак не могу дати за право да тврдимо да је и један од ових механизма универзалан, а такође и да прецизно дефинишемо различите механизме у различитим ткивима, те то остаје предмет даљих истраживања.

1.5.3. Еикосапентаеноична киселина (ЕРА, 20:5 n-3)

Еикосапентаеноична киселина (ЕРА) припада омега-3 масним киселинама. У физиолошкој литератури она је добила име 20:5 (n-3). По хемијској структури, ЕРА се убраја у карбоксилне киселине са 20 угљеникових атома у ланцу и пет "cis" двоструких веза; прва двострука веза се налази на трећем угљениковом атому са омега краја. ЕРА и њени метаболити већину ефеката у организму остварују кроз интеракцију са метаболитима арахидонске диселине. ЕРА се може класификовати и као полинезасићена масна киселина

(PUFA), која делује као прекурсор за синтезу простагландина (који инхибирају агрегацију тромбоцита), тромбоксана и леукотриена (сви еикосаноиди).

EPA у организам доспева путем хране, конзумирајући рибу, или рибље уље, нпр. јетра бакалара, харинга, скуша, лосога, сардине. Такође се налази и у људском млеку. Ипак, рибе немају способност синтезе EPA, већ се она добија од алги које рибе конзумирају (Weston, 2008). То и објашњава велики број комерцијално доступних препарата алги које су богате овом масном киселином (Halliday, 2007). Зато су микроалге и препарати на њиховој бази здравији извори EPA и других масних киселина, обзиром да рибе често садрже токсине као последице загађења (Weston, 2008).

Што се тиче метаболизма EPA, треба нагласити да људско тело има способност да конвертује алфа-линолеичну киселину (ALA) у EPA-у. Са друге стране, ALA је сама по себи есенцијална киселина и њено одговарајуће снабдевање мора бити осигурано. Међутим, важно је напоменути да је ефикасност конверзије ALA у EPA је много мања од апсорпције EPA из хране која је садржи. Такође, обзиром да је EPA прекурсор и докосахекаеноичне киселине (DXA), обезбедити довољан ниво EPA у исхрани које не садржи ни EPA ни DXA је теже како због додатног метаболичког рада потребног за синтезу EPA тако и због употребе EPA за метаболисање DXA. Занимљиво је да болести као што су дијабетес или одређене алергије могу знатно ограничити способност људског организма за синтезу EPA из ALA (Vegan & Vegetarian, 4).

У прилог клиничком значају примене EPA налази се и предлог Америчког Националног Института Здравља, који наводи листу медицинских стања у којима суплементација EPA (саме или у комбинацији са другим ω -3 изворима) може бити корисна (NIH Medline Plus, 5). У већини од њих EPA остварује позитиван утицај захваљујући својој способности да смањи степен инфламаторне реакције. Интересантно је да међу осталим клиничким ентитетима, EPA показује извесне позитивне ефекте и на одређена ментална стања као што је шизофренија (Peet et al, 2001; Song and Zhao, 2007). Такође, недавно објављене студије указују да EPA смањује депресију и што је најважније ризик од суицидних покушаја. У једној од тих студија (Huan et al, 2004) која је обухватила 100 суицидних пацијената, утврђено је да је ниво

еикосапентаеноичне киселине био значајно нижи у еритроцитима суицидних пацијената, у односу на контролну групу испитаника.

Поред тога, ЕРА поседује инхибиторни ефекат на ензиме система цитохром Р-450, пре свега СYP2C9 и СYP2C19. У високим дозама, ова киселина, такође може да инхибира активност и СYP2D6 и СYP3A4, врло значајне ензиме укључене у метаболизам лекова (Yao et al, 2006). Остала истраживања показују да ЕРА побољшава реакцију пацијената на хемотерапију, вероватно механизмом који подразумева редукцију производње про-инфламаторних еикосаноида (Hardman, 2004).

Постоје докази који сугеришу да дијететски суплементи као што су омега-3 масне киселине које садржи рибље уље, посебно полинезасићене масне киселине 20:5n3 (такође позната као еикосапентаеноична киселина или ЕРА), могу да буду ефикасни у смањењу про-инфламаторних цитокина који су повезани са запаљењем (Magee et al, 2008; Matsuyama et al, 2005). Magee и сарадници (Magee et al, 2008) су тако у *ин vitro* студији показали да је ЕРА инхибирала ефекте TNF- α смањењем апоптотичких ефеката и омогућила миогенезу, што доводи до диференцијације скелетних мишићних ћелија од миогласта у миотубе (процес који је кључни у регенерацији мишића).

Matsuyama и његова група (Matsuyama et al, 2005) су испитивали ефекте двогодишње суплементације ЕРА-ом код пацијената са хроничном опструктивном болешћу плућа (НОВР) и дошли до закључка да је код испитаника третираних овом суплементацијом дошло до опадања нивоа TNF- α , које је било праћено смањењем за њих карактеристичног бола у грудима, у односу на почетне вредности. Ове две студије (Magee et al, 2008; Matsuyama et al, 2005) су показале да постоји повезаност између повећања нивоа про-инфламаторних цитокина и појаве бола, као и да третман ЕРА-ом може бити користан у редукцији интензитета бола и степена запаљења. У том смислу, више студија је проучавало ефекте примене ове омега-3 масне киселине (у дозама од 300 до 2224 mg/дан) на акутну фазу запаљења и појаву бола у мишићима након једнократног вежбања (Simopoulos, 2002; Phillips et al, 2003; Bloomer et al, 2009).

Lenn и коаутори (Simopoulos, 2002), су коришћењем 1800 mg/на дан омега-3 масних киселина, закључили да ЕРА није утицала на обим покрета мишића, или утицала на појаву бола, као и нивое IL-6, TNF- α и креатин киназе.

Phillips и сарадници (Phillips et al, 2003), (користећи дневни коктел од 300 mg токоферола плус 800 mg докосахеноичне киселине (DHA) и 300 mg флавоноида) су забележили сигнификантно смањење нивоа IL-6 и TNF- α након (борбе) вежбања. До истог сазнања долази и група Bloomer-а и сарадника (Bloomer et al, 2009) с`тим што су они као суплементацију кориситили 2224 mg/на дан EPA. Ове студије у сагласности са претходно поменутиим *ин виво* и *ин витро* испитивањима (Magee et al, 2008; Matsuyama et al, 2005), још једном истичу неподударност у погледу потенцијалног бенефита који EPA може да оствари у смањењу про-инфламаторних цитокина, који су у вези са инфламаторним одговором као и симптомима који су повезани са појавом мишићног бола. На крају, на основу свега, утицај рибљих уља на акутни и хронични запаљенски одговор након једнократног вежбања, остаје нејасан.

1.5.4. Дихомогама линолеична киселина (DGLA)

Дихомо- γ -линолеична киселина (DGLA) је ω -6 полинезасићена масна киселина (PUFA) са 20-угљеникових атома у ланцу, настала *ин виво* из линолеичне киселине и представља есенцијалну масну киселину. DGLA може да се затим конвертује у добро познату арахидонску киселину (AA) која такође припада ω -6 полинезасићеним масним киселинама (Ruan et al, 2009; Karoor and Huang 2006). Иначе, и DGLA и AA могу бити субстрати за COX ензиме. Наиме, серијом метаболичких реакција COX ензими метаболишу обе ове киселине до врло значајних биоактивних продуката, пре свих простагландина 1 и 2 (PGs1 и PGs2).

Сматра се да сви сисари, укључујући и људе имају потребу да 1-2% од укупне количине дневних енергетских потреба обезбеде у виду линолеичне киселине [LA, 18:2(n-6)] да би спречиле недостатак основних масних киселина (Karoor and Huang 2006). LA се метаболише у различитим ткивима Δ 6 десатурацијом, формирајући γ -линолеичну киселину (GLA) која се убрзано конвертује у DGLA (схема 2). DGLA може бити даље десатурирана до арахидонске киселине, Δ 5 десатурацијом. Ипак, због ограничене активности Δ 5 десатурације код глодара и људи, само део DGLA се може претворити у AA (de Goede et al, 2011; Bolton-Smith et al, 1997). Ови подаци указују да у многим

ћелијским врстама, DGLA након суплементације GLA, може доћи до акумулирања (повећања нивоа) DGLA. Повишен ниво DGLA у односу на AA је у стању да ублажи биосинтезу потенцијално штетних метаболита AA, пре свих простагландина типа 2, леукотријена типа 4 као и фактора активације тромбоцита (PAF), а испољава и анти-инфламаторно дејство (de Goede et al, 2011; Bolton-Smith et al, 1997; Johnson et al, 1997) (схема 2).

Истраживања су показала да суплементација GLA, или DGLA заједно са мешовитим инхибитором $\Delta 5/\Delta 6$ десатуразе - CP-24879, доводи до инхибиције $\Delta 5$ десатурације и последичне конверзије DGLA у AA. Ово доводи до веома значајног повећања акумулације DGLA од 2,3% на скоро 12% укупних масних киселина у организму, без промене нивоа AA (Levin et al, 2002). Такође, обзиром да се повећањем нивоа DGLA „заобилази“ кључни регулишући ензимски корак ($\Delta 6$ десатурација) која контролише формирање ω -6 полинезасићених масних киселина, може доћи до системског смањења $\Delta 6$ десатурације. Друге студије су доказале да је умањен капацитет за конвертовање LA у DGLA повезан са различитим физиолошким и патофизиолошким стањима, укључујући старење, дијабетес, алкохолизам, реуматоидни артритис, туморске и кардиоваскуларне болести (Karooog and Huang, 2006; Fan and Chapkin, 1998; Shen et al, 2011). Из овога можемо закључити да суплементација DGLA-ом може да буде од велике користи у ублажавању симптома неких од набројаних оболења.

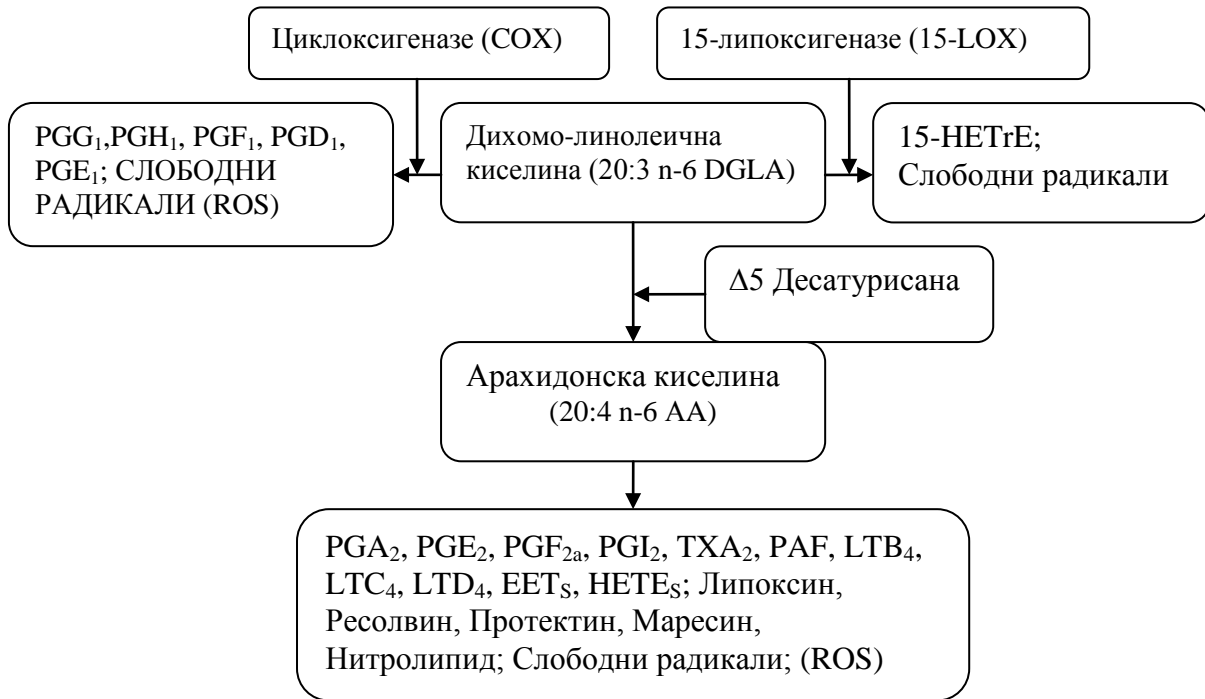


Схема 2. Метаболизам DGLA

1.6. РЕДОКС РАВНОТЕЖА

Процес оксидације је део регулаторног биохемијског функционисања организма у процесу стварања енергије која је неопходна за његов живот. Током процеса стварања енергије, стварају се реактивне врсте кисеоника, које имају физиолошке позитивне функције. Од унете количине атмосферског кисеоника (којег у ваздуху има 21%) у организму се 5% до 10% кисеоника непотпуно редукује у реактивне врсте кисеоника, које највећим делом чине кисеонички слободни радикали (Halliwell, 1987).

Слободне радикалске честице кисеоника, које се састоје од атома, молекула, или јона, са једним, или више неспарених електрона у својој структури, оне су у сталној тежњи да поврате равнотежу. Да би то постигли, слободни радикали се сукобљавају са стабилним молекулом који чине DNK, протеини и масти у ћелијама тела. Овакав сукоб слободних радикала резултира „крађом“ електрона и стабилизацијом њиховог молекула. Слободни радикал овако поново постаје уравнотежен молекул. Међутим, он истовремено од

безопасног молекула ствара слободни радикал и циклус ланчаног стварања нових (ROC), почиње поново (Pawlak, 1998).

Започета ланчана реакција прекинуће се када се споје два слободна радикала, који сваки са својим неспареним електроном доприноси у стварању чврсте и стабилне ковалентне везе.

1.6.1. Слободни радикали

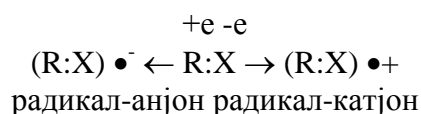
Слободни радикали (SR) су молекули, јони, или атоми који имају неспарене електроне у својој структури. Они се као такви налазе између оксидованог и редукованог стања (Lelli et al, 1998; Valko et al, 2007). Нерадикали у својим орбиталама имају паран број електрона, односно имају спарене електроне супротног спина и слабо су реактивни, па се из њих и добијају слободни радикали.

Неспарени електрон је узрок високе и неселективне реактивности SR.

Слободни радикали настају у низу биолошких реакција (Ђорђевић et al, 2000). Настају:

- ✓ услед зрачења,
- ✓ као производ оксидативне фосфорилације у митохондријама,
- ✓ услед фагоцитозе,
- ✓ у процесима аутооксидације и у редокс циклусима,
- ✓ настају у метаболизму етанола,
- ✓ услед ензимских реакцијама у којима учествују оксигеназе,
- ✓ услед синтезе еикосаноида,
- ✓ у оксидо – редукцијама метала са променљивом валенцом,
- ✓ настају у липидној пероксидацији.

Слободни радикали могу бити неутрални, позитивно (радикал-катјон), или негативно наелектрисани (радикал-анјон):



За слободне радикале карактеристичне су три фазе: фаза иницијације, фаза пропације и фаза терминације.

- ✓ У фази инцијације, нерадикали губе, или примају један електрон, чиме им се мењају физичке и хемијске особине.
- ✓ У фази пропагације, новонастали слободни радикал активира циљни молекул, одузимајући му један електрон. На тај начин се он стабилизује, а циљни молекул постаје слободни радикал. С обзиром на то да су веома реактивни, настали слободни радикали делују даље и за кратко време вишеструко се умножи број слободних радикала. На тај начин, добија се низ ланчаних реакција, чиме је омогућена брза и интензивна пропагација ових хемијских облика.
- ✓ Фаза терминације, је период заустављања - неутрализације слободних радикала и њихове пропагације. За ове реакције су заслужни: неензимски оксиданси, ензимски оксиданси и судар два слободна радикала.

Слободни радикали настају током нормалног метаболизма у свим ћелијама и имају многобројне функције у ћелијској сигнализацији и ензимологији (Dröge, 2002).

1.6.2. Реактивне кисеоничне врсте (ROS)

Реактивне врсте кисеоника, слободни радикали кисеоника, (*Reactive oxygen species*) (ROS), су слободне радикалске честице кисеоника. Састоје се од атома, молекула, или јона и ове честице имају један, или више неспарених електрона у својој структури. Настају као међупроизвод у току метаболизма кисеоника, јако су нестабилне и веома реактивне, због чега могу изазивати ланчане реакције у организму (Ferreira *et al*, 2006; Halliwell 1987) .

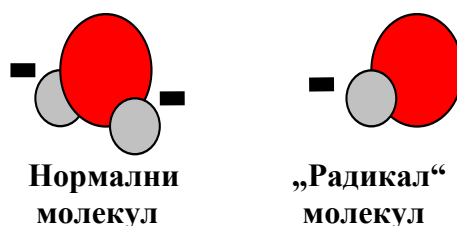


Схема 3. Разлика у хемијској структури нормалног и "Радикал" молекула

У нормалном молекулу, језгро је окружено паром негативно наелектрисаних електрона. Уклањањем једног електрона из пара, процесом који се зове оксидација, молекул постаје нестабилан. Име овако насталог новог молекула је „радикал“ молекул (схема 3).

Реактивне кисеоничне врсте се у великом броју случајева поистовећују са слободним радикалима. Не представљају само реактивне кисеоничне врсте слободне радикале. Исто тако, ни све реактивне кисеоничне врсте не представљају слободне радикале. ROS се деле у 2 групе (Halliwell and Gutteridge, 1999) (табела 1):

- 1) слободни радикали кисеоника 2) нерадикалски облици кисеоника

Табела 1. Реактивне врсте кисеоника (Halliwell and Gutteridge, 1999)

Слободни радикали кисеоника		Нерадикалски облици кисеоника	
Ознака	Назив	Ознака	Назив
O_2^{\bullet}	Супероксид анјон радикал	H_2O_2	Водоник пероксид
$\bullet OH$	Хидроксил радикал	$HOCl$	Хипохлорна киселина
HO_2^{\bullet}	Хидропероксил радикал	O_3	Озон
RO^{\bullet}	Алкоксил радикал	1O_2	Синглет кисеоник
RO_2^{\bullet}	Пероксил радикал	$ROOH$	Органски хидропероксид

1.6.2.1. Настанак и особине појединих ROS

1.6.2.2. Порекло

Порекло реактивних врста кисеоника у организму, може бити *ендогено* (у току физиолошких процеса, нпр. ћелијског дисања) и *егзогено* (када је њихова продукција изазвана уносом ксенобиотика и других материја у организам) (схема 4).

ЕНДОГЕНИ ИЗВОРИ

ЕГЗОГЕНИ ИЗВОРИ

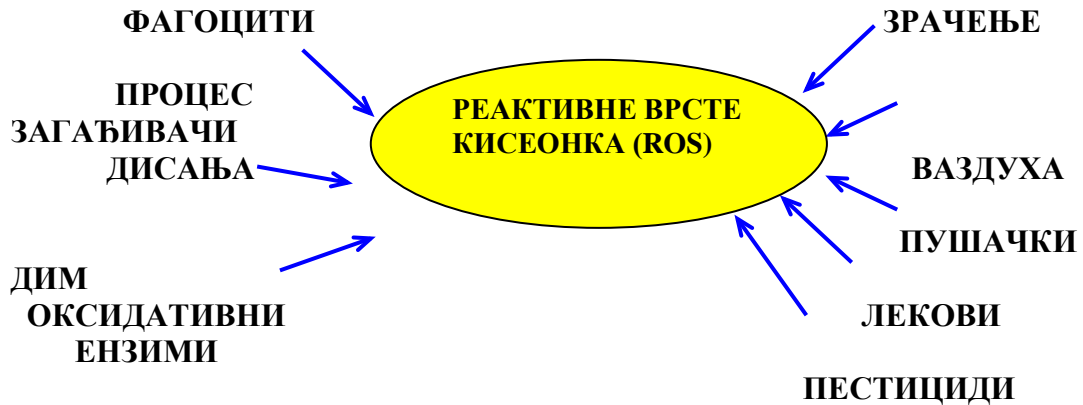
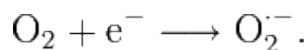


Схема 4. Ендогени и егзогени извори настанка ROS

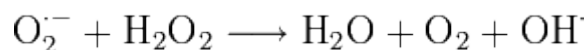
ROS се у организму непрекидно стварају у току челијске респирације у телу, углавном током процеса преноса електрона у процесу дисања у митохондријама, и најчешће настају као непожељни производи непотпуног ћелијског дисања.

У активним митохондријама се око 0,1% до 4% удахнутог кисеоника претвара у реактивна једињења кисеоника.

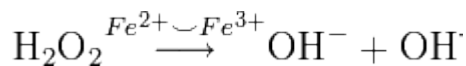
Реактивна једињења (ROS) настају углавном у току преношења електрона из убакинон (QH₂) из комплекса III до комплекса I на убакинону. Пренос укључује семикинонске радикале (QH[•]), којима може бити придодат електрон кисеоника (O₂): (Han et al, 2001; Muller, 2000; Nelson and Cox, 2008).



Настали супероксиди делују на аконитазу која ослобађа катјон гвожђа у феро облику (Fe²⁺). Супероксид и хидроген-пероксид могу да реагују по Хабер-Вајс-овој, реакцији при чему су јони гвожђа катализатори реакције. У овој реакцији настаје вода, кисеоник и хидроксил радикал, који је још увек реактивнији од супероксида (Nelson and Cox, 2008; Muller, 2000; Han et al, 2001).



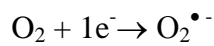
Водоник-пероксид се у Фентоновој реакција разлаже на хидроксил анјон и хидроксил радикал, а катализатори ове реакције су јони (Fe²⁺) (Han et al, 2001; Muller, 2000; Nelson and Cox, 2008).



Многобројни радикали могу настати у организму и након уноса различитих супстанци, или страних материја (ксенобиотица). Неки од најчешћих ксенобиотика су; пестициди, катрани, вештачке боје, дувански дим, конзерванси, лекови, или радикали, који настају као полседела изложености микроталасном, јонизујућем и другим врстама зрачења, па чак и јачег физичког напрезања (Halliwell, 1999).

1.6.2.2.1. Супероксид анјон радикал $\text{O}_2^{\cdot-}$

Супероксид анјон радикал ($\text{O}_2^{\cdot-}$), настаје једноелектронском редукцијом молекулског кисеоника у електронском транспортном ланцу (Raha and Robinson, 2000):



Начини настанка супероксид анјон радикала су следећи:

- ✓ при респирацији, фотосинтези и фотореспирацији, непотпуном редукцијом молекулског кисеоника на мембранама митохондрија, хлоропласта и ендоплазминог ретикулума (Halliwell and Gutteridge 1985);
- ✓ Аутооксидацијом високореактивних хемијских једињења-првенствено једињења са кондензованим хетероциклима у структури: флавина и леукофлавина (Sichel *et al*, 1987); хинона и хидрохинона (McCord and Fridovich, 1969); тиола (McNeil *et al*, 1981); катехоламина (Cohen and Heikkila, 1974);
- ✓ Оксидацијом миоглобина (Mb) и хемоглобина (Hb) (Petkau 1986);



- ✓ Оксидоредукционим процесима, у којима учествују ензими са никотин-аденинским нуклеотидима као кофакторима-NADH, NADPH: алдехид

оксидазе, ксантин оксидазе, триптофан оксидазе (Dorochow, 1983; Dröge 2002);

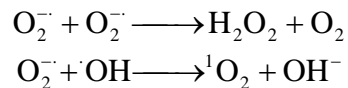
- ✓ Дејством зрачења (Petkau, 1986; Kvam and Typpell 1997);
- ✓ Дејством цитостатика (Minnaugh *et al*, 1983; Dorochow, 1983; Santos *et al*, 2008).

Постоји већи број фактора који могу узроковати продукцију $O_2^{\bullet-}$ у електронском транспортном ланцу. Међу тим факторима је и висока локална концентрација кисеоника. (Green *et al*, 2004; Korshunov *et al*, 1997; Nicholis, 2004).

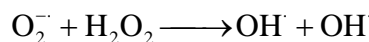
Степен продукције $O_2^{\bullet-}$ зависи од ткива, од организма, као и од различитих услова. Сматра се да у митохондријама сисара 0.15 – 2 % електрона који се транспортују кроз електронски транспортни ланац „побегне“ (St Peirre *et al*, 2002). $O_2^{\bullet-}$ не може да прође слободно двослојни слој ћелијске мембране и да ту делује као сигнал унутар ћелије (Wolin *et al*, 2002), већ пошто је јон, мора да прође једино кроз јонске канале (Bedard and Krause, 2007).

Штетно дејство супероксид анјон радикала може се увидети у следећим реакцијама:

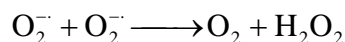
- ✓ Формирање других врста ROS (Singh, 1978);



- ✓ Може изазвати деполимеризацију полисахарида; оштећење ћелијских мембрана индукцијом липидне пероксидације; оштећење DNK и RNK приликом процеса репликације и транскрипције (Ђорђевић *et al*, 2000);
- ✓ Учествује у Хабер-Вајс-овој/Фентоновој реакцији са водоник пероксидом



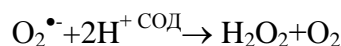
Реакцијом два супероксид анјон радикала долази до разградње $O_2^{\bullet-}$ и настанка водоник пероксида (H_2O_2). У киселој средини ово је спонтана реакција, а на физиолошком рН реакција дисмутације је вођена ензимом супероксид дизмутаза (SOD).



$O_2^{\bullet-}$ који избегне дисмутацију, или реагује са $\bullet NO$ формирајући пероксинитрит, или реагује на различите начине са транзиционим металима, учествује у Фентоновој реакцији са водоник пероксидом при чему настаје хидроксил радикал, или бива протонизован у хидропероксил радикал. Иако је количина протонизованог $O_2^{\bullet-}$ *in vivo* мала, HO_2^{\bullet} може да се инкорпорира у фосфолипидни двослој и иницира липидну пероксидацију (Antunes *et al*, 1996).

1.6.2.2. Водоник пероксид (H_2O_2)

Водоник пероксид нема неспарених електрона и није слободни радикал. Најстабилнији је облик ROS. Огроман део продукованог водоник пероксида настаје путем дисмутације супероксид анјон радикала, створеног од стране митохондрија, или NADPH оксидаза (Jacob and Winyard, 2009).



Најчешће место на коме настаје водоник пероксид јесу пероксизоми, митохондрије, микрозоми и мембране ендоплазматског ретикулума (Sies, 1985). Низак ниво концентрације ADP у строми митохондрија, исто може бити узрок настанка H_2O_2 (Ђорђевић *et al*, 2000).

H_2O_2 по новим истраживањима има изузетно важну улогу код процеса преношења сигнала у ћелији, првенствено после везивања скоро свих лиганата специфичних за рецепторе тирозин киназе (Rhee, 2006; Forman, 2007). H_2O_2 делује као редокс сигнал, или реагујући директно са тиолима цистеинских остатака протеина, чиме доводи до промене самог протеина или индиректно преко тиоредоксина, или глутатиона (Jacob and Winyard, 2009).

Штетни ефекти H_2O_2 су дозно зависни. Низак ниво водоник пероксида делује пре пролиферативно него антипролиферативно (Lo *et al*, 1996).

Дозно зависни штетни ефекти H_2O_2 су (Џубрило, 2009):

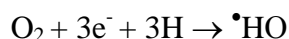
- ✓ У ниским концентрацијама оштећује протеине ћелијских мембрана и ремети њихову функцију
- ✓ У већим концентрацијама оштећује DNK у многим типовима ћелија

- ✓ Високе концентрације су леталне за скоро све живе организме (због тога се користи и као дезинфекционо средство)

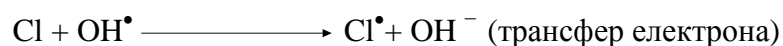
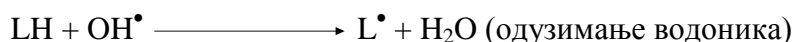
Водоник пероксид је опаснији када делује индиректно у реакцији са супероксид анјон радикалом, или јонима метала (Fe^{2+}), када доводи до стварања изузетно реактивног хидроксил радикала ($\bullet\text{HO}$), који је најснажнији активатор пероксидације мембранских липида (Rhee, 2006; Valko *et al*, 2007).

1.6.2.2.3. Хидроксил радикал ($\bullet\text{HO}$)

Хидроксил радикал ($\bullet\text{HO}$) представља најтоксичнију врсту ROS-а (Jacob and Winyard, 2009).



Реагује са скоро свим биомолекулима: алкохолима, органским киселинама, шећерима, аминокиселинама, фосфолипидима и нуклеотидима, при чему настају одговарајући органски радикали. Овим је створена могућност даље пропације слободно-радикалских процеса и оно што касније следи, даља оштећења биомолекула у реакцијама одузимања водоника, адиције и реакције трансфера електрона.



Висока реактивност $\bullet\text{OH}$ и мала селективност чине га веома опасним по интегритет и функционалност ћелије. Он је најреактивнији интермедијарни продукт делимичне редукције кисеоника. Као резултат серије реакција може настати и пероксил радикал, који даље пропагира слободне радикалске процесе посебно оне на мембранама.

Ако катализа не уклони водоник пероксид, онда он може да реагује са феро јонима и да формира хидроксилни радикал. (Chance *et al*, 1979).

Хидроксилни радикал изазива следеће реакције које су довољне за настанак иреверзибилног оштећења ћелије.

- ✓ Оштећење мембране митохондрија.
- ✓ Оштећење молекула DNK.

- ✓ Оштећење мембране ћелије.
- ✓ Поремећај липидне пероксидације.

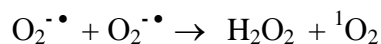
Стварању H_2O_2 предходи реакција два хидроксил радикала. Овим стварањем H_2O_2 умањује се штета везана за $\cdot\text{OH}$, али ипак је значај ове реакције *in vivo* много мањи него *in vitro* (Halliwell and Gutteridge, 1999).

1.6.2.2.4. Синглет кисеоник ($^1\text{O}_2$)

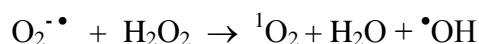
Молекуларни кисеоник је слободни радикал са два неспарена електрона паралелних спинова. Спада у нерадикалске форме ROS, али представља врло јак оксидациони агенс. Синглетни кисеоник настаје довођењем енергије у молекул кисеоника, са циљем да се мења спин једног од електрона, што значајно увећава његову реактивност. Такође овај радикал може да испољи и значајну токсичност у различитим биолошким системима. (Cadenas, 1989; Halliwell and Gutteridge, 1999).

Синглет кисеоник може да настане у различитим реакцијама:

1. Интеракцијом два супероксид анјон радикала кисеоника:

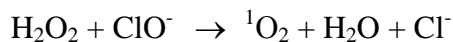


2. У Хабер-Вајс-овој реакцији (*Haber-Weiss*):



3. У фотосензитивним реакцијама - осветљавањем фотосензибилних једињења у присуству кисеоника (*биолошки пигменти-хлорофил, флавоноиди, порфирина и очни пигмент ретинол*). Ова једињења способна су да приме квант светлосне енергије, чиме прелазе у нестабилно побуђено стање. Да би се стабилисала, она предају вишак енергије околина, у виду емисије светлости. Уколико се у тој околина налази молекуларни кисеоник, он ће примити емитовану енергију и настаће тзв. синглет стање (Ђорђевић *et al*, 2000).
4. Метаболичка продукција $^1\text{O}_2$ догађа се и у стимулисаним неутрофилима у којима $^1\text{O}_2$ настаје у серијама реакција које укључују

мијелопероксидазе, које користе H_2O_2 и (Cl^-) да створе хипохлорне јоне (ClO^-) који потом у реакцији са H_2O_2 стварају синглет кисеоник (Steinbeck *et al*, 1992):



${}^1\text{O}_2$ може реаговати са низом биомолекула као што су DNK, протеини и липиди (Halliwell and Gutteridge, 1999). Ове реакције укључују оксидацију, хидроксилацију и O_2 -адитивне реакције (Jacob and Winyard, 2009).

Штетно дејство синглет кисеоника представља се као стварање сулфооксида, фенола, ендопероксида, хидропероксида и хинона. Због способности да реагује са незасићеним масним киселинама липидних мембрана, може да иницира процес липидне пероксидације, а може лако да се трансформише и у друге облике ROS (Ђорђевић *et al*, 2000).

1.6.2.2.5. Остале реактивне кисеоничне врсте

Повезаност ROS -а са биомолекулима може довести до ланчане реакције, које обавезују продукцију секундарних ROS. Хидроксил радикал одузима атом водоника из хидроксилне групе полинезасићених масних киселина (RH) и тако настају алкоксил радикали (RO^\bullet). Алкил радикали (R^\bullet) могу настати одузимањем водоника као у $^\bullet\text{OH}$ -индукованој липидној пероксидацији, и могу се комбиновати са молекуларним кисеоником до пероксил радикала (RO_2^\bullet). Они касније могу да реагују и доведу до стварања хидропероксида (ROOH) (Jacob and Winyard, 2009).

1.6.3. Липидна пероксидација

Липидна пероксидација је термин који описује уградњу молекуларног кисеоника у структуру полинезасићених масних киселина PUFA (Polyunsaturated Fatty Acids) у биолошким мембранама (Halliwell and Gutteridge, 1999).

Услед пероксидације липида дешавају се следеће промене:

- ✓ Поремећај флуидности челијске мембране-могуће цурење садржаја цитосола у ванћелијску средину.
- ✓ Појачана пропустљивост за једновалентне и двовалентне јоне. Услед овакве пропустљивости може да дође и до промене осмотског притиска у ћелији, а и ван ње.
- ✓ Оштећење система преноса информација са рецептора на мембрани на унутарћелијске системе, с обзиром на то да су неки липиди категоризовани као секундарни гласници.
- ✓ Инактивација ензима.

Осетљивост на пероксидацију липида показали су неурони CNS-а и ћелије глије због високог садржаја PUFA у липидима мозга–фингомијелина, цереброзида и ганглиозида (Scott, 1995).

Овај процес може тећи на два начина:

1. Ензимским путем – дејством липоксигеназе и циклооксигеназе. Ови ензими катализују оксидацију арахидоната, до простагландина и леукортијена, док оксидацију холестерола до хидроксихолестерола катализује цитохром P-450 (Niki *et al*, 2005).
2. Неензимским путем – Посредовањем ROS – а на полинезасићене масне киселине из липидног двослоја мембране доводи до појаве изопростана (Morrow *et al*, 1992). Радикали који учествују у одузимању водониковог атома полинезасићеним масним киселинама су алкоксил радикали (RO^{\bullet}), пероксил радикали (RO_2^{\bullet}), хидропероксил радикали (HO_2^{\bullet}), неколико гвожђе-кисеоник комплекса и хидроксил радикал ($^{\bullet}HO$) (Sevanian *et al*, 1990).

Реактивне кисеоничке врсте одузимају H–атом из метил–групе у α –у положају у односу на двогубу везу у молекулу PUFA. Одузимањем ових атома, који носе по 1 електрон, на C–атому метил–групе PUFA, остаје 1 неспарени електрон–заправо настаје липидни радикал (L \cdot). Да би се стабилизовао новонастали хемијски облик, дешава се премештање електрона дуж угљоводоничног низа PUFA, што има за последицу премештање двогубих веза и стварање коњугованих диена. Адицијом молекулског кисеоника на овакав радикал, на месту C–атом радикала, настаје пероксил радикал (LOO \cdot).

Као финални продукт липидне пероксидације PUFA настаје малонилдиалдеhid (MDA). У киселој средини он кондензује са 2 молекула TBA (тиобарбитурна киселина), дајући производ који апсорбује у видљивом делу спектра, са апсорпционим максимумом на 532 nm. Ово представља и доказну реакцију за липидну пероксидацију у неком биолошком систему и квантитативна мера присуства липидних пероксида у систему.

Продукти липидне пероксидације аквирају путеве ћелијског сигнализирања на више начина, као што су:

- ✓ формирање ковалентних веза са протеинима, или
- ✓ нековалентно везивање за протеинске рецепторе.

На тај начин липидни пероксиди испољавају низ ефеката у ћелији, од цитотоксичних до стимулаторних. Излагањем великим концентрацијама продукта липидне пероксидације може се изазвати низ ћелијских одговора, од акутних токсичних ефеката до инхибиције ћелијске пролиферације (Jacob and Winyard, 2009).

У ниским концентрацијама продукти липидне пероксидације могу стимулирати неколико процеса, као што је активност неколико ензима, или транскрипциона регулација антиоксидативних гена (Ceaser *et al*, 2004).

1.6.4. Реактивне азотне врсте (RNS)

Поред ROS, висок оксидациони потенцијал поседују и реактивне врсте азота (RNS). Главни представник RNS је азот моноксид ($\bullet\text{NO}$). Метаболизам $\bullet\text{NO}$ и његова реактивност, доводе до постанка много других RNS, пре свега пероксинитрита (ONOO^-), а онда и азот диоксида (NO_2), диазот триоксида (H_2O_3) и диазот тетоксида (H_2O_4).

Све ове врсте, а међу њима и реактивне врсте кисеоника, имају велики број функција које нису увек лоше по живу ћелију, али поседују велику биореактивност и потенцијал за нарушавање физиолошке функције протеина, липида, угљених хидрата и нуклеинских киселина (Eiserich *et al*, 1998; Koppenoll *et al*, 1998; Hussain *et al*, 2003).

1.6.4.1. Азот моноксид ($\bullet\text{NO}$)

Азот моноксид има многобројне улоге у редокс сигнализацији као слободни радикал. Његов настанак је везан за ћелије под дејством ензима који се називају „азот моноксид синтазе“ - NOS (Nitric Oxide Synthases – NOSs) (Ignarro, 1987).

Производња $\bullet\text{NO}$ може бити посредована и молекулима азот монооксида који у ствари представљају врсте које су настале у току ендогеног метаболизма $\bullet\text{NO}$ и из којих $\bullet\text{NO}$ може бити рециклиран на местима удаљеним од места првобитне производње (Jacob and Winyard, 2009).

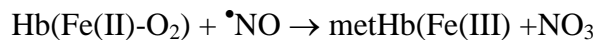
$\bullet\text{NO}$ има кратак полуживот у ћелијама, око 0.1-2 секунде, али захваљујући својој липофилности слободно дифундује кроз ћелијску мембрану и испољава своје паракрино деловање у радијусу од 100-200 μm од његовог извора (Liu *et al*, 1998).

$\bullet\text{NO}$ делује као сигнални молекул и то тако што се реверзибилно везује за одређене транзитне металне јоне као што су протеини који садрже хем као простетичну групу (Hu *et al*, 2005).

Други начин деловања $\bullet\text{NO}$ као сигналног молекула, је модификацијом протеинских тиола. Азот моноксид је сам по себи генерално нереактиван са већином нерадикала у физиолошким концентрацијама (Beckman and Koppenol, 1996), али у одређеним условима може нитрозовати тиоле и на тај начин формира С-нитрозотиола (Stamler and Hausladen, 1998).

Азот моноксид учествује директно у сигнализацији, али метаболизам азот монооксида може да доведе до стварања других врста, које исто тако могу учествовати у редокс сигнализацији. Азот моноксид реагује са многим биомолекулима. $\bullet\text{NO}$ може да изазове инхибицију активности многих ензима, да изазове липидну пероксидацију, може и да измени структуру ДНК, али може да делује и као антиоксидант у смислу заштите ћелије од оксидационог стреса (Eiserich *et al*, 1998), што је директно пропорционално производњи $\bullet\text{NO}$. Азот моноксид на овај начин утиче на регулацију многих биолошких одговора, као што су индукција и активација гена, инхибицију агрегације тромбоцита, цитостазу, апоптозу, неуротрансмисију, стимулацију имуног одговора, релаксацију васкуларне мускулатуре (Mayer and Hemmens, 1997).

У ниским концентрацијама, може да реагује са хемоглобином, а ова реакција представља примарни механизам уклањања и детоксификације $\bullet\text{NO}$ *in vivo* (Moncada, 1999).



$\bullet\text{NO}$ је слободан радикал, и као такав је реактиван према осталим слободним радикалима, у циљу упаривања неспареног електрона. У биологији се за реакцију азот монооксида са супероксид ањон радикалом ($\text{O}_2^{\bullet -}$) сматра за једну од најбржих, док су сличне брзине и реакције са алкоксил/пероксил радикалима ($\text{RO}\bullet$ и $\text{ROO}\bullet$) (Jacob and Winyard, 2009).

Оксидативни стрес представља један од битних фактора са утицајем на ендотелну функцију и биорасположивост $\bullet\text{NO}$ -а. $\text{O}_2^{\bullet -}$ умањује функцију ендотелијалне NOS (eNOS) на тај начин што скраћује полуживот азот монооксида и умањујући његову расположивост. При том долази до настајања високотоксичног ONOO^- (Nagam, 2006). Ова реакција је повезана са мноштвом патофизиолошких стања, док у нормалним условима $\text{O}_2^{\bullet -}$ бива елиминисана од стране SOD. Реактивне кисеоничне врсте такође регулишу васкуларну функцију модулишући ћелијски раст, апоптозу, миграцију, инфламацију, секрецију и продукцију екстрацелуларног протеинског матрикса (Hanson, 2005). Оксидативни стрес и оштећења њиме изазвана представљају медијаторе васкуларних оштећења и инфламације у многим кардиоваскуларним болестима, поготову уколико постоје компликације у виду хипертензије, хиперлипидемије, дијабетеса (Nagam, 2006).

1.6.5. Антиоксидативни заштитни систем

Антиоксидативни заштитни систем (AOS) (AOS-antioxidant defence system), настао је током еволуције код свих аеробних организама, како би се спречила, ограничила, или "поправила" оштећења настала деловањем реактивних врста кисеоника ($\text{O}_2^{\bullet -}$, H_2O_2 , $\bullet\text{OH}$ и $^1\text{O}_2$) (Cotgreave *et al*, 1988).

Са појавом кисеоника и његових реактивних врста, дошло је до појаве опасности за анаеробне организме. Многи организми су били у немогућности да преживе ову појаву, али се код многих других, временом развијао веома сложен

AOS. Улога овога система је да спречи, или "санира" оштећење до којег је дошло деловањем реактивних врста кисеоника ($O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 , OH^{\bullet} , 1O_2). За систем заштите од оксидационих оштећења изазваних дејством ROS, у овом тексту, ће се као термин користити предлог Котгрејева (Cotgreave *et al*, 1988) и то као AOS-антиоксидациони заштитни систем.

Антиоксидант је супстанца која својим присуством у малим концентрацијама, у односу на оксидабилни супстрат, утиче на смањење, или на спречавање оксидације тог супстрата (Halliwell and Gutteridge, 1999). "Оксидабилни супстрат" је супстанца која може да се нађе у храни, ткивима, код животиња и људи. Ту спадају и протеини, липиди, угљени хидрати и DNK.

Антиоксиданси су молекули, који могу деловати пре, или током реакције SR, у фазама иницијације, пропагације, терминације и декомпозиције SR, или током реакција оксидованих продуката са осетљивим циљним молекулима (Halliwell *et al*, 2005). Деловање антиоксиданаса представља способност хватања (scavengers) SR, давања електрона, разграђивања хидропероксида липида, који су настали у фази пропагације, затим неутрализацију деловања синглетних облика кисеоника као и способност инхибиције неких ензима (Cheesman and Slater, 1993; Masella *et al*, 2005).

AOS чине ензими и једињења мале молекулске масе. Овај систем омогућава заштиту од токсичног дејства ROS. Оштећења, која настају деловањем ROS, тумаче се као последица оксидационог стреса (Sies, 1985). Оксидациони стрес настаје када дође до поремећаја равнотеже између ROS и RNS-а, с једне стране, и заштитног система с друге стране (Halliwell and Gutteridge, 1999). У том случају вишак одбеглих ROS реагује с липидима, протеинима, нуклеинским киселинама и полисахаридима изазивајући значајна оштећења. Сматра се да оксидациони стрес представља важан фактор у патогенези старења, у дегенеративним обољењима као што су: атеросклероза, кардиоваскуларна обољења, дијабетес мелитус тип 2 и у развоју тумора (Gutteridge, 1993; Kehrer, 1993; Halliwell, 1999; Hussain *et al*, 2003; Valko *et al*, 2004; Storz, 2005).

Како би се спречила, оштећења која настају услед деловања слободних радикала кисеоника ($O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 , OH^{\bullet} , 1O_2), развио се **антиоксидациони**

заштитни систем, који представља заштиту биолошких система. AOS обухвата примарну и секундарну антиоксидациону заштиту.

Примарна антиоксидациона заштита обухвата *ензимске* и *неензимске* компоненте (Fridovich, 1995).

Ензимске компоненте антиоксидационе заштите представљају ензими: супероксид-дисмутаза (SOD), каталаза (CAT), ензими глутатионског редокс циклуса: глутатион-пероксидаза (GSH-Px), глутатион-S-трансфераза (GST) и глутатион-редуктаза (GR).

Неензимске компоненте представљају нискомолекуларна једињења. Ова једињења имају исту улогу-уклањање слободно радикалских врста. Неензимски систем за одбрану од оксидационих оштећења чине:

- **Липосолубилна једињења:**
 - Витамин Е (α -токоферол),
 - Провитамин А (β -каротен),
 - Витамин А (ретинол), и
 - Коензим Q (CoQ).
- **Хидросолубилна једињења:**
 - Витамин Ц (аскорбинска киселина),
 - Мокраћна киселина,
 - Глутатион (GSH),
 - Жучни пигменти – билирубин и биливердин,
 - Транспортни протеини крвне плазме: албумин, трансферин, феритин,
 - Аmino киселине: цистеин, хистидин.

Секундарну антиоксидациону заштиту чини систем ензима који се може квалификовати у 2 класе (Halliwell, 1999):

1. репаратори који поправљају оштећења настала пропустима примарног система. У њих спадају ензими DNK – репарационог система, као што су DNK гликозилаза, DNK полимераза, DNK лигаза, ендонуклеазе;

2. дезинтегратори који уништавају настала оштећења. То су углавном различите протеазе које су активне на оксидационо модификованим протеинима: протеин-специфичне оксидоредуктазе, протеин-ADP-рибозил-трансфераза, АТР и Ca^{2+} - независна протеаза.

1.6.5.1. Ензимске компоненте антиоксидационог заштитног система

1.6.5.1.1. Супероксид дисмутаза (SOD)

Супероксид-дисмутаза (SOD) је металопротеин (слика 1). Он катализује дисмутацију супероксид ањон радикала ($O_2^{\cdot-}$), у молекулски кисеоник и водоник пероксид (H_2O_2), (McCord and Fridovich, 1969) према следећој једначини:



Супероксид-дисмутаза је присутна у свим аеробним организмима. Постоји неколико облика супероксид-дисмутаза и то:

- ✓ гвожђе садржавајућа супероксид-дисмутаза (Fe SOD),
- ✓ бакар-цинк садржавајућа супероксид-дисмутаза (CuZn SOD),
- ✓ манган садржавајућа супероксид-дисмутаза (Mn SOD) и
- ✓ екстрацелуларна супероксид-дисмутаза (EC SOD).

Екстрацелуларна супероксид-дисмутаза исто садржи бакар и цинк, али има и различиту аминокиселинску секвенцу од CuZn SOD.

SOD улази у класу најефикаснијих биолошких катализатора. Брзина ензимске реакције износи $k = 2 - 4 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, што представља приближно, око 10000 пута бржу реакцију од спонтане дисмутације супероксид ањон радикала при нормалном pH (Fridovich, 1995).

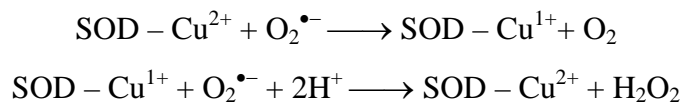
Код људи су присутна три облика супероксид дисмутаза (Zelko *et al*, 2002):

- ✓ у цитосолу-CuZn SOD (Ookawara *et al*, 1992),
- ✓ у екстрацелуларним течностима-EC SOD (Oury *et al*, 1996).
- ✓ у митохондријама-Mn SOD (Taniguchi, 1992),

Бакар цинк садржавајуће супероксид-дисмутаза има највише у еритроцитима, мозгу, јетри и неуронима. Највећим делом се налази у цитосолу и једру, али су имунохистохемијске анализе показале њено присуство и у лизозомима, цитоплазматском ретикулуму, митохондријама и Голџи комплексу. У хуманим фибробластима и ћелијама хепатома, овог ензима

углавном има у пероксизомима (Keller et al, 1991; Moldovan and Moldovan, 2004).

CuZn SOD спадају у димене металоензиме. Они катализују дисмутацију $O_2^{\bullet-}$ преко цикличне оксидо-редукционе реакције, помоћу каталитички активног Cu јона.



Ова реакција је дифузионо контролисана и ограничавајући фактор бржег одигравања ове реакције, је одређено време да се супстрат дифундује у активно место (Polticelli et al, 1996).

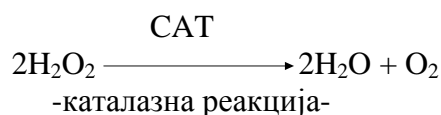
Екстрацелуларна супероксид дисмутаза садржи Cu и Zn, као и CuZn SOD, али има другачију аминокиселинску секвенцу од CuZn SOD. Ова супероксид дисмутаза је осетљива на хепарин, па се претпоставља да се налази на површини ћелије (Karlsson and Marklund, 1988). Хепарин супримира инфламацију ослобађањем EC SOD (Buettner, 1998). Има је у екстрацелуларној течности: лимфи, плазми и цереброспиналној течности. EC SOD има веома значајну улогу у пресретању $O_2^{\bullet-}$, који је отпуштен од фагоцита и других ћелија (Fridovich, 1997).

MnSOD омогућава заштиту од липидне пероксидације, али не само у ћелији, него и ван ћелије, јер се секретује у екстраћелијски простор и на тај начин обезбеђује спољашњу ћелијску мембрану (Semrau et al, 1998).

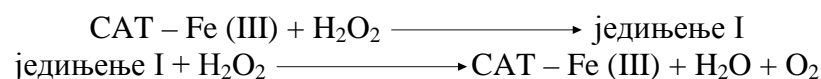
Манган садржавајућа супероксид-дисмутаза је изузетно важна за одржавање рекокс равнотеже. Ровећана активност MnSOD, заштићује ткиво од оксидативног стреса (Erperly et al, 2002), међутим, превелика експресија MnSOD доводи до акумулације ROS и оксидативног стреса који подпомаже туморским метастазама и ангиогенези (Zhang, 2002).

1.6.5.1.2. Каталаза (CAT)

Каталаза (CAT) је ензим који катализује "каталазну" реакцију, односно претварање водоник пероксида (H_2O_2), који је настао дисмутацијом супероксид анјон радикала, до воде и молекулског кисеоника.

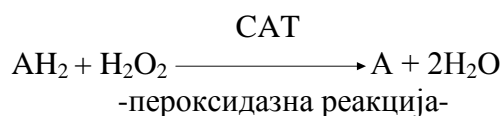


У овој двостепеној реакцији захтев је везивање два молекула водоник пероксида у активном центру ензима:



Код оваквих реакција је вероватноћа за везивање два молекула водоник пероксида у активном центру ензима веома мала када је водоник пероксид у ниским концентрацијама. Ова реакција је изузетно брза: K_b каталазе је $4 \times 10^7 \text{M}^{-1} \text{сес}^{-1}$.

CAT испољава и "пероксидазну" активност. "Пероксидазна" реакција је спора и догађа се када је водоник пероксид у ниским концентрацијама као и у присуству неког донора електрона (етанол, редуковани пиридин). Овај поступак се одвија према следећој једначини:



Хоће ли каталаза да катализује брзу каталазну реакцију, или спору преоксидазну реакцију, зависи од брзине настајања водоник пероксида и од концентрације донора водоника. Иначе, азот моноксид може модулирати обе наведене активности CAT (Brunelli *et al*, 2001).

CAT своју највећу активност показује у јетри и еритроцитима, док је у мозгу, плућима, оку, срцу и скелетним мишићима има у малим концентрацијама (Halliwell and Gutteridge, 1999).

CAT уз SOD и глутатион-пероксидазу има важну улогу у ензимској одбрани од оксидационог стреса (Spasić *et al*, 2000).

1.6.5.1.3. Ензими глутатионског редокс циклуса (GSH-Px, GST, GR)

1.6.5.1.3.1. Глутатион пероксидаза GSH-Px

Глутатион-пероксидаза је главни ензим који при ниским концентрацијама уклања водоник пероксид. Глутатион-пероксидаза катализује глутатион-зависну редукцију водоник пероксида (H₂O₂) у воду. Ако поредимо са каталазом GSH-Px је спора и није економична, јер јој је за рад неопходна велика количина ћелијског редуктанта глутатиона.



Глутатион-пероксидаза катализује редукцију органских хидропероксида у алкоhole.



Постоје три врсте GSH-Px:

- ✓ селен-зависна глутатион-пероксидаза (Se GSH-Px),
- ✓ селен-независна глутатион-пероксидаза и
- ✓ фосфолипид хидропероксид глутатион-пероксидаза (PH GSH-Px)

Селен зависна глутатион-пероксидаза катализује разградњу водоник пероксида до воде уз учешће глутатиона (GSH) као донора електрона. Каталитички механизам је састављен од цикличне промене на селено-цистеинским остацима. Активан центар је приступачан јер се налази у плитком удубљењу, што узрокује велику брзину (Џубрило, 2009).

Se-независна глутатион-пероксидаза припада ензимима глутатион-S-трансферазе, GST. Se-независна глутатион-пероксидаза, катализује разградњу органских пероксида до алкоhole, такође уз учешће глутатиона као донора електрона (Pešić, 2005).

Фосфолипид хидропероксид GSH-Px, реагује са фосфолипидним хидропероксидима. Он је једини облик глутатион пероксидазе која иницира процесе липидне пероксидације, уз обавезно присуство физиолошке концентрације витамина Е (Marinho *et al*, 1997) .

1.6.5.1.3.2. Глутатион трансфераза (GST)

Глутатион-S-трансфераза се највећим делом налази у цитосолу. Код сисара је присутна у свим ткивима, али највећу активност показује у јетри где представља и око 10% протеина цитосола.

Глутатион-S-трансфераза има три функције (Pešić, 2005):

- ✓ катализује реакцију коњугације редукованог глутатиона са различитим електрофилима,
- ✓ делује као везујући протеин за различите супстанце,
- ✓ ковалентно везује неке канцерогене супстанце.

1.6.5.1.3.3. Глутатион редуктаза (GR)

Глутатион-редуктаза је ензим који катализује реакцију редукције оксидованог глутатиона (GSSG) у редуковани глутатион (GSH) уз учешће NADPH као редукујућег кофактора (Heffner and Repine, 1989):



Углавном се појављује као димер. Код неких организама су откривени и тетрамерни облици овог ензима (Mullineaux and Creissen, 1997). Код сисара, у ћелијама, GR је заступљен у цитосолу и митохондријама. Велика му је улога у заштити организама од оксидационих оштећења. Промене активности GR углавном се појављују са променама активности GSH-Px и SOD. Ровећана активност GR запажена је у туморским ћелијама и ћелијама у којима је вештачким путем изазван оксидациони стрес. Ровећање активности GR, у одговору на оксидациони стрес, последица је индукције синтезе специфичне GR

tRNK као и успостављања равнотеже са осталим компонентама антиоксидационог заштитног система (Masella *et al*, 2005).

Активношћу GR-а, одржава се константан однос између редукованог и оксидованог глутатиона. У условима оксидативног стреса, када је немогуће успостављање оптималног односа GSH/GSSG, оксидовани глутатион се транспортује изван ћелије преко Ca²⁺ зависне ATP-азе у плазма мембрани.

За активност GR потребан је NADPH као извор H атома за редуkcију, те тако директно зависи од пептозофосфатног пута.

1.6.5.2. Неензимске компоненте антиоксидационог заштитног система

Неензимске компоненте антиоксидационог заштитног система су:

- **Хидросолубилна једињења:** глутатион; витамин Ц (аскорбинска киселина); мокраћна киселина и урати; жучни пигменти (билирубин и биливердин); транспортни протеини крвне плазме (албумин, трансферин, церулоплазмин, феритин, лактоферин); аминокиселине (цистеин и хистидин).
- **Липосолубилна једињења:** витамин Е (*α*-токоферол); витамин А (*ретинол*); провитамин А (*β*-каротен); коензим Q (*CoQ*); каротеноиди, убихинон (*коензим Q*);

1.6.5.2.1. Глутатион

Тиоли су класа молекула чија је особина присуство сулфхидрилних остатака (-SH) на њиховим активним местима. Тиоли имају веома значајну улогу у антиоксидативној заштити организма и велики број функција у биолошким системима. (Sen and Packer, 2000).

Трипептид γ -глутамилцистеинилглицин (GSH) је главни неензимски регулатор ћелијске редокс хомеостазе. Глутатион је присутан у свим ћелијама у милимоларним концентрацијама (Meister and Anderson, 1983), а у митохондријама се налази 10% укупног GSH. GSH се налази у једру, ендоплазматском ретикулуму и митохондријама. У нормалном редокс стању

ћелије, скоро сав глутатион је у редукованом облику, GSH, а свега око 1% у оксидативном облику глутатион дисулфида, (Dickinson and Forman, 2002).

GSH може директно уклањати SR, или индиректно као супстрат за GPН и GST у процесима детоксификације водоник пероксида, липидних хидропероксида и електрофилних једињења (Masella *et al*, 2005). GSH је кофактор селено-ензима глутатион пероксидазе и PHGPx, затим GST, глутатион синтетазе, леукотријен C4 синтетазе, 3-дејодиназа, глутаредоксина и гликозилаза (Pompella *et al*, 2003).

Синтеза и разградња глутатиона одвија се у оквиру γ -глутамил циклуса (Меистер-ов циклус) (Meister, 1995). Синтеза GSH се догађа у ћелијама свих органа, а нарочито јетре, преко две ензимске катализоване реакције, уз утрошак АТФ-а (Fernandez-Checa *et al*, 1998).

У стању оксидационог стреса, брзо се смањује концентрација GSH, док се потенцијално токсични GSSG повећава што одговара стварању мешаних дисулфида са ћелијским протеинима (протеин-глутатион мешани дисулфиди, протеин-SSG). Ова реакција је важна за дејство GSH у процесу преношења сигнала јер знатан број протеина који учествују у преношењу сигнала има критичне тиоле (нпр. рецептори, неке протеин киназе и транскрипциони фактори) и мења своје функције након стварања мешаних дисулфида (Dickinson *et al*, 2002).

Смањење концентрације GSH може довести до различитих поремећаја у организму: може се смањити ниво синтезе протеина укључујући и синтезу DNK; ћелије у култури доспевају у стање мировања; инхибирана је ћелијска и цитотоксичност, зависна од антитела (Uhligh and Wendel, 1992).

За нормалан метаболизам неопходно је да се GSH брзо надокнади што се постиже на два начина: *де ново* синтезом, или редукцијом створеног GSSG. Глутатион се синтетише у два секвенцијална корака у реакцијама зависним од АТФ помоћу ензима γ -глутамилцистеин лигазе (GCL) и глутатион синтазе (GC;) (Dickinson *et al*, 2002).

Глутатион је као редуктант веома битан у одржавању стабилности мембране еритроцита (Ћерелак and Dodig, 2003).

Иако неопходан, глутатион сам није довољан да спречи цитотоксично деловање ROS. Његов основни значај је у томе да је неопходан за

функционисање GSH-зависних ензима који учествују у првој и другој линији одбране од штетног деловања ROS.

1.6.5.2.2. Витамин С

Витамин С или аскорбинска киселина је први пут изолован 1928. из коре надбубрежних жлезда замораца. Молекул аскорбинске киселине је у ствари γ -лактон-2-кето-гулонска киселина. Киселост витамина С потиче од ендиолне групе (две хидроксилне групе које се налазе на једној двогубој вези). (Nelson and Cox, 2005).

Структура витамина С је кристална. Растворљив је у води, а постојан у киселим растворима и подложен разарању оксидативним средствима. Витамин С је важан редукујући хидросолубилни витамин. Есенцијалан је за човека, примате и неке друге врсте. Веома је осетљив на промену температуре (термолабилан).

Улоге С витамина су следеће:

- ✓ раст хрскавице, зуба и потпорних ткива. Недостатак овог витамина може довести до развоја тешког обољења званог *скорбут*,
- ✓ синтеза стероидних хормона,
- ✓ стимулише адреналну функцију и ослобађање адреналина и норадренина из сржи надбубрежних жлезда,
- ✓ има и антиоксидативно својство, тако што учествује у уклањању слободних радикала (Padayatty *et al*, 2003).

Зависно од реакционих услова, аскорбинска киселина има следеће антиоксидативне особине:

- ✓ делује као хватач HO_2^\bullet , $\text{O}_2^{\bullet-}$, LOO^\bullet , $^\bullet\text{OH}$, тиол, сулфенил и нитроксирадикала,
- ✓ инактивира синглетне облике кисеоника и оксиданте неутрофилних леукоцита,
- ✓ деактивира дејство хипохлорасте киселине и редукује нитрозо-амине у неактивне производе,
- ✓ донор је водоника за фенолне антиоксидансе и помера редокс потенцијал у систему ка редукованом стању.

У ћелији је важна његова антиоксидациона улога, јер може директно уклонити и $O_2^{\bullet-}$, $\bullet OH$ и липидне хидропероксиде, те рестаурирати витамин Е из његовог радикала.

Аскорбинска киселина је кофактор за многе ензиме (пролин, лизин и допамин- β , хидроксилазу); повећава апсорпцију гвожђа и стабилизује феритин и друге протеине који везују гвожђе (Carr and Frei, 1999). Познато је да аскорбат може редуковати Fe^{3+} у Fe^{2+} и покренути стварање хидроксил радикала *in vitro* у присуству H_2O_2 (Halliwell, 1999, Carr and Frei, 1999).

1.6.5.2.3. Витамин Е (α -токоферол, ТОК)

Витамин Е је састојак ћелијске мембране и липопротеина плазме, жућкасте боје, растворљив у мастима, отпоран на загревање а осетљив на оксидацију. Од осам изомера токоферол серије, α -токоферол је код људи најактивнији и најважнији липосолубилни антиоксиданс у прекидању ланчаних реакција иницираних слободних радикала *in vivo* (Halliwell, 1999, Halliwell, 1991). Ћелије сисара не синтетишу овај витамин па његова количина зависи од уноса храном (Flunn *et al*, 2003).

Најважније функције витамина Е су:

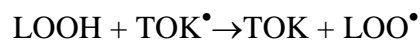
- ✓ одржавање функционалне и структурне организације ћелијских мембрана,
- ✓ хватање слободних радикала,
- ✓ спречавање оксидационог оштећења полинезасићених масних киселина прекидањем ланчане реакције пероксидације.

У уклањању липидних пероксида постоји синергистички ефекат између Se-зависних ензима (GSH-Px и PH GSH-Px) и ТОК (Michiels *et al*, 1991). Показано је да токоферол у присуству GSH пружа заштиту од аутокаталитичке пероксидације липида и штити SH групе протеина од оксидације (Sies, 1991).

Механизам антиоксидативне активности ТОК састоји се у редукцији ROO^{\bullet} у $ROOH$. Наиме, пероксил и алкоксил радикали настали током липидне пероксидације лакше реагују са Н атомом из ОН групе ТОК, него из бочних ланаца суседних масних киселина. У овој реакцији настаје слабо реактиван

токоферол-радикал који не може да издвоји Н атом из бочног ланца масне киселине, па се тако зауставља ланчана реакција. Слабија активност ове честице последица је делокализације неспареног електрона у ароматични прстен (Halliwell, 1991).

Токоферил-радикал се стабилизује у реакцијама са аскорбинском киселином, тиолима (GSH), или убихиноном; може се димеризовати са другим токоферил-радикалом, или се пак оксидовати у хинон (Sies, 1991). Међутим, у релативно високим концентрацијама ТОК може изазвати стварање слободних радикала и тако деловати прооксидационо: током липидне пероксидације ТОК се троши (има га мање него масних киселина - LH) па опада однос ТОК/LH, а расте однос LOOH/ТОК; нагомилавањем LOOH настаје обрнута реакција:



и стимулише се ширење реакције. Експерименти *ин vivo* су показали да оксидациони стрес може, или смањити или повећати концентрацију витамина Е у неким ткивима (Antosiewicz *et al*, 2002).

1.6.5.2.4. Коензим Q

Коензим Q убихинон, или витамин Q је саставни део мембране митохондрија који представљају важну карику у респираторном ланцу аеробних организама. У зависности од величине полиизопреноидног бочног ланца, број јединица може да варира од 1 до 10 и због тога се молекули коензима Q означавају са Q₁, Q₂,..... Q₁₀.

У унутрашњим мембранама митохондрија налази се CoQ у великим количинама. Има га и у спољашњим мембранама митохондрија, Голџијевом комплексу ендоплазматичном ретикулуму и лизозомима (Ernester, 1993).

До поремећаја оксидоредукције у респираторном ланцу долази услед недостатка коензима Q₁₀. Недостатак CoQ подстиче појаву срчане аритмије, срчане инсуфицијенције, артеријске хипертензије, атеросклезоза као и исхемијске поремећаје срца и мозга (Langsjoen, 1990).

1.6.5.2.5. β каротен и витамин А

Витамин А је липосолубилни витамин присутан у многим липидним супстанцама. β каротен је присутан у ћелијским мембранама, и он се конвертује у витамин А кад је витамин А потребан организму. Предпоставља се да β каротен деактивира реактивне кисеоничне врсте и то посебно синглет кисеоник и липидне радикале, па и смањује липидну пероксидацију (Ozhogina and Kasaikina, 1995).

Витамин А има антиоксидативна својства и незаменљив је у борби против срчаних и других дегенеративних стања (O'Keefe J.H. *et al*, 1995).

Витамин А и β каротен делују у комбинацији са витамином С и Е, па на тај начин и врше заштиту ћелија од реактивних кисеоничних врсти (Livrea *et al*, 1995).

1.6.5.2.6. Флавоноиди

Флавоноида има у биљкама и то су феноличне супстанце. Настају из аминокиселина фениаланина, тирозина и малоната (Willcox *et al*, 2002). Могу директно да хватају неке ROS донацијом атома водоника (Depeint *et al*, 2002). Одређене студије су показале антиоксидативна својства флавоноида *ин vivo*, као и да они штеде витамин Е и β каротен (Morand *et al*, 1998).

1.6.5.2.7. Мокраћна киселина

Физичка активност високог интензитета доводи до повећања плазматске концентрације мокраћне киселине (Mastaloudis *et al*, 2001). Она је финални продукт пуринског метаболизма код људи (Hellsten *et al*, 1997). Мокраћна киселина као један од најважнијих антиоксиданата у плазми и мишићима има изузетно велико дејство на хипохлорну киселину, синглет кисеоник, пероксинитрит, пероксил радикал и озон (Kaur and Halliwell, 1990). Ова киселина чини око 50% плазматског антиоксидантног капацитета (Wayner *et al*, 1987). Тако мокраћна киселина учествује у заштити еритроцита, ћелијских

мембрана, хијалоуринске киселине и DNK од слободних радикала, а има способност и да гради стабилне комплексе са јонима гвожђа (Sebanian *et al*, 1991), а на тај начин штити витамин Е и С (Ma *et al*, 1994).

1.6.5.2.8. Феритин, церулоплазмин, билирубин, албумин

Гвожђе је битно за ћелијски раст, али може и имати прооксидативне ефекте у Фентоновој реакцији, и може оксидисати витамин С, те на тај начин допринети умањењу капацитета антиоксидативне заштите (Sevanian *et al*, 1991). Феритин учествује у заштити од штетних ефеката јона гвожђа јер умањује продукцију слободних радикала, тако што заплетује гвожђе у крви, или у ћелијама (Orino *et al*, 2001).

Церулоплазмин, билирубин и албумин, представљају неспецифичне антиоксидансе који прекидају ланац слободнорадикалске продукције тако што предају електроне слободним радикалима (Prior and Cao, 1999).

1.7. ОКСИДАТИВНИ СТРЕС ИЗАЗВАН ФИЗИЧКИМ ВЕЖБАЊЕМ

1.7.1. Методе процене оксидативног стреса у биолошким системима

Појава оксидативног стреса се може проценити:

- ✓ директном детекцијом слободних радикала
- ✓ мерењем радикал-посредованих оштећења на липидима, протеинима, или DNK
- ✓ мерењем активности антиоксидативних ензима или концентрације неензимских антиоксиданата

Директна детекција слободних радикала се врши одређеном техником „електронске спинске резонанце (ESR)“, или „електронске парамагнетне резонанце (EPR)“. Ово је спектроскопска метода, којом се омогућава мерење ROS на основу њихових парамагнетних својстава (Rimbach *et al*, 1999; Achton *et al*, 1998). Метода ESR је изузетно осетљива, и детектује изузетно ниске концентрације слободних радикала, може да се користи *ин витро*, *ин vivo* или *ex*

in vivo, али се *in vivo* мерења не практикују код људи, а разлог је токсичност продуката ове методе (Rimbach *et al*, 1999). Узорци крви се прикупљају у епрувете са раствором у коме се налазе хватачи спина који представљају стабилизаторе ROS. После центрифугирања, анализа серума се врши спектрофотометриски. Ове резултате треба тумачити са опрезом због кратког полуживота ROS, њихове способности да реагују и њихове мале концентрације (Cooper *et al*, 2002; Jeninks, 2000).

Мерење оксидативних оштећења липида, се односи на мерење степена липидне пероксидације мембране или масних киселина. Липидна пероксидација води разградњи липида и креирању примарних оксидативних продуката. То су коњуговани диенини (KD), или липидни хидропероксиди (LOOH). Секундарни породукти су малонилдиалдехид (MDA) или Ф2 изопростани. Липидни пероксиди такође представљају маркере иницијалне реакције слободних радикала и специфичне маркере оштећења ћелијских мембрана. Други породукти који се користе за процену оксидативног стреса, имају лошу страну што су секундарни оксидативни породукти. Ф2 изопростани настају слободно-радикалском катализацијом пероксидације архидонске киселине (Aguota, 1999). Многобројне студије су довеле до закључка, да су Ф2 изопростани поуздани метод за процену ендogene липидне пероксидације и оксидативних оштећења (Pincemail *et al*, 2000; Frenk *et al*, 2000).

Слободно-радикалске модификације протеина укључују формирање карбонилних група у аминокиселинским бочним ланцима. Стварање карбонила је присутно у сваком феномену повезаном са оксидативним стресом (Stadtman and Levine, 2000). Високе количине карбонила представљају показатељ кумулативних ефеката оксидативног стреса. Метод је интересантан због полуживота карбонила који је релативно дуг.

ROS индукују неколико типова DNK оштећења, укључујући прекид ланаца, DNK-крос-линк-протеинских веза и модификацију база. Најчешћи маркер који се користи је 8-хидрокси-2`деоксигуанозин (8-OHdG). Настајање овог 8-хидрокси-2`деоксигуанозина, условљено је оксидацијом гуанина.

Испитивањем активности антиоксидативних ензима (SOD, CAT и GPx) евалуира квалитет антиоксидационе заштите у миру. На овај начин се може приказати ниво значајности оксидативног стреса након вежбања. Активност

антиоксидативних ензима се може мењати на два начина: на почетку се може повећати (адаптирати), или смањити ако је оксидативни стрес велики, или дуго траје (искоришћавање) (Finaud, 2006).

Користи се и мерење укупног антиоксидативног капацитета (Total Antioxidant Capacity - TAC) који представља збир свих антиоксиданата у плазми (Rimbach *et al*, 1999). Батерија тестова укључујући и TAC, изоловано мерење про и антиоксиданата и маркера оксидативног оштећења липида, протеина и DNK представља најпоузданији метод за процену оксидативног стреса (Prior and Cao, 1999).

1.7.2. Оксидативни стрес и његова повезаност са тренажним оптерећењима

Маркери оксидативног стреса и антиоксидативног статуса могу бити важни параметри биолошког праћења спортиста. Тако на пример, у једној од студија, лонгитудинално праћење оксидативног статуса код елитних бициклиста, је показало да је активност GPx била веома повећана у време тренажних периода, а смањена у периодима одмора, као и током периода интензивног тренинга. Периоди интензивног тренинга могу довести до пада антиоксидативног капацитета што наравно узрокује хронично повећани оксидативни стрес (Balakrishnana *et al*, 1998).

Такође, оксидативни статус спортиста има и узлазну и силазну путању у току сезоне, и он наравно зависи од тренажног оптерећења. Потврду овог става показују и студије на професионалним фудбалерима, кајакашима, скијашима и рагбистима (Schippinger *et al*, 2002; Finaud *et al*, 2006; Schippinger *et al*, 2009; Teixeira *et al*, 2009). Врхунске спортске дисциплине су праћене великим обимом интензивних тренинга који могу довести до хроничног стања поремећене редокс равнотеже. Овакво стање поремећене редокс равнотеже може да изазове хроничан умор и да доведе до претренираности. Зато је веома битно и корисно да се маркери оксидативног стреса прате током целе сезоне, како би се на време препознали спортисти, који имају повећан ризик и како би се предузеле мере избегавања штетних последица по здравље спортиста, и утицало на његово спортско извођење (Teixeira *et al*, 2009).

Код појаве претренираности спортиста јављају се промене хормоналних, имунолошких, хематолошких и биохемијских параметара, мада се у студијама могу наћи контрадикторни резултати (Fru *et al*, 1991; Rowbottom *et al*, 1995). Карактеристике претренираности су велики умор, пад нивоа квалитета спортског извођења, физичке и промене расположења, а јављају се и промене биохемијског статуса организма. Ипак, једини параметар који се сматра поузданим за процену претренираности спортиста, је да се са порастом физичког оптерећења јавља пад физичких способности (Petibios *et al*, 2002; Petibios *et al*, 2003; Fru *et al*, 1991; Rowbottom *et al*, 1995).

II ЦИЉЕВИ

Циљеви студије:

- 1) Унутар групе од 56 испитаника од 12-13 година, мушког пола утврдити ниво про и анти инфламаторних цитокина, као и њихову динамику након шестомесечног тренажног програма код испитаника у експерименталној групи.
- 2) Одредити активност ензима заштите од оксидативних оштећења у еритроцитима испитаника, као и ниво параметара оксидативног стреса у плазми.
- 3) Успоставити корелацију између вредности за испитиване медијаторе инфламаторног одговора са параметрима редокс равнотеже и морфо-функционалних способности.

Хипотезе студије:

- 1) Пажљиво планирана, стручно изведена и програмирана физичка активност, не потенцира оксидациона оштећења код младих фудбалера узраста 12-13 година.
- 2) Пажљиво планирана, стручно изведена и програмирана физичка активност, може позитивно утицати на подизање нивоа антиоксидативних ензима код младих фудбалера узраста 12-13 година.
- 3) Програмирана физичка активност неутиче на пораст инфламаторних цитокина.

III МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Студија је дизајнирана као експериментална, а примењен је лонгитудинални метод испитивања. У оквиру овако дизајнираног истраживања, планирано је одређивање активности ензима заштите од оксидационих оштећења и ниво параметара оксидативног стреса у плазми, одређивање динамике кретања про и анти инфламаторних циконина. Други део ове студије се тиче корелације параметара редокс равнотеже и морфофункционалних способности са једне стране и медијатора инфламаторног одговора, са друге стране.

3.1. ИСПИТИВАНЕ ГРУПЕ

Истраживање обухвата 28 спортиста (фудбалери), чланова омладинске школе ФК Партизан у распону од 12-13 година са спортским стажом од минимално 5 година, и 28 дечака исте старосне доби, који представљају контролну групу и као такви нису подвргнути програмираној физичкој активности.

Обе групе испитаника су упознате са дизајном студије, трајању исте, као и о очекиваним ефектима и могућим ризицима које носи студија и ради тога су од самих испитаника као и од њихових родитеља, узети писмени пристанци за учествовање у овом истраживању.

Сви испитаници су пре учешћа у студији прво подвргнути стандардном спортско-медицинском прегледу. Сви спортисти су имали нормални индекс телесне масе, апсолутно здрави, без обољења у анамнези, без посебних навика у исхрани, без употребе било каквих лекова и суплемената. Основни критеријум за укључивање испитаника у ову студију су били: 1) апсолутно здрава деца без обољења у анамнези 2) без узимања лекова и суплемената.

Млади спортисти су укључени у редовне спортске тренинге фудбала, 12 часова недељно. Сви спортисти су праћени 6 месеци (од јануара до јула 2011. године).

3.2. ПРОТОКОЛ

Први део истраживања је био састављен од морфофункционалног тестирања и од узимања узорака крви у миру и након прогресивног растућег теста оптерећења. Телесна висина, телесна тежина, проценат мишића и масти и индекс телесне масе (BMI), су морфолошки параметри који су били праћени у овој студији. Комплетно тестирање је урађено у просторијама Методолошко-истраживачке лабораторије на Факултету спорта и физичког васпитања у Београду. У склопу првог иницијалног мерења које је урађено првог дана почетка припремног периода, рађена су тестирања функционалне способности прогресивним растућим тестом оптерећења, којим се директном методом добија максимална потрошња кисеоника. Узорци венске крви су узимани пре и после прогресивног растућег теста оптерећења. Биохемијски параметри оксидативног стреса који су праћени у узорцима крви су: O_2^- , NO , H_2O_2 и TBARS као и активност ензима заштите од оксидационих оштећења која је праћена кроз активност SOD, CAT и GSH. Праћени су и нивои инфламаторних медијатора (citoкина), IL-6 и TNF- α .

Идентично тестирање је урађено и након спроведеног експеримента у виду шестомесечног програмираног физичког вежбања. Исти испитаници су у истим условима и у истом временском интервалу тестирани и у првом и другом мерењу.

3.2.1. Тренажни процес (микро–циклус, субота–субота):

- СУБОТА - (трајање 80 минута)

Припремна такмица.

- НЕДЕЉА - (трајање 65 минута)

Обим овог тренинга је 65 минута. Тренинг нижег интензитета. У току тренинга са оваквим интензитетом се углавном ради на елементарној техници. Играју се и статичне игре као што је ножни тенис, или одржавање лопте у ваздуху (жонглирање-такмичење).

- ПОНЕДЕЉАК -

Слободан дан.

- УТОРАК - (трајање 90 минута)

Обим тренинга је 90 минута. Интензитет је аеробни, у коме пулс не прелази 160 откуцаја у минути.

1) Загревање траје 15 минута. У овом периоду тренинга се користи игра у којој се фудбалери, по четворица, налазе у квадрату 15 x 15м, а обележени су са три боје. Сви раде вежбу уз обавезу два додира. Увек је прво пријем лопте, па предаја играчима који су обележени другом бојом, а потом истрчавање око чуња који је постављен ван квадрата по средини сваке стране, удаљени од квадрата 3-5м.

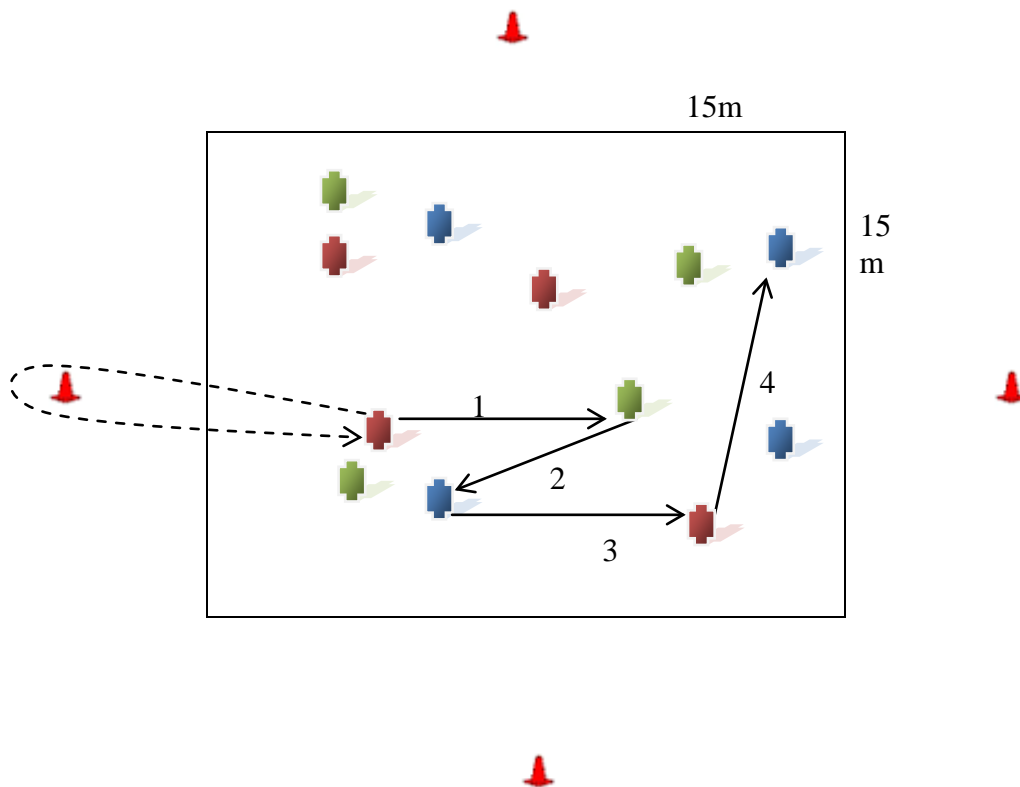


Схема 5. Приказ вежбе три боје са обиласком чуња након предаје лопте (пас)

2) Вежбе за моторику и брзину се изводе у трајању од 20 минута. Вежбе се изводе у паровима и претрчи се укупно 200м. При свакој вежби, на знак тренера истрчи се 10 метара у спринту.

- бочни скип у лево и у десно - на знак се иде у истрчавање од 10 метара,
- стојећи став, чеоно окренути стази - истрчавање од 10 метара на знак,
- стојећи окренути леђима стази - истрчавање од 10 метара,
- окренути бочно у односу на стазу и у таквом положају на знак тренера се иде у истрчавање од 10 метара (један па други бок),
- пет суножних скокова, а након тога истрчавање од 10 метара,
- седећи окренути чеоно стази за истрчавање - на знак се устаје и истрчава 10 метара,
- лежећи на стомаку глава је окренута ка смеру истрчавања - на знак се истрчава 10 метара,
- лежећи на стомаку глава је окренута супротно од смера истрчавања - на знак се истрчава 10 метара,
- лежећи на леђима, а глава је окренута ка смеру истрчавања - на знак се истрчава 10 метара,
- лежећи на леђима, а глава је окренута супротно од смера истрчавања - на знак се истрчава 10 метара,
- лежећи на стомаку, на знак се врши окрет око своје осе у лежећем положају, у леву страну - на знак се истрчава 10 метара,
- лежећи на стомаку, на знак се врши окрет око своје осе у лежећем положају, у десну страну - на знак се истрчава 10 метара.

Аутоматизација дриблинга у току тренинга траје 25 минута. Раздаљина између две колоне играча је 20 метара. Постави се чуњ на средини раздаљине између ове две групе играча. По један спортиста из обе колоне креће истовремено до централног чуња (удаљеност тог чуња је 10м) и ту изводи дриблинг. Након тога се наставља кретање са лоптом праволиниски до зачеља друге колоне.

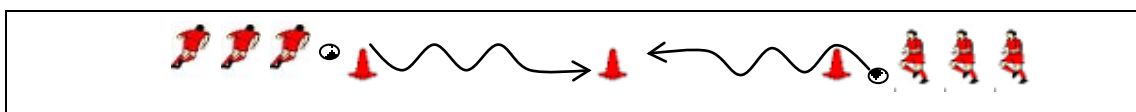


Схема 6. Приказ вежбе дриблинга са чуњевима

Дриблинзи који се изводе у оваквој формацији су:

- искорак левом ногом, одношење десном ногом у страну, (спољашњом страном хрпта стопала)
- искорак десном ногом, одношење левом ногом у страну, (спољашњом страном хрпта стопала)
- лева нога иде споља преко лопте, десном ногом је одношење у страну, (спољашњом страном хрпта стопала)
- десна нога иде споља преко лопте, левом ногом је одношење у страну, (спољашњом страном хрпта стопала)
- ролање: десном ногом у леву страну
- ролање: левом ногом у десну страну
- такозвани „зидан дриблинг“ (заустављање лопте десном ногом, пируета изнад лопте и након тога је одношење лопте ђоном леве ноге)

3) Игра на 6 голова (фудбал) – 20 минута. У овој игри на терену смањених димензија, 50 x 40м, игра 8:8 играча, на 6 голова. Играчи се труде да на један од три противничка гола постигну погодак, а истовремено је неопходно негруписати се, већ широком формацијом одбранити своја три гола.

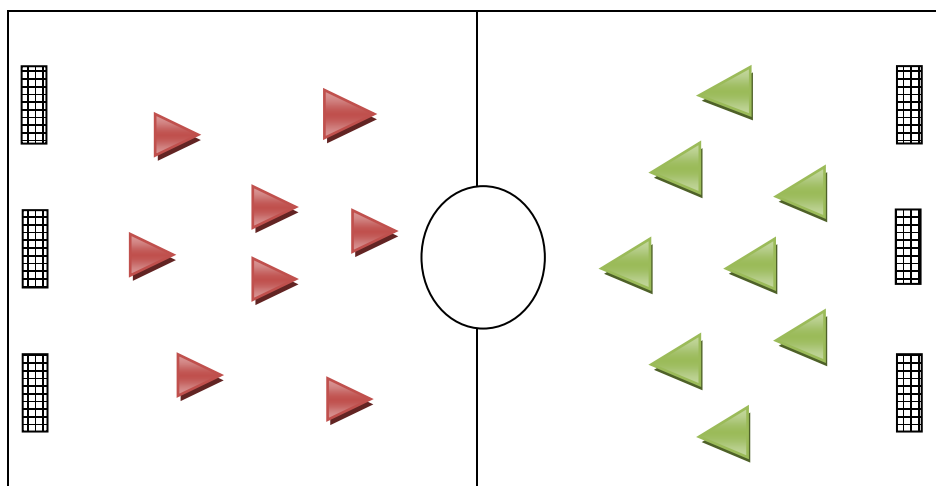


Схема 7. Приказ вежбе (игра 8:8 на терену 50:40) са шест голова, без голмана

4) Статичко истезање траје 10 минута и обухвата мишиће целог тела са посебним нагласком на доње екстремитете.

Интензитет тренинга је увек исти, пулс не прелази 160 откуцаја у минути. У овом узрасту се још увек интензитет налази у аеробном режиму. Обим рада је на почетку недеље највећи, а постепено се смањује крајем недеље тј. крајем микроциклуса.

- СРЕДА - (трајање 90 минута)

1) Загревање траје 10+5 минута. У овај временски интервал трајања загревања улазе и вежбе обликовања и истезања. Вођење лопте са задатком, окретима, ђоном, унутрашњим делом стопала иза стајне ноге, спољашњим делом стопала, унутрашњим делом стопала. У ових петнаест минута загревања се изводе и дриблинзи који су извођени и предходног дана.

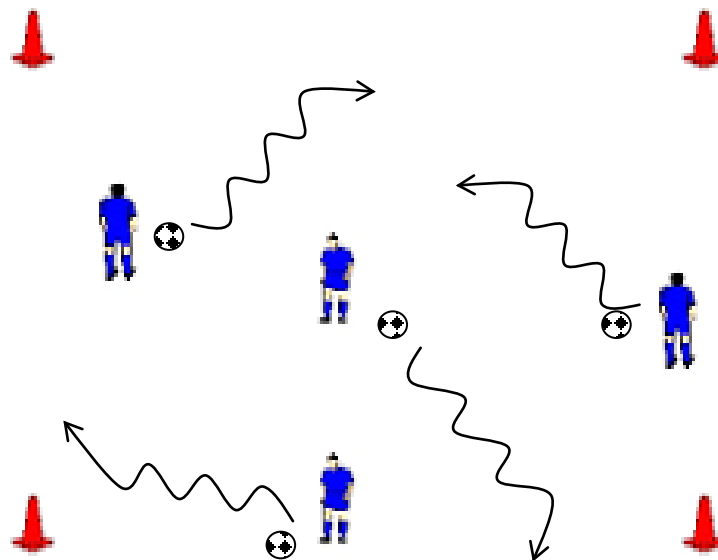


Схема 8. Приказ вежбе вођења лопте са задатком

2) Дриблинг у квадрату 15 x 15м, са трајањем од 25 минута. Ова вежба је конципирана да раде 4 играча по једном квадрату истовремено, а ради се аутоматизација дриблинга са предходног тренинга, али у ограниченом простору.

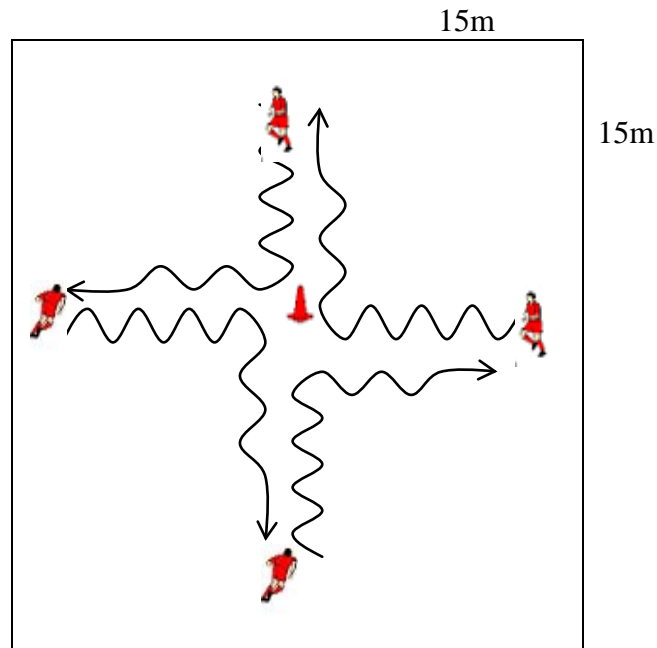


Схема 9. Приказ вежбе аутоматизације различитих дриблинга са ротацијом (заменом места)

Техничко тактичка обука у овом делу тренинга траје 25 минута. У ситуационим условима на терену се развија игра: 1:1; 2:1; 2:2; 3:2; 3:3; 4:3; 4:4. Играчи су подељени у две колоне у простору на половини игралишта. Голман стоји на голу, једна група играча се налази поред једне од статива и сваки играч има по лопту. Друга група играча је на половини терена. Вежба је конципирана тако да играч који је са лоптом додаје по земљи свој парњаку који се налази на половини терена а након додавања му је задатак да истрчи на замишљену линију која спаја играча са средине терена и голмана. Играч који је примио лопту на средини терена, упућује се са лоптом ка голу и на том путу решава ситуацију 1:1 са играчем од кога је лопту на почетку вежбе и добио, уз завршницу (шут на гол).

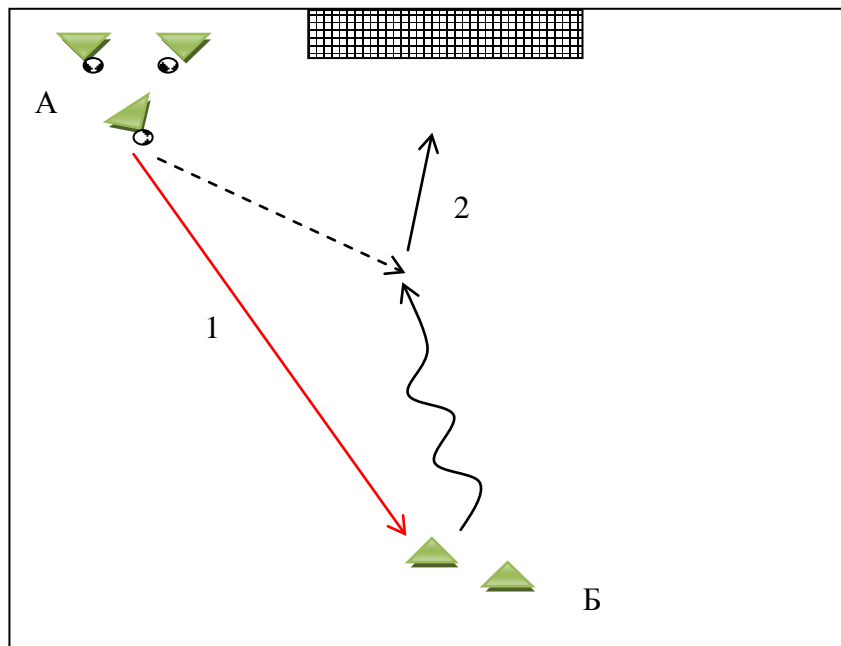


Схема 10. Приказ ТТ вежбе са завршницом

3) Игра на два гола у трајању од 15 минута са задатком. Захтев у току игре је да ако играч у ситуацији 1:1 примени неки од дриблинга који су увежбавани, а притом се и постигне погодак након дриблинга, онда тај гол важи дупло.

4) Статичко истезање траје 10 минута и обухвата мишиће целог тела са акцентом према доњим екстремитетима.

- ЧЕТВРТАК - (трајање 85 минута)

1) Загревање траје нешто дуже него обично, а то је 15+5 минута. У овај временски интервал улазе и вежбе обликовања и истезања.

Вежба која се изводи у овом делу тренинга је вежба у тројкама, а изводи се преко целог терена, са и без промене промене места. Вежба је у функцији аутоматизације елементарне технике.

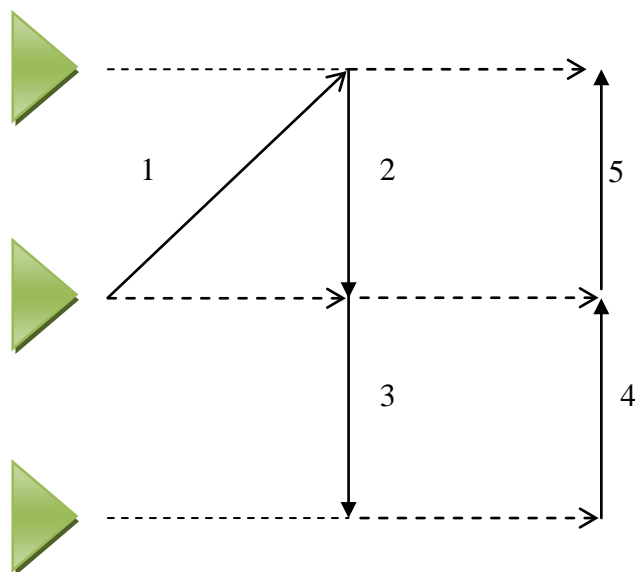


Схема 11. Приказ вежбе за аутоматизацију пријема и предаје лопте у кретању са и без промене места

2) Трајање другог дела тренинга је 35 минута. Вежба је техничко-тактичка, са центаршутем и завршницом. Крилна комбинација је акција за чије је извођење користи 6+2 играча, тако да тренинг има континуитет и да играчи немају велике паузе. Вежба се изводи на следећи начин:

- Игравч А, даје пас играчу Б, који прима лопту десном ногом и предаје левом ногом играчу Ц. Игравч Д брзо излази на играча са лоптом полуактивно, што значи да му парира и прави на овај начин ситуациону вежбу и реалне услове на терену за игру **1:1**, да би играч Ц добро урадио дриблинг и центрирао. Ова четворица играча након сваке акције се померају у десно за по једно место. За то време играчи **1** и **2** се налазе на полукругу изван казненог простора, укрштају ка голу и користе центаршут за завршницу (праве такозвани први и други клин).

Ротирају се само играчи који укрштају испред гола у казненом простору. У једној акцији један играч укршта и утрчава на прву стативу, а исти играч у поновљеној комбинацији укрштање почиње са друге позиције и након укрштања утрчава на другу стативу. Вежба се изводи са леве и са десне стране. У тренутку када тренер процени да је неопходна замена за два играча који учествују у делу акције везаном за завршницу, тада се врши замена та два играча.

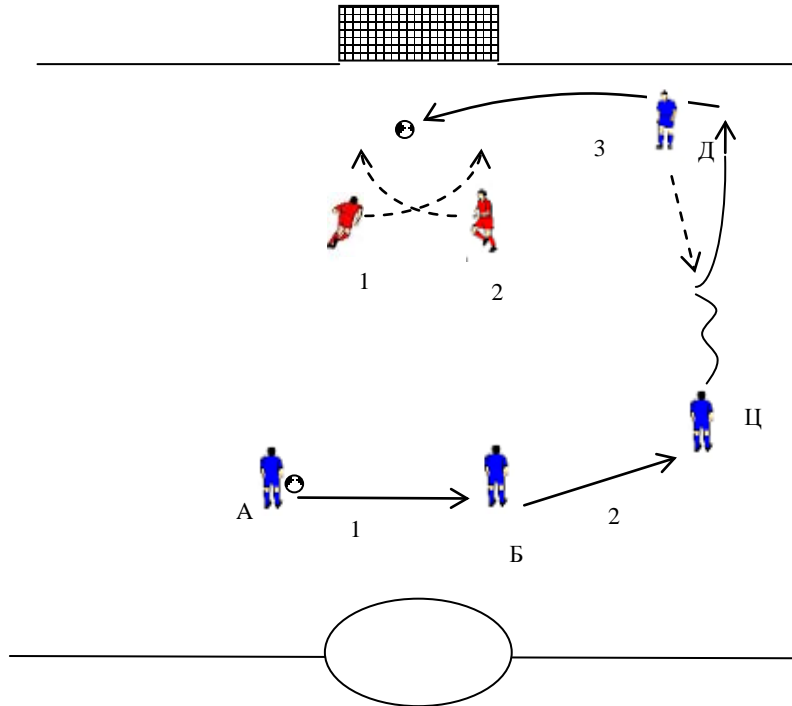


Схема 12. Приказ вежбе са завршницом након центаршута

3) Игра на четири гола траје 20 минута. У овој игри на терену смањених димензија, 50x40м, игра се 8:8 играча, на 4 гола. Играчи се труде да на један од два противничка гола постигну погодак, а истовремено је неопходно негруписати се, већ широком формацијом одбранити своја два гола и спречити погодак противничких играча.

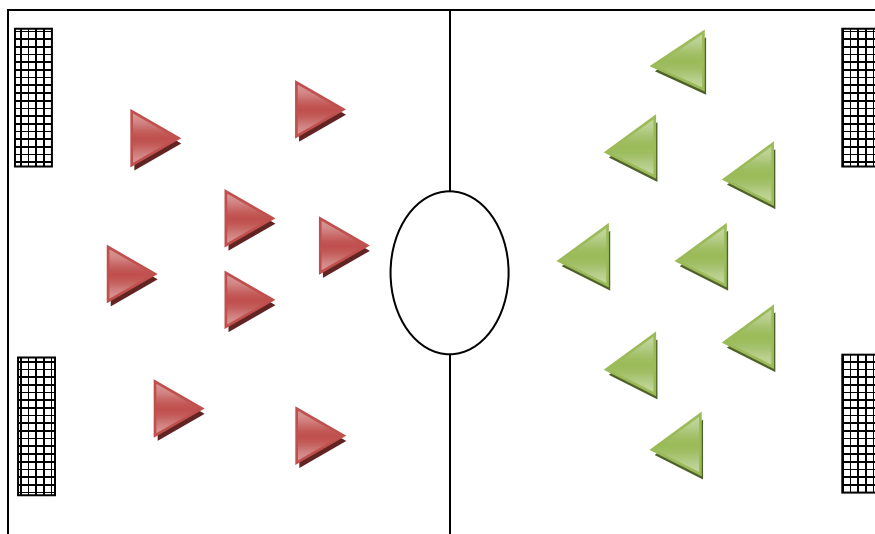


Схема 13. Приказ вежбе (игра 8:8 на терену 50м:40м) са четири гола

4) Истезање је део који траје 10 минута, а обухвата мишиће целог тела.

- ПЕТАК - (трајање 75 минута)

1) 1) Загревање локомоторног апарата траје 15+5 минута. У овај временски интервал улазе и вежбе обликовања и истезања.

2) Игра у квадрату 10 x 10метара. У ову игру је укључено 10 дечака-фудбалера, у формацији 8:2. Осам играча је постављено око квадрата, док се двојица налазе у средини, покушавајући да прекину игру и додирну лопту. Након тога играч који је погрешно, мења своју позицију са играчем у средини који је на реду да изађе из круга. Игра траје 30 минута и игра се на један, или на два додира уз обавезно активно учешће и играча који у тренутку нису у поседу лопте.

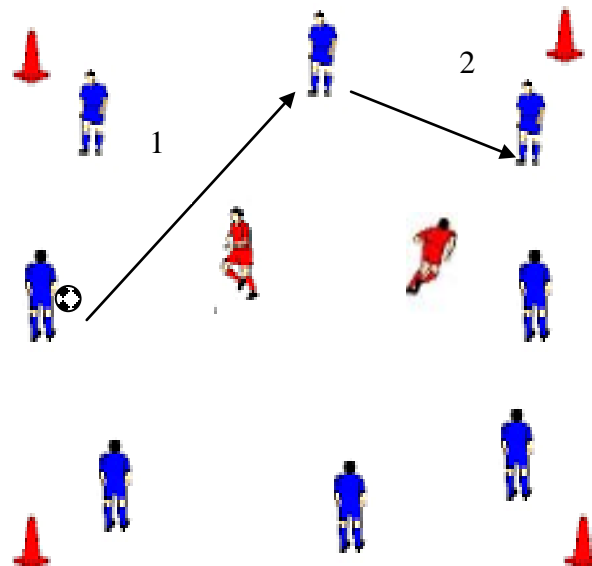


Схема 14. Приказ игре на један или два додира, у игри 8:2 на терену 10x10м

2) Шут после дриблинга је вежба у којој се развија функционална способност, прецизност, елементарна техника у ситуационим условима. Вежба траје 15 минута. Играчи се налазе на средини терена и свако од њих има по једну лопту. На знак креће први играч и води лопту ка тренеру који представља противника и налази се на 20-25 метара од гола. Играч када у пуном трку, стигне близу тренера, изводи дриблинг и након тога улази у завршницу (шут на гол). Дриблинзи који се користе, су већ

научени током предходних тренинга, док се у овој варијанти омогућава њихова аутоматизација. Вежба се изводи наизменично, једном левом, други пут десном ногом.

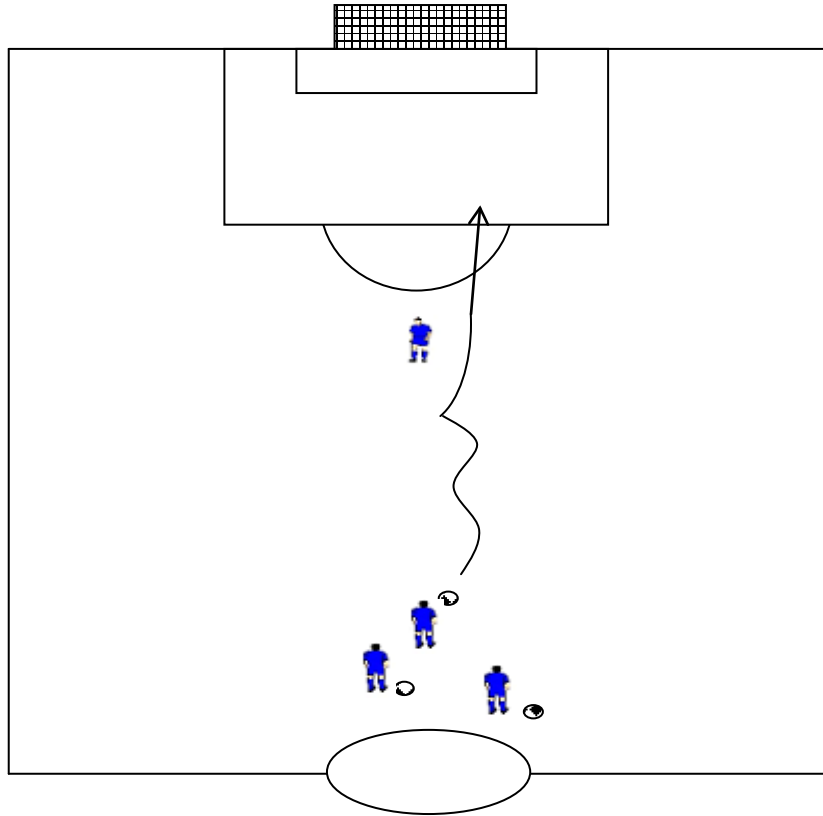


Схема 15. Приказ вежбе за развој елементарне технике, прецизности спретности и функционалне способности

4) Вежбе истезања комплетне мускулатуре, у трајању од 10 минута.

- СУБОТА - (трајање 80 минута)

Припремна такмица.

Следећи микроциклус је конципиран истим обимом и интензитетом и њиховим кретањем у току једног микроциклуса, али се у наредном периоду обрађују нови технички елементи фудбалске игре уз обавезну аутоматизацију научених елемената.

3.2.2. Протокол испитивања морфофункционалних карактеристика

Све лабораторијске просторије у којима су вршена мерења, добро су осветљене и простране. Млади фудбалери су подељени у групе по тројица и тако су мерени у антропометријском оделу (боси, у доњем вешу).

3.2.2.1. Телесна висина

Висина тела мерена је антропометром по Мартину на испитанику који стоји у усправном ставу на чврстој водоравној подлози, са затегнутим леђима, састављеним петама и положајем главе у коме је франкфуртска равна хоризонтална (Еремија, 1997). Резултат се читава са тачношћу од 0,1цм.

3.2.2.2. Телесни састав

Процена телесног састава као и мерење телесне тежине је урађена методом биоелектричне импеданце (Bioelectrical Impedance Analysis – BIA), (Kyle *et al*, 2004; Lim *et al*, 2009). Методолошко-истраживачка лабораторија ФСФВ-а располаже професионалним анализатором за процену телесног састава *Biospace In Body 720*, који за свој рад користи DSM-BIA методу (Direct Segmental Multi-frequency Bioelectrical Impedance Analysis). Функционише тако што поседује осам поларних тактилних електрода са различитим електричним напоном и струјом, која се у току тестирања упућује кроз тело, дајући 5 различитих измерених импеданци за труп и 4 екстремитета. Резултати који се добијају овом методом и овим апаратом сматрају се високо валидним (Lim *et al*, 2009).

Мерење је обављено у јутарњим сатима, пре доручка и теста оптерећења. Нашим испитаницима је саопштено да немају интензивну физичку активност 12 часова пре мерења, да не доручкују и не пију велике количине течности пре мерења, као и да уринирају 30 мин пре мерења телесног састава.

Испитивање се обавља појединачно. Пре сваког мерења испитанику се уписују лични подаци у софтвер апарата (име и презиме, висина, пол), и тек

онда испитаник стаје на газишта и хвата ручке. Апарат мери телесну тежину и врши процену телесног састава преко инсталираног софтвера, а добијени подаци се преносе на рачунар и штампају. Овом методом се добија доста података о саставу тела, међутим за наше истраживање је неопходна телесна тежина и висина, проценат мишићног и масног ткива као и индекс телесне масе (Body Mass Index – BMI).

3.2.3. Протокол испитивања функционалних способности

3.2.3.1. Аеробна моћ

У овој студији, је за испитивања функционалних способности и процену максималне потрошње кисеоника ($VO_2\max$) коришћена директна метода, која је спроведена на бицикл-ергометру марке "Kettler AX1", у виду континуираног теста прогресивно растућег оптерећења. Максимална потрошња кисеоника је достигнута када потрошња кисеоника достигне плато, односно када се повећањем оптерећења не може доћи до даљег повећања потрошње кисеоника, или када дође до благог смањења потрошње кисеоника.

Испитанику се прво прилагоди ниво седишта на бициклу према његовој висини, објасни му се сврха и важност теста као и начин тестирања и онда се одреди почетно оптерећење које треба да износи 2 W/kg ТМ и повећава се на свака 2 минута за додатних 25W.

Тестирање је вршено у методичко-истраживачкој лабораторији факултета спорта и физичког васпитања при температури ваздуха од 20-22 степена Целзијуса и влажности ваздуха од 60%. Испитаник окреће одређеним ритмом бицикл-ергометар (60 окретаја/мин), у временском интервалу по 2 минута. Телесна маса служи за израчунавање релативне потрошње кисеоника. (Masuga, 2006).

Потрошња кисеоника је у току тестирања, праћена апаратом за директно мерење потрошње кисеоника *Cosmed Fitmate Pro* (Nieman *et al*, 2007).

Непосредно пред почетак теста се стави маска са флоуметром на лице. Следећи корак је да се око грудног коша постави трансмитер за праћење срчане

фреквенције. Овим апаратом се прате сви параметри за време трајања теста, а на крају се путем посебног софтвера, све измерене вредности могу обрађивати.

Извршено је и класификовање испитаника по аеробној способности на основу њихових вредности VO_{2max} за узраст 10-14 година.

	ДЕВОЈЧИЦЕ	ДЕЧАЦИ
Very weak	< 33.0	< 38.7
Weak	33.0-36.4	38.7-43.3
Regular	36.5-38.7	43.4-47.9
Good	38.8-42.4	48.0-52.2
Excellent	>42.5	>52.3

Табела 2-Класификација респираторног волумена директним мерењем максималне потрошње кисеоника (ml/kg-1/min-1) од 10 до 14 година

3.2.4. Биохемиске анализе

Узимање венске крви је вршено, у лабораторијским условима пре и после теста прогресивног растућег оптерећења. Крв је узета са 50 IU хепарина/мл крви. Еритроцити су од плазме одвојени (10 мин на 5000 rpm, 4°C) центрифугирањем. За узорке крви су се користиле вакумске епрувете са цитратом. Исталожени еритроцити су након тога ресуспендовани и три пута испрани физиолошким раствором уз центрифугирање 10 минута на 5000 rpm, а затим су замрзнути на -20°C до анализе.

Анализа биохемиских параметара прооксиданата, оксидативног стреса TBARS, H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$ и NO^{\cdot} и антиоксиданата, ензима заштите од оксидационих оштећења SOD, CAT, GSH, је урађена на медицинском институту, у Лабораторији за кардиоваскуларну физиологију на Медицинском факултету у Крагујевцу. Мерење вредности ових параметара је урађено на спектрофотометру *Analitik Jena Aperecord S 600*.

Анализу нивоа цитокина, интерлеукина шест (IL-6) и туморске некрозе фактора- α , (TNF- α), је урађена на медицинском институту, у Лабораторији за имунологију Медицинског факултета у Крагујевцу. Мерење ових вредности је

урађено на машини Microplate reader-a (Zenyth, Anthos, UK) подешеног на 450 nm.

3.2.4.1. Одређивање индекса липидне пероксидације (TBARS)

Индекс липидне пероксидације, је један од најчешће праћених параметара оксидативног стреса. У овој студији је одређиван индиректно, преко продукта реакције липидне пероксидације са тиобарбитруном киселином. Тако је и добио назив, скраћеницом TBARS за *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*. За одређивање концентрације TBARS у плазми, смо користили специфичну екстракцију, по следећем протоколу. У Eppendorf епрувете, пипетирали смо 0.4 ml 28 % TCA и 0.8. ml плазме. На тај начин добијене узорке, смо инкубирали у леденом купатилу (-4 °C) 10 минута. После инкубације сви узорци су центрифугирани 4 минута на 15000 rpm, а у добијеном супернатанту је одређивана концентрација TBARS спектрофотометријски (Ohkawa *et al*, 1979). Метода се заснива на одређивању нивоа липидних пероксида на основу реакције једног од њих, малонилдиалдехида (MDA) са тиобарбитурном киселином (TBA).

У епрувете (12x100) је пипетирано 800 µl екстракта плазме и 200 µl 1 % TBA и 0.05 M NaOH. Као слепу пробу, смо користили уместо екстракта плазме, еквивалентну количину дестиловане воде. После пипетирања, смо узорке инкубирали у воденом купатилу 15 минута на 100 °C. Након инкубације, узорци су прилагођени собној температури, па се кренуло са детерминацијом концентрације ослобођених TBARS спектрофотометријски на таласној дужини од $\lambda=530$ nm.

Концентрација ослобођених TBARS добијана је на основу следеће једначине:

$$\text{nmol TBARS/ml плазме} = \Delta A (A_u - A_{sp}) / 1.56 \times 1.25,$$

при чему је A_u апсорбанца узорка, док је A_{sp} апсорбанца слепе пробе, а 1.56 и 1.25 су корекциони фактори за овај есеј.

3.2.4.2. Одређивање концентрације водоник пероксида (H_2O_2)

Одређивање количине водоник-пероксида H_2O_2 заснива се на оксидацији фенол-црвеног уз помоћ водоник-пероксида, реакцијом која је катализована ензимом пероксидазом из коњске потковице (HorseRadishPeroxidase - HRPO). Ова реакција је резултирала формирањем једињења, чији је максимум апсорпције на $I_{max} = 610nm$ (Pick and Keisari, 1980). Линеарна зависност апсорбанце на 610 nm од концентрације H_2O_2 је постојана за 1-60mM обим концентрација (1-60nmol/ml). Ова метода омогућава нам детерминацију настајања и ослобађања H_2O_2 за временски интервал од 5-60 минута.

У епрувете (12x100) пипетирано је 200 ml плазме и 800 ml свеже направљеног раствора фенол црвенога (Phenol Red Solution-PRS) који је састављен од 140mM NaCL, 10mM Калијум фосфатног пуфера (pH=7), 5,5mM D(+)-глукозе и 0,28mM фенол црвеног. Узорцима се након тога додаје 10ml (1:20) HRPO, који је справљен *ex tempore*. Сви узорци су одложени на собној температури 10 минута, а након тога се подеси pH=12, помоћу 1M NaOH. Одређена количина дестиловане воде је коришћена као слепа проба плазме.

Концентрација ослобођеног H_2O_2 у венској крви може да се израчуна помоћу калибрационог дијаграма (стандардне криве), који је одређиван посебно за сваки есеј. За конструкцију стандардне криве, користи се стандардни (Stock) раствор H_2O_2 , уз предходну проверу концентрације (A_{230} за 10mM H_2O_2 износи 0,810). У три епрувете је пипетирано уместо коронарног венског ефлуента, 5,10 и 20ml, 1mM H_2O_2 , 200ml дестиловане и 800ml раствора фенол црвеног и 10ml (1:20) HRPO. Одмах после инкубације од 10 минута на собној температури, подешена је pH =12, помоћу 1M NaOH (10ml). Мерење апсорбанце (A) вршене су на таласној дужини максималне апсорпције $I_{max}=610nm$ у стакленим киветама, запремина 1ml на спектрофотометру LKB Biochrom, модел: Ulltrospec 4050. Од тако добијених апсорбанци, се одузима вредност апсорбанце слепе пробе (B). На овај начин се добија коначна апсорбанца (DA). Концентрација, а затим и количина ослобођеног H_2O_2 у венској крви је израчунавана на основу следеће формуле:

Фактор апсорбанце (F) по једном pmolу водоник пероксида:

$$F = \frac{\Delta A}{\text{nmol H}_2\text{O}_2/\text{cuv}}$$

На основу апсорбанце узорка на $\lambda_{\text{max}}=610\text{nm}$ (Au) и њеног упоређивања са слепом пробом (Asp) врши се израчунавање финалне апсорбанце (DA) ($A=A_u-Asp$). Уз помоћ на овај начин добијене апсорбанце, фактора F и количене венске крви употребљене у есеју (200ml), израчунавамо концентрацију и количину H_2O_2 у коронарном венском ефлуенту по формули:

$$\text{nmol H}_2\text{O}_2/\text{мл плазме} = \Delta A/F$$

3.2.4.3. Одређивање концентрације супероксид анион радикала ($\text{O}_2^{\cdot-}$)

Концентрацију супероксид анион радикала ($\text{O}_2^{\cdot-}$) у плазми одређујемо помоћу реакције $\text{O}_2^{\cdot-}$ са нитро тетразолијум плавим (*Nitro Blue Tetrazolium - NBT*) до нитроформазан плавог (Auclair and Voisin, 1999). Мора се мерити на таласној дужини максималне апсорпције $\lambda_{\text{max}}=550\text{nm}$. Есејна смеша (“assay mixture”) садржи: 50 mM TRIS-HCl пуфера (pH=8.6), 0.1 mM EDTA, 0.1 mg/ml желатина и 0.1 mM NBT. Непосредно пре употребе, раствор се гасира азотом, притиском, у трајању од једног часа.

У епрувете (12x100) пипетирано је 50 μl плазме и 950 μl есејне смеше, и на тај начин отпочиње реакција. Одређена количина дестиловане воде, је и у овом случају, коришћена као замена за плазму, као слепа проба. На почетку реакције се измери екстинкција смеше и она се забележи као екстинкција E_1 . Сваких 60 секунди мора се промешати пластичним штапићем и забележити екстинкција после мешања, па до своје стабилизације, што подразумева две узастопне приближно исте екстинкције. Последња екстинкција се означава као E_2 . Исти поступак се примењује и за слепу пробу.

Концентрација ослобођеног $\text{O}_2^{\cdot-}$ се добија на основу следећих једначина:

$$\Delta E_u = E_{2u} - E_{1u} \text{ (за узорак)}$$

$$\Delta E_{sp} = E_{2sp} - E_{1sp} \text{ (за слепи пробу)}$$

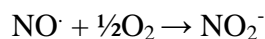
$$\Delta E = \Delta E_u - \Delta E_{sp}$$

$$\text{nmol O}_2^{\cdot-}/\text{мл плазме} = \Delta E / 0.015 \times 1/0.05$$

3.2.4.4. Одређивање концентрације азот монооксида (NO[•])

Концентрација нитрита (NO₂⁻) у плазми је одређивана специфичном екстракцијом по следећем протоколу: у Eppendorf епрувете је пипетирано 0.1 ml 3 M PCA, 0.4 ml 20 mM EDTA и 0.2 ml плазме. Овако добијени узорци су инкубирани у леденом купатилу (- 4 °C) 10 минута. После инкубације, узорци се центрифугурају на 15000 rpm 4 минута, супернатант се одлива, а преципитат се ресуспендује у 2 M K₂CO₃ до pH = 7.4.

У узорцима екстракта плазме, добијеним на овај начин, одређује се концентрација ослобођених нитрита, спектрофотометријски, уз употребу Griess-овог реагенса (Green et al, 1982). Можемо да тврдимо да количина ослобођених нитрита представља количину ослобођеног NO[•] јер се у реакцији са молекуларним кисеоником ствара еквимоларна количина нитрита:



Биохемијски, ова метода је заснована на коришћењу Griess-реагенса. Ови реагенси са нитритима граде диазо-комплекс, који се рефлектује љубичастом бојом. Griess-ов реагенс се припрема *ex tempore*, непосредно пре аналитичког одређивања, тако што се мешају једнаке запремине (v/v) 1% сулфанилне киселине, која је растворена у 5% орто-фосфорној киселини (може да се чува на собној температури) са једне стране и 0.1% воденог раствора: N-(1-нафтил)-етилендиамин дихидрохлорида (NEDA) са друге стране, који се чува у затамљеној бочици на 4 °C, због своје високе фотохемијске реактивности.

У епрувете (12 x 100) се пипетира 0.1ml екстракта плазме, 250µl свеже направљеног Griess-ов реагенса и 125µl амонијачног пуфера (pH=9.0), Амонијачни пуфер је састављен од амонијум хлорида (NH₄Cl) и натријум тетраборат (Na₂B₄O₇). Овај пуфер, је у току припеме неопходно загревати, због изузетно слабе растворљивост натријум тетрабората. Он служи да стабилизује диазо-комплекс. Као слепа проба екстракта плазме користи се дестилована вода. Концентрацију ослобођених нитрита у узорцима одређујемо на основу калибрационе криве. Калибрациона крива је конструисана на основу екстинкције узорака, који у себи садрже познату концентрацију нитрита, након њихове реакције са Griess-овим реагенсом у присуству пуфера. Добијена је пипетирањем различитих количина воденог раствора 1mM NaNO₂ у 1ml

дестиловане воде и то: 3, 6, 12, 24 μ l, чиме се добија одређена концентрација нитрита. Процес детерминисања концентрације ослобођених нитрита, започиње после стабилизације боје на собној температури 5-10 минута, спектрофотометријски на таласној дужини од $\lambda=550\text{nm}$. Прво концентрација, а онда и количина ослобођених нитрита добија се на основу одређивања стандардног фактора (F), који се добија из следеће једначине:

$$F = \frac{\text{Екстинкција стандарда} - \text{екстинкција слепе пробе}}{\text{Концентрација NaNO}_2 \text{ у стандарду}}$$

за сваки појединачни стандард (F1-F4), а онда добијањем њихове аритметичке средине, дељењем разлике екстинкција узорка и слепе пробе са стандардом F:

$$\text{nmol NO}_2/\text{ml екстракта} = \Delta E (E_u - E_{sp})/F.$$

3.2.4.5. Одређивање активности супероксид дисмутазе (SOD)

Одређивање активности SOD вршено је адреналинском методом. Ова метода спада у групу метода "негативног" типа, јер се прати смањење брзине аутооксидације адреналина у алкалној средини, која је зависна од $\text{O}_2^{\cdot-}$. Ову методу су поставили Misra и Fridovich (Misra and Fridovich, 1972). Присутна SOD уклања $\text{O}_2^{\cdot-}$ и при томе инхибира реакцију аутооксидације адреналина. Брзина аутооксидације адреналина прати се спектрофотометријски преко промене апсорбанце на 480 nm. Пораст апсорбанце на 480 nm јавља се од акумулације адренохрома. Брзина аутооксидације адреналина једнака је нагибу линеарног дела пораста апсорпције. Процент инхибиције користи се као мера каталитичке активности ензима. Брзина аутооксидације адреналина у одсуству ензима се користи као референтна (контролна), а брзина аутооксидације у присуству (SOD), односно протеина у цитосолу, представља део референтне вредности.

За одређивање активности CuZn SOD је припремљен лизат. Еритроцити су били лизирани хладном водом и то тако што се помеша 0.5mL еритроцита са 3mL хладне воде, промућка и остави 30 минута на леду. У једном делу лизата

хемоглобин смо уклонили Tsuchihashi методом, а супернатант се даље користити за анализу активности супероксид дисмутазе (CuZn SOD) (Tsuchihashi, 1923).

У 3.2 мл реакционе смеше коју сачињавају: 3 мл карбонатног пуфера, рН 10.2 и 0.1ml раствора адреналина, додавано је 0.01ml већ припремљеног супернатанта. Аутооксидација адреналина, праћена је у току 4 минута на 480nm. Реакција је стабилна у температурном опсегу од 26-30⁰С. Упоредо је рађена и контролна реакција. Процент инхибиције аутооксидације адреналина у присуству SOD из узорка, у односу на контролну реакцију аутооксидације адреналина, коришћен је за израчунавање SOD активности. Количина SOD изражена је у јединицама SOD активности по g Hb (јед/g Hb). Јединица SOD активности је дефинисана као количина протеина која узрокује 50% инхибиције брзине аутооксидације адреналина у линеарном делу пораста апсорпције. Израчунавање је по следећој једначини:

$$SOD-1 = \frac{2(\Delta K - \Delta A) \times R}{V \times Hb \times \Delta K}$$

ΔK - промена апсорпције контролне реакције у минути

ΔA - промена апсорпције реакције са узорком у минути

V - запремина узорка која се сипа у реакциону смешу (ml)

Hb - количина хемоглобина (g/100ml лизата)

R - разблажење

3.2.4.6. Одређивање активности каталазе (CAT)

Активност каталазе у сонификату одређивали смо по методи Beutler-а (Beutler, 1982). Ова метода се састоји у спектрофотометријском праћењу брзине којом се разграђује водоник-пероксид у присуству каталазе на 230nm. На тој таласној дужини водоник пероксид апсорбује светлост. У односу на апсорпцију разблаженог раствора пуфера (1:10), као нула, очитавана је апсорпција раствора састављеног од 0.9ml разблаженог пуфера и 0.1ml разблаженог 30% раствора H₂O₂ (1:100). На овај начин се одређивала концентрација водоник-пероксида. За

само израчунавање концентрације водоник пероксида користили смо екстинкциони коефицијент, који за H₂O₂ на 230nm износи 0.071, по формули:

$$C = \frac{\Delta A}{0.071}$$

Тако добијену концентрацију смо потом разблаживали до 10mM

У кварцну кивету у којој се налази 50 μ l пуфера додавали смо од 5 - 50 μ l узорка. Коју ћемо количину узорка додавати зависи од активности каталазе. Реакција започиње додавањем 1ml 10mM раствора водоник-пероксида. Пад апсорбанце праћен је на 230nm у току 3 минута. Активност је изражавана у јед/mg протеина, а јединица је дефинисана као количина редукованог H₂O₂, изражена у μ M, у минути. Израчунавање каталазе је вршено према следећој једначини:

$$CAT = \frac{\Delta A \cdot R}{0,071 \cdot Low \cdot V}$$

ΔA – промена апсорбанце у минути

R – разблажење

V – запремина узорка (ml)

Low – количина протеина (mg/ ml сонификата).

3.2.4.7. Одређивање активности глутатиона (GSH)

Одређивање нивоа редукованог глутатиона (GSH) у плазми спроводи се спектрофотометријски, по методи *Beutler-a* (Beutler, 1982). Овакво одређивање нивоа редукованог глутатиона, је засновано на оксидацији глутатиона GSH помоћу 5,5–дитио–бис–6,2–нитробензеве киселине (DTNB). Редуковани глутатион се екстрахује, на тај начин, што се у 0,1ml 0,1% EDTA дода 0,4ml плазме и 0,75ml раствора за преципитацију (1,67g метафосфорне киселине, 0,2g EDTA, 30g NaCL, допунити до 100ml дестилованом водом; раствор је стабилан 3 недеље на +4°C). Након мешања које је урађено на Vortex-мешалици, смеша се екстрахује 15 минута на леду, затим се центрифугира 10 минута на 4000rpm.

Мерење се након тога врши (кварцне кивете запремине 1ml) спектрофотометријски на таласној дужини од $\lambda=412\text{nm}$.

3.3. МЕРЕЊЕ СЕРУМСКЕ КОНЦЕНТРАЦИЈЕ ЦИТОКИНА

Концентрација цитокина у серуму одређивана је комерцијалним ELISA китовима специфичним за хумане цитокине (Human IFN- γ DuoSet ELISA Development kit, R&D Systems, USA; Human IL-17 DuoSet ELISA Development kit, R&D Systems, USA; Human IL-4 DuoSet ELISA Development kit, R&D Systems, USA; Human TNF- α /TNFSF1A DuoSet ELISA Development kit, R&D Systems, USA) (Radosavljevic et al, 2011).

Стандарди су пре употребе растворени у PBS-у (pH 7.2), тако да почетне концентрације буду 2000 pg/ml за TNF- α , IFN- γ и IL-4, и 1000 pg/ml за IL-17. Направљени штокови су серијски 7 пута двоструко разблажени у растварачу (енгл. Reagent Diluent-у (1% BSA у PBS-у) да би се добила стандардна крива са 7 тачака.

100 μl радне концентрације везујућег антитела (енгл. Capture Antibody) је сипано у бунарчиће полистиренских микротитар плоча (енгл. microtiter plate- MTP) са 96 бунарчића са равним дном (SARSTED). Плоче су прелепљене адхезивном фолијом (енгл. ELISA Plate Sealers) и остављене преко ноћи на собној температури, након чега су бунарчићи испрани пуфером за испирање (енгл. Wash Buffer) у аутоматској машини за испирање MTP-а. Затим је у све бунарчиће додат блокирајући пуфер (Block Buffer, 1% BSA у PBS-у) финалног волумена 300 μl и MTP су остављене минимум 1 сат на собној температури. MTP су тада испране пуфером за испирање. Сви узорци су претходно разблажени у односу 1:4 у дејонизованој води. Разблажени узорци и припремњени стандарди сипани су у MTP, које су прекривене адхезивном фолијом и остављене 2 сата на собној температури. Након инкубације и испирања MTP, у све бунарчиће је додато 100 μl радне концентрације детекционог антитела (енгл. Detection Antibody), а плоче су поново обложене адхезивном фолијом и остављене додатних 2 сата на собној температури. MTP су поново испране, а у бунарчиће је сипано 100 μl радне концентрације Streptavidin-HRP (Streptavidin horseradish peroxidase). Инкубација на собној температури и без директног излагања

светлости прекинута је након 20 минута, испирањем МТР-а. У бунарчиће је сипано 100 μl Substrate Solution (Color reagent A + Color reagent B, 1:1). Двадесет минута касније, додато је 50 μl Stop Solution (2N H_2SO_4) и оптичка гусина је непосредно мерена и сваком бунарчету, помоћу Microplate reader-а (Zenyth, Anthos, UK) подешеног на 450 nm (*engl. enzyme linked immunosorbent assay*), (Crowther, 1995; Jovanović et al, 2010; Jovanović et al, 2011).

Све измерене вредности су умањене за вредности апсорбанци слепе пробе (дејонизована вода). На основу измерених вредности стандарда направљена је стандардна крива, а помоћу ње су израчунате вредности за сваки појединачан узорак. Сви узорци су мерени у трипликату.

3.4. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА

1. За опис параметара од значаја, а у зависности од њихове природе, коришћене су методе дескриптивне статистике: мере централне тенденције (средња вредност и медијана), мере варијабилитета (стандардна девијација, минимум и максимум) и графичко и табеларно приказивање
2. За испитивање нормалности расподеле параметара коришћени су: -тестови: Kolmogorov-Smirnov test и Shapiro-Wilk тест.
3. За тестирање статистичке значајности разлика између параметара у истој групи испитаника, а у зависности од њихове нормалности, коришћени су параметарски Peard sample t-test, Wilcoxon rank sum test, и непараметарски Mann Whitney Exact test и Independent t test за испитивање разлика параметара између различитих група.
4. За тестирање корелација праћених параметара пре и после програма је коришћен тест линеарне корелације, док су у табеле уписиване вредности корелације. За јачину везе линеарне корелације, коришћени су у зависности од нормалности испитиваних варијабли, *Pearson-ov* или *Spearman-ov* коефицијент корелације.
5. Приликом тестирања разлика између параметара, коришћена је вредност границе статистичке значајности $p < 0,005^*$ и $p < 0,001^{**}$.

Статистичка обрада података је рађена у статистичком пакету:

- SPSS 18.0 for Windows

За графичке приказе је коришћен Microsoft Office Excel 2003.

IV РЕЗУЛТАТИ

4.1. МОРФО – ФУНКЦИОНАЛНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ИСПИТАНИКА

4.1.1. Антропометријске и морфолошке карактеристике спортиста и неспортиста

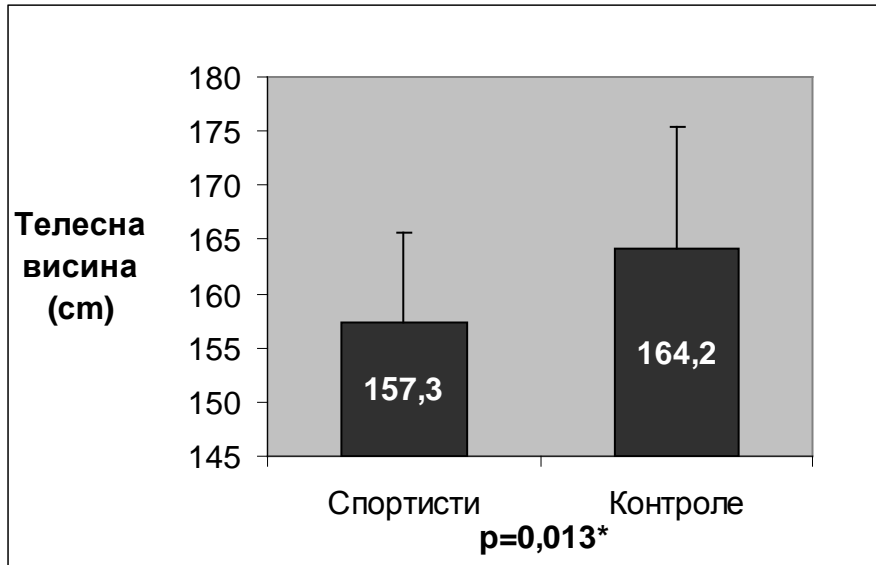
Табела 3. Антропометријске и морфолошке карактеристике спортиста и неспортиста

Табела 3.	X±СД	Мин - Мах	Мед	Тест
ТВ-(cm)				Т- тест
Спортисти (n=28)	157,3±8,3	143,7 - 173,3	157,5	P=0,013* t= -2,567
Контроле (n=28)	164,2±11,2	139,5 - 183,5	163,0	
ТМ(kg)				Т- тест
Спортисти (n=28)	45,2±7,6	33,0 - 60,2	43,5	P=0,025* t= -2,337
Контроле (n=28)	52,5±13,8	29,3 - 83,1	47,1	
БМИ				Mann-whitney
Спортисти (n=28)	18,1±1,7	15 - 21,5	18,1	P = 0,682 Z = -0,410
Контроле (n=28)	19,2±3,6	15,2 - 28,4	18,2	
% МАСТИ				Mann-whitney
Спортисти (n=28)	12,9±4,9	6,4 - 26,1	12,1	P=0,002** Z = -3,056
Контроле (n=28)	18,5±7,4	10,4 - 38,7	15,2	
% МИШИЋИ				Т- тест
Спортисти (n=28)	47,3±2,7	40,5 - 51,6	47,0	P=0,001** t= 3,427
Контроле (n=28)	43,6±4,6	37,2 - 52,8	43,4	

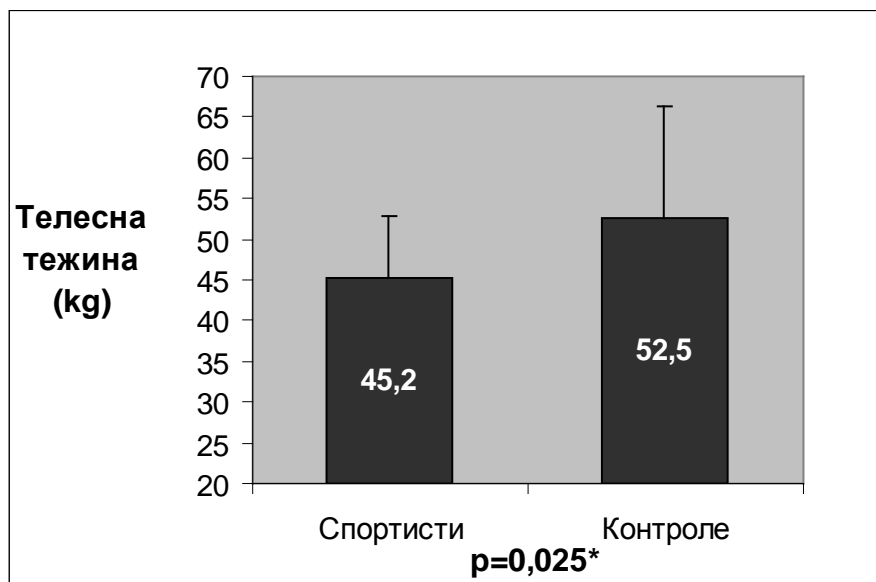
**P<0,01; X – средња вредност; СД – стандардна девијација; Мин – нинимум; Мах – максимум; Мед – медијан; ТВ – телесна висина; ТМ – телесна маса; БМИ – индекс телесне масе (Body mass index); % МАСТИ – проценат масти целог тела; % МИШИЋИ – проценат мишића целог тела

Од пет пратећих параметара морфолошког профила испитаника, статистички значајна разлика између група спортиста и контроле је пронађена је у четири параметра: телесној висини, телесној тежини, проценту масти и проценту мишића (Графикон 1,2,3 и 4).

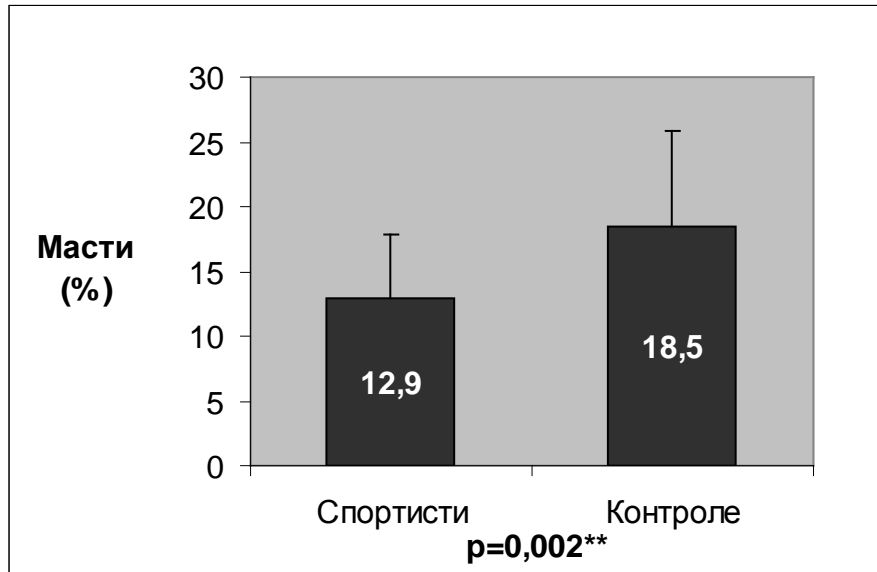
Графикон 1. Вредности телесне висине (средња вредност \pm стандардна девијација СД) у различитим групама испитаника



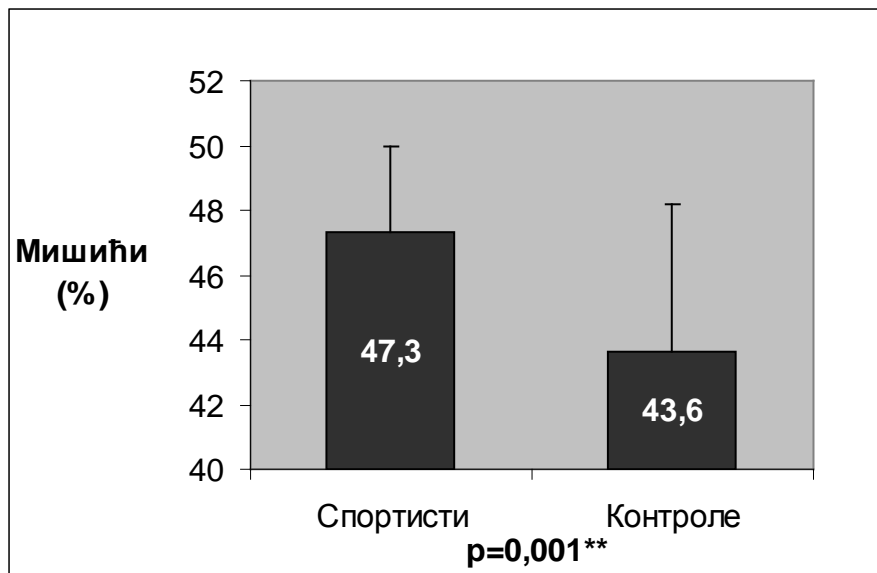
Графикон 2. Вредности телесне тежине (средња вредност \pm стандардна девијација СД) у различитим групама испитаника



Графикон 3. Вредности % масти (средња вредност ± стандардна девијација СД) у различитим групама испитаника



Графикон 4. Вредности % мишића (средња вредност ± стандардна девијација СД) у различитим групама испитаника



4.1.2. Антропометријске и морфолошке карактеристике спортиста пре и након шестомесечног програмираног физичког оптерећења

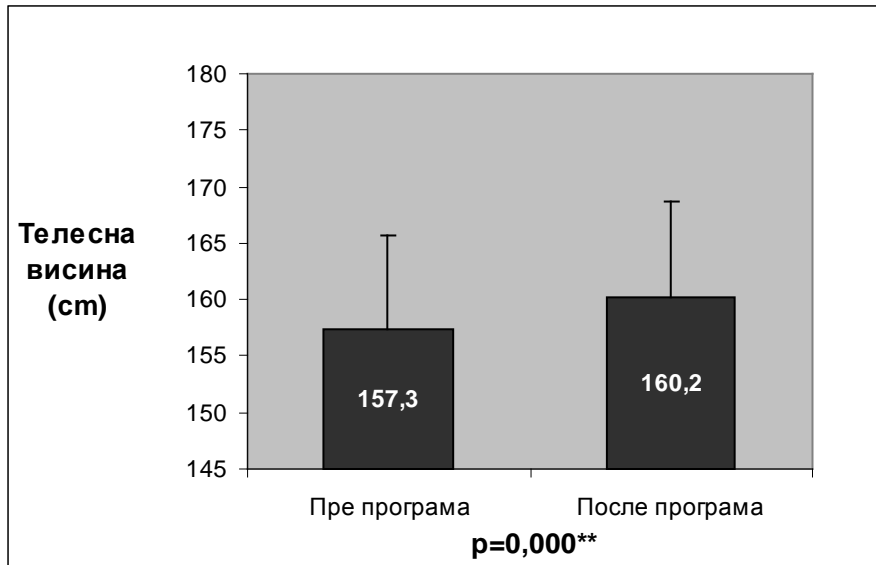
Табела 4. Морфолошке карактеристике спортиста пре и након експеримента

Табела 4.	X±СД	Мин – Мах	Мед	Тест
ТВ-(cm)				Упарени Т-тест
Спортисти (n=28)	157,3±8,3	143,7 - 173,3	157,5	P= 0,000** t= -13,011
Спортисти (n=28)	160,2±8,4	147 – 177	159,4	
ТМ(kg)				Упарени Т-тест
Спортисти (n=28)	45,2±7,6	33,0 - 60,2	43,5	P=0,000** t= -4,072
Спортисти (n=28)	47,1±6,8	35,9 - 61,0	45,2	
БМИ				Упарени Т-тест
Спортисти (n=28)	18,1±1,7	15,0 - 21,5	18,1	P= 0,985 t= 0,019
Спортисти (n=28)	18,2±1,3	15,6 – 20,6	18,3	
% МАСТИ				Упарени Т-тест
Спортисти (n=28)	12,9±4,9	6,4 - 26,1	12,1	P=0,000** t= 5,217
Спортисти (n=28)	10,6±3,5	4,8 - 20,5	10,0	
% МИШИЋИ				Упарени Т-тест
Спортисти (n=28)	47,3±2,7	40,5 - 51,6	47,0	P= 0,000** t= -6,037
Спортисти (n=28)	48,9±2,0	43,85 – 52,09	49,1	

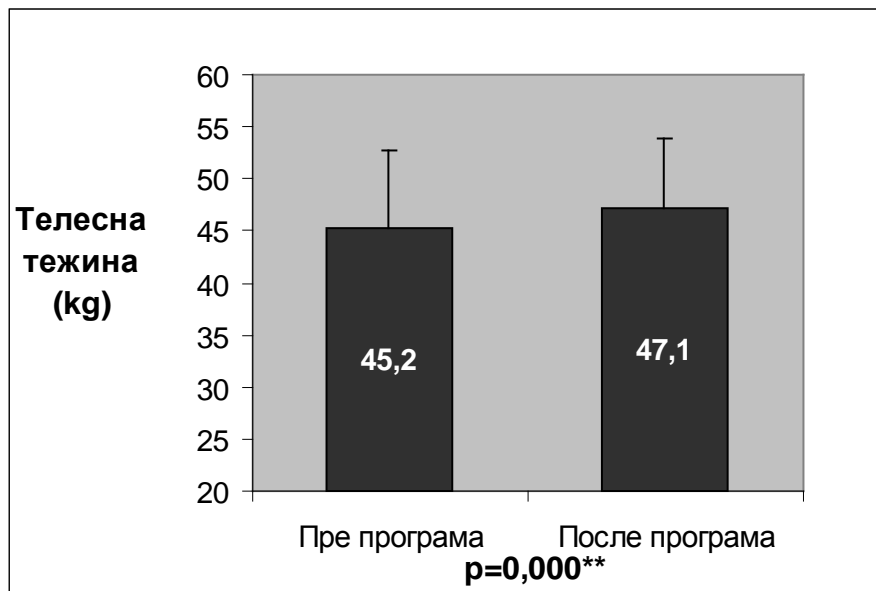
**P<0,01; X – средња вредност; СД – стандардна девијација; Мин – нинимум; Мах – максимум; Мед – медијан; ТВ – телесна висина; ТМ – телесна маса; БМИ – индекс телесне масе (Body mass index); % МАСТИ – проценат масти целог тела; % МИШИЋИ – проценат мишића целог тела

Од пет параметара морфолошког профила испитаника, статистички значајна разлика у групи спортиста пре и после спроведеног програма, је пронађена је у четири параметра: телесној висини, телесној тежини, проценту масти и проценту мишића (Графикон 5,6,7, и 8).

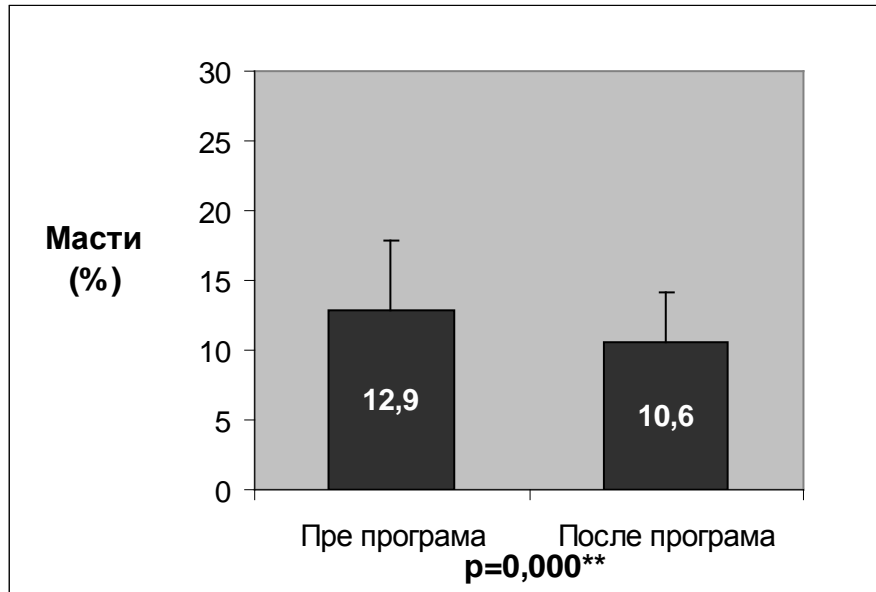
Графикон 5. Вредности телесне висине (средња вредност ± стандардна девијација СД) у групи спортиста пре и после спроведеног програма



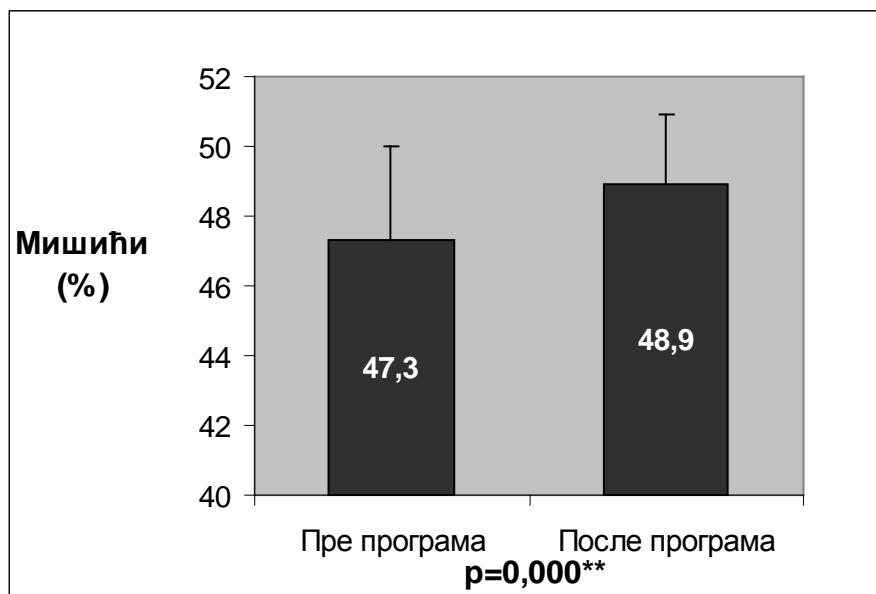
Графикон 6. Вредности телесне тежине (средња вредност ± стандардна девијација СД) у групи спортиста пре и после спроведеног програма



Графикон 7. Вредности % масти (средња вредност ± стандардна девијација СД) у групи спортиста пре и после спроведеног програма



Графикон 8. Вредности % мишића (средња вредност ± стандардна девијација СД) у групи спортиста пре и после спроведеног програма



4.1.3. Функционалне карактеристике испитаника спортиста пре и након шестомесечне програмиране физичке активности

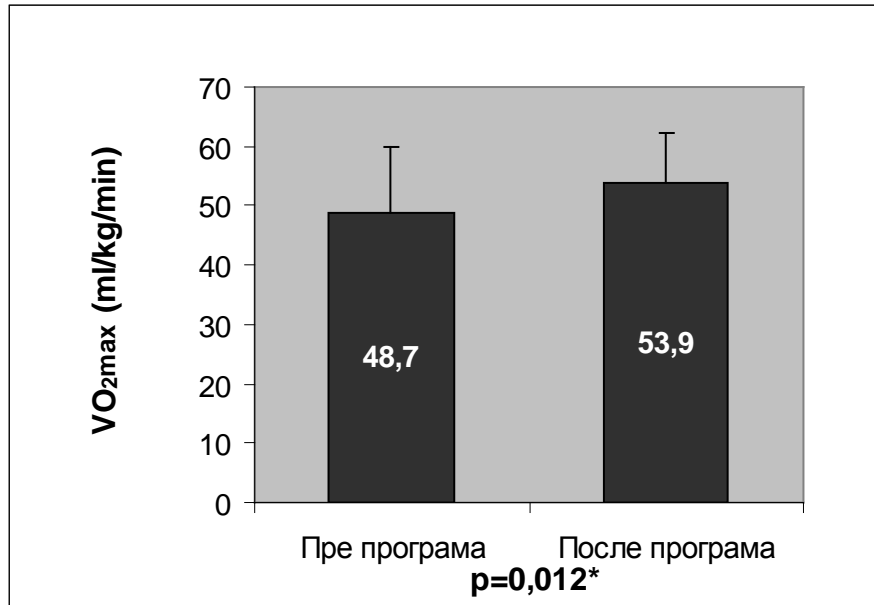
Табела 5. Функционалне карактеристике спортиста пре и након експеримента

Табела 5.	X±СД	Мин – Мах	Мед	Тест
VO₂max (ml/kg/min)				Wilcoxon-ov
Спортисти (n=28)	48,7±11,1	23,2 - 84,3	49,9	P=0,012* Z= -2,527
Спортисти (n=28)	53,9±8,4	38,8 – 76,9	54,4	
VO₂max (ml/kg)				Упарени Т-тест
Спортисти (n=28)	2197,1±443,8	1084 – 2841	2211,5	P=0,000** t= -4,118
Спортисти (n=28)	2523,1±421,7	1724 – 3609	2568,0	

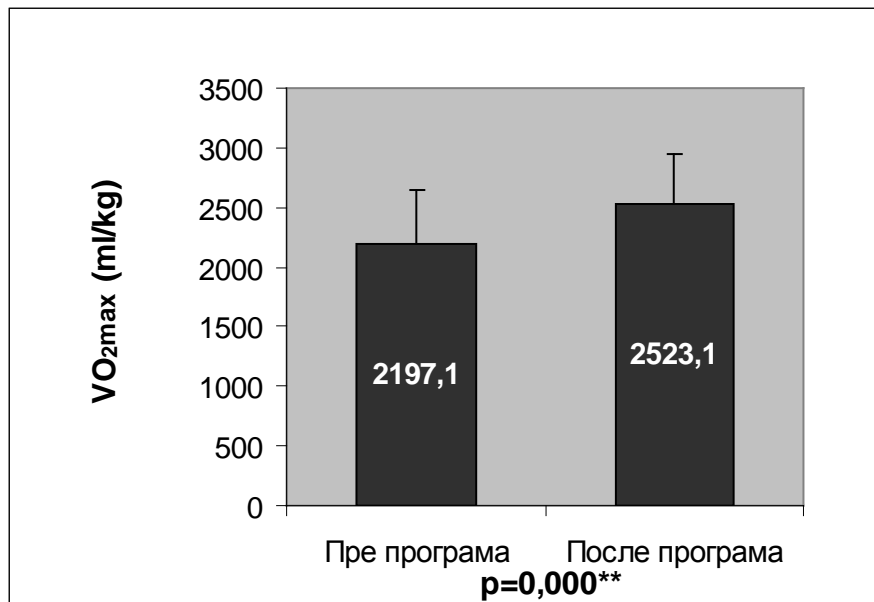
* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; X – средња вредност; СД – стандардна девијација; Мин – минимум; Мах – максимум; Мед – медијан; VO₂max (ml/kg/min) – релативна потрошња кисеоника; VO₂max (ml/kg) – апсолутна потрошња кисеоника;

Вредности апсолутне и релативне потрошње кисеоника као параметри за процену аеробне моћи се статистички разликују у групи спортиста пре и након спроведеног програма шестомесечне програмиране физичке активности. Аеробна моћ испитаника - спортиста је статистички значајно била увећана након спроведеног програма (Графикон 9 и 10).

Графикон 9. Вредности релативне потрошње кисеоника (средња вредност ± стандардна девијација СД) у групи спортиста пре и после спроведеног програма



Графикон 10. Вредности апсолутне потрошње кисеоника (средња вредност ± стандардна девијација СД) у групи спортиста пре и после спроведеног програма



4.1.4. Корелације морфолошких, функционалних параметара код спортиста пре и након спроведеног програма обуке у трајању од шест месеци

Табела 6. Корелација морфофункционалних параметара у базалним условима пре програма (вредности унете у табелу су коефицијенти корелације)

Табела 6.	ТМ (kg)	ТВ (cm)	БМИ (%)	% МАСТИ	% МИШИЋА	VO ₂ max (ml/kg/min)	VO ₂ max (ml/kg/)
ТМ (kg)	/	,859**	,815**	,516**	-,296	-,408*	,311
ТВ (cm)	,859**	/	,394*	,147	,152	-,261	,395*
БМИ (%)	,815**	,394*	/	,656**	-,484**	-,469*	,142
%МАСТИ	,516**	,147	,656**	/	-,964**	-,596**	-,292
%МИШИЋА	-,296	,152	-,484**	-,964**	/	,489*	,382
VO ₂ max (ml/kg/min)	-,408*	-,261	-,469*	-,596**	,489*	/	,593**
VO ₂ max (ml/kg/)	,311	,395*	,142	-,292	,382	,593**	/

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; ТМ – телесна маса; ТВ – телесна висина; БМИ – индекс телесне масе (Body mass index); %Масти – проценат масноће целог тела; %Мишића – проценат мишићне масе целог тела; VO₂max (ml/kg/min) – релативна потрошња кисеоника у милилитрима по килограму у минути; VO₂max (ml/kg) – апсолутна потрошња кисеоника;

Резултати линеарне корелационе анализе показали су да у групи наших испитаника спортиста, пре и након спроведеног програма корелирају следећи параметри:

- Телесна маса позитивно корелира са телесном висином, индексом телесне масе и % масти, док негативно корелира са релативном потрошњом кисеоника
- Телесна висина корелира позитивно са телесном масом, индексом телесне масе и апсолутном потрошњом кисеоника
- Индекс телесне масе позитивно корелира са телесном масом, телесном висином и % масти, док негативну корелацију има са % мишића и релативном потрошњом кисеоника
- Процент масти корелира позитивном корелацијом са телесном масом, индексом телесне масе, а негативно корелира са % мишића и релативном потрошњом кисеоника

- Процент мишића позитивно корелира са релативном потрошњом кисеоника, а негативно са % масти и индексом телесне масе
- Релативна потрошња кисеоника има позитивну корелацију са % мишића и апсолутном потрошњом кисеоника док негативно корелира са телесном масом, индексом телесне масе и % масти
- Апсолутна потрошња кисеоника остварује позитивну корелацију са телесном висином и релативном потрошњом кисеоника

Табела 7. Корелација морфофункционалних параметара у базалним условима након спроведеног програма обуке (вредности унете у табелу су коефицијенти корелације)

Табела 7.	ТМ (kg)	ТВ (cm)	БМИ (%)	% МАСТИ	% МИШИЋА	VO ₂ max (ml/kg/min)	VO ₂ max (ml/kg/)
ТМ (kg)	/	,855**	,707**	,251	,006	-,366	,557**
ТВ (cm)	,855**	/	,242	-,010	,218	-,202	,590**
БМИ (%)	,707**	,242	/	,473*	-,267	-,459*	,202
%МАСТИ	,251	-,010	,473*	/	-,949**	-,556**	-,313
%МИШИЋА	,006	,218	-,267	-,949**	/	,454*	,454*
VO ₂ max (ml/kg/min)	-,366	-,202	-,459*	-,556**	,454*	/	,558**
VO ₂ max (ml/kg/)	,557**	,590**	,202	-,313	,454*	,558**	/

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; ТМ – телесна маса; ТВ – телесна висина; БМИ – индекс телесне масе (Body mass index); %Масти – проценат масноће целог тела; %Мишића – проценат мишићне масе целог тела; VO₂max (ml/kg/min) – релативна потрошња кисеоника у милилитрима по килограму у минути; VO₂max (ml/kg) – апсолутна потрошња кисеоника;

Резултати линеарне корелационе анализе показали су да у групи наших испитаника спортиста, пре и након спроведеног програма корелирају следећи параметри:

- Телесна маса позитивно корелира са телесном висином, индексом телесне масе и апсолутном потрошњом кисеоника.
- Телесна висина корелира позитивно са телесном масом и апсолутном потрошњом кисеоника.
- Индекс телесне масе позитивно корелира са телесном масом и % масти, док негативно корелацију има са релативном потрошњом кисеоника.

- Процент масти корелира позитивном корелацијом са индексом телесне масе, а негативно корелира са % мишића и релативном потрошњом кисеоника.
- Процент мишића позитивно корелира са апсолутном и релативном потрошњом кисеоника, а негативно са % масти.
- Релативна потрошња кисеоника има позитивну корелацију са % мишића и апсолутном потрошњом кисеоника, док негативно корелира са индексом телесне масе и % масти.
- Апсолутна потрошња кисеоника остварује позитивну корелацију са телесном масом, телесном висином, % мишића и релативном потрошњом кисеоника.

4.2. АНАЛИЗА ПРО/АНТИОКСИДАТИВНИХ КОМПОНЕНТИ РЕДОКС РАВНОТЕЖЕ У БАЗАЛНИМ УСЛОВИМА И НАКОН ШЕСТОМЕСЕЧНОПРОГРАМИРАНОГ ФИЗИЧКОГ ОПТЕРЕЂЕЊА

4.2.1. Промене параметара редокс равнотеже у крви испитаника, спортиста и неспортиста у базалним условима пре спроведеног програма

Табела 8. Прооксиданти у крви испитаника различитих група

Табела 8.	X±СД	Мин - Мах	Мед	Тест
O₂⁻ (nmol/ml)				Mann-Whitney
Спортисти (n=28)	4,0±2,3	0,3 – 9,8	3,6	P=0,069 Z= -1,818
Контроле (n=28)	8,1±8,9	0,6 – 32,9	4,9	
NO (nmol/ml)				Mann-Whitney
Спортисти (n=28)	15,9±11,2	0,5 – 38,0	17,6	P=0,986 Z= 0,018
Контроле (n=28)	15,4±10,0	0,2 – 29,8	16,4	
H₂O₂ (nmol/ml)				Mann-Whitney
Спортисти (n=28)	3,0±2,1	0,9 – 11,0	2,3	P=0,000** Z= -4,045
Контроле (n=28)	5,2±2,1	0,6 – 12,0	4,8	
TBARS (µmol/ml)				Mann-Whitney
Спортисти (n=28)	3,0±1,9	0,1 – 6,7	3,1	P=0,020* Z= -2,334
Контроле (n=28)	7,1±6,5	0,3 – 25,5	5,4	

*P<0,05; **P<0,01; X – средња вредност; СД – стандардна девијација; Мин – минимум; Мах – максимум; Мед – медијан; O₂⁻ – супероксид анјон радикал; NO – азот моноксид; H₂O₂ – водоник пероксид; TBARS – индекс липидне пероксидације;

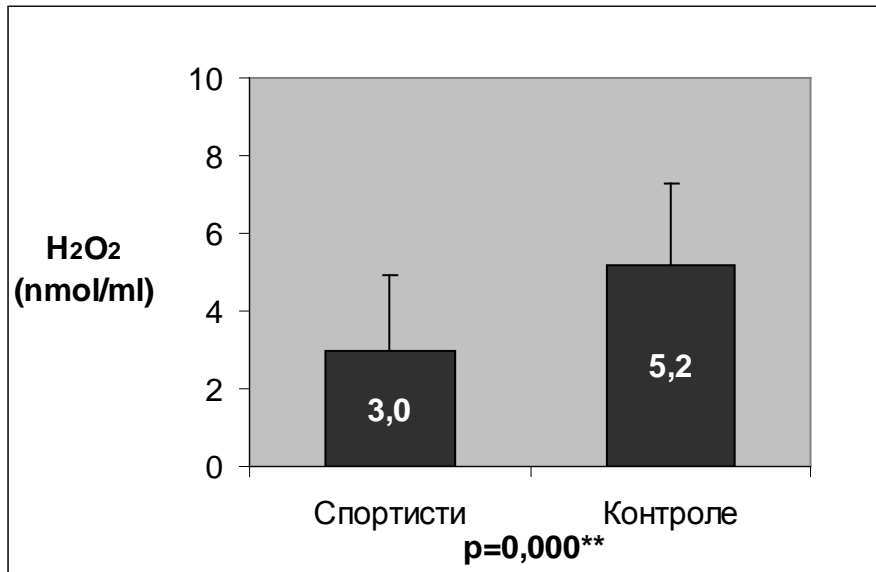
Табела 9. Антиоксиданти у крви испитаника различитих група

Табела 9.	X±СД	Мин – Мах	Мед	Тест
CAT (J/g Hb x 10³)				Независни Т-тест
Спортисти (n=28)	38,4±16,5	8,5 - 77,2	34,3	P=0,029* t=-2,245
Контроле (n=28)	48,8±17,1	19,2 - 84,0	46,0	
SOD (J/g Hb x 10³)				Mann-Whitney
Спортисти (n=28)	845,6±1224,0	8,1 - 4656,0	451,7	P=0,037* Z=-2,085
Контроле (n=28)	1763,7±1970,7	73,2 - 8815,6	1237,2	
GSH (nmol/ml еритроцита)				Mann-Whitney
Спортисти (n=28)	37928,6±30529,0	3296,8 - 97807,9	28023,6	P=0,002** Z=-3,102
Контроле (n=28)	19775,5±39413,9	1329,0 - 166125,0	7974,0	

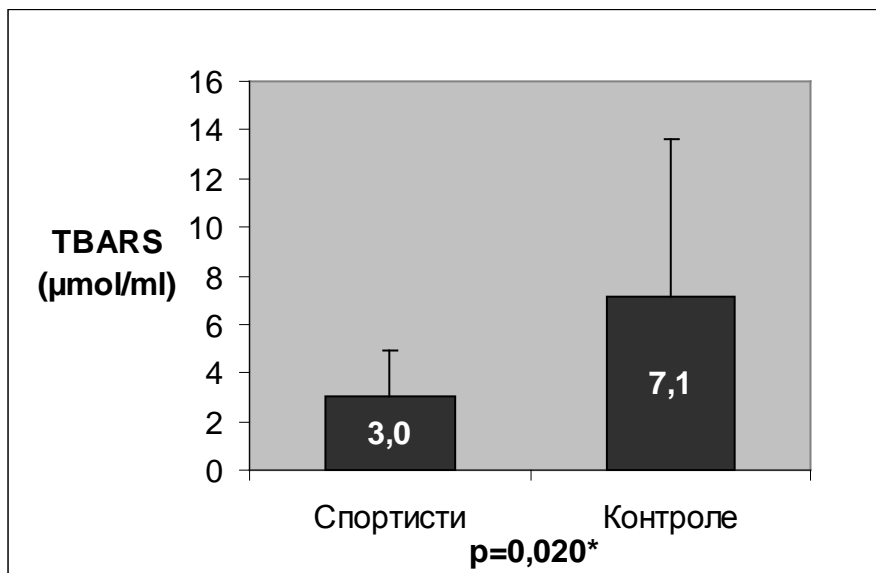
*P<0,05; **P<0,01; X – средња вредност; СД – стандардна девијација; Мин – минимум; Мах – максимум; Мед – медијан; CAT – каталаза ; SOD – супероксид дисмутаза; GSH – глутатион;

У миру пре програма, спортисти су имали статистички значајно виши ниво активности глутатиона, док се статистички нижи ниво у односу на контролу приказао код водоник пероксида и индекса липидне пероксидације од прооксиданата. Нижи ниво активности антиоксиданата, статистички значајан је каталазе и супероксид дисмутазе, а виши ниво активности је код глутатиона (Графикони 11,12,13,14 и 15).

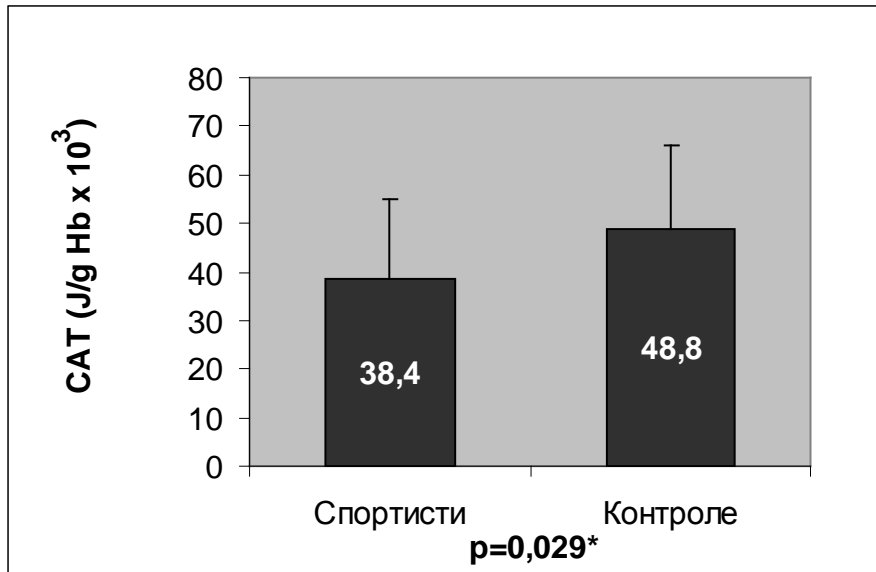
Графикон 11. Вредности водоник пероксида (H_2O_2) (средња вредност \pm стандардна девијација СД) у различитој групи испитаника пре спроведеног програма



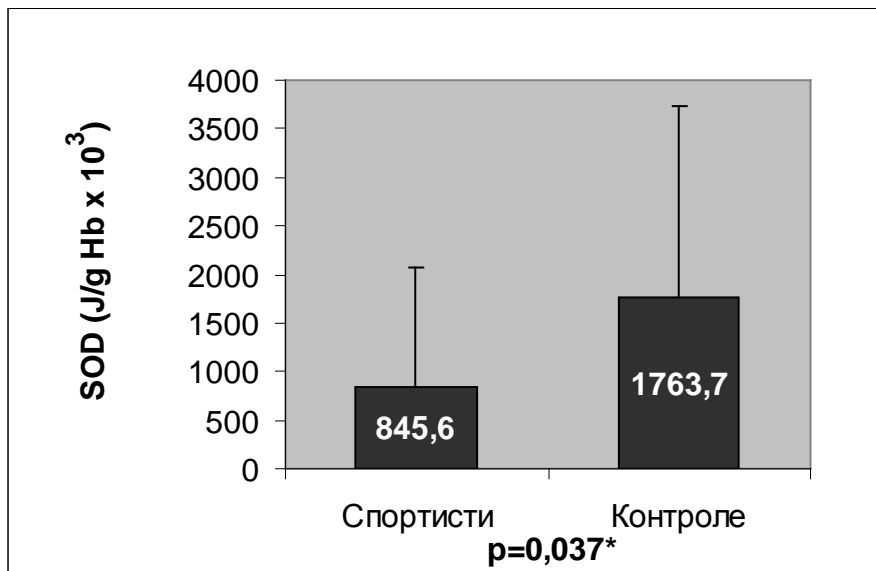
Графикон 12. Вредност индекса липидне пероксидације (TBARS) (средња вредност \pm стандардна девијација СД) у различитој групи испитаника пре спроведеног програма



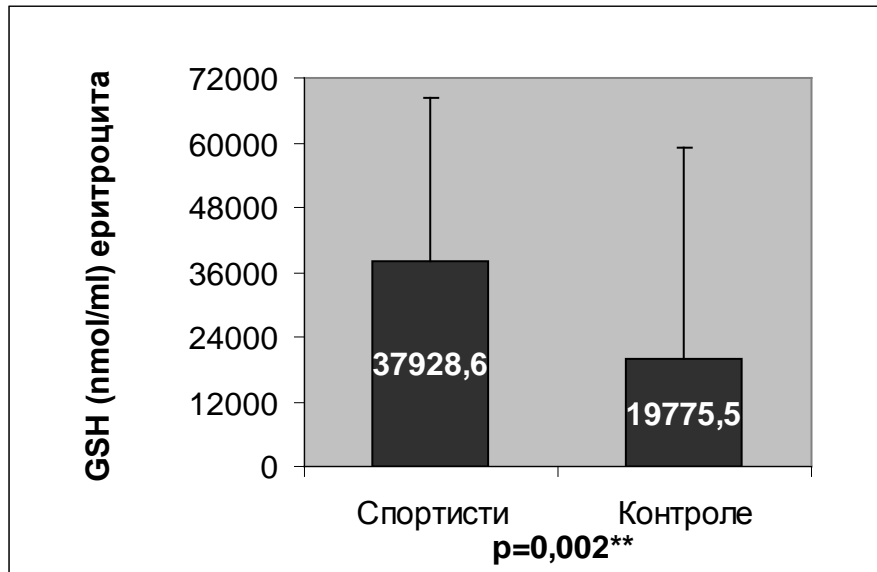
Графикон 13. Ниво активности каталазе (CAT) (средња вредност \pm стандардна девијација СД) у различитој групи испитаника пре спроведеног програма



Графикон 14. Ниво активности супероксид дисмутазе (SOD) (средња вредност \pm стандардна девијација СД) у различитој групи испитаника пре спроведеног програма



Графикон 15. Ниво активности глутатиона (GSH) (средња вредност ± стандардна девијација СД) у различитој групи испитаника пре спроведеног програма



Табела 10. Корелација вредности морфофункционалних параметара и параметара редокс равнотеже у базалним условима код спортиста, пре програма (вредности унете у табелу су коефицијенти корелације)

Табела 10.	TBARS	NO	H ₂ O ₂	O ₂ ⁻	CAT	SOD	GSH
VO ₂ max (ml/kg/min)	-,187	,058	,018	,175	-,022	,155	-,149
%МАСТИ	,053	-,067	-,020	-,385*	,314	-,167	,348
%МИШИЋА	-,063	-,017	,044	,331	-,358	,007	-,364

* $P<0,05$; O₂⁻ – супероксид анјон радикал; NO – азот моноксид; H₂O₂ – водоник пероксид; TBARS – индекс липидне пероксидације; CAT – каталаза ; SOD – супероксид дисмутаза; GSH – глутатион; % масти – проценат масти; % мишића – проценат мишића; VO₂max (ml/kg/min) – релативна потрошња кисеоника у милилитрима по килограму у минути;

Анализе вредности морфофункционалних параметара и параметара редокс равнотеже у базалним условима у групи наших испитаника, показују линеарном корелациом повезаност на следећи начин

- % масти корелирају негативно са O₂⁻
- Супероксид анјон радикал негативно корелира са процентом масти у организму исте групе испитаника

4.2.2. Промене параметара редокс равнотеже у крви испитаника, спортиста и неспортиста у базалним условима након спроведеног програма

Табела 11. Прооксиданти у крви различитих група испитаника

Табела 11.	X±СД	Мин - Мах	Мед	Тест
O₂⁻ (nmol/ml)				Mann-Whitney
Спортисти (n=28)	3,9±2,5	1,0 – 10,87	3,8	P=0,050* Z= -1,962
Контроле (n=28)	8,1±8,9	0,6 – 32,9	4,9	
NO (nmol/ml)				Независни T-test
Спортисти (n=28)	25,7±10,2	4,13 – 38,8	31,1	P=0,001** t= 3,634
Контроле (n=28)	15,4±10,0	0,2 – 29,8	16,4	
H₂O₂ (nmol/ml)				Mann-Whitney
Спортисти (n=28)	3,4±1,0	1,5 – 5,1	3,4	P=0,000** Z= -5,578
Контроле (n=28)	5,2±2,1	0,6 – 12,0	4,8	
TBARS (μmol/ml)				Независни T-test
Спортисти (n=28)	4,6±2,5	1,2 – 8,0	5,1	P=0,080 t= -1,837
Контроле (n=28)	7,1±6,5	0,3 – 25,5	5,4	

*P<0,05; **P<0,01; X – средња вредност; СД – стандардна девијација; Мин – минимум; Мах – максимум; Мед – медијан; O₂⁻ – супероксид анјон радикал; NO – азот моноксид; H₂O₂ – водоник пероксид; TBARS – индекс липидне пероксидације;

Табела 12. Антиоксиданти у крви различитих група испитаника

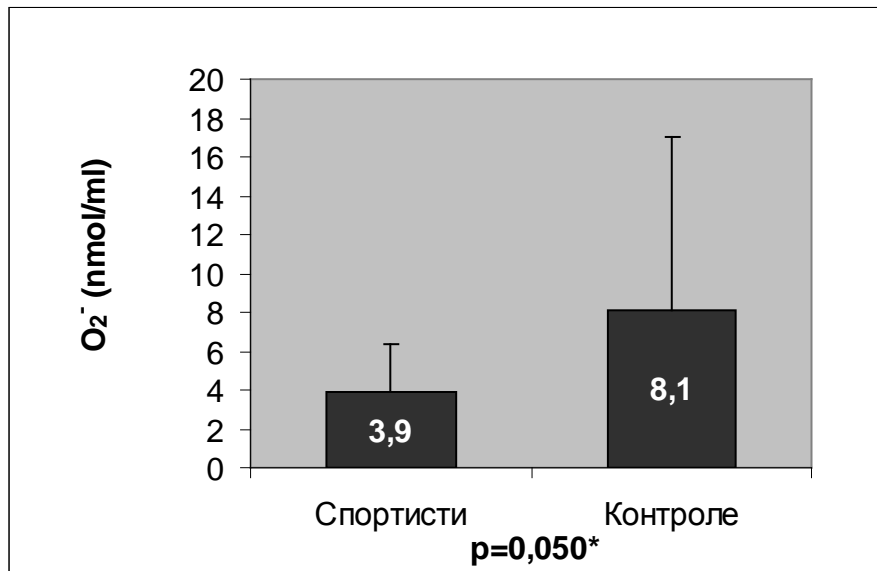
Табела 12.	X±СД	Мин – Мах	Мед	Тест
CAT (J/g Hb x 10³)				Mann-Whitney
Спортисти (n=28)	129,0±84,5	40,5 – 406,0	97,7	P=0,000** Z=-4,965
Контроле (n=28)	48,8±17,1	19,2 - 84,0	46,0	
SOD (J/g Hb x 10³)				Mann-Whitney
Спортисти (n=28)	1703,1±2609,3	40,7 – 11852,0	728,5	P=0,578 Z=-0,556
Контроле (n=28)	1763,7±1970,7	73,2 - 8815,6	1237,2	
GSH (nmol/ml еритроцита)				Mann-Whitney
Спортисти (n=28)	432,4±263,0	85,2 – 1064,7	404,6	P=0,000** Z=-6,133
Контроле (n=28)	19775,5±39413,9	1329,0 -166125,0	7974,0	

*P<0,05; **P<0,01; X – средња вредност; СД – стандардна девијација; Мин – минимум; Мах – максимум; Мед – медијан; CAT – каталаза ; SOD – супероксид дисмутаза; GSH – глутатион;

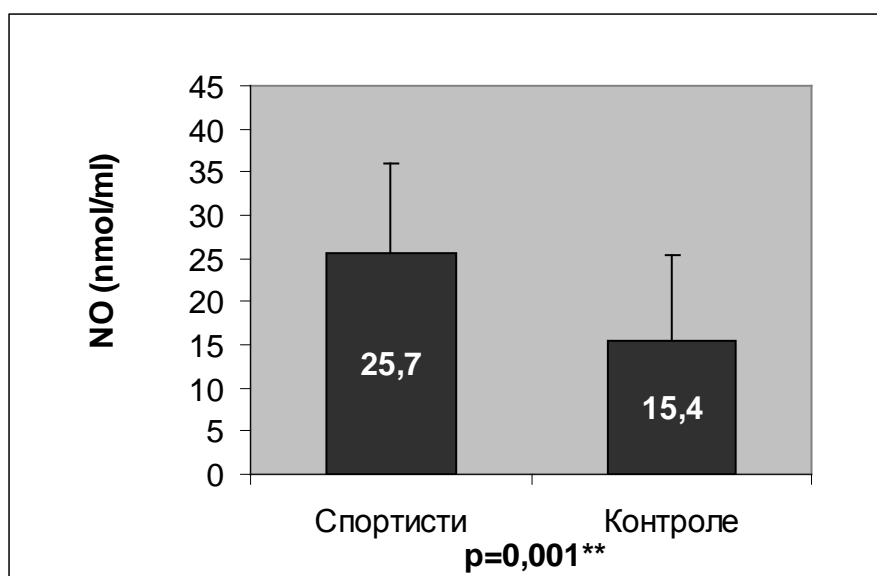
У миру након програма, спортисти су имали статистички значајно виши ниво азот монооксида, док се статистички нижи ниво од прооксиданата код спортиста у односу на контролу приказао код супероксид анјон радикала и водоник пероксида. Виши ниво активности антиоксиданата код спортиста,

статистички значајан је показан код каталазе, а нижи ниво активности је код глутатиона у односу на неспортисте (Графикони 16,17,18,19 и 20).

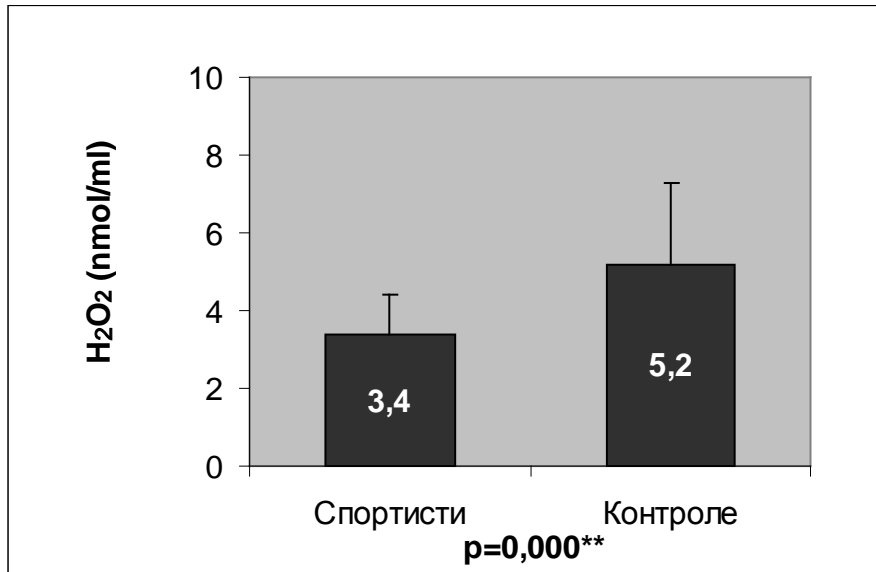
Графикон 16. Вредности супероксид анјон радикала (O_2^-) (средња вредност \pm стандардна девијација СД) у различитој групи испитаника након спроведеног програма



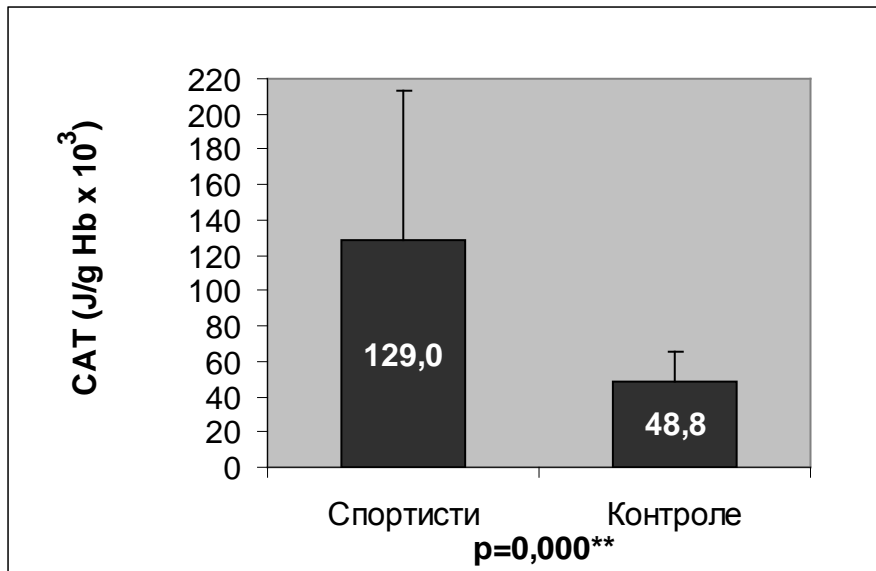
Графикон 17. Ниво активности азот монооксида (NO) (средња вредност \pm стандардна девијација СД) у различитој групи испитаника након спроведеног програма



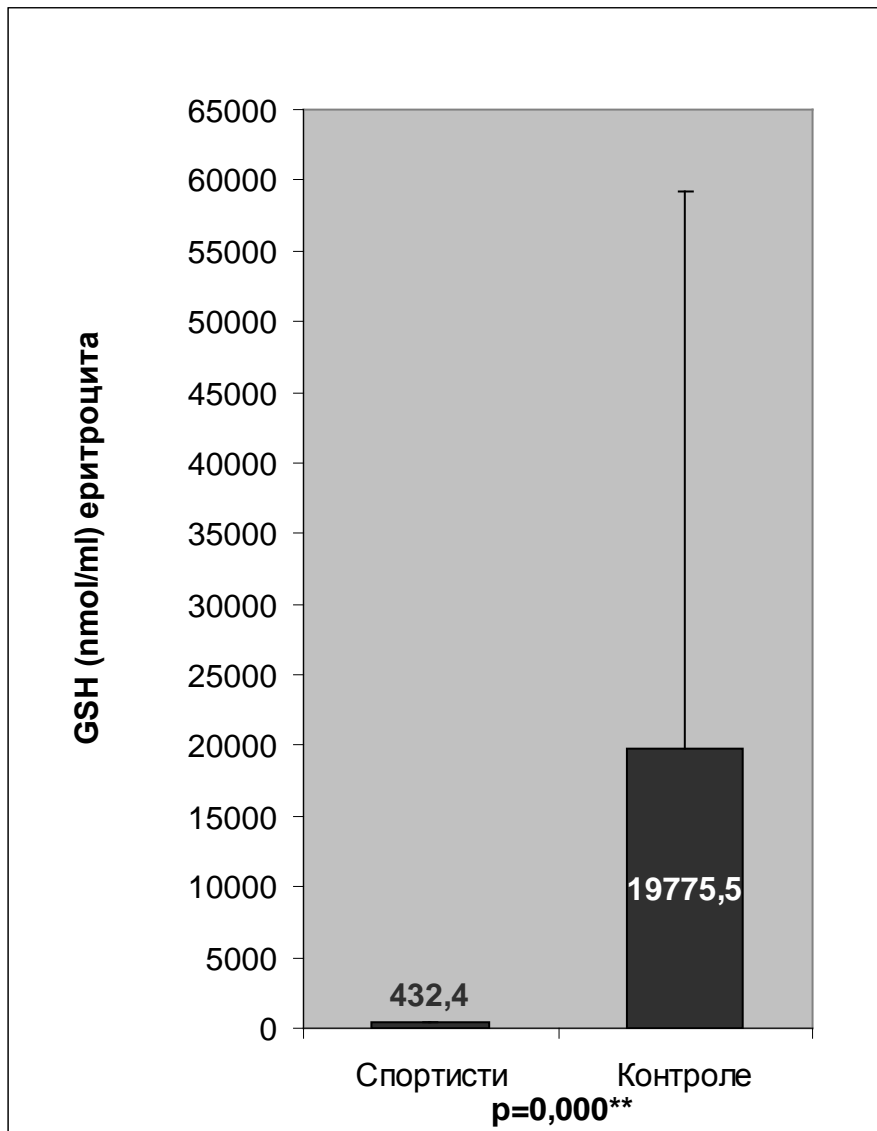
Графикон 18. Ниво активности водоник пероксида (H_2O_2) (средња вредност \pm стандардна девијација СД) у различитој групи испитаника након спроведеног програма



Графикон 19. Ниво активности каталазе (CAT) (средња вредност \pm стандардна девијација СД) у различитој групи испитаника након спроведеног програма



Графикон 20. Ниво активности глутатиона (GSH) (средња вредност \pm стандардна девијација СД) у различитој групи испитаника након спроведеног програма



4.2.3. Промене параметара редокс равнотеже у крви испитаника спортиста у првом мерењу, пре и после прогресивног растућег теста оптерећења

Табела 13. Прооксиданти у крви испитаника спортиста пре и после програма

Табела 13.	X±СД	Мин - Мах	Мед	Тест
O₂⁻ (nmol/ml)				Wilcoxon-ov
Спортисти 1	4,0±2,3	0,3 - 9,8	3,6	t= -0,191
Спортисти 2	3,8±2,3	0,6 - 10,8	2,9	P=0,849
NO (nmol/ml)				Wilcoxon-ov
Спортисти 1	15,9±11,2	0,5 - 38,0	17,6	Z= -0,501
Спортисти 2	16,6±9,9	0,3 - 31,7	18,1	P=0,616
H₂O₂ (nmol/ml)				Wilcoxon-ov
Спортисти 1	3,0±2,1	0,9 - 11,0	2,3	Z= -1,067
Спортисти 2	4,3±5,7	1,0 - 27,7	2,3	P=0,286
TBARS (μmol/ml)				Упарени Т-тест
Спортисти 1	3,0±1,9	0,1 - 6,7	3,1	t= 0,036
Спортисти 2	3,0±1,8	0,1 - 7,4	2,4	P=0,972

X – средња вредност; СД – стандардна девијација; Мин – минимум; Мах – максимум; Мед – медијан; O₂⁻ – супероксид анјон радикал; NO – азот моноксид; H₂O₂ – водоник пероксид; TBARS – индекс липидне пероксидације;

Табела 14. Антиоксиданти у крви испитаника пре и после програма

Табела 14.	X±СД	Мин – Мах	Мед	Тест
CAT (J/g Hb x 10³)				Wilcoxon-ov
Спортисти 1	38,4±16,5	8,5 - 77,2	34,3	Z= -1,230
Спортисти 2	35,1±14,1	14,0 - 62,2	32,1	P=0,219
SOD (J/g Hb x 10³)				Wilcoxon-ov
Спортисти 1	845,6±1224,0	8,1 - 4656,0	451,7	Z= -1,207
Спортисти 2	1329,1±1807,0	8,1 - 7423,6	500,6	P=0,227
GSH (nmol/ml еритроцита)				Wilcoxon-ov
Спортисти 1	37928,6±30529,0	3296,8 - 97807,9	28023,6	Z=-0,456
Спортисти 2	33439,9±25796,3	3296,8 – 115391,4	24177,2	P=0,649

X – средња вредност; СД – стандардна девијација; Мин – минимум; Мах – максимум; Мед – медијан; CAT – каталаза ; SOD – супероксид дисмутаза; GSH – глутатион

Мерени параметри оксидативног стреса нису показали значајну разлику ни у прооксидантима ни у активностима антиоксиданата пре и након прогресивног растућег теста оптерећења пре спроведеног програма.

4.2.4. Промене параметара редокс равнотеже у крви испитаника спортиста у другом мерењу, пре и после прогресивног растућег теста оптерећења

Табела 15. Прооксиданти у крви спортиста у другом мерењу пре и после

Табела 15.	Х±СД	Мин - Мах	Мед	Тест
O₂⁻ (nmol/ml)				Wilcoxon-ov
Спортисти 3	3,8±2,4	0,9 - 10,8	3,7	P=0,790
Спортисти 4	3,8±2,1	0,9 - 9,5	3,7	Z=-0,267
NO (nmol/ml)				Wilcoxon-ov
Спортисти 3	25,7±10,1	4,1 - 38,8	31,1	P=0,517
Спортисти 4	24,1±10,6	4,4 - 41,7	24,9	Z=-0,648
H₂O₂ (nmol/ml)				Упарени Т-тест
Спортисти 3	3,3±1,0	1,5 - 5,0	3,3	P=0,908
Спортисти 4	3,3±1,4	0,3 - 7,3	3,3	t=-0,117
TBARS (μmol/ml)				Wilcoxon-ov
Спортисти 3	4,5±2,4	1,2 - 7,9	5,0	P=0,551
Спортисти 4	4,0±2,3	0,7 - 8,1	3,4	Z=-0,597

Х – средња вредност; СД – стандардна девијација; Мин – нинимум; Мах – максимум; Мед – медијан; O₂⁻ – супероксид анјон радикал; NO – азот моноксид; H₂O₂ – водоник пероксид; TBARS – индекс липидне пероксидације;

Табела 16. Антиоксиданти у крви спортиста у другом мерењу пре и после

Табела 16.	Х±СД	Мин - Мах	Мед	Тест
CAT (J/g Hb x 10³)				Wilcoxon-ov
Спортисти 3	128,9±84,5	40,5 - 406,0	97,7	P=0,849
Спортисти 4	118,2±65,5	24,0 - 366,0	105,250	Z= -0,190
SOD (J/g Hb x 10³)				Wilcoxon-ov
Спортисти 3	1703,1±2609,3	40,7 - 11851,8	728,5	P=0,278
Спортисти 4	1232,7±1913,3	32,5 - 7309,7	573,8	Z= -1,086
GSH (nmol/ml еритроцита)				Wilcoxon-ov
Спортисти 3	432,4±262,9	85,1 - 1064,6	404,5	P=0,412
Спортисти 4	360,3±199,4	42,5 - 809,1	361,9	Z= -0,821

Х – средња вредност; СД – стандардна девијација; Мин – нинимум; Мах – максимум; Мед – медијан; CAT – каталаза ; SOD – супероксид дисмутаза; GSH – глутатион

Мерени параметри оксидативног стреса нису показали значајну разлику ни у прооксидантима, ни у активностима антиоксиданата пре и након прогресивног растућег теста оптерећења а након шестомесечне програмиране физичке активности.

4.2.5. Промене параметара редокс равнотеже у крви испитаника спортиста пре и након шестомесечног програмираног физичког оптерећења у базалним условима

Табела 17. Прооксиданти у крви спортиста у базалним условима пре и након програма

Табела 17.	X±СД	Мин - Мах	Мед	Тест
O₂⁻ (nmol/ml)				Wilcoxon-ov
Спортисти 1	4,0±2,3	0,3 - 9,8	3,6	P=0,898
Спортисти 3	3,8±2,4	0,9 - 10,8	3,7	Z= -0,129
NO (nmol/ml)				Wilcoxon-ov
Спортисти 1	15,9±11,2	0,5 -38,0	17,6	P=0,019*
Спортисти 3	25,7±10,1	4,1 - 38,8	31,1	Z= -2,349
H₂O₂ (nmol/ml)				Wilcoxon-ov
Спортисти 1	3,0±2,1	0,9 - 11,0	2,3	P=0,054
Спортисти 3	3,3±1,0	1,5 - 5,0	3,3	Z= -1,930
TBARS (μmol/ml)				Wilcoxon-ov
Спортисти 1	3,0±1,9	0,1 - 6,7	3,1	P=0,032*
Спортисти 3	4,5±2,4	1,2 - 7,9	5,0	Z= -2,146

* P<0,05; X – средња вредност; СД – стандардна девијација; Мин – нинимум; Мах – максимум; Мед – медијан; O₂⁻ – супероксид анјон радикал; NO – азот моноксид; H₂O₂ – водоник пероксид; TBARS – индекс липидне пероксидације;

Табела 18. Антиоксиданти у крви спортиста у базалним условима пре и након програма

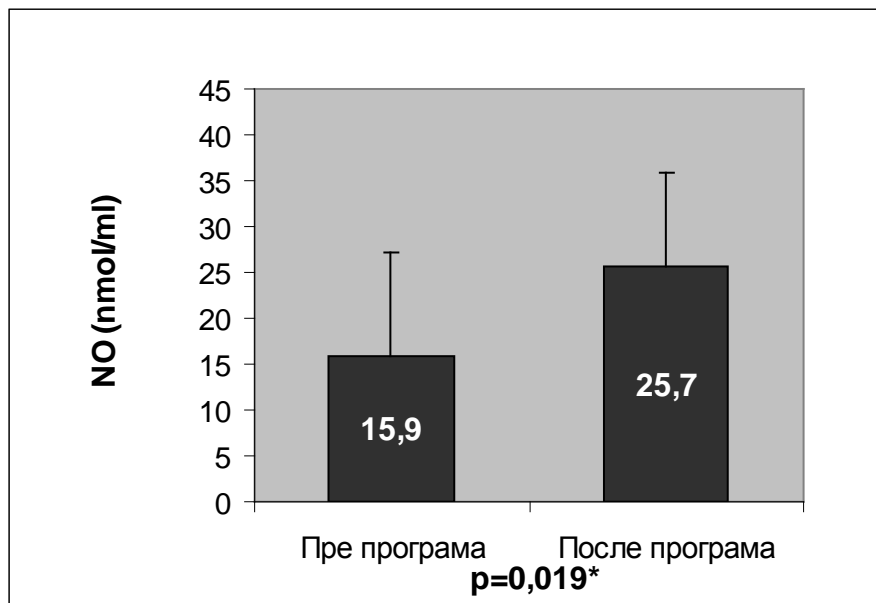
Табела 18.	X±СД	Мин – Мах	Мед	Тест
CAT (J/g Hb x 10³)				Wilcoxon-ov
Спортисти 1	38,4±16,5	8,5 - 77,2	34,3	P=0,000**
Спортисти 3	128,9±84,5	40,5 - 406,0	97,7	Z= -4,457
SOD (J/g Hb x 10³)				Wilcoxon-ov
Спортисти 1	845,6±1224,0	8,1 - 4656,0	451,7	P=0,046*
Спортисти 3	1703,1±2609,3	40,7 - 11851,8	728,5	Z= -1,994
GSH (nmol/ml еритроцита)				Wilcoxon-ov
Спортисти 1	37928,6±30529,0	3296,8 - 97807,9	28023,6	P=0,000**
Спортисти 3	432,4±262,9	85,1 - 1064,6	404,5	Z= -4,457

*P<0,05; **P<0,01; X – средња вредност; СД – стандардна девијација; Мин – нинимум; Мах – максимум; Мед – медијан; CAT – каталаза ; SOD – супероксид дисмутаза; GSH – глутатион

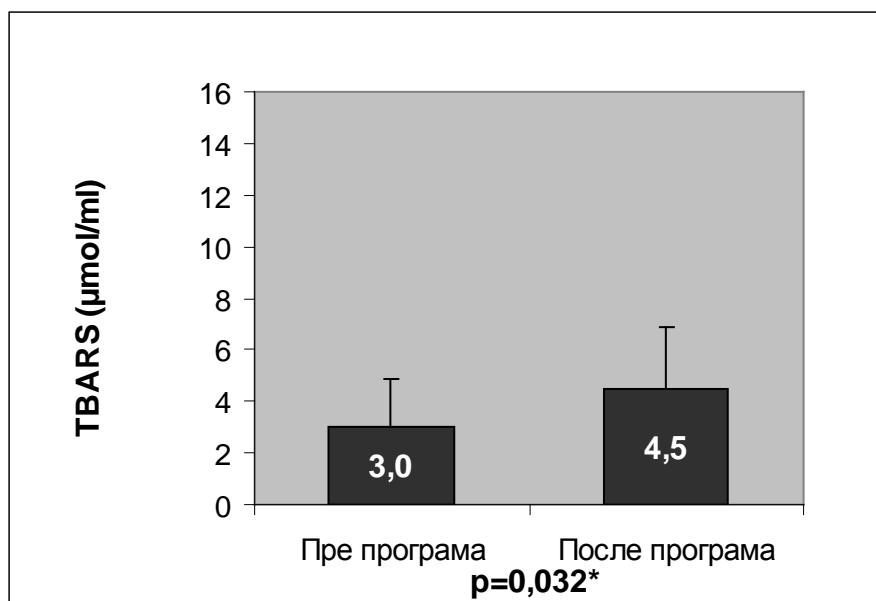
У базалним условима, код исте групе испитаника, али пре и након спроведеног програма се закључује да су вредности азот монооксида и индекса липидне пероксидације као прооксиданата, више након спроведеног програма,

док је значајно већа активност антиоксиданата након програма показана код каталазе и супероксид дисмутазе. Значајна разлика се показала и код глутатиона као антиоксиданта, али је већа активност овог антиоксиданта била пре спроведеног шестомесечног програма (Графикони 21,22,23,24 и 25).

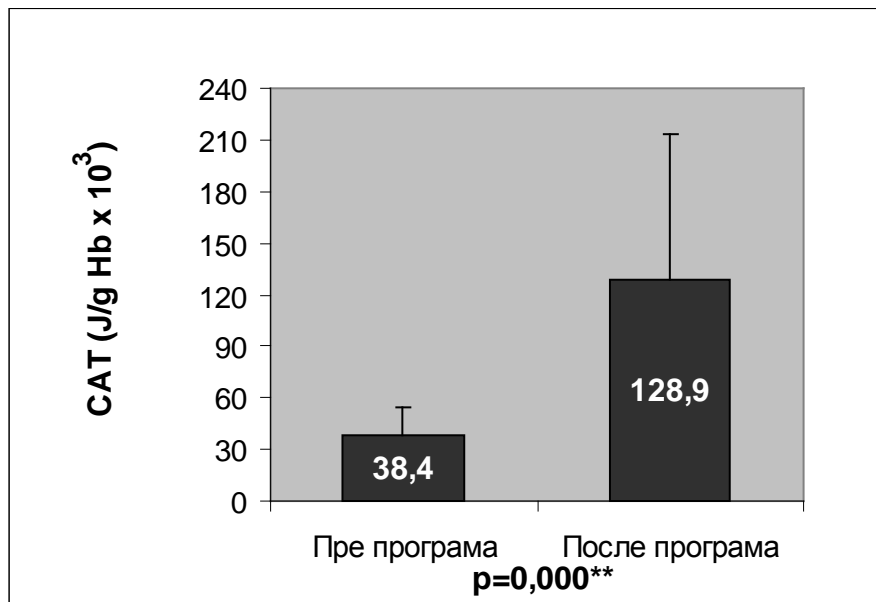
Графикон 21. Вредности азот монооксида (NO) (средња вредност \pm стандардна девијација СД) у групи спортиста пре и после спроведеног програма у базалним условима



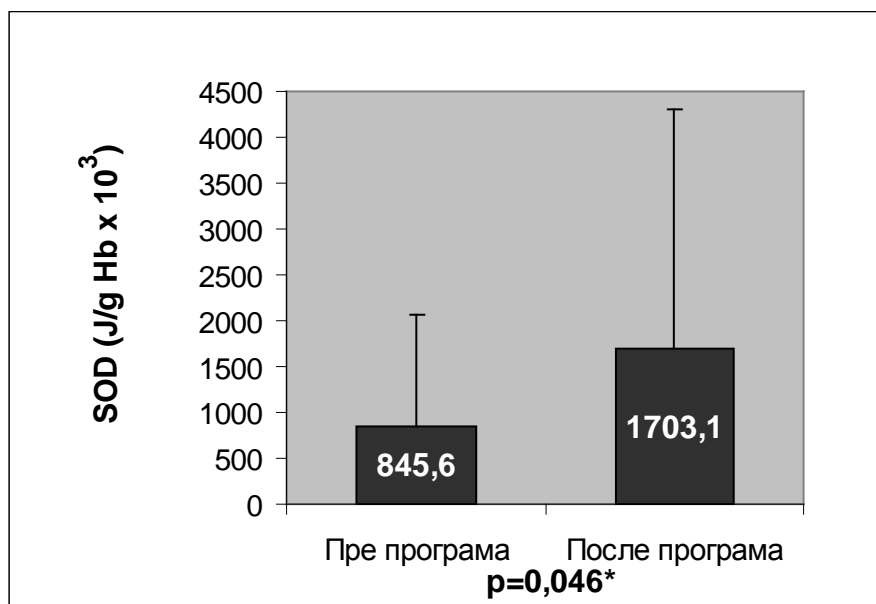
Графикон 22. Вредности индекса липидне пероксидације (TBARS) (средња вредност \pm стандардна девијација СД) у групи спортиста пре и после спроведеног програма у базалним условима



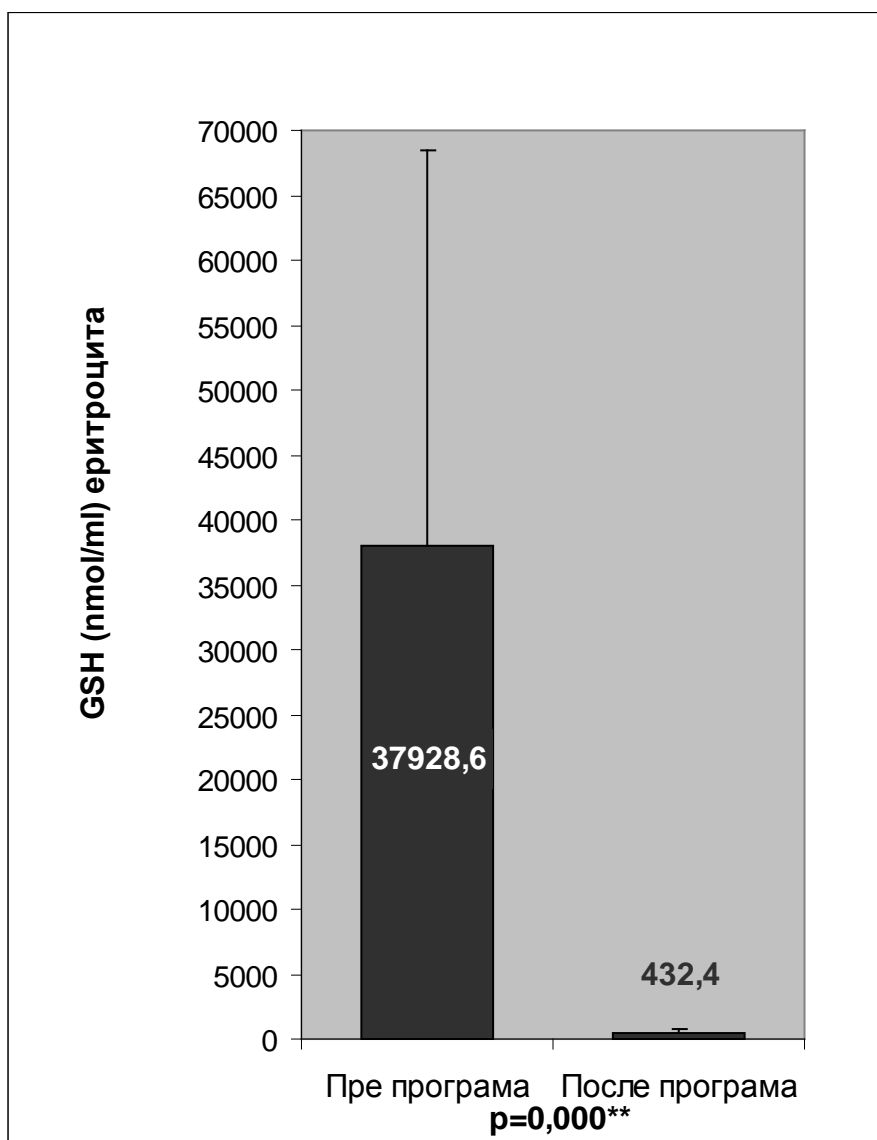
Графикон 23. Ниво активности каталазе (САТ) (средња вредност ± стандардна девијација СД) у групи спортиста пре и после спроведеног програма у базалним условима



Графикон 24. Ниво активности супероксид дисмутазе (SOD) (средња вредност ± стандардна девијација СД) у групи спортиста пре и после спроведеног програма у базалним условима



Графикон 25. Ниво активности глутатиона (GSH) (средња вредност ± стандардна девијација СД) у групи спортиста пре и после спроведеног програма у базалним условима



4.3. ПРОМЕНА СВИХ ПАРАМЕТАРА РЕДОКС РАВНОТЕЖЕ НАКОН ТЕСТА ОПТЕРЕЂЕЊА У ПРОЦЕНТИМА ПРЕ И НАКОН ПРОГРАМИРАНОГ ШЕСТОМЕСЕЧНОГ ФИЗИЧКОГ ОПТЕРЕЂЕЊА

Табела 19. Прооксиданти у крви испитаника

Табела 19.	X±СД	Мин – Мах	Мед	Тест
O₂⁻ (%)				Wilcoxon-ov
Спортисти 1	55,65±175,91	-79,03 - 703,13	-8,35	P=0,770
Спортисти 2	47,23±132,57	-79,96 - 432,32	-13,82	Z= -0,292
NO (%)				Wilcoxon-ov
Спортисти 1	188,38±590,41	-94,48 - 2994,12	-3,6	P=0,439
Спортисти 2	38,11±159,14	-75,5 - 646,97	-7,9	Z= -0,775
H₂O₂ (%)				Wilcoxon-ov
Спортисти 1	30,32±79,91	-36,13 - 338,23	0,55	P=0,174
Спортисти 2	5,37±46,99	-89,43 - 173,33	-1,83	Z= -1,359
TBARS (%)				Wilcoxon-ov
Спортисти 1	247,08±894,35	-92,7 - 4615,4	2,28	P=0,209
Спортисти 2	22,83±106,30	-80,03 - 327,03	12,13	Z= -1,257

X – средња вредност; СД – стандардна девијација; Мин – нинимум; Мах – максимум; Мед – медијан; O₂⁻ – супероксид анјон радикал; NO – азот моноксид; H₂O₂ – водоник пероксид; TBARS – индекс липидне пероксидације;

Табела 20. Антиоксиданти у крви испитаника

Табела 20.	X±СД	Мин - Мах	Мед	Тест
CAT (%)				Wilcoxon-ov
Спортисти 1	14,27±99,6	-65,04 – 463,89	-15,53	P=0,694
Спортисти 2	9,54±56,67	-74,77 – 185,27	5,99	Z= -0,395
SOD (%)				Wilcoxon-ov
Спортисти 1	696,97± 2156,31	-95,63 – 11066,67	48,09	P=0,052
Спортисти 2	61,59±212,15	-98,05 – 600,46	-36,28	Z= -1,943
GSH (%)				Wilcoxon-ov
Спортисти 1	62,01±169,54	-88,14 - 700	-3	P=0,517
Спортисти 2	13,64±99,15	-87,50 – 333,34	3,57	Z= -0,648

X – средња вредност; СД – стандардна девијација; Мин – нинимум; Мах – максимум; Мед – медијан; CAT – каталаза ; SOD – супероксид дисмутаза; GSH – глутатион

4.3.1. Корелација параметара редокс равнотеже у базалним условима пре спровођења програма и процентуалних промена пре и након програма

Табела 21. Корелација параметара редокс равнотеже у базалним условима пре шестомесечне програмиране физичке активности (вредности унете у табелу су коефицијенти корелације)

Табела 21.	TBARS	NO	H ₂ O ₂	O ₂ ⁻	CAT	SOD	GSH
TBARS	/	-,210	,129	,118	-,084	,283	-,264
NO	-,210	/	,142	,220	-,211	-,282	,048
H ₂ O ₂	,129	,142	/	-,001	,008	,126	-,309
O ₂ ⁻	,118	,220	-,001	/	,177	-,080	-,473*
CAT	-,084	-,211	,008	,177	/	,134	,076
SOD	,283	-,282	,126	-,080	,134	/	-,022
GSH	-,264	,048	-,309	-,473*	,076	-,022	/

* $P < 0,05$; TBARS – индекс липидне пероксидације; NO – азот моноксид; H₂O₂ – водоник пероксид; O₂⁻ – супероксид анјон радикал; CAT – каталаза; SOD – супероксид дисмутаза; GSH – глутатион

Анализа вредности оксидативног стреса, како про, тако и антиоксиданата је показала линеарном корелацијом повезаност следећих параметара:

- Супероксид анјон радикал корелира негативном корелацијом са глутатионом
- Глутатион корелира са супероксид анјон радикалом негативном корелацијом

Табела 22. Корелација процентуалних промена после спровођења програма (вредности унете у табелу су коефицијенти корелације)

Табела 22.	% TBARS	% NO	% H ₂ O ₂	% O ₂ ⁻	% CAT	% SOD	% GSH
% TBARS	/	-,062	,264	-,200	-,077	,400*	-,440*
% NO	-,062	/	,125	,160	-,030	-,232	,050
% H ₂ O ₂	,264	,125	/	,005	-,187	-,114	-,098
% O ₂ ⁻	-,200	,160	,005	/	,366	-,110	,097
% CAT	-,077	-,030	-,187	,366	/	,113	,047
% SOD	,400*	-,232	-,114	-,110	,113	/	-,406*
% GSH	-,440*	,050	-,098	,097	,047	-,406*	/

* $P < 0,05$; %TBARS – проценат промена индекса липидне пероксидације; %NO – проценат промена азот моноксид; %H₂O₂ – проценат промена водоник пероксид; %O₂⁻ – проценат промена супероксид анјон радикала; %CAT – проценат промена каталазе; %SOD – проценат промена супероксид дисмутаза; %GSH – проценат промена глутатиона

Анализе вредности процентуалних промена параметара оксидативног стреса показују линеарном корелациом повезаност на следећи начин:

- Индекс липидне пероксидације позитивно корелира са супероксид дисмутазом а негативно са глутатионом
- Супероксид дисмутаза позитивно корелира са индексом липидне пероксидације а негативно корелира са глутатионом
- Глутатион негативно корелира са индексом липидне пероксидације и супероксид дисмутазом

4.4. АНАЛИЗА НИВОА ПРО И АНТИ ИНФЛАМАТОРНИХ МЕДИЈАТОРА У БАЗАЛНИМ И УСЛОВИМА НАКОН ПРОГРАМИРАНОГ ШЕСТОМЕСЕЧНОГ ФИЗИЧКОГ ОПТЕРЕЋЕЊА

4.4.1. Промене параметара про и анти инфламаторних цитокина у крви испитаника, спортиста и неспортиста у базалним условима пре и после спроведеног програма

Табела 23. Про/антиинфламаторни маркери у крви испитаника различитих група у базалним условима (спортисти са првог мерења пре спровођења програма)

Табела 23.	Х±СД	Мин - Мах	Мед	Тест
IL-6 (pg/ml)				Mann-whitney
Спортисти (n=28)	34,73±33,23	14,05-128,20	19,31	P=0,323
Контроле (n=28)	36,40±28,39	14,23-115,02	24,33	Z= -0,989
TNF-α (pg/ml)				Mann-whitney
Спортисти (n=28)	325,65±300,60	26,10-1295,12	212,68	P=0,206
Контроле (n=28)	378,67±260,80	28,48-928,54	312,59	Z= -1,265

Х – средња вредност; СД – стандардна девијација; Мин – нинимум; Мах – максимум; Мед – медијан; IL-6 – интерлеукин шест; TNF-α – туморске некрозе фактор алфа;

Код спортиста и контроле у нашем истраживању, ниједан од два мерена про и антиинфламаторна цитокина (TNF-α и IL-6), нису показала никакву статистичку значајност (Табела 20).

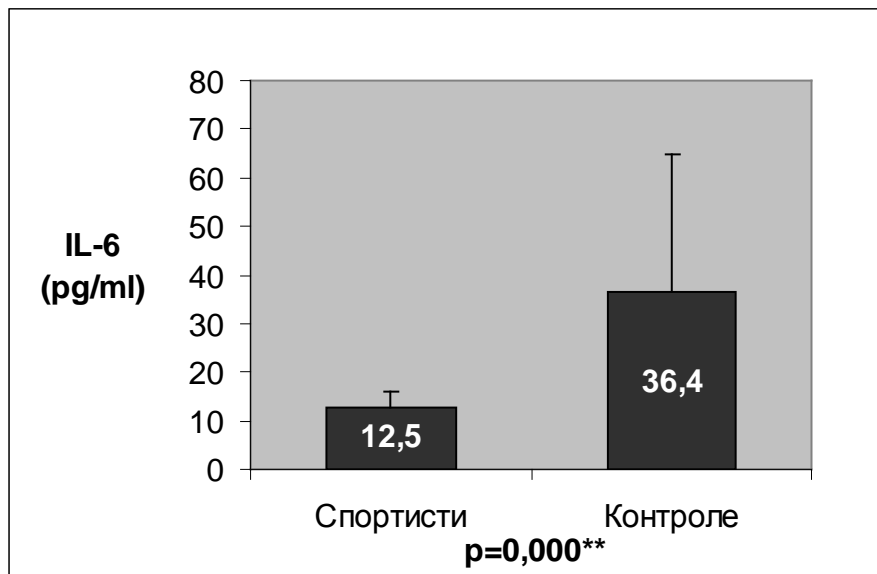
Табела 24. Про/антиинфламаторни маркери у крви испитаника различитих група: спортисти након спроведеног програма обуке и неспортисти у базалним условима

Табела 24.	Х±СД	Мин - Мах	Мед	Тест
IL-6 (pg/ml)				Mann-whitney
Спортисти	12,52±3,35	9,20-26,49	11,75	P=0,000** Z= -5,728
Контроле	36,40±28,39	14,23-115,02	24,33	
TNF-α (pg/ml)				Mann-whitney
Спортисти	333,54±325,59	17,77-1239,86	193,01	P=0,169
Контроле	378,67±260,80	28,48-928,54	312,59	Z= -1,375

**P<0,01; Х – средња вредност; СД – стандардна девијација; Мин – нинимум; Мах – максимум; Мед – медијан; IL-6 – интерлеукин шест; TNF-α – туморске некрозе фактор алфа;

Након упоређивања вредности про и анти инфламаторних цитокина дошли смо до статистички значајне разлике у вредностима ИЛ-6, између спортиста и њихових вредности након програма обуке и неспортиста у базалним вредностима (Графикон 26).

Графикон 26. Ниво активности антиинфламаторног цитокина, интерлеукина шест (ИЛ-6) (средња вредност ± стандардна девијација СД) у групи испитаника спортиста након спроведеног програма и базалних вредности неспортиста



4.4.2. Промене параметара про и анти инфламаторних цитокина у крви испитаника спортиста, пре и након шестомесечног програмираног физичког оптерећења у базалним условима и у условима након прогресивног растућег теста оптерећења

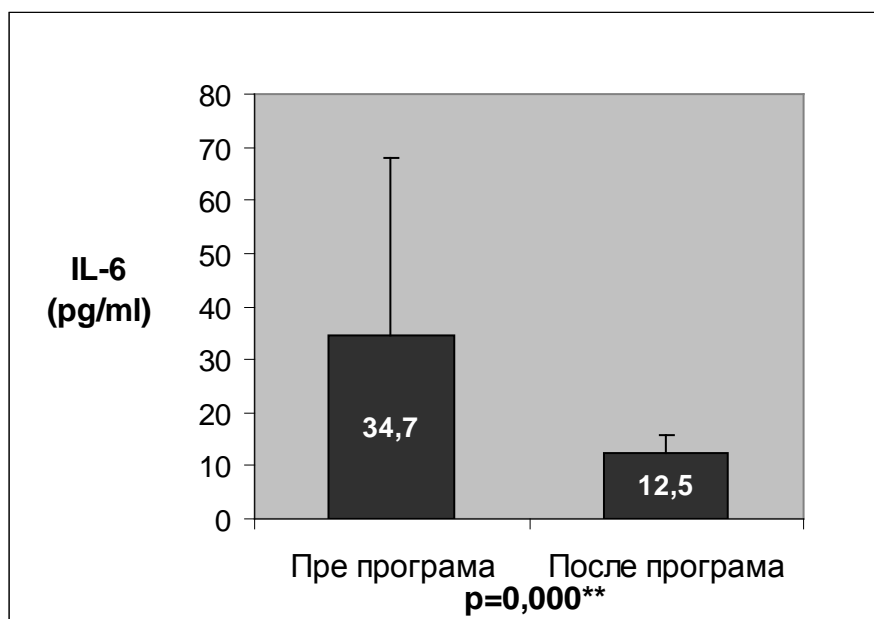
Табела 25. Промене про и антиинфламаторних маркера у крви испитаника спортиста пре и након спроведеног програма обуке

Табела 25.	X±СД	Мин - Мах	Мед	Тест
IL-6 (pg/ml)				Wilcoxon-ov
Спортисти 1	34,73±33,23	14,05-128,20	19,31	P=0,000** Z= -4,102
Спортисти 3	12,52±3,35	9,20-26,49	11,75	
TNF-α (pg/ml)				Wilcoxon-ov
Спортисти 1	325,65±300,60	26,10-1295,12	212,68	P=0,675 Z= -0,419
Спортисти 3	333,54±325,59	17,77-1239,86	193,01	

**P<0,01; X – средња вредност; СД – стандардна девијација; Мин – минимум; Мах – максимум; Мед – медијан; IL-6 – интерлеукин шест; TNF-α – туморске некрозе фактор алфа;

Услед утицаја спроведеног програма обуке код групе наших испитаника спортиста, дошло је до значајне разлике антиинфламаторног цитокина у мерењу пре и после спроведене програмиране шестомесечне физичке активности (Графикон 27).

Графикон 27. Ниво активности антиинфламаторног цитокина (**IL-6**) (средња вредност ± стандардна девијација СД) у истој групи испитаника пре и након спроведеног шестомесечног програма обуке.



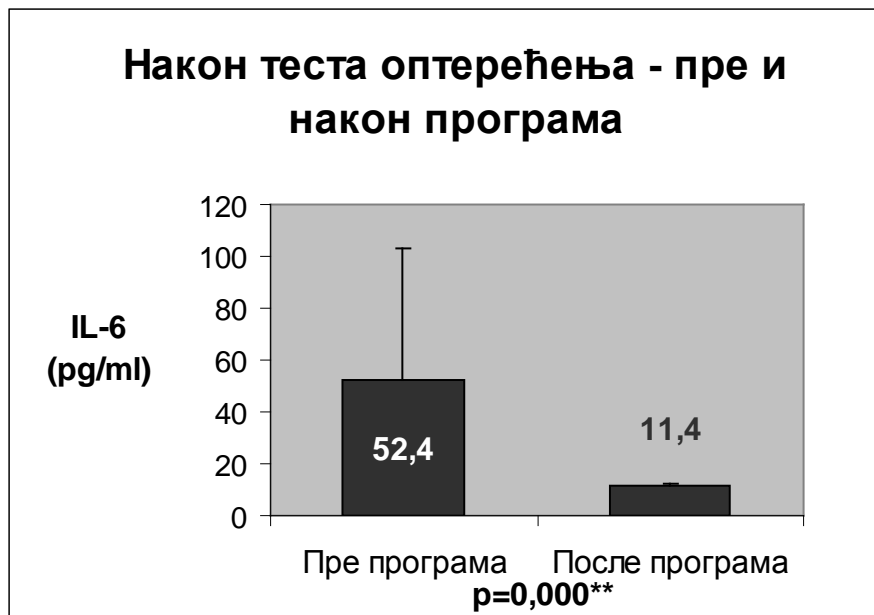
Табела 26. Промене про и антиинфламаторних маркера у крви испитаника спортиста пре и након спроведеног програма обуке, али и након прогресивног растућег теста оптерећења

Табела 26.	X±СД	Мин - Мах	Мед	Тест
IL-6 (pg/ml)				Wilcoxon-ov
Спортисти 2	52,44±50,71	17,68-194,24	17,68	P=0,000** Z= -4,457
Спортисти 4	11,39±1,01	9,52-14,69	11,28	
TNF-α (pg/ml)				Wilcoxon-ov
Спортисти 2	411,23±366,69	28,75-1415,70	277,83	P=0,603
Спортисти 4	343,41±322,34	16,98-1184,93	210,15	Z= -0,521

**P<0,01; X – средња вредност; СД – стандардна девијација; Мин – нинимум; Мах – максимум; Мед – медијан; IL-6 – интерлеукин шест; TNF-α – туморске некрозе фактор алфа;

У групи испитаника спортиста, а код праћених параметара, показала се значајна разлика вредности антиинфламаторног цитокина у мерењу вредности пре и после спроведеног програма шестомесечне физичке активности и након прогресивног растућег теста оптерећења (Графикон 28).

Графикон 28. Ниво активности интерлеукина шест (IL-6) (средња вредност ± стандардна девијација СД) у истој групи испитаника пре и након спроведеног шестомесечног програма обуке, а након прогресивног растућег теста оптерећења.



4.4.3. Промене параметара про и анти инфламаторних цитокина у крви испитаника спортиста пре и после спроведеног програма обуке, а пре и после прогресивног растућег теста оптерећења

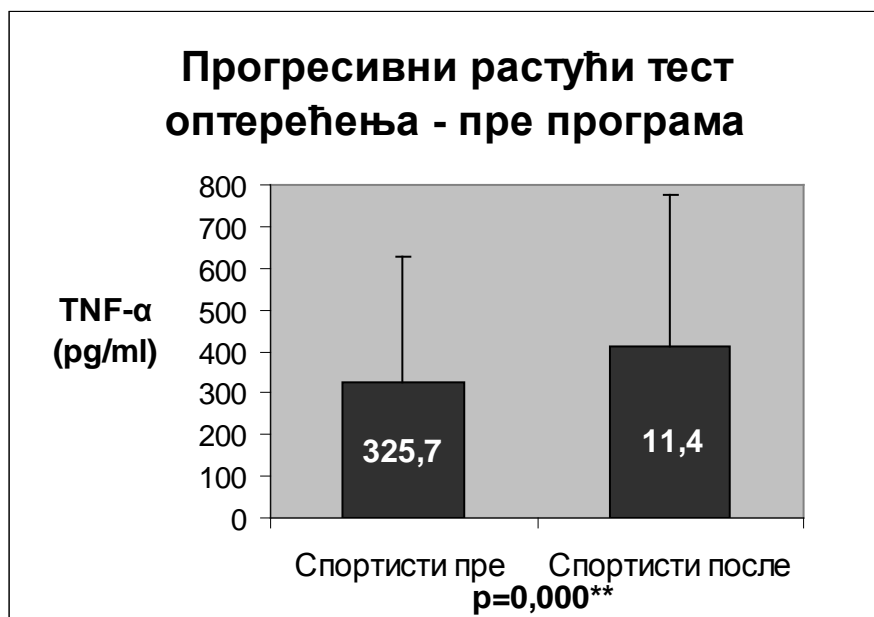
Табела 27. Промене про и антиинфламаторних маркера у крви испитаника спортиста у првом мерењу, пре и након прогресивног растућег теста оптерећења

Табела 27.	X±СД	Мин - Мах	Мед	Тест
IL-6 (pg/ml)				Wilcoxon-ov test
Спортисти 1	34,73±33,23	14,05-128,20	19,31	P=0,080
Спортисти 2	52,44±50,71	17,68-194,24	17,68	Z= -1,753
TNF-α (pg/ml)				Wilcoxon-ov test
Спортисти 1	325,65±300,60	26,10-1295,12	212,68	P=0,000**
Спортисти 2	411,23±366,69	28,75-1415,70	277,83	Z= -3,848

**P<0,01; X – средња вредност; СД – стандардна девијација; Мин – нинимум; Мах – максимум; Мед – медијан; IL-6 – интерлеукин шест; TNF-α – туморске некрозе фактор алфа;

Од два праћена параметра инфламаторних цитокина наших испитаника, статистички значајна разлика у групи спортиста је пронађена у једном параметру и то у нивоу про инфламаторног цитокина туморске некрозе фактора алфа (Графикон 29).

Графикон 29. Ниво активности про инфламаторног цитокина туморске некрозе фактор алфа (**TNF-α**) (средња вредност ± стандардна девијација СД) у истој групи испитаника у првом мерењу пре и после прогресивног растућег теста оптерећења



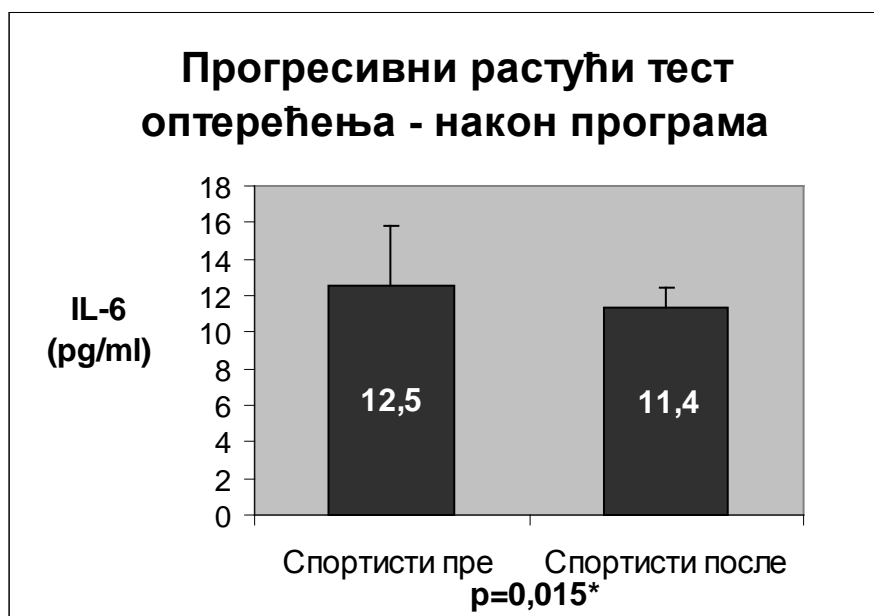
Табела 28. Промене про и антиинфламаторних маркера у крви испитаника спортиста пре и након прогресивног растућег теста оптерећења у другом мерењу након спроведеног програма обуке

Табела 28.	$X \pm SD$	Мин - Мах	Мед	Тест
IL-6 (pg/ml)				Wilcoxon-ov
Спортисти 3	12,52±3,35	9,20-26,49	11,75	P=0,015* Z= -2,426
Спортисти 4	11,39±1,01	9,52-14,69	11,28	
TNF-α (pg/ml)				Wilcoxon-ov
Спортисти 3	333,54±325,59	17,77-1239,86	193,01	P=0,238 Z= -1,181
Спортисти 4	343,41±322,34	16,98-1184,93	210,15	

* $P < 0,05$; X – средња вредност; SD – стандардна девијација; Мин – минимум; Мах – максимум; Мед – медијан; IL-6 – интерлеукин шест; TNF- α – туморске некрозе фактор алфа;

Мерени параметри инфламаторних медијатора су показала значајну разлику у активностима антиинфламаторног цитокина (IL-6), пре и након прогресивног растућег теста оптерећења а након шестомесечне програмиране физичке активности (Графикон 30).

Графикон 30. Ниво активности интерлеукина шест (IL-6) (средња вредност \pm стандардна девијација SD) у истој групи испитаника у другом мерењу, пре и после прогресивног растућег теста оптерећења



4.4.4. Разлике процентуалних вредности праћених параметара про и анти инфламаторних цитокина, пре и након шестомесечног програмираног физичког оптерећења

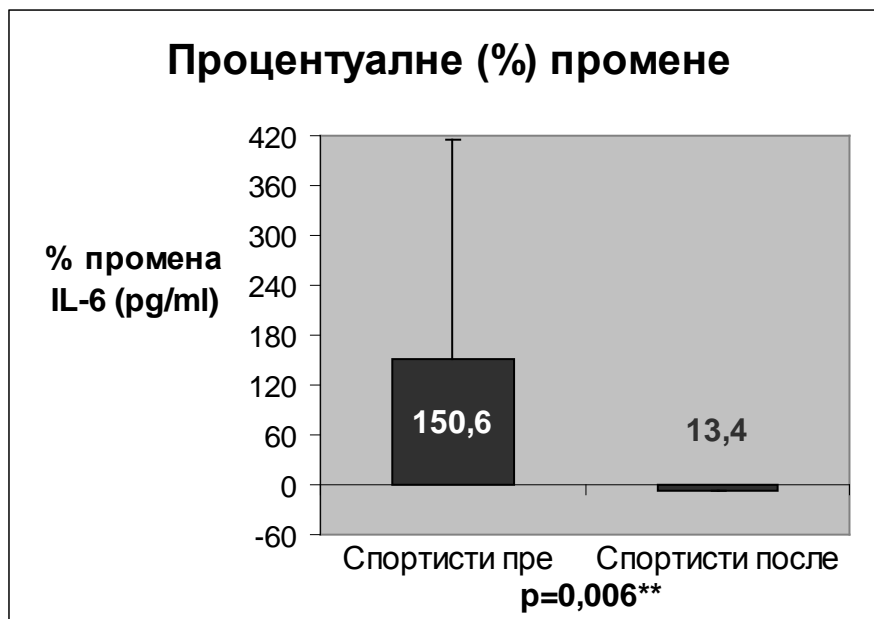
Табела 29. Промене про и антиинфламаторних маркера у крви испитаника спортиста пре и након спроведеног програма обуке изражено у процентима.

Табела 29.	X±СД	Мин - Мах	Мед	Тест
% ПРОМЕНА IL-6				Wilcoxon-ov
Спортисти % 1и2	150,59±263,97	-85,46-825,33	25,34	P=0,006**
Спортисти % 3и4	-6,05±13,41	-44,55-17,93	-4,45	Z= -2,730
% ПРОМЕНА TNF-α				Wilcoxon-ov
Спортисти % 1и2	35,83±42,52	-36,70-141,41	27,00	P=0,000**
Спортисти % 3и4	4,68±9,87	-11,67-23,01	2,66	Z= -4,000

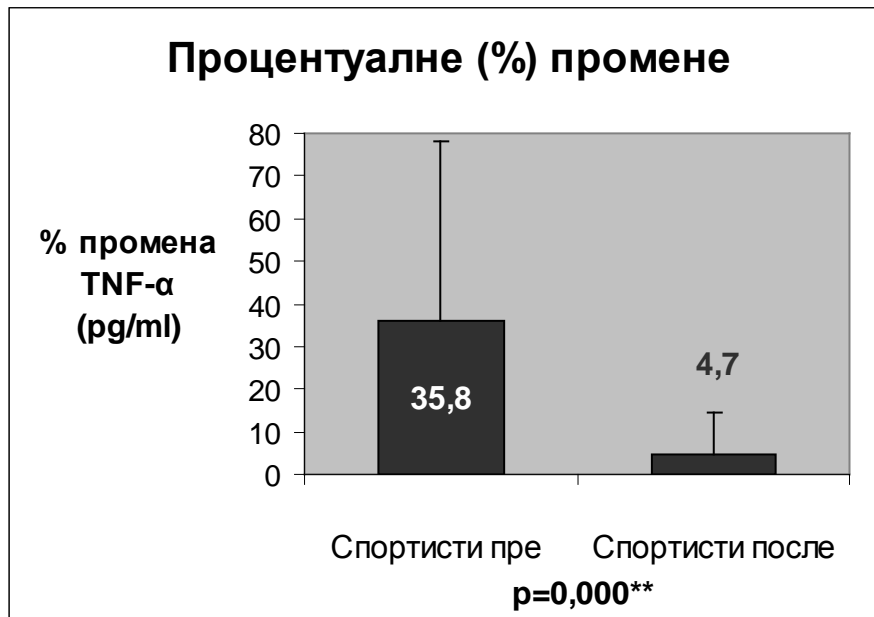
**P<0,01; X – средња вредност; СД – стандардна девијација; Мин – нинимум; Мах – максимум; Мед – медијан; IL-6 – интерлеукин шест; TNF-α – туморске некрозе фактор алфа;

Истраживање је показало значајност разлика процентуалних промена код испитаника спортиста, мерених параметара (IL-6 и TNF-α), пре и након спроведене програмиране физичке активности (Графикон 31, 32).

Графикон 31. Вредности IL-6 (средња вредност ± стандардна девијација СД) у истој групи испитаника пре и после спроведеног програма у процентуалним вредностима



Графикон 32. Ниво активности туморске некрозе фактор алфа (TNF- α) (средња вредност \pm стандардна девијација СД), у истој групи испитаника пре и после спроведеног програма у процентуалним вредностима



4.4.5. Корелација праћених параметара оксидативног стреса са параметрима инфламаторних медијатора у базалним условима као и корелација про и анти инфламаторних цитокина након шестомесечног програма обуке

Табела 30. Корелација параметара редокс равнотеже и инфламаторних медијатора у базалним условима пре шестомесечне програмиране физичке активности (вредности унете у табелу су коефицијенти корелације)

Табела 30.	TBARS	NO	H2O2	O2 ⁻	CAT	SOD	GSH	IL-6	TNF- α
TBARS	/	-,210	,129	,118	-,084	,283	-,264	,159	-,251
NO	-,210	/	,142	,220	-,211	-,282	,048	-,218	,060
H2O2	,129	,142	/	-,001	,008	,126	-,309	-,274	-,169
O2 ⁻	,118	,220	-,001	/	,177	-,080	-,473*	,041	,021
CAT	-,084	-,211	,008	,177	/	,134	,076	-,035	-,100
SOD	,283	-,282	,126	-,080	,134	/	-,022	,071	,145
GSH	-,264	,048	-,309	-,473*	,076	-,022	/	-,106	,137
IL-6	,159	-,218	-,274	,041	-,035	,071	-,106	/	-,193
TNF- α	-,251	,060	-,169	,021	-,100	,145	,137	-,193	/

* $P < 0,05$; TBARS – индекс липидне пероксидације; NO – азот моноксид; H₂O₂ – водоник пероксид; O₂⁻ – супероксид анјон радикал; CAT – каталаза; SOD – супероксид дисмутаза; GSH – глутатион; IL-6 – интерлеукин шест; TNF- α – туморске некрозе фактор алфа;

Анализа вредности праћених инфламаторних медијатора, како про, тако и антиинфламатора и вредности редок равнотеже, је показала линеарном корелацијом повезаност:

- Глутатион корелира негативном корелацијом са супероксид анјон радикалом,
- Супероксид анјон радикал корелира негативном корелацијом са глутатионом.

Табела 31. Ниво повезаности инфламаторних медијатора након спроведеног шестомесечног програма обуке код младих фудбалера

Табела 31.	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)
IL-6 (pg/ml)	/	-,445*
TNF- α (pg/ml)	-,445*	/

* $P < 0,05$; IL-6 – интерлеукин шест; TNF- α – туморске некрозе фактор алфа;

Анализа вредности праћених инфламаторних медијатора, како про, тако и антиинфламатора, је показала линеарном корелацијом повезаност:

- Интерлеукин шест корелира негативном корелацијом са туморском некрозом фактор алфа,
- Туморска некроза фактор алфа корелира негативном корелацијом са интерлеукином шест.

4.4.6. Корелација морфофункционалних параметара са параметрима инфламаторних медијатора у базалним условима и условима након спроведеног шестомесечног програма обуке

Табела 32. Корелација параметара инфламаторних медијатора и вредности апсолутне и релативне потрошње кисеоника, процента масти и мишића у организму у базалним условима пре шестомесечне програмиране физичке активности (вредности унете у табелу су коефицијенти корелације)

Табела 32.	VO2max (ml/kg/min)	VO2max (ml/kg/)	% МАСТИ	% МИШИЋА	IL-6 (pg/ml)	TNF-α (pg/ml)
VO2max (ml/kg/min)	/	,593**	-,596**	,489*	-,355	,301
VO2max (ml/kg/)	,593**	/	-,292	,382	-,264	-,002
% МАСТИ	-,596**	-,292	/	-,964**	,123	-,248
% МИШИЋА	,489*	,382	-,964**	/	-,066	,157
IL-6 (pg/ml)	-,355	-,264	,123	-,066	/	-,066
TNF-α (pg/ml)	,301	-,002	-,248	,157	-,066	/

** $P < 0,01$; * $P < 0,05$; VO2max (ml/kg/min) – релативна потрошња кисеоника у милилитрима по килограму у минути; VO2max (ml/kg) – апсолутна потрошња кисеоника у милилитрима по килограму; % масти – проценат масти; % мишића – проценат мишића; IL-6 – интерлеукин шест; TNF-α – туморске некрозе фактор алфа;

Анализа вредности праћених инфламаторних медијатора пре спроведеног програма обуке, како про, тако и антиинфламатора и вредности апсолутне и релативне потрошње кисеоника, процента мишића и масти у организму, је показала линеарном корелацијом повезаност:

- Релативна потрошња кисеоника има позитивну корелацију са % мишића и апсолутном потрошњом кисеоника, док негативно корелира са % масти,
- Апсолутна потрошња кисеоника остварује позитивну корелацију са релативном потрошњом кисеоника,
- Процент масти корелира негативном корелацијом са % мишића и релативном потрошњом кисеоника,
- Процент мишића позитивно корелира са релативном потрошњом кисеоника, а негативно са % масти.

Табела 33. Корелација параметара инфламаторних медијатора и вредности апсолутне и релативне потрошње кисеоника, процента мишића и масти у организму након шестомесечне програмиране физичке активности (вредности унете у табелу су коефицијенти корелације)

Табела 33.	VO2max (ml/kg/min)	VO2max (ml/kg/)	% МАСТИ	% МИШИЋА	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)
VO2max (ml/kg/min)	/	,558**	-,556**	,454*	,355	-,106
VO2max (ml/kg/)	,558**	/	-,313	,454*	,301	-,237
% МАСТИ	-,556**	-,313	/	-,949**	-,214	-,028
% МИШИЋА	,454*	,454*	-,949**	/	,125	,082
IL-6 (pg/ml)	,355	,301	-,214	,125	/	-,445*
TNF- α (pg/ml)	-,106	-,237	-,028	,082	-,445*	/

** $P < 0,01$; * $P < 0,05$; VO2max (ml/kg/min) – релативна потрошња кисеоника у милилитрима по килограму у минути; VO2max (ml/kg) – апсолутна потрошња кисеоника у милилитрима по килограму; % масти – проценат масти; % мишића – проценат мишића; IL-6 – интерлеукин шест; TNF- α – туморске некрозе фактор алфа;

Анализа вредности праћених инфламаторних медијатора након спроведеног програма обуке, како про, тако и антиинфламатора и вредности апсолутне и релативне потрошње кисеоника, процента мишића и масти у организму, је показала линеарном корелацијом повезаност:

- Релативна потрошња кисеоника има позитивну корелацију са % мишића и апсолутном потрошњом кисеоника, док негативно корелира са % масти,
- Апсолутна потрошња кисеоника остварује позитивну корелацију са релативном потрошњом кисеоника и % мишића,
- Процент масти корелира негативно корелацијом са % мишића и релативном потрошњом кисеоника
- Процент мишића позитивно корелира са релативном потрошњом кисеоника и апсолутном потрошњом кисеоника а негативно са % масти,
- Интерлеукин шест негативно корелира са туморском некрозом фактор алфа.

Табела 34. Корелација вредности инфламаторног одговора са параметрима редокс равнотеже и морфо-функционалних параметара након спроведеног програма обуке

Табела 34.	VO ₂ max (ml/kg)	VO ₂ max (ml/kg/min)	ТМ	ТВ	БМИ	% МАСТИ	% МИШИЋА	H ₂ O ₂	TBARS	NO	O ₂ ⁻	CAT	SOD	GSH	IL-6	TNF-α
VO ₂ max (ml/kg)	/	,558**	,557**	,590**	,202	-,313	,454*	,276	-,184	,386	-,163	,036	-,128	-,042	,301	-,237
VO ₂ max (ml/kg/min)	,558*	/	-,366	-,202	-,459*	-,556**	,454*	,189	,018	,226	,351	-,041	,055	-,096	,355	-,106
ТМ	,557*	-,366	/	,855**	,707**	,251	,006	,124	-,270	,177	-,698**	,071	-,118	-,173	,032	-,118
ТВ	,590*	-,202	,855**	/	,242	-,010	,218	,143	-,349	,143	-,603**	,153	-,100	-,141	,021	-,153
БМИ	,202	-,459*	,707**	,242	/	,473*	-,267	,040	-,020	,133	-,415*	,019	-,179	,004	-,016	-,169
% МАСТИ	-,313	-,556**	,251	-,010	,473*	/	-,949**	-,145	,050	,012	-,210	-,115	-,244	-,008	-,214	-,028
% МИШИЋА	,454*	,454*	,006	,218	-,267	-,949**	/	,193	-,146	-,035	,143	,038	,243	-,072	,125	,082
H ₂ O ₂	,276	,189	,124	,143	,040	-,145	,193	/	,022	-,064	-,335	,230	,191	,112	,115	-,304
TBARS	-,184	,018	-,270	-,349	-,020	,050	-,146	,022	/	-,134	-,038	,133	-,211	,174	,272	-,308
NO	,386	,226	,177	,143	,133	,012	-,035	-,064	-,134	/	,056	-,231	-,193	,115	,173	-,127
O ₂ ⁻	-,163	,351	-,698**	-,603**	-,415*	-,210	,143	-,335	-,038	,056	/	-,120	-,006	,057	-,022	,138
CAT	,036	-,041	,071	,153	,019	-,115	,038	,230	,133	-,231	-,120	/	,036	,099	,203	-,096
SOD	-,128	,055	-,118	-,100	-,179	-,244	,243	,191	-,211	-,193	-,006	,036	/	-,101	-,403*	,312
GSH	-,042	-,096	-,173	-,141	,004	-,008	-,072	,112	,174	,115	,057	,099	-,101	/	,170	-,029
IL-6	,301	,355	,032	,021	-,016	-,214	,125	,115	,272	,173	-,022	,203	-,403*	,170	/	-,445*
TNF-α	-,237	-,106	-,118	-,153	-,169	-,028	,082	-,304	-,308	-,127	,138	-,096	,312	-,029	-,445*	/

**P<0,01; *P<0,05; VO₂max (ml/kg) – апсолутна потрошња кисеоника у милилитрима по килограму; VO₂max (ml/kg/min) – релативна потрошња кисеоника у милилитрима по килограму у минути; ТМ – телесна маса; ТВ – телесна висина; БМИ – индекс телесне масе (Body mass index); % МАСТИ – проценат масти целог тела; % МИШИЋИ – проценат мишића целог тела; H₂O₂ – водоник пероксид; TBARS – индекс липидне пероксидације; NO – азот моноксид; O₂⁻ – супероксид анјон радикал; CAT – каталаза; SOD – супероксид дисмутаза; GSH – глутатион; IL-6 – интерлеукин шест; TNF-α – туморске некрозе фактор алфа;

Анализа вредности праћених инфламаторних медијатора, редокс равнотеже и морфо-функционалних параметара након спроведеног програма обуке, је показала линеарном корелацијом повезаност:

- Апсолутна потрошња кисеоника остварује позитивну корелацију са релативном потрошњом кисеоника, телесном тежином, телесном висином и % мишића.
- Релативна потрошња кисеоника има позитивну корелацију са апсолутном потрошњом кисеоника и % мишића, док негативно корелира са % масти и индексом телесне масе.
- Телесна маса остварује позитивну корелацију са апсолутном потрошњом кисеоника, телесном висином и индексом телесне масе, а негативно са супероксид анјон радикалом.
- Телесна висина позитивно корелира са апсолутном потрошњом кисеоника и телесном масом, а негативно са супероксид анјон радикалом.
- Индекс телесне масе корелира позитивном везом са релативном потрошњом кисеоника, телесном масом и процентом масти, док негативно корелира са супероксид анјон радикалом.
- Процент масти позитивно корелира са индексом телесне масе, а негативно корелира са релативном потрошњом кисеоника и % мишића.
- Процент мишића позитивно корелира са релативном и апсолутном потрошњом кисеоника а негативно са % масти.
- Супероксид анјон радикал остварује негативну корелацију са телесном масом и телесном висином као и са индексом телесне масе.
- Супероксид дисмутаза негативно корелира са интерлеукином шест.
- Интерлеукин шест негативно корелира са супероксид дисмутазом и туморском некрозом фактор алфа.
- Туморска некроза фактор алфа корелира негативном корелацијом са интерлеукином шест.

V ДИСКУСИЈА

Последњих двадесет година је дошло до развоја свести о значају физичке активности на свеукупно здравље људи. У активну и дозирану тренажну активност улазе све социјалне, старосне и полне групације. Адаптација на мишићну активност представљена је путем системског одговора организма, у циљу обезбеђења бољих перформанси са мањим енергетским дефицитом. Адаптација у спорту тражи један интердисциплинарни приступ проблему, да би се добио одговор на велики број питања која су везана за оптимизацију тренинга.

5.1. МОРФОФУНКЦИОНАЛНЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ИСПИТАНИКА

Велики број истраживања је показао да између деце која се баве и која се не баве спортом, постоје значајне разлике у морфолошким, функционалним и моторичким карактеристикама (Molnar, 1998; Batričević, 2008; Radovanović *et al*, 2009; Vaxter-Jones *et al*, 1993).

Наше истраживање, упоређивањем младих фудбалера са контролном групом, је потврдило разлику у телесној висини и маси тела, са нижим вредностима код спортиста него код неспортиста, као и у модификацији телесног састава, у смислу значајног повећања удела мишићне, а смањења масне компоненте. У нашем истраживању је доказан и високо значајни утицај тренажног процеса на телесну висину и масу тела својим вишим вредностима након програма, као и на модификацију телесног састава кроз повећање процената мишићне масе, а смањења процената масне компоненте, код младих фудбалера након спроведеног програма.

Анализом фудбалске игре увиђамо да фудбалери врхунског ранга такмичења у сениорској конкуренцији, претрче 10-12km у 90-о минутној утакмици, интензитетом који је најближи анаеробном прагу, односно 80-90% максималне срчане фреквенце (Bangsbo *et al*, 1991; McMillan *et al*, 2005). Аеробни енергетски процеси омогућавају 90% енергије која је потребна за испуњење постављених задатака у току трајања једне утакмице (McMillan *et al*, 2005). Однос аеробно/анаеробни рад је у овој ситуацији 90/10% (Živanić *et al*, 2003). Из свега наведеног произилази да се од фудбалера очекује висок ниво аеробног капацитета и аеробне издржљивости.

Истраживања која се баве младим фудбалерима, а која су до сада спроведена, указала су да млади играчи показују ниже вредности максималне потрошње кисеоника у односу на сениоре, (испод 60 ml/kg/min) (Stolen *et al*, 2005), што потврђују и наши резултати који су добијени након спроведеног програма.

Код функционалних карактеристика спортиста у нашем истраживању (старости 12-13 година), се лако могу уочити промене изазване дуготрајном и програмираном физичком активношћу, без обзира на дужину тренажног стажа. Спортисти тестирани у нашем истраживању имали су значајно више нивое максималне потрошње кисеоника ($53,9 \pm 8,4$ vs $48,7 \pm 11,1$ ml/kg/min), а високо значајно веће вредности релативне потрошње кисеоника ($2523,1 \pm 421,7$ vs $2197,1 \pm 443,8$ ml/kg), након спроведеног шестомесечног програмираног физичког вежбања у односу на вредности које су остварили спортисти пре почетка програма што може бити показатељ да је спроведени програм био плански и организационо својим обимом и интензитетом добро испланиран.

Што се тиче корелације морфофункционалних способности, резултати које смо добили у нашој студији показују да:

- Телесна маса позитивно корелира са телесном висином, индексом телесне масе и % масти, док негативно корелира са релативном потрошњом кисеоника
- Телесна висинна корелира позитивно са телесном масом, индексом телесне масе и апсолутном потрошњом кисеоника
- Индекс телесне масе позитивно корелира са телесном масом, телесном висином и % масти, док негативну корелацију има са % мишића и релативном потрошњом кисеоника
- Процент масти корелира позитивном корелацијом са телесном масом, индексом телесне масе, а негативно корелира са % мишића и релативном потрошњом кисеоника
- Процент мишића позитивно корелира са релативном потрошњом кисеоника, а негативно са % масти и индексом телесне масе
- Релативна потрошња кисеоника има позитивну корелацију са % мишића и апсолутном потрошњом кисеоника док негативно корелира са телесном масом, индексом телесне масе и % масти

- Абсолютна потрошња кисеоника остварује позитивну корелацију са телесном висином и релативном потрошњом кисеоника

Када се говори о позитивној корелацији то означава да нивои вредности параметара који корелирају, или обострано расту, или обострано опадају, док је код негативне корелације обрнут принцип. Када вредност једног параметра опада, неминован је пораст другог корелирајућег параметра.

5.2. РЕДОКС СТАТУС ИСПИТАНИКА СПОРТИСТА И НЕСПОРТИСТА У БАЗАЛНИМ УСЛОВИМА

5.2.1. Промене редокс статуса испитаника спортиста и неспортиста пре спроведеног програма

У више истраживања је доказано да редовна и програмирана физичка активност повећава активност антиоксидативних ензима (Elosua *et al*, 2003; Miyazaki *et al*, 2001) и тако доводи до повећане отпорности на оксидативни стрес (Radak *et al*, 2008; Teixeira *et al*, 2009).

У току бављења спортом јавља се процес континуираног излагања спортиста различитим врстама стреса, што подстиче промене многобројних ћелијских процеса и физиолошких функција (Dröge, 2002; Tabata *et al*, 1996). Адаптације које су овако настале као последица тренажних стимулуса, омогућавају побољшање здравља спортиста као и резултате извођења спортских задатака.

У нашем истраживању спортисти су у односу на неспортисте имали значајно нижу активност антиоксидативних ензима (супероксид дисмутазе и каталазе) у миру, а ниво глутатиона у односу на неспортисте, а пре спроведеног програма је био значајно виши.

Нивои активности SOD код спортиста у односу на неспортисте су били виши након програма и као такви доказани у неким претходним истраживањима у различитим спортовима: рагбистима (Evelson *et al*, 2002), фудбалерима (Cazzola *et al*, 2003; Brites *et al*, 1999), скакачима (Ortenblad *et al*, 1997), као и на студентима Факултета за физичко васпитање (Balakrishnan and Anuradh, 1998). SOD, је ензим из првог реда одбране организма од оксидативних оштећења. Његова је активност била промењена у односу на друге параметре антиоксидативне заштите услед акутног, или хроничног вежбања у највећем броју истраживања, а представља и ензим чија се активност значајно разликовала у компарацији спортиста и неспортиста, или пак здравих и болесних испитаника (Groussard *et al*, 2003; Evelson *et al*, 2002).

Резултати добијени из нашег истраживања, спроведеног на младим спортистима, фудбалерима, у базалним условима, нису потврдили ефекте дугогодишњег редовног бављења физичким активностима на активност овог ензима код испитаника узраста 12-13 година.

Код објашњења нивоа каталазе постоје опречни подаци. Неке студије показују пораст активности, неке непостојање промена, а неке смањење активности овог ензима, као одговор на акутно и хронично излагање оксидативном стресу (Lekhi et al, 2007; Miyazaki et al, 2001; Metin et al, 2003; Ortenblad et al, 1997; Balakrishnan and Anuradh, 1998; Banfi et al, 2006).

Спортисти у нашем истраживању су имали значајно ниже нивое активности каталазе у односу на неспортисте, пре спроведеног програма, чиме се претпоставка о физичкој активности као важном и моћном фактору регулације редокс равнотеже овом нашом студијом не потврђује, при чему је неопходно имати у виду да су поменуте вредности измерене пре спроведеног шестомесечног тренажног програма.

За глутатион као неензимску компоненту антиоксидативног заштитног система, подаци показују да су његове промене сличне код здравих, болесних и испитаника повезаних са спортом, као и промене неензимских компоненти ADS-а.

Редовна физичка активност може да доведе до повећања нивоа глутатиона код спортиста (Kretzschmar and Müller 1993; Sen 1999). Исто тако, ниски нивои глутатиона су повезани са старењем и болестима јетре, плућа и неуродегенеративних болести (Samiec et al, 1998; Rahman and MacNee, 2000; Schulz et al, 2000).

У нашој студији се, за разлику од вредности CAT и SOD, ниво глутатиона својим вишим вредностима значајно разликовао од вредности глутатиона неспортиста у базалним условима. Наиме, када се узму у обзир разлике у сва три праћена параметра антиоксидативног статуса, између испитаника спортиста и неспортиста, а пре програма, може се потврдити да је код младих фудбалера, бављење спортом довело до значајних разлика нивоа свих ензима антиоксидативног заштитног система. Међутим први ниво одбране од оксидативног стреса у виду SOD, као и CAT су показале значајно ниже вредности код испитаника спортиста, док је глутатион показао изузетно

значајну разлику својим високим вредностима код спортиста у односу на седенталну популацију узраста 12-13 година. То може сугерисати да физичка активност не показује исти ефекат на све компоненте ADS, односно остварује позитивнији ефекат на његову другу линију (GSH) одбране од оксидативног стреса.

Стање прооксидативних параметара редокс равнотеже код испитаника спортиста и неспортиста у овој студији се може објаснити на следећи начин. Спортисти и неспортисти се нису значајно разликовали по нивоу краткоживеће врсте као што је супероксид ањон радикал чији је ниво био нижи код спортиста него код контроле. И азот моноксид се није значајно разликовао у нашем истраживању, док су се индекс липидне пероксидације и водоник пероксид као маркери оксидативних оштећења, значајно разликовали својим нижим вредностима код спортиста у односу на неспортисте. Глутатион има значајну улогу у одређивању плазматских вредности TBARS у миру (Laaksonen et al, 1999). Из тога произилази закључак да су у нашем истраживању ниже вредности TBARS код спортиста у односу на неспортисте, последица значајно вишег нивоа глутатиона код спортиста у односу на неспортисте.

Значајно нижи ниво водоник пероксида код спортиста у односу на неспортисте може бити условљен висином нивоа глутатиона, јер овај ензим учествује у елиминацији водоник пероксида директно и индиректно (као кофактор за глутатион пероксидазу).

Параметри морфо функционалних способности у виду максималне потрошње кисеоника у току прогресивног растућег теста оптерећења, процента масти и процента мишића су показали да са вредностима про/антиоксиданата у базалним условима корелира само проценат масти и то са супероксид ањон радикалом у негативној корелацији.

Што се тиче корелације процентуалних промена про и антиоксидативних параметара које су се догодиле у базалним условима пре и након прогресивног растућег теста оптерећења, резултати које смо добили у нашој студији показују линеарном корелацијом повезаност на следећи начин:

- Индекс липидне пероксидације позитивно корелира са супероксид дисмутазом а негативно са глутатионом,

- Супероксид дисмутаза позитивно корелира са индексом липидне пероксидације а негативно корелира са глутатионом,
- Глутатион негативно корелира са индексом липидне пероксидације и супероксид дисмутазом.

5.2.2. Промене редокс статуса испитаника спортиста и неспортиста након шестомесечног тренажног програма

У нашиј студији смо добили вредности про/антиоксидативних параметара код младих фудбалера након спроведеног програмираног физичког вежбања у трајању од шест месеци а пре прогресивног растућег теста оптерећења и упоредили их са вредностима неспортиста.

Вредности нивоа првог одбрамбеног зида од оксидативних оштећења, SOD су биле и даље ниже код спортиста у односу на неспортисте.

Ниво активности САТ је био виши код спортиста и показао је високо значајну статистичку разлику и значајно вишу активност у односу на неспортисте. Овим се недвосмислено потврђује да је физичка активност веома битан и неизбежан фактор у регулацији редокс равнотеже кроз значајно виши ниво активности САТ.

Активност глутатиона се у нашој студији показана као значајно нижа код спортиста у односу на неспортисте, али након програма што се може објаснити и значајно нижом вредношћу водоник пероксида, па стога ни глутатион није активиран. Предходно смо показали да активност супероксид ањон радикала стимулише продукцију глутатиона због њихове међусобне директне и индиректне реакције.

Значајно виша биодоступност азот монооксида код спортиста је адаптација која је изазвана редовним вежбањем. Редовно упражњавање физичких активности повећавају ниво азот монооксида, па се на овај начин могу објаснити позитивни ефекти вежбања на кардиоваскуларни систем. Значајно виши ниво азот монооксида код спортиста у поређењу са неспортистима, може да буде последица активности антиоксидативног заштитног система. Антиоксидативни заштитни систем елиминише супероксид ањон радикал и тако неутралише количину овог ензима, који би реаговао са азот моноксидом и

створио пероксинитрит. На овај начин би се као последица јавила оксидативна оштећења (Jungersten et al, 1997).

Са друге стране, ниже вредности ова два параметара након спроведеног програма (O_2^- , H_2O_2), а пре прогресивног растућег теста оптерећења, се не може са сигурношћу објаснити. Једно од могућих објашњења за овако добијене резултате се може наћи у порасту нивоа супероксид дисмутазе (улога му је да разграђује O_2^-), и порасту вредности каталазе који чисти водоник пероксид (H_2O_2).

5.3. ПРОМЕНЕ РЕДОКС СТАТУСА КОД ИСПИТАНИКА СПОРТИСТА ИЗАЗВАНЕ ШЕСТОМЕСЕЧНОМ ПРОГРАМИРАНОМ ФИЗИЧКОМ АКТИВНОШЋУ

Дошло је до значајног увећања вредности азот монооксида као и индекса липидне пероксидације, код испитаника спортиста након спроведеног програмираног физичког вежбања у трајању од шест месеци. Супероксид ањон радикал је имао нижу али не и значајно нижу вредност након спроведеног програма док је без значајности, али са вишим нивоом активације био резултат водоник пероксида.

Што се тиче антиоксиданата, вредности супероксид дисмутазе и каталазе с се значајно увећале и својим вредностима и деловањем смањују дејство оксидативног стреса, док су вредности глутатиона код испитаника спортиста након спроведеног програма биле значајно изузетно ниже у односу на његов ниво пре спровођења програма. Резултати у нашој студији се подударују са неким ранијим истраживањима да након фудбалског тренинга долази до пораста нивоа активности каталазе и супероксид дисмутазе (Escobar et al, 2009). Нека истраживања показују да је код спортиста фудбалера након одигране утакмице у виду акутне физичке активности, дошло до пораста каталазе и глутатион пероксидазе, а однос редукованог и оксидованог глутатиона се смањио (Fatouros et al, 2010).

Током вежбања, процес којим се испоручује кисеоник неопходан за функционисање мишића може да доведе до оштећења полинезасићених масних киселина у мембранским структурама. Овај процес у току вежбања изазива

индекс липидне пероксидације (TBARS). Индекс липидне пероксидације показује да вежбање изазива оксидативна оштећења (Jenkins, 2000). Бројна истраживања су показала да програмирана физичка активност повећава продукцију липидне пероксидације (Dillard et al, 1978; Allesio and Goldfarb, 1988). Слични су резултати добијени и у нашој студији, где смо забележили пораст нивоа TBARS после шестомесечног програма обуке (табела 2). Група Зорпи и сарадници (Zorpi et al, 2006) су доказали да витамини Ц и Е као суплементација утичу на смањивање нивоа TBARS и тако могу спречити негативан ефекат тренинга професионалних фудбалера.

Повећање производње ROS као што су O_2^- и H_2O_2 у митохондријама долази током вежбања (Urso and Clarkson, 2003). У нашем истраживању нисмо наишли на значајне промене у вредностима O_2^- и H_2O_2 изазване програмираним обимом, интензитетом и тренажним интервалом током програма. Овај резултат се подудара са недавно спроведеним истраживањем, у коме такође није дошло до значајних промена у базалним вредностима O_2^- код различитих спортских типова (Cubriilo et al, 2011).

У односу на добијене резултате антиоксидативних маркера, најлогичније и највероватније објашњење је у побољшаној активности антиоксидативног одбрамбеног система (AOS) као одговор на повећану производњу RONS током месеца обуке кроз планирану и програмирану физичку активност. Каталаза разлаже H_2O_2 док супероксид дисмутаза разлаже O_2^- . На овај начин добро припремљен антиоксидативни одбрамбени систем не дозвољава превелику акумулацију O_2^- и H_2O_2 , а омогућава њихово ефикасно неутрализовање.

Фудбалери имају редовне аеробне и анаеробне програме обуке који директно утичу на побољшање функционалних способности као и издржљивости у току такмичарске сезоне. Прекомерна производња RONS, које се могу јавити заједно са овом врстом вежбања, показује да се услед тога повећава и антиоксидативна способност организма. То омогућава спортистима да се ефикасније изборе са оксидативним стресом (Powers et al, 1999). Бројна истраживања, показују да спортисти имају много активнији антиоксидативни одбрамбени систем од неспортиста (Teixeira et al, 2009; Urso and Clarkson, 2003). Разлике у активности антиоксидативне заштите могу се јавити у зависности од трајања тренажног процеса (Teixeira et al, 2009).

У нашем истраживању смо испитивали антиоксидативни капацитет код младих фудбалера мерењем три анти-оксидантна ензима - CAT, SOD и GSH. Наши резултати показују да је након завршетка шестомесечног програма обуке, дошло до повећања активности SOD и CAT, док је GSH смањен, у односу на период пре спровођења шестомесечног програма обуке. Оваква реакција антиоксидативних ензима може бити повезана са висином нивоа O_2^- и H_2O_2 после програма. Закључујемо да већа активност SOD (конвертује O_2 у молекуларни кисеоник и водоник пероксид), и CAT (конвертује H_2O_2 у воду и молекуларни кисеоник) код наших спортиста, спречавају продукцију штетних молекула као што су O_2^- и H_2O_2 . Слично томе су пронашли у свом истраживању Метин и сарадници (Metin et al, 2003), а то је повећање SOD активност код младих мушкараца фудбалера после пет месеци такмичарске сезоне. Постоје студије које указују да нема никаквих промена у активности CAT које би настале као последица вежбања (Miyazaki et al, 2001; Pere et al, 2009). У нашем истраживању пораст нивоа CAT може да указује да током шестомесечног спровођења програма обуке, антиоксидативни заштитни систем има више времена да се прилагоди и неутралише ензиме оксидативног стреса. Недавна студија је показала да је нешто виши ниво активност SOD и нижи ниво активност CAT у врхунских спортиста (Pesic et al, 2012), последица хроничног интензивног вежбања.

Ово повећање антиоксидативних ензима указују на позитивне ефекте шестомесечног програма обуке код младих мушкараца фудбалера. Детерминисаним GSH смо испитали антиоксидативни статус код групе спортиста. У нашем истраживању, шестомесечна програмирана физичка активност је изазвала пад нивоа GSH, што је у складу са већим бројем истраживања (Svensson et al, 2002; Sastre et al, 1992). Показало се да је пад нивоа GSH као главног интрацелуларног антиоксиданса компензовано са повећањем активности CAT. Наше истраживање показује да интрацелуларни антиоксидативни систем може бити угрожен хроничном физичком активношћу (Djujic et al, 2003; Fisher-Wellman and Bloomer, 2009).

5.4. ИНФЛАМАТОРНИ МЕДИЈАТОРИ ИСПИТАНИКА У БАЗАЛНИМ УСЛОВИМА ПРЕ И НАКОН СПРОВЕДЕНОГ ПРОГРАМА

Нека истраживања су показала да значајно повишен ниво IL-6 у току, а и након веома напорног тренинга зависи од интензитета и природе мишићне контракције (Smith et al, 2000; Pedersen and Toft, 2000).

Pedersen и сарадници (Pedersen and Toft, 2000), и каснија истраживања као што су Richards и сарадници (Richards and Gaulder, 1998) показују да инфламаторни одговор IL-6 у периоду после вежбања није користан, а ни неопходан за развој мишића.

Al-Shanti и сарадници (Al-Shanti et al, 2008) у *in vitro* студији показују да IL-6 у комбинацији са TNF- α представља организатора пролиферације ћелија миобласта (матичне ћелије из којих се развија мишићно ткиво). Овако IL-6 као да има и позитивне и негативне ефекте, који су у вези са регенерацијом мишића.

Разлика предходно наведених истраживања у односу на нашу студију се огледа у чињеници да су инфламаторни медијатори праћени углавном и току акутне физичке активности (у току тренинга или непосредно након завршене утакмице).

У нашем истраживању смо поређењем базалних вредности инфламаторних цитокина код спортиста и неспортиста показали да не постоји статистички значајна разлика. У поређењу резултата неспортиста са вредностима спортиста, након шестомесечне програмиране физичке активности показују да су вредности IL-6 код спортиста, након спроведеног програма обуке у базалном мерењу, значајно ниже у односу на неспортите. Ови резултати јасно потврђују нашу хипотезу да, уколико је пажљиво планирана и стручно вођена, физичка активност смањује инфламаторни одговор организма на физички стрес.

5.4.1. Промене вредности инфламаторних медијатора код спортиста под утицајем спроведеног програма

У ранијим истраживањима се показало да у току самог вежбања долази до повећања концентрације IL-6 у крвној плазми (Steensberg et al, 2000; Steensberg et al, 2002). Неке студије показују да након акутног вежбања долази до повећане концентрације IL-6 док се концентрација TNF- α није повећала, дејством IL-6 као анти-запаљинског цитокина блокирајући продукцију TNF- α (Starkie et al, 2003).

Ако је повишен ниво IL-6 одговор оштећења мишића, онда не утиче на развој мишића, ако је смањен ниво IL-6, може позитивно утицати на време опоравка од физичког вежбања. Постоје докази који наводе да је продукција цитокина након оштећења мишића повезана са одложеним почетком бола у мишићима (DOMS) (Smith et al, 2000; Richards and Gaulder, 1998; Northoff and Berg 1991; Pedersen and Toft, 2000).

Након спроведеног шестомесечног програма обуке код наших испитаника спортиста старости између 12-13 година добили смо резултате који показују значајну статистичку разлику у виду смањења продукције IL-6 након програма, док се концентрације TNF- α пре и након спроведеног програма, не разликују статистички. Статистички значајна разлика се показала код спортиста и након поређења резултата после прогресивног растућег теста оптерећења. Значајна разлика се јавила у продукцији IL-6, у виду смањене продукције након спроведеног шестомесечног програма обуке. Ови резултати још једном доказују да плански спроведена физичка активност код спортиста ове узрасне доби може смањити инфламаторна оштећења, што може значајно помоћи у планирању тренажног процеса.

5.4.2. Промене параметара про и анти инфламаторних цитокина у крви спортиста пре и после спроведеног програма обуке, а пре и после прогресивног растућег теста оптерећења

За време запаљинских процеса се излучују упални цитокини као што су TNF- α , IL-1 и IL-6. IL-6 тада почиње да потискује лучење TNF- α и IL-1, активирајући стварање реактанта акутне фазе из јетре и стимулише осовину хипоталамус-хипофиза-надбубрежна жлезда и на тај начин помаже контроли упалне реакције (Malm, 2002; Pedersen et al, 2001). На овај начин IL-6, је проинфламаторни и антиинфламаторни цитокин (Lyson and McCann, 1991).

У нашој студији је код спортиста старости 12-13 година дошло до повећања нивоа IL-6, али не статистички значајног. Очигледно је да акутна физичка активност, као што је познато, повећава инфламаторни одговор организма, али прогресивни тест оптерећења показује да је то недовољно да би било и статистички значајно. Проинфламаторни цитокин TNF- α показао је статистички значајну разлику у мерењу пре и након прогресивног растућег теста оптерећења, али пре спровођења програма обуке. Ова разлика се огледа у повећаном лучењу овог цитокина непосредно након прогресивног растућег теста оптерећења што објашњавамо тренутним акутним физичким напором. Из овог изводимо закључак да је акутна физичка активност у виду прогресивног растућег теста оптерећења, довела до повишеног лучења проинфламаторног цитокина (TNF- α), али да је недовољно дуго трајала да би довела до значајнијег антиинфламаторног одговора (IL-6).

Након спроведеног тренажног процеса у виду шестомесечне програмиране физичке активности, мерењем инфламаторних медијатора показала се статистички значајна разлика у виду смањења нивоа одговора IL-6 што заправо потврђују ранија истраживања да овај цитокин може да има и про и анти инфламаторну улогу у току и након физичког вежбања.

5.4.3. Разлике процентуалних вредности праћених параметара про и анти инфламаторних цитокина, пре и након шестомесечног програмираног физичког оптерећења

Наша студија показује да је мерено процентуалним променама, дошло до статистички значајне разлике у продукцији и IL-6 и TNF- α , што је показано статистички значајним смањењем процентуалних промена пре и после спроведеног шестомесечно програмиране физичке активности.

5.4.4. Корелација вредности морфофункционалних параметара, нивоа активности ензима оксидативног стреса и нивоа инфламаторних цитокина након шестомесечног програма обуке

Код морфо-функционалних параметара у овој корелацији значајну повезаност су остварили: апсолутна потрошња кисеоника позитивном корелацијом са релативном потрошњом кисеоника, телесном тежином, телесном висином и % мишића; релативна потрошња кисеоника, позитивном корелацијом са апсолутном потрошњом кисеоника и % мишића, а негативном корелацијом са % масти и индексом телесне масе; телесна маса позитивном корелацијом са апсолутном потрошњом кисеоника, телесном висином и индексом телесне масе, а негативном са супероксид анјон радикалом; телесна висина позитивном корелацијом са апсолутном потрошњом кисеоника и телесном масом, а негативном са супероксид анјон радикалом; индекс телесне масе својом позитивном везом са релативном потрошњом кисеоника, телесном масом и процентом масти, а негативном са супероксид анјон радикалом; проценат масти остварује позитивну везу са индексом телесне масе, а негативну са релативном потрошњом кисеоника и % мишића; и проценат мишића остварује позитивну везу са релативном и апсолутном потрошњом кисеоника а негативну са % масти.

Када се говори о активностима про и антиоксидативним ензимима, корелацију са морфофункционалним параметрима је показао прооксидант супероксид анјон радикал својом негативном корелацијом са телесном масом и

телесном висином као и са индексом телесне масе. Од антиоксиданата корелира једино супероксид дисмутаза негативном корелацијом са инфламаторним цитокином интерлеукином шест.

Интерлеукин шест који има негативну корелацију са супероксид дисмутазом има и негативу корелацију са проинфламаторним цитокином туморском некрозом фактор алфа.

Оваквом повезаношћу која је приказана кроз линеарну корелацију морфо-функционалних параметара, ензима редокс равнотеже и инфламаторних цитокина може да се објасни комплексна активација организма у смислу заштите од оксидационих оштећења и активације антиинфламаторног одговора у току и након шестомесечне програмиране физичке активности, која је спроведена на популацији спортиста старости 12-13 година.

VI ЗАКЉУЧЦИ

❖ **Морфологија**

Бављење спортом је у нашем истраживању доказало да поред биолошког развоја у току шестомесечног спровођења програма обуке, има велики утицај на праћене морфолошке параметре младих фудбалера, узраста 12-13 година. Спортисти су у односу на неспортисте имали значајно мање килограма телесне масе и процената масти, док су вредности процената мишића, биле високо значајно више код спортиста, него код седенталне популације истог узраста.

Што се тиче промена морфолошких карактеристика младих фудбалера пре и после спровођења програма шестомесечно планиране физичке активности, наша студија је доказала статистички значајне промене и побољшања у четири од пет праћених параметара. Након шестомесечног спровођења програма обуке, значајно веће вредности су забележене у телесној висини, телесној маси и у проценту мишића, док је проценат масти био значајно нижи након спроведеног програма обуке што су све параметри позитивног утицаја на физички развој младих спортиста узраста 12-13 година.

❖ **Инфламација**

Вредности инфламаторних медијатора код спортиста, у базалним условима, нису имали значајних разлика у односу на вредности инфламаторних цитокина код неспортиста. Код спортиста су се међутим, након спроведеног шестомесечно програмираног процеса обуке догодиле промене у нивоу активности инфламаторног цитокина (IL-6), значајно нижим нивоом активности. Овај резултат недвосмислено потврђује нашу хипотезу да, уколико је пажљиво планирана и стручно спроведена, програмирана физичка активност смањује инфламаторни одговор организма на физички стрес.

Исти закључак доносимо и поређењем нивоа инфламаторних цитокина, пре и након спроведене програмиране шестомесечне физичке активности код спортиста старосне доби 12-13 година. Дошло је до опадања нивоа активности инфламаторног цитокина (IL-6), што показује квалитетно и правилно планирање и спровођење шестомесечног тренажног процеса.

❖ **Редокс равнотежа**

У базалним условима се показало да спортисти имају значајно ниже вредности водоник пероксида и индекс липидне пероксидације у односу на контролну групу, коју су чинили неспортисти исте старосне доби, што доказује адаптацију организма на физичко вежбање које проузрокује оксидативни стрес. Значајно виша активности антиоксидативних ензима код спортиста, показала се само код глутатиона, што доказује његов утицај у базалним условима на нижу активност индекса липидне пероксидације код спортиста у односу на популацију неспортиста.

Код спортиста након шестомесечног програма обуке, у односу на неспортисте, доказан је значајно нижи ниво активности супероксид анјон радикала и водоник пероксида, док је ниво активности азот монооксида била значајно виша код спортиста. Разлог значајно ниже активности прооксиданата је активност антиоксидативних ензима, првог и другог реда одбране од оксидативних оштећења, каталазе и глутатиона. Виши ниво активности азот монооксида код испитаника спортиста у односу на неспортисте, потврђује нам позитиван утицај програмираног физичког вежбања на функције ендотела.

Планирана и програмирана физичка активност код спортиста адолесцената старости 12-13 година, довела је до значајних повећања активности прооксиданата, азот монооксида и индекса липидне пероксидације, након спроведене шестомесечне програмиране физичке активности, али и очекиваних позитивних промена у антиоксидативном одговору организма на могућа оштећења која могу да настану услед физичког оптерећења. Овај одговор организма се огледа у значајном повећању нивоа активности првог одбрамбеног зида антиоксидативних ензима (CAT и SOD), као неутралишућих ензима активираних прооксиданата, у циљу спречавања настанка оксидативних оштећења, услед спровођења програмиране физичке активности.

❖ Корелација морфо-функционалних параметара

Морфофункционални параметри младих фудбалера након спроведеног шестомесечне програмиране физичке активности, показује линеарном корелацијом статистички значајну повезаност следећих параметара: телесна

маса позитивно корелира са телесном висином, индексом телесне масе и апсолутном потрошњом кисеоника; телесна висина корелира позитивно са телесном масом и апсолутном потрошњом кисеоника; индекс телесне масе позитивно корелира са телесном масом и % масти, док негативну корелацију има са релативном потрошњом кисеоника; проценат масти корелира позитивном корелацијом са индексом телесне масе, а негативно корелира са % мишића и релативном потрошњом кисеоника; проценат мишића позитивно корелира са апсолутном и релативном потрошњом кисеоника, а негативно са % масти.

Што се тиче аеробне моћи, овом студијом доказујемо да су се вредности апсолутне и релативне потрошње кисеоника, као параметри за процену аеробне моћи статистички значајно увећале у групи младих фудбалера након спроведеног програма шестомесечне програмиране физичке активности. Код групе младих фудбалера, која је учествовала у овом истраживању се показало да постоји значајна позитивна и негативна корелација праћених морфофункционалних параметара. Релативна потрошња кисеоника остварује позитивну корелацију са % мишића и апсолутном потрошњом кисеоника, док негативно корелира са индексом телесне масе и % масти, док апсолутна потрошња кисеоника остварује позитивну корелацију са телесном масом, телесном висином, % мишића и релативном потрошњом кисеоника. Овако добијеним резултатима се доказује хипотеза о добро програмираној и планираној физичкој активности као позитивном фактору за побољшање морфофункционалних способности.

❖ **Корелација редокс равнотеже**

Када се говори о корелацији нивоа про и анти оксидативних маркера након спроведеног програма обуке, долазимо до статистички значајне повезаности: индекса липидне пероксидације позитивном корелацијом са супероксид дисмутазом, а негативном са глутатионом; значајне повезаности супероксид дисмутазе позитивном корелацијом са индексом липидне пероксидације а негативном са глутатионом; и негативном статистички

значајном повезаношћу глутатиона са индексом липидне пероксидације и супероксид дисмутазом.

Линеарном корелацијом праћеног про и анти инфламаторног цитокина доказали смо значајну повезаност активности IL-6 и TNF- α њиховом позитивном корелацијом, што представља веома битан инфламаторни одговор организма на запаљинске процесе услед физичке активности.

❖ Корелација свих праћених вредности (морфо-функционалних параметара, ензима редокс равнотеже и инфламаторних цитокина)

Међусобном корелацијом након програма обуке морфо-функционалних параметара, ензима редокс равнотеже и инфламаторних цитокина доводи, а на основу добијених резултата спровођењем шестомесечне програмиране физичке активности, до закључка да је међусобна повезаност свих корелирајућих фактора показала да добро планирана и програмирана физичка активност показује правовремену активацију антиоксиданата и антиинфламаторног цитокина.

Супероксид анјон радикал својом негативном корелацијом у овом нашем истраживању показује да уколико код морфолошких параметара, телесне висине, телесне тежине и индекса телесне масе дође до опадања њихових вредности аутоматски расте ниво активности овог прооксиданта што би требало да изазове активацију антиоксидативних ензима у смислу заштите организма од оксидативних оштећења. Супероксид дисмутаза као антиоксидативни ензим корелира негативно са интерлеукином шест као про и анти инфламаторним цитокином, док интерлеукин шест у својој негативној корелацији са TNF- α представља анти инфламаторни цитокин и својим нивоом активације свањује инфламаторни одговор организма на физички стрес.

VII ЛИТЕРАТУРА

1. Allesio HM, Goldfarb AH. Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptive response to training. *J Appl Physiol* 1988; 64: 1333-1336.
2. Al-Shanti N, Saini A, Faulkner SH and Stewart CE. Beneficial synergistic interactions of TNF- α and IL-6 in C2 skeletal myoblasts—Potential cross-talk with IGF system 2008; 26(2):61-73.
3. Antunes F, Salvador A, Marinxo HS, Alves R, Pinto RE. Lipid peroxidation in mitochondrial inner membranes. An integrative kinetic model. *Free Radic Biol Med* 1996; 21(7):917-43.
4. Antosiewicz J, Matuszkiewicz A, Olek RA, Kaczor JJ, Ziolkowski W, Wakabayashi T, Popinigis J. Content and redistribution of vitamin E in tissues of Wistar rats under oxidative stress induced by hydrazine. *Arch Environ Contam Toxicol* 2002; 42: 363-8.
5. Aruoma OI. Free radicals, antioxidants and international nutrition. *Asia Pac J Clin Nutr* 1999; 8(1):53-63.
6. Ashton T, Rowlands CC, Jones E, et al. Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise. *Eur J Appl Physiol* 1998; 77(6):498-502.
7. Astrand PO, Rodahl K, *Textbook of Work Physiology: Physiological Bases of Exercise*. New York, McGraw-Hill Company, 1986; pp. 300.
8. Auclair C, Voisin E. Nitroblue tetrazolium reduction. In Greenvald RA, editor. *Handbook of methods for oxygen radical research*. In Boca Raton, CRC Press; 1985; p. 123-132. Balakrishnan SD. and Anuradh CV. Exercise, depletion of antioxidants and antioxidant manipulation. *Cell Biochem Funct* 1998; 16: 269-275.
9. Balakrishnan SD. and Anuradh CV. Exercise, depletion of antioxidants and antioxidant manipulation. *Cell Biochem Funct* 1998; 16:269-275.
10. Banfi G, Malavazos A, Iorio E, et al. Plasma oxidative stress biomarkers. Nitric oxide and heat shock protein 70 in elite soccer players. *Eur J Appl Physiol* 2006; 96:483-486.
11. Bangsbo J. The physiology of soccer, with special reference to high-intensity intermittent exercise. *Acta Physiol Scand*, 1994; 151:S619.

12. Bassett DR. Jr. and Howley ET. Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance_Med Sci Sports Exerc 2000; 32: 70-84.
13. Batričević D. Diskriminativna analiza motoričkih i funkcionalnih sposobnosti sportski aktivnih i neaktivnih učenika. Sport Sci 2008; 1:50-53.
14. Baxter-Jones A, Goldstein H and Helms P. The development of aerobic power in young athletes. J Appl Physiol 1993; 75(3):1160-1167.
15. Bazan NG. Omega-3 fatty acids, pro-inflammatory signaling and neuroprotection, Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care, 2007; 10:136-141.
16. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly, Am J Physiol 1996; 271(5Pt1):C1424-C1437.
17. Bedard K, Krause KH. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. Physiol Rev 2007; 87(1):254-313.
18. Beutler E. Catalase. In: Beutler E. Red cell metabolism, a manual of biochemical methods. New York: Grune and Stratton 1982; p.105-6.
19. Blair SN, Kampret JB, Kohl HW, 3rd Balow CE, Macera CA, Paffenbarger RS Jr and Gibbons LW. Influences of cardiorespiratory fitness and other precursors on cardiovascular disease and all-cause mortality in man and women. JAMA 1996; 276: 205-210.
20. Bloomer RJ, Larson DE, Fisher-Wellman KH, Galpin AJ, Schilling BK: Effect of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid on resting and exercise-induced inflammatory and oxidative stress biomarkers: a randomized, placebo controlled, cross-over study. Lipids Health Dis 2009; 8:36.
21. Bojić M, Đurić D: Endotelu kardiovaskularnoj medicini. Institut za kardiovaskularne bolesti "Dedinje", Beograd, 1997.
22. Bolton-Smith C, Woodward M, Tavendale R. Evidence for age-related differences in the fatty acid composition of human adipose tissue, independent of diet. Eur J Clin Nutr 1997; 51:619-624.
23. Bompa TO. Periodization training for sports. 2005.
24. Boneberg EM and Hartung T. Molecular aspects of anti-inflammatory action of G-CSF. Inflamm. Res. 2002; 51: 119-128.

25. Bouchard D, Daw EW, Rice T, Perusse L, Gagnon J, Province MA, Leon AS, Rao DC, Skinner JS and Wilmore JH. Familiar resemblance for VO_{2max} in the sedentary state: the HERITAGE family study. *Med Sci Sports Exerc* 1998; 30: 252-258.
26. Brenner, I.K.M., V.M. Natale, P. Vasiliou, A.I. Moldoveanu, P.N. Shek, and R.J. Shephard. Impact of three different types of exercise on components of the inflammatory response. *Eur. J. Appl. Physiol.* 1999; 80: 452-460.
27. Brites FD, Evelson PA, Christiansen MG, et al. Soccer players under regular training show oxidative stress but an improved plasma antioxidant status. *Clin Sci* 1999; 96(4):381-5.
28. Brunelli L, Yermilov V, Beckman JS. Modulation of catalase peroxidatic and catalytic activity by nitric oxide. *Free Rad Biol Med.* 2001; 7: 709-14.
29. Bryant RW, Simon TC, Bailey JM: Hydroperoxy fatty acid formation in selenium deficient rat platelets: coupling of glutathione peroxidase to the lipoxygenase pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 1983; 117: 183-189.
30. Buettner GR, Antioxidant enzymes and functions. Naturally occurring antioxidants. *Oxygen*, Washington DC, USA, 1. 1998; 1-20.
31. Cadenas E. Biochemistry of oxygen toxicity. *Ann Rev Biochem* 1989; 58: 79-110.
32. Carr A, Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions. *Faseb J.* 1999; 13: 1007-24.
33. Cazzola R, Russo-Volpe S, Cervato G, Cestaro B. Biochemical assessments of oxidative stress, erythrocyte membrane fluidity and antioxidant status in professional soccer players and sedentary controls. *Eur J Clin Invest* 2003; 33(10):924-30.
34. Ceaser EK, Moellering DR, Shiva S, et al. Mechanisms of signal transduction mediated by oxidized lipids: the role of the electrophile-responsive proteome. *Biochem Soc Trans* 2004; 32 (Pt): 151-155.
35. Chance B, Sies H, and Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 1979; 59: 527-605.
36. Chang WC, Nakao J, Orimo H, Murota S: Effects of reduced glutathione on the 12-lipoxygenase pathways in rat platelets. *Biochem J* 1982; 202: 771-776.

37. Cheesman HK, Slater FT. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bulletin* 1993; 49: 481-93.
38. Childs, A., C. Jacobs, T. Kaminski, B. Halliwell, and C. Leeuwenburgh. Supplementation with vitamin C and N-acetyl cystein increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. *Free Rad. Biol. Med.* 2001; 31: 745-753.
39. Church TS, Blair SN, Cocreham S, *et al.* Effects of aerobic and resistance training on hemoglobin A1c levels in patients with type 2 diabetes: a randomized controlled trial. *JAMA* 2010; 304: 2253-62.
40. Clayden J, Greeves N, Warren S, Wothers P. *Organic chemistry.* Oxford, Oxfordshire: Oxford University Press. 2001; ISBN 0-19-850346-6.
41. Cohen G, Heikkila RE. The generation of hydrogen peroxide, superoxide radicals and hydroxyl radicals by 6-hydrodopamine, dialuric acid and related cytotoxic agents. *J Biol Chem* 1974; 249: 2447-2452.
42. Cooper CE, Vollaard NBJ, Choueiri T, *et al.* Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem Soc Trans* 2002; 30(2):280-5.
43. Costill DL, Fink WJ, Pollock ML. Muscle fiber composition and enzyme activities of elite distance runners. *Med Sci Sports* 1976; 8: 96-100.
44. Cotgreave LA, Moldeus P, Orrenius S. Host biochemicals defence mechanisms against prooxidants. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1988; 28: 189-212.
45. Coyle EF. Integration of physiological factors determining endurance performance ability. *Exerc Sport Sci Rev* 1995; 23: 25-63
46. Coyle EF, Martin WH 3rd, Sinacore DR, Joyner MJ and Holloszy JO. Time course of loss of adaptations after stoping prolonged intense endurance training. *J Appl Physiol* 1984; 57: 1857-1864.
47. Crowther JR. ELISA. Theory and Practice. *Methods Mol Biol* 1995;42:1-218.
48. Cunha GS, Ribeiro JL, Oliveira AR. Levels of beta-endorphin in response to exercise and overtraining. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2008; 52: 589-98.
49. Čepelak I, i Dodig S. Glutation i oksidacijski stres. *Biochem Med* 2004; 13: 93-100.
50. Čubrilo D, Djordjevic D, Zivkovic V, Djuric DM, Blagojevic DP, Spasic MB, Jakovljevic VLj. Oxidative stress and nitrite dynamics under maximal load in elite athletes: relation to sport type. *Mol Cell Biochem* 2011; 355: 273-279.

51. Čubrilo D. Sistemski efekti poremećaja redoks ravnoteže izazvanog intenzivnim treningom mladih fudbalera. Doktorska disertacija. Medicinski fakultet, Srbija: Univerzitet u Kragujevcu.
52. Davidson R, Taunton JE. Achilles tendinitis. *Med Sci Sports* 1987; 23: 71–79.
53. Dempsey JA. Is the lung built for exercise? *Medicine and Science in Sports and Exercise* 1986; 18: 143-155.
54. de Goede J, Verschuren WM, Boer JM, Kromhout D, Geleijnse JM. Alpha-linolenic acid intake and 10-year incidence of coronary heart disease and stroke in 20,000 middle-aged men and women in the Netherlands. *PLoS One* 2011; 6:e17967.
55. Depeint F, Gee JM, Williams G, et al. Evidence for consistent patterns between flavonoid structures and cellular activities. *Proc Nutr Soc* 2002; 61(1):97-103.
56. DeWitt DL, Day JS, Sonnenberg WK, Smith WL. Concentrations of prostaglandin endoperoxide synthase and prostaglandin I₂ synthase in the endothelium and smooth muscle in bovine aorta. *J Clin Invest* 1983; 72: 1882-1888.
57. Dickinson DA, Forman HJ. Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochem Pharmacol* 2002; 64:1019-26.
58. Dillard CJ, Litov RE, Savin WM, Tappel AL. Effects of exercise, vitamin E and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. *J Appl Physiol* 1978; 45:927-932.
59. di Prampero PE. Factors limiting maximal performance in humans. *Eur j Appl Physiol* 2003; 90:420-429.
60. Djuić I, Jozanov-Stankov O, Demajo M. Oxidative stress and antioxidant defence markers in the population of Serbia and Montenegro. *Physiol Pharmacol Acta* 2003; 39:121-128.
61. Doroshow JH. Anthracycline antibiotic-stimulated superoxide, hydrogen peroxide and hydroxyl radical production by NADH dehydrogenase. *Cancer Res* 1983; 43(10): 4543-51.
62. Drabkin D, Austin H. Spectrophotometric studies preparations from washed blood cells. *J Biol Chem* 1935; 112:51-65.

63. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002; 82:47-95.
64. Durstine JL, Pate RR, Sparling PB, Wilson GW, Senn MD and Bartoli WP. Lipid, lipoprotein, and iron status of elite women distance runners. *Int J Sports Med* 1987; 8: 119-123.
65. Đorđević VB, Pavlović DD. and Kocić GM. Karakteristike slobodnih radikala. In. *Biohemija slobodnih radikala* (Đorđević VB, Pavlović DD, and Kocić GM, es.). Tehnofarm d.o.o., Beograd, 2000; pp.7-69.
66. Eiserich JP, Patel RP, O'Donnell VB. Pathophysiology of nitric oxide and related species: free radical reactions and modification of biomolecules. *Mol Aspects Med* 1998; 19(4-5):221-357.
67. Ekblom B and Hermansen L. Cardiac output in athletes. *J Appl Physiol* 1968; 25: 619-625.
68. Elosua R, Molina L, Fito M, et al. Responce of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program, and to acute physical activity, in healthy young men and women. *Atherosclerosis* 2003; 167(2):327-334.
69. Epperly MW, Defilippi S, Sikora C, Gretton J, Greenberger JS. Radioprotection of lung and esophagus by overexpression of the human manganese superoxide dismutase transgene. *Mil Med* 2002; 167 (2 Suppl):71-3.
70. Eremija M. *Biologija razvoja čoveka sa osnovama sportske medicine - praktikum*. Beograd: FFK 1997.
71. Ernster L and Fosmark-Andree P: Ubiquinol an endogenous antioxidant in aerobic organisms. *Clin Investig* 1993; 71:S60-S65.
72. Escalante B, Omata K, Sessa W, Lee SG, Falck JR, Schwartzman ML: 20-hydroxyeicosatetraenoic acid is an endothelium-dependent vasoconstrictor in rabbit arteries. *Eur J Pharmacol* 1993; 235(1):1-7.
73. Escobar M, Oliveira MWS, Behr GA, et al. Oxidative stress in young football (soccer) players in intermittent high intensity exercise protocol. *JEPonline* 2009; 12(5):1-10.
74. Evelson P, Gambino G, Travacio M, et al. Higher antioxidant defences in plasma and low density lipoproteins from fuggy players. *Eur J Clin Invest* 2002; 32(11):818-25.

75. Evers AS, Murphee S, Saffitz JE, Jakschik BA, Needleman P: Effects of endogenously produced leukotriens, thromboxane and prostaglandins on coronaty vascular resistance in rabbit myocardial infarction. *J Clin Invest* 1985; 75: 992-999.
76. Fan YY, Chapkin RS. Importance of dietary gamma-linolenic acid in human health and nutrition. *J Nutr* 1998; 128:1411-1414.
77. Fatouros IG, Chatzinikolaou A, Douroudos II, et al. Time-course of changes in oxidative stress and antioxidant status responses following a soccer game. *J Strength Cond Res* 2010; 24(12):3278-3286.
78. Fernández-Checa JC, García-Ruiz C, Colell A et al. Oxidative stress: role of mitochondria and protection by glutathione. *Biofactors* 1998; 8(1-2):7-11.
79. Ferreira AR, Bonatto F, Pasquali MA, Polydor M, et al. Oxidative stress effects on the central nervous system of rats after acute exposure to ultra-high frequency electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics* 2006; 27: 487-493.
80. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Med* 2006; 36(4):327-358.
81. Fisher-Wellman K, Bloomer RJ: Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dynamic Medicine* 2009; 8:1-25.
82. Flynn A, Moreiras O, Stehle P, Fletcher RJ, Muller DJG, Roland V. Vitamins and minerals: a model for safe addition to foods. *Eur J Nutr* 2003; 42: 118-30.
83. Forman HJ. Use and abuse of exogenous H₂O₂ in studies of signal transduction. *Free Rad Biol Med* 2007; 42:926-32.
84. Frank J, Pompella A, Biesalski HK. Histochemical visualization of oxidant stress. *Free Radic Biol Med* 2000; 29(11):1096-105.
85. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem* 1995; 64: 97-112.
86. Fridovich I. Superoxide anion radical O₂⁻, superoxide dismutases, and related matters. *J Biol Chem* 1997; 272(30):1815-7.
87. Fry RW, Morton AR, Keast D. Overtraining in athletes. An update. *Sports Med* 1991; 12(1):32-65.
88. Gebremedhin D, Ma YH, Imig JD, Harder DR, Roman RJ. Role of cytochrome P-450 in elevating renal vascular tone in spotaneously hypertensive rats. *J Vasc Res* 1993; 30(1): 53-60.

89. Gorgen I, Hartung T, Leist M, Niehorster M, Tiegs G, Uhlig S, Weitzel F, and Wendel A. Granulocyte colony-stimulating factor treatment protects rodents against lipopolysaccharide-induced toxicity via suppression of systemic tumor necrosis factor- α . *J Immunol* 1992; 149: 918-924.
90. Green DJ, Maiorana A, O'Driscoll G, Taylor R. Effect of exercise training on endothelium-derived nitric oxide function in humans. *J Physiol* 2004; 561:1-25.
91. Green LC, Wagneg DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS and Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, and [^{15}N] nitrate in biological fluids. *Analytical Biochemistry* 1982; 126(1):131-138.
92. Groussard C, Rannou-Bekono F, Machefer G, et al. Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidant after a single sprint anaerobic exercise. *Eur J Appl Physiol* 2003; 89(1):14-20.
93. Grupa autora. Ed.: Nenad Ugrešić *Farmakoterapijski vodič 3*. 2006; ISSN 1451-4680.
94. Gutteridge JMC. Free Radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free Rad Res Commun* 1993; 19: 141-58.
95. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of medical physiology*. 9th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1999: 1040-1041.
96. Hagberg JM, Moore GE and Ferrell RE. Specific genetic markers of endurance performance and $\text{VO}_{2\text{max}}$. *Exerc Sport Sci Rev* 2001; 29: 15-19.
97. Halliday J. "Water 4 to introduce algae DHA/EPA as food ingredient". Retrieved 2007; 02-09.
98. Halliwell B. Antioxidant defense mechanisms: from the beginning to the end. *Free Rad Res* 1999; 31:261-72.
99. Halliwell B. Oxydants and human disease: some new concepts. *Faseb J*. 1987;1:358-364.
100. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med* 1991; 91(3C suppl): 14S-22S.
101. Halliwell B. and Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, New York 1999.

102. Halliwell B. and Gutteridge JMC. Mechanisms of damage by oxidative stress: Lipid peroxidation. In: Free Radicals in Biology and Medicine (Halliwell B, and Gutteridge JMC, eds.), 3rd ed., New York, Oxford University Press, 1999; pp. 294-313.
103. Halliwell B, and Gutteridge JMC. Oxygen and the Earth. In: Free Radicals in Biology and Medicine (Halliwell B, Gutteridge JMC, eds.), Clarendon Press, Oxford, 1985; pp. 1-20.
104. Halliwell B, Rafter J, Jenner A. Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidants or not? *Am J Clin Nutr* 2005; 81 (suppl): 268S-76S.
105. Han D, Williams E, and Cadenas E. Mitochondrial respiratory chain-dependent generation of superoxide anion and its release into the intermembrane space. *Biochem. J.* 2001; 2: 411– 416.
106. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005; 352:1685-95.
107. Haram PM. Genetic vs. acquired fitness: metabolic, vascular and cardiomyocyte adaptations. Doctoral thesis. Faculty of Medicine, Trondheim: Norwegian University of Sciences and Technology. 2006;
108. Harder DR, Campbell WB, Roman RJ: Role of cytochrome P-450 enzymes and metabolites of arachidonic acid in the control of vascular tone. *J Vasc Res* 1995; 32(2): 79-92.
109. Hardman WE. "(n-3) Fatty Acids and Cancer Therapy". *Journal of Nutrition* 2004; 134(12):3427S.
110. Hartung T, von Aulock S. and Wendel A. Role of granulocyte colony-stimulating factor in infection and inflammation. *Med Microbiol Immunol.* 1998; 187: 61-69.
111. Hartung T. Immunomodulation by colony stimulating factors. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1999; 136: 1-164.
112. Heffner, JE and Repine J E. Pulmonary strategies of an antioxidant defense. *Am. Rev. Respir Dis* 1989; 140: 531-554.
113. Hellsten Y, Tullson PC, Richter EA, et al. Oxidation of urate in human skeletal muscle during exercise. *Fre Radic Biol Med.* 1997; 22(1-2):169-74.

114. Hellsten, Y, Frandsen U, Orthenblad N, Sjodin B, and Richter EA. Xanthine oxidase in human skeletal muscle following eccentric exercise: a role in inflammation. *J Physiol* 1997; 498:239-248.
115. Henning L, Volkert S, Niels FO. Fitness consultations in routine care of patients with type 2 diabetes in general practice: an 18-month non-randomised intervention study. *BMC Family Practice* 2010; 11:83.
116. Hill A. V. and Lupton H. Muscular Exercise, Lactic Acid, and the Supply and Utilization of Oxygen. (1923) *Q J Med os-16* (62):135-171.
117. Hoppeler H and Weibel ER. Structural and functional limits for oxygen supply to muscle. *Acta Physiol Scand* 2000; 168: 445-456.
118. Hu W, Charles IG, Moncada S. Nitric oxide: orchestrating hypoxia regulation through mitochondrial respiration and the endoplasmic reticulum stress response. *Cell Res* 2005; 15(1):63-5.
119. Huan M, Hamazaki K, Sun Y, Itomura M, Liu H, Kang W, Watanabe S, Terasawa K, Hamazaki T. "Suicide attempt and n-3 fatty acid levels in red blood cells: a case control study in China" (abstract). *Biological Psychiatry* 2004; 56(7):490-6.
120. Hussain SP, Hofseth LJ, Harsi CC. Radical causes of cancer. *Nature Rev Cancer* 2003; 3: 276-85.
121. Ignarro LJ, Byrns R, Buga GM, Wood RS, Chaudhuri G. Pharmacological evidence that endothelium-derived relaxing factor is nitric oxide: use of pyrogallol and superoxide dismutase to study the endothelium-dependent and nitric oxide elicited vascular smooth muscle relaxation. *J Pharmacol Exp Ther* 1987; 244:181-189.
122. Jacob C, Winyard PG. Redox signaling and regulation in biology and medicine. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. 2009; p. 13-40.
123. Jenkins RR. Exercise and oxidative stress methodology: a critique. *Am J Clin Nutr* 2000; 72:670S-674S.
124. Jensen K, Johansen L, Secher NH. Influence of body mass on maximal oxygen uptake: effect of sample size. *Eur J Appl Physiol* 2001; 84: 201-205.
125. Ji LL. Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999; 222:283-292.

126. Jicha GA, Markesbery WR. Omega-3 fatty acids: potential role in the management of early Alzheimer's disease, *Clin Interv Aging*, 2010; 5:45-61.
127. Johnson MM, Swan DD, Surette ME, Stegner J, Chilton T, Fontech AN, Chilton FH. Dietary supplementation with γ -linolenic acid alters fatty acid content and eicosanoid production in healthy humans. *J Nutr* 1997; 127:1435-1444.
128. Jovanovic I, Radosavljevic G, Pavlovic S, Zdravkovic N, Martinova K, Knezevic M, Zivic D, Lukic ML and Arsenijevic N. Th-17 cells as novel participant in immunity to breast cancer. *Serb. J. Exp. Clin. Res.* 2010. 11: 59-65.
129. Jovanovic I, Radosavljevic G, Mitrovic M, Lisnic Juranic V, McKenzie ANJ, Arsenijevic N, Jonjic S. and Lukic ML. ST2 Deletion Enhances Innate and Acquired Immunity to Murine Mammary Carcinoma. *Eur J Immunol.* 2011; 41: 1902-1912.
130. Jungersten L, Ambring A, Wall B, Wennmalm A. Both physical fitness and acute exercise regulate nitric oxide formation in healthy humans. *J Appl Physiol* 1997; 82:760-764.
131. Kanstrup IL, Ekblom B. Blood volume and hemoglobin concentration as determinants of maximal aerobic power. *Med Sci Sports Exerc* 1984; 7:553-558.
132. Kapoor R, Huang YS: Gamma linolenic acid: an antiinflammatory omega-6 fatty acid. *Curr Pharm Biotechnol* 2006; 7:531-534.
133. Karlsson SL, Marklund SL. Extracellular superoxide dismutase in the vascular system of mammals. *Biochem J* 1988; 255: 223-8.
134. Kaur H, Halliwell B. Action of biologically- relevant oxidizing species upon uric acid: identification of uric acid oxidation products. *Chem-Biol Interactions* 1990; 73:235-47.
135. Kehrer J. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit Rev Toxicol* 1993; 23: 21-48.
136. Keller GA, Worner TG, Steimer KS, Halliwell RA. CuZn-superoxide dismutase is peroxisomal enzyme in human fibroblast and hepatoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 7381-5.
137. Koppenol WH. The basic chemistry of nitrogen monoxide and peroxyxynitrite. *Free Radic Biol Med* 1998; 25(4-5):385-91.
138. Koraćević D, Bjelaković G, Đorđević V, Nikolić J, Pavlović D, Kocić G. *Biohemija. Savremena administracija* 2006.

139. Korshunov SS, Skulachev VP, Starkov AA. High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria. *FEBS Lett* 1977; 416(1):15-8.
140. Kosmidou I, Vassilakopoulos T, Xagorari A, Zakyntinos S, Papapetropoulos A, and Roussos C. Production of interleukin-6 by skeletal myotubes: role of reactive oxygen species. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 26:587–593.
141. Kretzschmar M, Müller D. Aging, training and exercise. A review of effects on plasma glutathione and lipid peroxides. *Sports Medicine* 1993; 15(3):196-209.
142. Kvam E, Tyrrell R. M. : Artificial background and induced levels of oxidative base damage in DNA from human cells, Short communication, *Carcinogenesis*, vol 18 no 11 pp. 2281 - 2283, 1997.
143. Kyle UG, Bosaeus I, De Lorenzo AD, et al. Bioelectrical impedance analysis - part I: reveiw of principles and methods. *Clin Nutr* 2004; 23(5):1226-43.
144. Laaksonen DE, Atalay M, Niskanen L, Uusitupa M, Hanninen O, Sen CK. Blood glutathione homeostasis as a determinant of resting and exercise-induced oxidative stress in young men. *Redox Rep* 1999; 4(1-2):53-59.
145. LaMonte MJ, Fitzgerald SJ, Levine BD, Church TS, Kampert JB, Nichaman MZ, Gibbons LW and Blair SN. Coronary artery, calcium, exercise tolerance and CHD events in asymptomatic men. *Atherosclerosis* 2006; 189:157-162.
146. Lancaster GI, Halson SL, Khan Q, Drysdale P, Jeukendrup AE, Drayson MT, Gleeson M. The effects of acute exhaustive exercise and intensified training on type 1/type 2 T cell distribution and cytokine production. *Exerc Immunol Rev* 2004; 10:91–106.
147. Langsjoen PH, Folkers K, Lyson K, Muratsu K, Lyson T, Langsjoen P. Pronounced increase of survival of patients with cardiomyopathy when treated with coenzyme Q10 and conventional therapy. *Int A Tissue React* 1990; 12(3):163-8.
148. Lauritzen I, Blondeau N, Heurteaux C, Widmann C, Romey G, Lazdunski M. Polyunsaturated fatty acids are potent neuroprotectors. *EMBO J.* 2000; 19: 1784-1793.
149. Lyson K, McCann SM. The effect of interleukin- 6 on pituitary hormone release in vivo and in vitro. *Neuroendocrinology* 1991; 54: 262-6.

150. LeBreton GC, Venton DL, Enke SE, Halushka PV: 13-Azaprostanoic acid: a specific antagonist of the human blood platelet thromboxane/endoperoxide receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76: 4097-4101.
151. Lekhi C, Guptqa PH, Singh B. Influence of exercise on oxidant stress products in elite indian cyclists. *Br J Sports Med* 2007; 41(10):691-3.
152. Lelli JL, Becks LL, Dabrowska MI, Hinshaw DB: ATP converts necrosis to apoptosis in oxidant-injured endothelial cells. *Free Rad.Biol.Med.* 1998; 25: 694-702.
153. Lenn J, Uhl T, Mattacola C, Boissonneault G, Yates J, Ibrahim W, Bruckner G: The effects of fish oil and isoflavones on delayed onset muscle soreness. *Med Sci Sports Exerc* 2002; 34(10):1605-13.
154. Levin G, Duffin KL, Obukowicz MG, Hummert SL, Fujiwara H, Needleman P, Raz A. Differential metabolism of dihomo-gamma-linolenic acid and arachidonic acid by cyclo-oxygenase-1 and cyclo-oxygenase-2: implications for cellular synthesis of prostaglandin E1 and prostaglandin E2. *Biochem J* 2002; 365:489-496.
155. Levine BD and Stray-Gundersen J. Exercise at high altitude: effect of moderate-altitude acclimatization with low-altitude training on performance. *J Appl Physiol* 1997; 83:102-112.
156. Lim JS, Hwang JS, Lee JA, et al. Cross-calibration of multi-frequency bioelectrical impedance analysis with eight-point tactile electrodes and dual-energy X-ray absorptiometry for assessment of body composition in healthy children aged 6-18 years. *Pediatr Int* 2009; 51(2):63-8.
157. Liu X, Miller MJ, Joshi MS, Sadowska-Krowicka H, Clark DA, Lancaster JR Jr. Diffusion-limited reaction of free nitric oxide with erythrocytes. *J Biol Chem* 1998; 273-(30):18709-13.
158. Livrea MA, Tesoriere L, Bongiorno A, et al. Contribution of vitamin A to the oxidation resistance of human low density lipoproteins. *Free Radic Biol Med* 1995; 18(3):401-9.
159. Lo YY, Wong JM, Crus TF. Reactive oxygen species mediate cytokine activation of c-Jun NH2-terminal kinases. *J Biol Chem* 1996; 271(26):16703-7.

160. Logan AC. Neurobehavioral aspects of omega-3 fatty acids: possible mechanisms and therapeutic value in major depression, *Altern. Med. Rev.*, 8: 410-425 2003;.
161. Loh HH, Law PY. The role of membrane lipids in receptor mechanisms, *Annu. Rev. Pharmacol Toxicol* 1980; 20: 201-234.
162. Lucia A, Gomez-Gallego F, Chicharro JL, Hoyos A, Celaya K, Cordova A, Villa G, Alonso JM, Barriopedro M, Perez M, and Earnest CP. Is there an association between ACE and CKMM polymorphisms and cycling performance status during 3-week races? *Int J Sports Med* 2005; 26:442-447.
163. Ma YH, Gebremedhin D, Schwartzman ML, Falck JR, Clark JE, Masters BS, Harder DR, Roman RJ: 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid is an endogenous vasoconstrictor of canine renal arcuate arteries. *Circ Res* 1993; 71(1): 126-136.
164. Ma YS, Stone WL, Leclair IO. The effects of vitamin C and urate on the oxidation kinetics of human low-density lipoprotein. *Proc Soc Exp Biol Med* 1994; 206:53-9.
165. Maas RL, Brash AR, Oates JA: A second pathway of leukotriene biosynthesis in porcine leukocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 5523-5527.
166. Maclouf J, Fruteau de Lacroix B, Borgeat P. Stimulation of leukotriene biosynthesis in human blood leukocytes by platelet-derived 12-hydroperoxy-eicosatetraenoic acid. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79: 6042-6046.
167. Macura M. *Biologija razvoja čoveka sa osnovama sportske medicine – praktikum*. Beograd: Fakultet sporta i fizičkog vaspitanja 2006.
168. Magee P, Pearson S, Allen J. The omega-3 fatty acid, eicosapentaenoic acid (EPA), prevents the damaging effects of tumour necrosis factor (TNF)-alpha during murine skeletal muscle cell differentiation. *Lipids Health Dis* 2008; 7: 1-24.
169. Malina RM, Eisenmann JC, Cumming SP, Ribeiro B and Aroso J. Maturity-associated variation in the growth and functional capacities of youth football (soccer) players 13–15 years. *European Journal of Applied Physiology* 2004; 91:5-6, 555-562.
170. Malm, C. Exercise Immunology: A skeletal perspective. *Exerc Immunol Rev* 2002; 8:116-167.

171. Malm C, Nyberg P, Engstrom M, Sjodin B, Lenkei R, Ekblom B, and Lundberg I. Immunological changes in human skeletal muscle and blood after eccentric exercise and multiple biopsies. *J Physiol* 2000; 529: 243-262.
172. Mankura M, Kayama H, "AA, EPA, DHA–HUFA Polyunsaturated Fatty Acid," ed. by Kayama H, Kouseisya-Kouseikaku, Tokyo, 1995.
173. Marinho HS, Antunes F, Pinto RE. Role of glutathione peroxidase and phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in the reduction of lysophospholipid hydroperoxides. *Free Radic Biol Med* 1997; 22(5):871-83.
174. Martin WH III, Coyle EF, Bloomfield SA, Ehsani AA. Effects of physical deconditioning after intense endurance training on left ventricular dimensions and stroke volume. *J Am Coll Cardiol*. 1986; 7: 982–989.
175. Martins RA, Veríssimo MT, Manuel J Coelho e Silva, Sean PC, Teixeira AM. Effects of aerobic and strength-based training on metabolic health indicators in older adults. *Lipids in Health and Disease* 2010; 9:76.
176. Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C, Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidants compounds in biological systems. Involvement of glutathione and glutathione related enzymes. *J Nutrit Biochem* 2005; 16: 577-586.
177. Mastaloudis A, Leonard SW, Traber MG. Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Radic Biol Med* 2001; 31(7):911-22.
178. Matsuyama W, Mitsuyama H, Watanabe M, Oonakahara K, Higashimoto I, Osame M, Arimura K. Effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids on inflammatory markers in COPD. *Chest* 2005; 128(6):3817-27.
179. Mayer B and Hemmens B. Biosynthesis and action of nitric oxide in mammalian cells. *Trend Biochem Sci* 1997; 22(12):477-481.
180. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase an enzymatic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J Bio Chem* 1969; 244: 6049-55.
181. McMillan K, Helgerud R, Hoff J. Physiological adaptations to soccer specific endurance training in professional youth soccer players. *Br J Sports Med* 2005; 39:273-7.
182. McNeil CJ, Banford JC, Brown DH, Smith WE. A relationship between thiols and the superoxide ion. *FEBS Lett* 1981 Oct 12; 133(1): 175-7.
183. Meister A, Anderson ME. Glutathione. *Annu Rev Biochem* 1983; 52: 710-60.

184. Meister A. Glutathione biosynthesis and its inhibition. *Methods Enzymol* 1995; 252:26-30.
185. Metin G, Atukeren P, Alturfan A, Gulyasar T, Kaya M and Gumustas KM. Lipid preoxidation, erythrocyte superoxide-dismutase activity and trace metals in young male soccerers. *Yons Med J* 2003; 44:979-986.
186. Metin G, Gumustas MK, Uslu E, et al. Effect of regular training on plasma thiols, malondialdehyde and carnitine concentrations in young soccer players. *Chin J Physiol* 2003; 46(1):35-9.
187. Michiels C, Raes M, Hoibion A, Ramaele J. Association of antioxidant system in the protection of human fibroblasts against oxygen derived free radicals. *Free Rad Res Commun* 1991; 14: 323-4.
188. Minnaugh EG, Gram TE, Trush MA. Stimulation of mouse heart and liver microsomal lipid peroxidation by anthracycline anticancer drugs: characterization and effects of reactive oxygen scavengers. *J Pharmacol Exp Ther* 1983; 226(3):806-16.
189. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide-anion in the autooxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem* 1972; 247:3170-3175.
190. Miyazaki H, Oh-ishi S, Ookawara T, Kizaki T, Toshinai K, Ha S, Haga S, Ji LL, Ohno H. Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. *Eur J Appl Physiol* 2001; 84:1-6.
191. Moldovan L, Moldovan NI. Oxygen free radicals and redox biology of organelles. *Histochem Cell Biol* 2004; 122: 395-412.
192. Molnar S. Morfološke karakteristike i motoričko-funkcionalne sposobnosti dece koja treniraju fudbal i dece koja se ne bave sportom. Magistarski rad. Fakultet fizičke kulture, Srbija: Univerzitet u Novom Sadu (1998).
193. Moncada S. Nitric oxide: discovery and impact on clinical medicine. *J R Soc Med* 1999; 92(4):164-169.
194. Morand C, Crespy V, Manach C, et al. Plasma metabolites of quercetin and their antioxidant properties. *Am J Physiol* 1998; 275(44):R212-9.

195. Morrow JD, Minton TA, Roberts LJ 2nd. The F2-isoprostane, 8-epi-prostaglandin F2 alpha, a potent agonist of the vascular thromboxane/endoperoxide receptor, is a platelet thromboxane/endoperoxide receptor antagonist. *Prostaglandins* 1992; 44 (2): 155-163.
196. Mujović VM, Simeunović S, Radovanović N. Eikosanoidi i kardiovaskularni sistem. *Kardiologija* 1989; 2: 9-11.
197. Muller F. The nature and mechanism of superoxide production by the electron transport chain: Its relevance to aging 2000; 4: 227–253.
198. Mullineaux, PM. and Creissen G. Glutathione reductase: Regulation and Role in Oxidative Stress. In: *Oxidative Stress and Molecular Biology of Antioxidant Defences* 1997, pp. 667-713.
199. Nakao J, Ooyama T, Chang WC, Murota S, Orimo H: Platelets stimulate aortic smooth muscle cell migration in vitro. Involvement of 12-L-hydroxyl-5,8,10,15-eicosatetraenoic acid. *Atherosclerosis* 1982; 44: 339-342.
200. Narumiya S, Salmon JA, Cotte FH, Weatherley BC, Flower RJ: Arachidonic acid 15-lipoxygenase from rabbit peritoneal polymorphonuclear leukocytes. Partial purification and properties. *J Biol Chem* 1981; 256: 9683-9592.
201. Nedeljkovic A, Mirkov DM, Kukulj M, Ugarkovic D, Jaric S. Effect of maturation on the relationship between physical performance and body size. *Journal of Strength and Conditioning Research* 2007; 21(1):245-250.
202. Nelson DL and Cox MM. *Lehninger principles of biochemistry*, NY: W.H. Freeman and Company 2008; 5:720-1.
203. Nelson DL, Cox MM. *Principles of Biochemistry*. New York: W.H. Freeman. 2005;
204. Nicholls DG. Mitochondrial membrane potential and aging. *Aging Cell* 2004; 3(1):35-40.
205. Nieman DC, Henson DA, McAnulty SR, McAnulty L, Swick NS, Utter AC, Vinci DM, Opiela SJ, and Morrow JD. Influence of vitamin C supplementation on oxidative and immune changes after an ultramarathon. *J Appl Physiol* 2002; 92:1970-1977.
206. Nieman DC, Henson DA, Smith LL, Utter AC, Vinci DM, Davis JM, Kaminsky DE, and Shute M. Cytokine changes after a marathon race. *J. Appl. Physiol.* 2001; 91: 109-114.

207. Nieman DC, Johansen LM, Lee JW, Arabatzis K. Infectious episodes in runners before and after the Los Angeles Marathon. *J Sports Med Phys Fitness* 1990; 30:316–328.
208. Nieman DC, Lasasso H, Austin MD, Pearce S, McInnis T, Unick J. Validation of Cosmed's FitMate in measuring exercise metabolism. *Res Sports Med* 2007; 15(1):67-75.
209. Nieman DC, Peters EM, Henson DA, Nevines EI, and Thompson MM. Influence of vitamin C supplementation on cytokine changes following an ultramarathon. *J Interf Cytok Res* 2000; 20:1029-1035.
210. NIH Medline Plus. "MedlinePlus Herbs and Supplements: Omega-3 fatty acids, fish oil, alpha-linolenic acid".
<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/druginfo/natural /patient-fishoil.html>
211. Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N. Lipid peroxidation: mechanisms, inhibition, and biological effects *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 338 (1): 668–676.
212. Northoff H, Berg A. Immunologic mediators as parameters of the reaction to strenuous exercise. *Int J Sports Med* 1991; 12(Suppl 1):S9-15.
213. Northoff H, Berg A, Weinstock C. Similarities and differences of the immune response to exercise and trauma: the IFN- α concept. *Can J Physiol Pharmacol* 1998; 76: 497–504.
214. Nosaka K, Lavender A, Newton M and Sacco P. Muscle damage in resistance training. *Int J Sport Health Sci* 2003; 1:1-8.
215. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95:351-358.
216. O'Keefe JH, Lavie CJ, and McCallister BD. Insights into the pathogenesis and prevention of coronary artery disease. *Mayo Clinic Proceedings* 1995; 70:69-79.
217. Ookawara T, Kawamura M, Kitagawa Z and Taniguchi N. Site/specific and random fragmentation of Cu, Zn-superoxide dismutase by glycation reaction. Implication of reactive oxygen species. *J Biol Chem* 1992; 267: 18505-18510.
218. Orino K, Lehman L, Tsuji Y, et al. Ferritin and the response to oxidative stress. *Biochem J* 2001; 357:241-7.

219. Ortenblad N, Madsen K, Djurhuus MS. Antioxidant status and lipid peroxidation after short-term maximal exercise in trained and untrained humans. *Am J Physiol* 1997; 272(4):R1258-63.
220. Ostrowski K, Rohde T, Asp S, Schjerling P, Pedersen BK. Pro - and antiinflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. *J Physiol* 1999; 515(Pt 1):287-91.
221. Ostrowski K, Rohde T, Asp S, Schjerling P. and Pedersen BK. Chemokines are elevated in plasma after strenuous exercise in humans. *Eur. J. Appl. Physiol.* 2001; 84: 244-245.
222. Oury TD, Day BJ and Crapo JD. Extracellular superoxide dismutase: a regulator of nitric oxide bioavailability. *Lab invest* 1996; 75:617-635.
223. Ozhogina OA, Kasaikina OT. β -carotene as an interceptor of free radicals. *Free Radic Biol Med* 1995; 19(5):575-81.
224. Pace-Asciak CR, Smith WL. A novel prostaglandin derivative formed from arachidonic acid by rat stomach homogenates. *Biochemistry* 1971; 10: 3657-3664.
225. Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee JH, Chen S, Corpe C, Dutta A, Dutta SK, and Levine M. Vitamin C as an Antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J Am Coll Nutr* 2003; 22: 18-35.
226. Pajkrt D, Manten A, van der Poll T, Monique MC, van Buul T, Jansen J, Wouter ten Cate J, and van Deventer SJH. Modulation of cytokine release and neutrophil function by granulocyte colony-stimulating factor during endotoxemia in humans. *Blood* 1997; 90:1415-1424.
227. Palacios-Pelaez R, Lukiw WJ, Bazan NG. Omega-3 essential fatty acids modulate initiation and progression of neurodegenerative disease, *Mol Neurobiol*, 2010; 41:367-374.
228. Parker K, Brunton L, Goodman, Sanford L, Lazo JS, Gilman A. Goodman & Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11, New York: McGraw-Hill 2006;
229. Pate RR, Sparling PB, Wilson GE, Curton KJ and Miller BJ. Cardiorespiratory and metabolic responses to submaximal and maximal exercise in elite women distance runners. *Int J Sports Med* 1987; 8: 91-95.
230. Pawlak, L. *A Perfect Ten*. Biomed General Corporation 1998; 107-109.

231. Pedersen BK, Steensberg A, Fischer C, Keller C, Ostrowski K, and Schjerling P. Exercise and cytokines with particular focus on muscle-derived IL-6. *Exerc Immunol Rev* 2001; 7:18-31.
232. Pedersen BK, Steensberg A. and Schjerling P. Muscle-derived interleukin-6: possible biological effects *J Physiol* 2001; 536:329-337.
233. Pedersen BK, Toft AD: Effects of exercise on lymphocytes and cytokines. *Br J Sports Med* 2000; 34(4):246-51.
234. Peet M, Brind J, Ramchand CN, Shah S, Vankar GK. "Two double-blind placebo-controlled pilot studies of eicosapentaenoic acid in the treatment of schizophrenia". *Schizophrenia Research* 2001; 49(3):243–51.
235. Pei-Yang Liu, Brummel-Smith K, and Ilich JZ. Aerobic Exercise and Whole-Body Vibration in Offsetting Bone Loss in Older Adults. *J Aging Res* 2011; 2011: 379674.
236. Pepe H, Balci SS, Rean S, Akalin PP, Kurtoglu F. Comparison of oxidative stress and antioxidant capacity before and after running exercises in both sexes. *Gender Medicine* 2009; 6:587-595.
237. Perreault T, De Marte J, Coceani F. Evidence against the involvement of a cytochrome P-450 mechanism in pulmonary hemodynamics in the newborn pig. *Can J Physiol Pharmacol* 1991; 69(10):1405-1409.
238. Pesic S, Jakovljevic V, Djordjevic D, Cubrilo D, Zivkovic V, Jorga V, Mujovic V, Djuric D, Stojimirovic B. Exercise-induced changes in redox status of elite karate athletes. *Chin J Physiol* 2012; 55:8-15.
239. Peters EM, Bateman ED. Ultramarathon running and URTI: an epidemiological survey. *S Afr Med J* 1983; 64: 582–584.
240. Peters EM, Goetzsche JM, Grobbelaar B, Noakes TD. Vitamin C supplementation reduces the incidence of post-race symptoms of upper respiratory tract infection in ultramarathon runners. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 170–174.
241. Peters EM, Goetzsche JM, Joseph LE, Noakes TD. Vitamin C as effective as combinations of anti-oxidant nutrients in reducing symptoms of upper respiratory tract infections in ultramarathon runners. *S A J Sports Med* 1996; 11: 23–27.

242. Petersen EW, Ostrowski K, Ibfelet T, Richelle M, Offord E, Halkjaer-Kristensen J, and Pedersen BK. Effect of vitamin supplementation on cytokine response and on muscle damage after strenuous exercise. *Am J Physiol* 2001; 280: C1570-C1575.
243. Petibois C, Cazorla G, Poortmans JR, et al. Biochemical aspects of overtraining in endurance sports. *Sports Med* 2002; 32(13):867-78.
244. Petibois C, Cazorla G, Poortmans JR, Déléris G. Biochemical aspects of overtraining in endurance sports: the metabolism alteration process syndrome. *Sports Med* 2003; 33(2):83-94.
245. Petkau A. Scientific basis for the clinical use of superoxide dismutases. *Cancer Treatment* 1986; 13:17-44.
246. Pešić S. Evaluacija oksidativnog statusa kod vrhunskih sportista-karatista u procesu treninga. Magistarska teza. Medicinski fakultet, Srbija: Univerzitet u Beogradu 2005;
247. Phillips T, Childs AC, Dreon DM, Phinney S, Leeuwenburgh C. A dietary supplement attenuates IL-6 and CRP after eccentric exercise in untrained males. *Med Sci Sports Exerc* 2003; 35(12):2032-7.
248. Pick E, Keisari Y. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. *J Immunol Methods* 1980; 38:161-70.
249. Pincemail J, Lecomte J, Castiau J, et al. Evaluation of autoantibodies against oxidized LDL and antioxidant status in top soccer and basketball players after 4 months of competition. *Free Radic Biol Med* 2000; 28(4):559-65.
250. Ochel E. Plant based sources of vegan & Vegetarian DHA & EPA and Omega 3 essential fatty acids. *Brain & Mental Health* 2011.
251. Pollock ML. Submaximal and maximal working capacity of elite distance runners. Part1: cardiorespiratory aspects. *Ann NY Acad Sci* 1977; 301: 310-322.
252. Politicelli F, Desideri A, Battistoni A, Rotilio G, O'Neill P. Identification of the residues responsible for the alkaline inhibition of Cu, Zn superoxide dismutase: A site-directed mutagenesis approach. *Protein Science* 1996; 5:248-253.
253. Pompella A, Visvikis A, Paolicchi A, de Tata V, Casini AF. The changing face of glutathione, a cellular protagonist. *Biochem Pharmacol* 2003; 66: 1499-503.

254. Powers SK, Ji LL, Leeuwenburgh C: Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. *Med. Sci. Sports Exerc.* 1999; 31: 987-97.
255. Prior RL, Cao G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radic Biol Med* 1999; 27(11-12):1173-81.
256. Radak Z, Chung HY and Goto S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radic Bio Med* 2008; 44:153-59.
257. Radosavljevic G, Jovanovic I, Majstorovic I, Mitrovic M, Juranic Lisnic V, Arsenijevic N, Jonjic S and Lukic ML. Deletion of galectin-3 in the host attenuates metastasis of murine melanoma by modulating tumor adhesion and NK cell activity. *Clin and Exp Met* 2011; 28(5):451-462.
258. Radovanović D, Aledsandrović M, Stojiljković ND, Ignjatović A, Popović T, Marinković N. Uticaj treninga u preadolescentnom uzrastu na kardiorespiratornu izdržljivost. *Acta Med Medianae* 2009; 48(1):37-40.
259. Raha S, Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *Trends Biochem Sci* 2000; 25(10): 502-8
260. Rahman I, MacNee W. Oxidative stress and regulation of glutathione in lung inflammation. *Eur Respir J* 2000; 16(3):534-54.
261. Reid MB. Invited Review: redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't. *J Appl Physiol* 2001; 90: 724-731.
262. Rhee SG. H₂O₂, a necessary evil for cell signaling. *Science* 2006; 312:1882-3.
263. Richards CD, Gaulder J. Role of cytokines in the acute phase response. *Human cytokines: their role in disease and therapy* Cambridge: Blackwell Science 1998.
264. Richardson AJ, Puri BK. A randomized double-blind, placebo-controlled study of the effects of supplementation with highly unsaturated fatty acids on ADHD-related symptoms in children with specific learning difficulties, *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2002; 26: 233-239.
265. Rimbach G, Hohler D, Fischer A et al. Methods to assess free radicals and oxidative stress in biological systems. *Arch Tierernahr* 1999; 52(3):203-22.
266. Robinson S, Edwards HT, Dill DB. New records in human power. *Science*, 1937; 85: 409-410.
267. Rost R. The athlete's heart: historical perspective. In: Maron BJ, ed. *Cardiology Clinics, the Athlete's Heart*. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co; 1992:197-207.

268. Rowbottom DG, Keast D, Goodman C, Morton AR. The haematological, biochemical and immunological profile of athletes suffering from the overtraining syndrome. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1995; 70(6):502-9.
269. Rowell LB. Human cardiovascular adjustments to exercise and thermal stress. *Physio Rev* 1974; 54: 75-103.
270. Ruan KH, Cervantes V, So SP. Engineering of a novel hybrid enzyme: an anti-inflammatory drug target with triple catalytic activities directly converting arachidonic acid into the inflammatory prostaglandin E2. *Protein Eng Des Sel* 2009; 22:733-740.
271. Saltin B and Astrand PO. Maximal oxygen uptake in athletes. *J Appl Physiol* 1967; 23: 353-358.
272. Saltin B and Strange S. Maximal oxygen uptake: "old" and "new" arguments for a cardiovascular limitation. *Med Sci Sports Exerc* 1992; 24: 30-37.
273. Samiec PS, Drews-Botsch C, Flagg EW, et al. Glutathione in human plasma: decline in association with aging, age-related macular degeneration, and diabetes. *Free Radic Biol Med* 1998; 24(5):699-704.
274. Samuelsson B, Goldyne M, Granstrom E, Hamberg M, Hammarstrom S. Prostaglandins and thromboxanes. *Ann Rev Biochem* 1978; 47: 997-1029.
275. Santos NAG, Catao Beyera CS, Martins NM, Curti C, Bianchi MLP, Santos AC. Hydroxyl radical scavenger ameliorates cisplatin-induced nephrotoxicity by preventing oxidative stress, redox state unbalance, impairment of energetic metabolism and apoptosis in rat kidney mitochondria. *Cancer Chemother Pharmacol* 2008; 61: 145-55.
276. Saravanan P, Davidson NC, Schmidt EB. Cardiovascular effects of marine omega-3 fatty acids. *Lancet* 2010; 14:540-550.
277. Sastre J, Asensi M, Gasco E, Pallardo FV, Ferrero JA, Furukawa T, Vina J. Exhaustive physical exercise causes oxidation of glutathione status in blood: prevention by antioxidant administration. *Am J Physiol* 1992; 263:R992-995.
278. Sayers SP and Clarkson PM. Short-term Immobilization after eccentric exercise. Part Ö †: Creatine kinase and myoglobin. *Med Sci Sports Exer* 2003; 35: 762-768.

279. Schippinger G, Fankhauser F, Abuja PM, Winklhofer-Roob BM, Nadlinger K, Halwachs-Baumann G, Wonisch W. Competitive and seasonal oxidative stress in elite alpine ski racers. *Scand J Med Sci Sports* 2009; 19(2):206-12.
280. Schippinger G, Wonisch W, Abuja PM, Fankhauser F, Winklhofer-Roob BM, Halwachs G. Lipid peroxidation and antioxidant status in professional American football players during competition. *Eur J Clin Invest* 2002; 32(9):686-92.
281. Schulz JB, Kindeanu J and Dichgans J. Glutathione, oxidative stress and neurodegeneration. *Eur Biochem* 2000; 267:4904-4911.
282. Schwartzman ML, Omata K, Lin FM, Bhatt RK, Falck JR, Abraham NG: Detection of 20- hydroxyeicosatetraenoic acid in rat urine. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 180(1): 445-449.
283. Scott G. Antioxidants the modern elixir. *Chem Britain* 1995; 31: 879-882.
284. Scott RA, Moran C, Wilson RH, Onywera V, Boit MK, Goodwin WH, Gohlke P, Payne J, Montgomery H and Pitsiladis YP. No association between Angiotensin Converting Enzyme (ACE) gene variation and endurance athlete status in Kenyans. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2005; 141: 169-175.
285. Semrau F, Kuhl RJ, Ritter S, Ritter K. Manganese superoxide dismutase (MnSOD) and autoantibodies against MnSOD in acute viral infections. *J Med Virol* 1998; 55: 161-7.
286. Sen CK, Packer L. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *Am A Clin Nutr* 2000; 72:653S-69S.
287. Sevanian A, Davies KJA, Hochstein P. Serum urate as an antioxidant for ascorbic acid. *Am J Clin Nutr* 1991; 54:1129S-34S.
288. Shen X, Dannenberger D, Nuernberg K, Nuernberg G, Zhao R. Trans-18:1 and CLA isomers in rumen and duodenal digesta of bulls fed n-3 and n-6 PUFA-based diets. *Lipids* 2011; 46:831-841.
289. Shephard RJ. Physical activity and child health. *Med Sports* 1984; 1:205–233.
290. Sichel G, Corsaro C, Scalia M, Sciuto S, Geremia E. relationship between melanin content and superoxide dismutase (SOD) activity in the liver of various species of animals. *Cell Biochem Funct* 1987; 5(2):123-8.
291. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med* 1991; 91(3C suppl.): 31-7.

292. Sies H. Oxidative stress: Introductory remarks. In: Oxadative stress. (Sies, H. Ed.), Academic press, London, 1985; pp. 1-8.
293. Simopoulos AP. "Omega-3 fatty acids in wild plants, nuts and seeds". *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 2002; 11(Suppl 2): S163–73.
294. Singh, A. Introduction: Interconversion of singlet oxygen and related species. *Photochem. Phatobiol* 1978; 28: 429-433.
295. Smith LL, Anwar A, Fragen M, Rananto C, Johnson R, Holbert D. Cytokines and cell adhesion molecules associated with high-intensity eccentric exercise. *Eur J Appl Physiol* 2000; 82(1-2):61-7.
296. Song C, Zhao S. "Omega-3 fatty acid eicosapentaenoic acid. A new treatment for psychiatric and neurodegenerative diseases: a review of clinical investigations". *Expert Opin Investig Drugs* 2007; 16(10):1627–38.
297. Spasić M, Korać B, Blagojević D, Buzadžić B, Saičić ZS, Nikolić V. The role of selenium supplementation on attenuation of toxic doxorubicin effects. *Iugoslav Phisiol Pharmacol Acta* 2000; 36(1): 119-30.
298. St Peirre J, Buckingham JA, Roebuck SJ and Brand MD. Topology of Superoxide Production from Different Sites in the Mitochondrial Electron Transport Chain. *J Biol Chem* 2002; 277(47):44784-44790.
299. Stadtman ER, Levine RL. Protein oxidation. *Ann N Y Acid Sci* 2000; 899: 191-208.
300. Stamler JS and Hausladen A. Oxidative modifications in nitrosative stress. *Nature Structural Biology* 1998; 5: 247-249.
301. Starkie RL, Ostrowski SR, Jauffred S, Febbraio M, Pedersen BK. Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF- α production in humans. *Faseb J* 2003; 17(8):884–6.
302. Starkie RL, Rolland J, Angus DJ, Anderson MJ, Febbraio M. Circulating monocytes are not the source of elevations in plasma IL-6 and TNF- α levels after prolonged running. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001; 280: C769–C774.
303. Steensberg A, Keller C, Starkie LR, Osada T, Febbraio AM and Pedersen BK. IL-6 and TNF-expression in, and release from, contracting human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 283:E1272-E1278.
304. Steensberg A. The role of IL-6 in exercise- induced immune changes and metabolism. *Exerc Immunol Rev* 2003; 9:40-44.

305. Steensberg A, Van Hall G, Osada T, Sacchetti M, Saltin B, Pedersen BK. Production of interleukin-6 in contracting human skeletal muscles can account for the exercise-induced increase in plasma interleukin-6. *J Physiol* 2000; 529:237–242.
306. Steinbeck MJ, Khan AU and Karnovsky MJ - Intracellular singlet oxygen generation by phagocytosing neutrophils in response to particles coated with a chemical trap. *J Biol Chem* 1992; 267 (19):13425-13433.
307. Stojanović M. *Biologija razvoja čoveka sa osnovama Sportske medicine* Beograd 1977.
308. Stolen T, Chamari K, Castagna C. Physiology of soccer: an update. *Sports Med* 2005; 35:501-36.
309. Stoll AL, Locke CA, Marangell LB, Severus WE. Omega-3 fatty acids and bipolar disorder: a review, *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 1999; 60: 329-337.
310. Storz P. Reactive oxygen species in tumor progression. *Front Biosci* 2005; 10:1881-96.
311. Sugano M, Ikeda I. *Journal of Japan Oil Chemist's Society* 1991; 40: 831-837.
312. Suzuki K, Nakaji S, Kurakake S, Totsuka M, Sato K, Fujimoto H, Shibusawa K, Machida Å@K, and Sugawara K. Exhaustive exercise and type-1/type-2 cytokine balance with special focus on interleukin-12 p40/70. *Exerc Immunol Rev* 2003;9:48-57.
313. Suzuki K, Nakaji S, Yamada M, Liu Q, Kurakake S, Okamura N, Kumae T, Umeda T, and Sugawara K. Impact of a competitive marathon race on systemic cytokine and neutrophil responses. *Med. Sci. Sports Exer.* 2003; 35: 348-355.
314. Suzuki K, Totsuka M, Nakaji S, Yamada M, Kudoh S, Liu Q, Sugawara K, Yamaya K, and Sato K. Endurance exercise causes interaction among stress hormones, cytokines, neutrophil dynamics, and muscle damage. *J Appl Physiol* 1999; 87:1360-1367.
315. Suzuki K, Yamada M, Kurakake S, Okamura N, Yamaya K, Liu Q, Kudoh S, Kowatari K, Nakaji S, and Sugawara K. Circulating cytokines and hormones with immunosuppressive but neutrophil-priming potentials rise after endurance exercise in humans. *Eur J Appl Physiol* 2000; 81: 281-287.

316. Suzuki K, Nakaji S, Yamada M., Totsuka M., Sato K. and Sugawara K. Systemic inflammatory response to exhaustive exercise. Cytokine kinetics Exerc Immunol Rev 2002; 8:6-48.
317. Svensson M, and Drust B. Testing soccer players. Journal of sports sciences, Harizan 2005; 23(6):601–618.
318. Svensson MB, Ekblom B, Cotgreave IA, Norman B, Sjoberg B, Ekblom O, Sjodin B, Sjodin A. Adaptive stress response of glutathione and uric acid metabolism in man following controlled exercise and diet. Acta Physiol Scand 2002; 176:43-56.
319. Tabata I, Nishimura K, Kouzaki M, et al. Effects of moderate-intensity endurance and high-intensity intermittent training on anaerobic capacity and VO₂max. Med Sci Sports Exerc 1996; 28:1327-30.
320. Taniguchi N. Clinical significances of superoxide dismutases: changes in agins, diabetes, ischemia and cancer. Adv Clin Chem 1992; 29:1-59.
321. Teixeira V, Valente H, Casal S, Marquese F, Moreira P. Antioxidant status, oxidative stress, and damage in elite trained kayakers and canoeists and sedentary controls. Int J Sport Nutr Exerc Metab 2009; 19:443-456.
322. Teixeira V, Valente H, Casal S, Pereira L, Marquese F and Moreira P. Antioxidant status, oxidative stress, and damage in elite kayakers after 1 year of training and competition in 2 seasons. Appl Physiol Nutr Metab 2009; 34: 716-724.
323. Toft, AD, Jensen LB, Bruunsgaard H, Ibfelt T, Halkjaer-Kristensen J, Febbraio M, and Pedersen BK. Cytokine response to eccentric exercise in young and elderly humans. Am J Physiol 2002; 283: C289-C295.
324. Tracey P, Childs AC, Dreon DM, Phinney S and Leeuwenburgh C. A dietary supplement attenuates IL-6 and CRP after eccentric exercise in untrained males. Med Sci Sports Exerc 2003; 35: 3512-2032.
325. Tsianos G, Sanders J, Dhamrait S, Humphries S, Grant S and Montgomery H. The ACE gene insertion/deletion polymorphism and elite endurance swimming Eur J Appl Physiol 2004; 92:360-362.
326. Tsuchihashi, M. Zur Kernntnis der blutkatalase. Biochem Z 1923; 140: 65-72.

327. Turk J, Maas RL, Brash AR, Roberts LJ 2nd, Oates JA. Arachidonic acid 15-lipoxygenase products from human eosinophils. *J Biol Chem* 1982; 257: 7086-7076.
328. Uhlig S, Wendel A. The physiological consequences of glutathione variations. *Life Sciences* 1992; 51:1083-94.
329. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology* 2003; 189:41-54.
330. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem* 2004; 266 (1-2): 37-56.
331. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radical and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol (IJBCB)* 2007; 39:44-84.
332. Verhagen J, Bruynzeel PLB, Koedam JA, Qassink GA, De Boer M: Specific leukotriene formation by purified human eosinophils and neutrophils. *FEBS Lett* 1984; 168: 23-28.
333. Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2) and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution and expression. *Free Radic Biol Med* 2002; 33(3):337-49.
334. Zhang J. MnSOD alters gene expression associated with apoptosis. *Virology* 2002; 76: 355-363.
335. Zoppi CC, Hohl R, Silva FC, Lazarim FL, Antunes Neto Joaquim MF, Stancanneli M, Macedo DV. Vitamin C and E supplementation effects in professional soccer players under regular training. *J Intern Soc Sport Nutr* 2006; 3:37-44.
336. Živanić S, Životić-Vanović M, Malićević S, Mijić R, Ostojić S, Bogdanović S. Morfofunkcionalne karakteristike prvoligaških fudbalera u SCG. Zbornik sažetaka. Prvi srpski kongres sportskih nauka i medicine sporta. Beograd: Oktobar: 2003.
337. Yao HT, Chang YW, Lan SJ, Chen CT, Hsu JT, Yeh TK. "The inhibitory effect of polyunsaturated fatty acids on human CYP enzymes". *Life Sci* 2006; 79(26):2432-40.

338. Wall R, Ross RP, Fitzgerald GF, Stanton C. Fatty acids from fish: the anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids. *Nutr Rev* 2010; 68:280-289.
339. Wayner DDM, Burton GW, Ingold KU, et al. The relative contributions of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total peroxy radical-trapping antioxidant activity of human blood plasma. *Biochim Biophys Acta* 1987; 924:408-19.
340. Weston YB. "Plant based sources of vegan & vegetarian Docosahexaenoic acid - DHA and Eicosapentaenoic acid EPA & Essential Fats" Retrieved 2008; 08-05.
341. Willcox JK, Catignani GL, Roberts LJ. Dietary flavonoids fail to suppress F2-isoprostane formation in-vivo. *Free Radic Biol Med* 2002; 34(7):795-9.
342. Wolin MS, Gupte SA, Oeckler RA. Superoxide in the vascular system. *J Vasc Res* 2002; 39:191-207.

VIII СПИСАК СКРАЋЕНИЦА

AA – арахидонска киселина
ADP – аденозин ди фосфат
AOS – Антиоксидативни заштитни систем
ATP – аденозин три фосфат
BIA – анализа биоелектричне импеданце
BMI – индекс телесне масе
CAT – каталаза
Ca²⁺ – јон калцијума
CoQ – коензим Q
CD – коњуговани диени
CK – креатин киназа
CRP-C – реактивни протеин
CuZn SOD – бакар цинк садржавајућа супероксид-дисмутаза
DNA – докосахекаеноична киселина
DOMS – одложени настанак бола у мишићима
DNK – дезоксирибонуклеинска киселина
EC SOD – екстрацелуларна супероксид-дисмутаза
eNOS – ендотелна синтаза азот монооксида
EPA – еикосапентаеноична киселина
EPR – електронске парамагнетне резонанце
ESR – електронске спинске резонанце
Fe SOD – гвожђе садржавајућа супероксид-дисмутаза
Fe²⁺ – јон гвожђа
G-CSF – гранулоцит колонија-стимулативни фактор
GCL – γ -глутамил цистеин лигаза (γ -glutamylcystein ligase)
GS – глутатион синтазе
GSH-Px – глутатион-пероксидаза
GR – глутатион-редуктаза
GSSG – глутатион дисулфид
GST – глутатион-S-трансфераза
Hb – хемоглобина
HDL – холестерола
HOBP – хронична опструктивна болест плућа

H₂O₂ – водоник пероксид
HOCl – хипохлорна киселина
HRPO – ензим пероксидазе из коњске потковице (HorseRadishPeroxidase)
IDL – липопротеини интермедијалне густине
IFN-γ – интерферон гама
IL-1 – интерлеукин један
IL-1β – интерлеукин један бета
IL-2 – интерлеукин два
IL-4 – интерлеукин четири
IL-6 – интерлеукин шест
IL-8 – интерлеукин осам
IL-10 – интерлеукин десет
LDL – холестерола
LH – лутеинизирајући хормон
LOOH – липид хидропероксид
LOO• – пероксил радикал
LTB₄ – леукотријени
12-S-HPETE – 12-S-хидропероксиеикоса-5,8,10,14-тетраноичну киселину
QH₂ – убикинон
QH• – семикинонски радикал
Max – максимум
Mb – миоглобин
MDA – малонилдиалдехид
Med – медијан
Min – минимум
metHb – метхемоглобин
metMb – метмиоглобин
Mn SOD – манган садржавајућа супероксид-дисмутаза
mRNA – месинџер рибонуклеинске киселине
MTP – микротитар плоча
•NO – азот моноксид
NADPH – никотин амид аденин динуклеотид фосфат
NADH – никотин амид аденин динуклеотид

NBT – нитро плав тетразолијум
NO₂ – азот диоксида
N₂O₃ – diazot trioksida
N₂O₄ – diazot tetroksida
NOSs – азот monoksid sintaza
O₂^{•-} – супероксид анјон радикал
•OH – хидроксил радикал
ONOO⁻ – peroksinitrita
¹O₂ – синглет кисеоник
O₂ – кисеоник
O₃ – озон
PUFAs – полинезасићене масне киселине
PG – простагландин
PES – простагландин-ендопероксид синтаза
PGG₂ – простагландин ендопероксид
PGH₂ – простагландин H₂
PGI₂ – простагландин
PRS – фенол црвени
-SH – сулфхидрилни остатак
RNK – рибонуклеинска киселина
ROOH – органски хидропероксид
R[•] – алкил радикали
RO[•] – алкоксил радикал
RO₂[•] – пероксил радикал
ROS – реактивне кисеоничке врсте
RNS – реактивне врсте азота
RNOS – реактивне азотне врсте кисеоника
СД – стандардна девијација
SOD – супероксид-дисмутаза
SR – слободни радикали
ТВА – тиобарбитурна киселина
TBARS – индекс липидне пероксидације
TxA₂ – тромбоксан A₂

TV – телесна висина

TM – телесна маса

TNF- α – фактор некрозе тумора-алфа

ТОС – витамин Е (α -токоферол)

VLDL липопотеини веома мале густине

VO₂ (ml/kg/min) – утрошак кисеоника

VO₂max (ml/kg) – апсолутни утрошак кисеоника

X – средња вредност

**IX ПРИЛОГ И БИОГРАФИЈА АУТОРА СА
БИБЛИОГРАФИЈОМ**

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАТИКА

Редни број: РБ	
Идентификациони број: ИБР	
Тип документације: ТД	Монографска публикација
Тип записа: ТЗ	Текстуални штампани материјал
Врста рада: ВР	Докторска дисертација
Аутор: АУ	Предраг Лазаревић
Ментор/коментор: МН	Проф. др Владимир Љ. Јаковљевић
Наслов рада: НР	Евалуација промена инфламаторних медијатора и редокс равнотеже изазване шестомесечним тренингом
Језик публикације: ЈП	Српски (ћирилица)
Језик извода: ЈИ	Српски/Енглески
Земља публикавања: ЗП	Србија
Уже географско подручје УГП	Шумадија
Година: ГО	2013
Издавач: ИЗ	Ауторски репринт

Место и адреса: МС	34000 Крагујевац Светозара Марковића 69
Физички описа рада: ФО	204/9/34/15/32/342
Научна област: НО	Медицина
Научна дисциплина: ДИ	Физиологија са биохемијом спорта
Предметна одредница/кључне речи: ПО	Оксидативни стрес, антиоксидативна заштита, инфламаторни медијатори, фудбал, тренажни процес
УДК Чува се: ЧУ	У библиотеци Факултета медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу, Србија
Важна напомена: МН	
Извод: ИД	Истраживање је конципирано тако да испита утицај програмираног физичког вежбања на активност про и анти инфламаторних цитокина и оксидативних ензима, као и на морфо-функционалне параметре. Корелацијом је доказивана јачина повезаности свих оксидативних ензима, инфламаторних цитокина, и морфо-функционалних параметара након спроведеног шестомесечног тренажног циклуса. Сви резултати спортиста су упоређивани са вредностима неспортиста у мировању. Први део истраживања обухватио је 28 фудбалера, старости 12-13 година и најмање петогодишњим тренажним искуством, и 28 дечака исте старости, који немају програмирану физичку активност. Сви су подвргнути мерењу телесне композиције. Први део истраживања састојао се од узимања узорака крви у миру и након прогресивно растућег теста оптерећења ради одређивања нивоа биохемијских параметара оксидативног стреса (супероксид анјон радикал, водоник пероксид, азот моноксид, индекс липидне пероксидације, супероксид дисмутаза,

	<p>каталаза и редуковани глутатион) и инфламаторних цитокина (туморске некрозе фактор алфа и интерлеукина б). Други део истраживања је обухватао само спортисте. Поновљен је прогресивни растући тест оптерећења као и узимање узорака венске крви ради поновљених биохемијских тестова свих параметара оксидативног стреса и инфламаторних цитокина у циљу процене нивоа њихове активности након спроведеног шестомесечног програма тренинга. Резултати наше студије показују да програмиран тренажни процес доводи до позитивне активације антиоксидативних ензима првог одбрамбеног зида, сниженог инфламаторног одговора и позитивних морфо - функционалних промена. Корелација редокс равнотеже и праћених цитокина показује ниску повезаност. Морфо-функционални параметри показују слабу или никакву повезаност са редокс равнотежом и инфламаторним цитокинима.</p>
<p>Датум прихватања теме од стране ННВ: ДП</p>	
<p>Датум одбране: ДО</p>	
<p>Чланови комисије: КО</p>	<p>Проф. др Гвозден Росић, Председник, редовни професор Факултета медицинских наука у Крагујевцу Проф. др Драган Ђурић, члан, редовни професор Медицинског факултета у Београду Доц. др Дејан Чубрило, члан, доцент US Medical School у Београду,</p>

**UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES KRAGUJEVAC**

KEY WORDS DOCUMENTATION

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Dokumentation type: DT	Monographic publication
Type of record: TR	Textual material, printed
Content code: CC	PhD thesis
Author: AU	Predrag Lazarevic
Menthor/co-mentor: MN	Prof. Vladimir Jakovljevic, MD, PhD
Title: TI	Evaluation of changes in inflammatory mediators and redox balance caused by the six-month training
Language of text: LT	Serbian (cyrilic)
Language of abstract: LA	Serbian/English
Country of publication: CP	Serbia
Locality of publication: LP	Sumadia municipality
Publication year: PY	2013
Publisher: PU	Author's reprint

Publication place: PP	34000 Kragujevac Svetozara Markovica 69
Physical description: PD	204/9/34/15/32/342
Scientific field:	Medicine
Scientific discipline: SD	Exercise physiologu and biochemistry
Subject/key words: SKW	Oxidative stress, antioxidative defence system, inflammatory mediators, football, training process
UDC Holding data:	Library of Faculty of medical sciences, University of Kragujevac, Serbia
Note: N	
Abstract: AB	The research was designed to examine the effects of programmed physical exercise on the activity of pro- and anti-inflammatory cytokines and oxidative enzymes, as well as on the morpho-functional parameters. The correlation was used to assess the strength of relationship between oxidative enzymes, inflamatory citokines and morphofunctional parameters after 6 months of programmed football training. All the results of athletes were compared with results of non athletes at rest. The investigation included 28 players with minimum 5 years of sports experience, aged 12-13 years, and 28 age/matched boys not engaged in physical activity. All underwent measurement of body composition. The first part of the research included blood sampling at rest and after progressively increasing load test to determine the levels of biochemical parameters of oxidative stress (superoxide anion radical, hydrogen peroxide, nitric oxide, index of lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and reduced glutathione) and inflammatory cytokines (tumor necrosis factor alpha and interleukin 6). The second part of the study included only the athletes. Progressively increasing load test was performed and venous blood samples taken in order to assess changes in biochemical parameters of oxidative stress and inflammation due to six/month training programme. The results of the research

	show that programmed training leads to positive activation of antioxidative enzymes of the first defense wall, decreased inflammatory response and positive morphofunctional changes. Correlation of redox balance and monitored cytokines showed a low relationship. Morpho - functional parameters showed poor or no correlation with the redox balance and inflammatory cytokines.
Accepted by the Scientific Board on: ASB	
Defended on: DE	
Theses defended board (Degree/name/surname/title/faculty)	Prof. dr Gvozden Rosić, President, full professor, Faculty of medical sciences in Kragujevac Prof. dr Dragan Djuric, member, full professor of Medicine, University of Belgrade Doc. dr Dejan Cubrilo member, docent U.S. Medical School in Belgrade

БИОГРАФИЈА АУТОРА

Име и презиме: Предраг Лазаревић

Датум и место рођења: Мај, 18. 1972. године, Крагујевац, Србија

Адреса: Мирка Јовановића 11, 34000 Крагујевац

Телефон: 034/373-019

Мобилни телефон: 065 877-66-68

E-mail: plazarevickg@yahoo.com

Образовање

- Средња економска школа (1987-1991)
- Факултет физичког васпитања, Универзитет у Београду (1991-1997):
Професор физичког васпитања
- Виша школа за спортске тренере (Висока спортска и здравствена школа),
Универзитет у Београду: Виши спортски тренер фудбала (1997-2006).
- Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу, (2007-2012):
Доктор Медицинских наука – Експериментална и примењена
физиологија са спортском медицином

Познавање страних језика

- Енглески

Радно искуство

- Сарадник у настави за ужу научну област методологија Антропометрије,
Факултет медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу, 2010–2012.
- Рад са спортским секцијама, Факултет медицинских наука, Универзитет
у Крагујевцу, 2008–2012.
- Тренер у приватној школи фудбала „Фитнес“ од 2003–2008.
- Асистент – демонстратор фудбала на предмету Техника и тактика
фудбала, на Високој спортској и здравственој школи Универзитета у
Београду, 2003–2010.
- Професор физичког васпитања у основној школи 1997–2010.
- Персонални тренер – Fitness center „Наутилус“ Београд, 1994-1995.

БИБЛИОГРАФИЈА

Радови објављени у међународним часописима (М 23)

1. Lazarević P, Stanojević D, Đukić A, Bubanja I, Bubanja D, Mladenović V, Krstić V. **The analysis of factors associated with improved glycemic control in patients with insulin-requiring type 2 diabetes mellitus after treatment:** Med Glasnik 2013; 10(1): 86-92.
2. Živković V, Lazarević P, Djurić D, Dejan Čubrilo, Macura M, Vuletić M, Barudžić N, Nesić M and Jakovljević V. **Alteration in basal redox state of young male soccer players after a six-month training programme:** Acta Physiol Hung 2013; 100(1): 64–76.

Радови објављени у националним часописима (М 52)

1. Lazarević P, Živković V., Vuletić M., Barudžić N. i Čubrilo D. **The relationship between sports engagement, body mass index and physical abilities in children:** Ser J Exp Clin Res 2011; 12(3): 41-43.

Радови објављени у националним часописима (М 53)

1. Lazarević P, Živković V, Vuković S. Influence of six months training program on morpho-functional parameters of young footballers. Rational Therapy 2013; 5:(1): 31-33.

Радови објављени у некатегорисаним часописима

1. Lazarević P, Bubanja D, Bubanja I. **Physical activity in diabetes mellitus patients:** Scientific Journal - Sport science & practice 2011; 2(3):18-26.

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Потписати-а: **Предраг Лазаревић, проф. физичког васпитања**

Број уписа: **2093/9**

ИЗЈАВЉУЈЕМ

да је докторска дисертација под насловом: **„Евалуација промена инфламаторних медијатора и редокс равнотеже изазване шестомесечним тренингом“**,

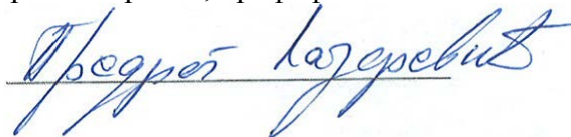
- резултат сопственог истраживачког рада
- да предложена дисертација у целини, ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица

У Крагујевцу,

17.04.2013. године

Потпис аутора

Предраг Лазаревић, проф. физичког васпитања



**ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ
ВЕРЗИЈЕ ДОКТОРСКОГ РАДА**

Име и презиме аутора: **Предраг Лазаревић, проф. физичког васпитања**

Број уписа: **2093/9**

Студијски програм: **Докторске академске студије**

Наслов рада: **Евалуација промена инфламаторних медијатора и редокс равнотеже изазване шестомесечним тренингом**

Ментор: **Проф. др Владимир Јаковљевић**

Потписани/а: **Предраг Лазаревић, проф. физичког васпитања**

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу.**

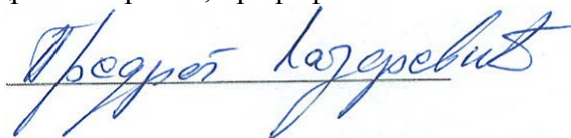
Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним станицама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Крагујевцу.

У Крагујевцу,
17.04.2013. године

Потпис аутора

Предраг Лазаревић, проф. физичког васпитања



ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Крагујевцу унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Евалуација промена инфламаторних медијатора и редокс равнотеже изазване шестомесечним тренингом

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Крагујевцу, могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative commons) за коју сам се одлучио/ла:

1. Ауторство
2. Ауторство-некомерцијално
3. Ауторство-некомерцијално-без прераде
4. Ауторство-некомерцијално-делити под истим условима
5. Ауторство- без прераде
6. Ауторство- делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од 6 понуђених лиценци, чији је кратак опис дат на пбразцу број 4.)

У Крагујевцу,

17.04.2013. године

Потпис аутора

Предраг Лазаревић, проф. физичког васпитања

